

他克莫司对特应性皮炎儿童 T 淋巴细胞和炎性细胞因子的影响

洪世仁(葛洲坝中心医院检验科,湖北宜昌 443002)

【摘要】 目的 研究他克莫司对特应性皮炎儿童 T 淋巴细胞和炎性细胞因子的影响。方法 选择特应性皮炎患儿(ATD 组)和健康儿童(CON 组)为研究对象,比较两组研究对象治疗前和治疗 3、6、12 个月后 T 淋巴细胞和炎性细胞因子的差异。结果 ATD 组患儿治疗后 3、6、12 个月的淋巴细胞(Lym)、CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ 均明显低于治疗前(均 $P < 0.05$),治疗后 3、6、12 个月的 Lym、CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ 比较,差异无统计学意义(均 $P > 0.05$); ATD 组患儿治疗前的 Lym、CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ 均明显高于 CON 组($P < 0.05$),而治疗后 3、6、12 个月差异有统计学意义($P < 0.05$)。ATD 组患儿治疗后 3、6、12 个月的白细胞介素(IL)-4、IL-31、 γ 干扰素(IFN- γ)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)依次降低,IL-10 和 IL-12 依次升高。ATD 组患儿治疗前、治疗后 3、6、12 个月的 IL-4、IL-31、INF- γ 和 TNF- α 均明显高于 CON 组($P < 0.05$),而 IL-10 和 IL-12 均明显低于 CON 组($P < 0.05$)。结论 他克莫司可明显降低特应性皮炎患儿 T 淋巴细胞、IL-4、IL-31、INF- γ 和 TNF- α ,提高 IL-10 和 IL-12,改善免疫功能紊乱状态。

【关键词】 特应性皮炎; 他克莫司; T 淋巴细胞; 炎性细胞因子

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.22.045 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)22-3191-02

特应性皮炎是一种慢性免疫性疾病,主要与变应原导致免疫紊乱紧密相关,包括 T 淋巴细胞及炎性细胞因子等参与疾病的发生、发展及转归^[1-2]。他克莫司为钙调磷酸酶抑制剂,可抑制 T 淋巴细胞的活化,广泛应用于特应性皮炎的治疗^[3-4]。目前对他克莫司治疗特应性皮炎的作用机制尚未完全明确,推测其可能通过抑制机体免疫功能发挥治疗作用。本研究比较他克莫司治疗特应性皮炎儿童与健康儿童 T 淋巴细胞和炎性细胞因子的差异,研究他克莫司治疗特应性皮炎的机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2010 年 1 月至 2012 年 12 月本科诊治的特应性皮炎患儿 50 例为研究对象(ATD 组),其中男 30 例,女 20 例;年龄(5.8±2.5)岁;体质量指数(BMI)(21.6±2.3) kg/m²。纳入标准:(1)均临床表现、症状体征和体检确诊为特应性皮炎,符合 Williams 的特应性皮炎诊断标准^[5];(2)初次诊治患者,既往未行特应性皮炎相关治疗;(3)治疗前血常规、尿常规和肝肾功能电解质在正常范围值内;(4)排除合并其他免疫性疾病,3 个月内接受抗菌药物、抗真菌药物和免疫抑制剂及糖皮质激素治疗。另以门诊健康体检的儿童 50 例为对照(CON 组),其中男 29 例,女 21 例,年龄(5.9±2.7)岁,BMI(21.5±2.4)kg/m²。两组研究对象在性别、年龄和 BMI 方面比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 治疗方法 ATD 组患儿在避免接触外来刺激、避免接触

变应原等常规治疗上给予 0.03% 他克莫司软膏治疗,用量用法为外用 2 次/日,每次间隔 12 h,疗程 3 周;患儿治愈后外用 2 次/周,维持治疗 2 个月。

1.3 观察指标 两组研究对象治疗前、治疗后 3、6、12 个月均检测如下指标:(1)淋巴细胞(Lym)和 T 淋巴细胞亚群,包括 CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞,采用流式细胞仪检测;(2)炎性细胞因子包括白细胞介素(IL)-4、IL-10、IL-12、IL-31、 γ 干扰素(IFN- γ)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测。

1.4 统计学处理 使用 SPSS13.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 t 检验,计数资料以率表示,比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 T 两组研究对象治疗前后 T 淋巴细胞对比 CON 组儿童治疗前、治疗后 3、6、12 个月的 Lym、CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ 均差异无统计学意义(均 $P > 0.05$);ATD 组患儿治疗后 3、6、12 个月的 Lym、CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ 均明显低于治疗前($P < 0.05$),治疗后 3、6、12 个月的 Lym、CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ 差异无统计学意义(均 $P > 0.05$);ATD 患儿治疗前的 Lym、CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ 均明显高于 CON 组($P < 0.05$),而治疗后 3、6、12 个月差异无统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组研究对象治疗前后 T 淋巴细胞对比($\bar{x} \pm s, n=50$)

组别	治疗时间	Lym($\times 10^9$)	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)
ATD 组	治疗前	4.3±1.8	71.2±8.9	45.5±4.3	30.8±5.1
	治疗后 3 个月	2.5±1.9	61.6±7.1	35.4±4.2	22.1±4.7
	6 个月	2.5±1.5	60.2±7.8	34.7±3.7	21.5±4.5
	12 个月	2.4±1.6	61.5±8.8	34.9±4.1	22.3±5.1
CON 组	治疗前	2.6±1.2	60.3±7.2*	33.1±3.2*	21.6±3.5*
	治疗后 3 个月	2.5±1.5	60.1±7.5	34.4±3.8	20.9±3.2

续表 1 两组研究对象治疗前后 T 淋巴细胞对比 ($\bar{x} \pm s, n=50$)

组别	治疗时间	Lym($\times 10^9$)	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)
	治疗后 6 个月	2.4±1.3	59.5±8.1	33.7±4.2	21.1±3.6
	治疗后 12 个月	2.3±1.7	60.3±6.9	34.6±3.8	21.2±3.1

注:与 ATD 组比较,* $P<0.05$ 。

2.2 两组研究对象治疗前后炎症细胞因子对比 CON 组儿童治疗前、治疗后 3、6、12 个月的 IL-4、IL-10、IL-12、IL-31、INF- γ 和 TNF- α 均差异无统计学意义($P>0.05$);ATD 组患儿治疗后 3、6、12 个月的 IL-4、IL-31、INF- γ 和 TNF- α 依次降

低,IL-10 和 IL-12 依次升高。ATD 组患者治疗前、治疗后 3、6、12 个月的 IL-4、IL-31、INF- γ 和 TNF- α 均明显高于 CON 组(均 $P<0.05$),而 IL-10 和 IL-12 均明显低于 CON 组($P<0.05$)。见表 2。

表 2 两组研究对象治疗前后炎症细胞因子对比 ($\bar{x} \pm s, n=50$)

组别	治疗时间	IL-4 (pg/mL)	IL-10 (μ g/mL)	IL-12 (pg/mL)	IL-31 (pg/mL)	INF- γ (pg/mL)	TNF- α (pg/mL)
ATD 组	治疗前	80.5±10.6	6.2±2.3	4.1±1.1	27.7±5.1	46.1±6.3	41.8±5.5
	治疗后 3 个月	42.2±7.4	12.9±3.1	7.5±1.4	10.1±4.1	30.7±5.1	9.6±3.2
	6 个月	37.5±5.1	15.1±2.4	8.1±1.5	8.6±3.1	28.1±4.3	7.7±2.1
	12 个月	36.3±4.2	15.5±2.4	8.9±1.7	7.5±2.5	27.7±3.5	7.5±1.8
CON 组	治疗前	32.6±4.9*	18.1±3.5*	10.8±1.9*	5.1±2.3*	22.6±5.5*	6.1±1.7*
	治疗后 3 个月	31.8±4.5*	17.9±3.2*	10.6±1.7	5.2±2.5*	21.8±4.8*	5.9±1.5*
	6 个月	32.1±4.3*	17.8±2.7*	10.5±1.6*	5.1±2.2*	22.1±5.1*	6.0±1.8*
	12 个月	31.4±4.5*	17.9±3.1*	10.7±1.6*	4.9±2.1*	21.9±4.7*	6.1±1.6*

注:与 ATD 组比较,* $P<0.05$ 。

3 讨 论

特应性皮炎的发病与机体免疫功能紊乱密切相关,环境因素或自身遗传背景导致患儿皮肤屏障功能异常或变应原引起机体免疫功能紊乱,产生特异性和非特异性免疫炎症反应损伤^[6]。目前发现与特应性皮炎相关的免疫细胞包括树突状细胞(DC)、T 淋巴细胞和肥大细胞,其中相关的 T 淋巴细胞包括辅助性 T 细胞(Th)1、Th2 和调节性 T 淋巴细胞,已证实 Th1/Th2 细胞功能失衡是特应性皮炎的始动因素,而调节性 T 淋巴细胞调节机体免疫反应,诱导并维持机体免疫耐受,变应原导致机体免疫耐受破坏而诱发自身免疫性疾病和变态反应性疾病^[7-8]。研究发现,特应性皮炎患者外周血中 T 淋巴细胞亚群高于健康人。本研究中,特应性皮炎患者外周血 Lym 和 T 淋巴细胞亚群(CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺)均明显高于健康儿童,证实 T 淋巴细胞免疫反应在特应性皮炎发病机制中的作用。

参与特应性皮炎发病中除了细胞免疫外,炎症免疫因子如 IL-4、IL-10、IL-12、IL-31、INF- γ 和 TNF- α 等已证实特应性皮炎发病、进展和转归中扮演重要角色。IL-4 为 Th2 细胞分泌的细胞因子,具有刺激 T 细胞增殖和促进 CD4⁺ T 细胞分化成 Th 细胞功能,研究发现其在特应性皮炎小鼠模型中病变组织 IL-4 明显高于正常组织^[9],而上调 IL-4 的表达可增强 T 细胞产生炎症细胞因子而加重特应性皮炎皮损^[10];IL-10 是 Th2 细胞因子,可抑制炎症因子产生,其水平降低时导致抑制炎症作用下降,在特应性皮炎患者皮损中明显降低^[11];IL-12 主要由 Th1 细胞分泌,可促进 T 细胞和自然杀伤细胞(NK)增殖,研究发现特应性皮炎患儿血清 IL-12 水平明显降低^[12];IL-31

由活化的 T 细胞分泌,特应性皮炎小鼠模型中搔抓行为与 IL-31 基因 mRNA 表达正相关,可能是一种引起瘙痒的介质^[13];INF- γ 可促进 T 细胞和 NK 细胞增殖活化,其水平与特应性皮炎病情密切相关;TNF- α 可刺激免疫细胞分泌 IL,促进局部炎症反应,降低 TNF- α 可减轻特应性皮炎小鼠的搔抓行为^[14]。本研究中,ATD 组患儿治疗前的 IL-4、IL-31、INF- γ 和 TNF- α 均明显高于 CON 组($P<0.05$),而 IL-10 和 IL-12 均明显高于 CON 组($P<0.05$),证实炎症细胞因子的失衡是特应性皮炎发病的重要机制。

他克莫司为钙调磷酸酶抑制剂,广泛应用于特应性皮炎的治疗,但目前对其治疗特应性皮炎的作用机制尚未完全明确,基于他克莫司抑制 T 淋巴细胞这一事实推测其可能通过抑制机体免疫功能发挥治疗作用。本研究中,采用他克莫司治疗特应性皮炎儿童后,Lym、CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、IL-4、IL-31、INF- γ 和 TNF- α 均明显降低,IL-10 和 IL-12 明显升高,表明他克莫司具有降低特应性皮炎儿童 T 淋巴细胞、IL-4、IL-31、INF- γ 和 TNF- α 作用,其中治疗 3 个月后 IL-4、IL-10、IL-12、IL-31、INF- γ 和 TNF- α 降低最明显,表明他克莫司治疗特应性皮炎具有起效快的优点;进一步研究发现,治疗后 6、12 个月的 Lym、CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、IL-4、IL-10、IL-12、IL-31、INF- γ 和 TNF- α 的差异不大,但仍高于健康儿童,表明他克莫司治疗特应性皮炎有效期短,该结果与临床上特应性皮炎治疗后易反复现象一致。综合以上研究结果,作者推测他克莫司通过改善 T 淋巴细胞和炎症细胞因子发挥对特应性皮炎的治疗作用。

参考文献

[1] 王佳华,毛薇,王晓华,等. 特应性皮炎(下转第 3194 页)

主要是激素治疗,大部分病例没有显著性诱因,其病理学改变一般为硬脊膜明显增厚,即为特发性 HSP。HSP 临床病理特征是硬膜肥厚、增生,表现慢性经过,临床病原体感染、出现硬膜肥厚造成的。可能病因主要是肿瘤、非感染性炎性疾病、感染性疾病等^[7-8]。HSP 实验室检查没有特异性,能够看出自身抗体增强。腰穿压力为正常,或是有所增高,细胞计数、蛋白计数均有所增高。在影像学方面分析,一般会产生广泛性结缔组织增生,而且可以在增生组织内部发现丰富的胶原纤维,大量炎性细胞浸润。同时,这些患者可能产生典型的脊髓压迫症状,若是采取 X 线片检查没有发生异常改变的患者,应该注意排除 HSP 的可能。本次研究结果显示,经 CT 检查时,硬脊膜炎的 CT 影像图显示硬脊膜增厚处于椎管背侧,形态为不规则的新月形,同时在硬膜外黄韧带下面存在半月形、高密度影,其内部表象点状钙质样密度,且同黄韧带之间的界限比较模糊。

经 MRI 检查时,硬脊膜炎的影像学表现为 T1WI、T2WI 上显示低信号,镜下可以观察到纤维组织增生,同时淋巴细胞浸润。脊髓造影、CT 检查、MRI 检查对 HSP 的临床诊断具有非常重要的作用。现阶段随着多层螺旋 CT 检查的完善,以及在临床中的广泛应用,其对脑部疾病的检查诊断也具有十分重要的作用。通过 CT 检查 HSP 患者,最为普遍的症状为受累硬脊膜增厚改变,同时病变部位在椎管背侧,分布不均匀,厚薄不一,呈新月形包绕脊髓显示为规则或者不规则改变。如果得到临床确诊后,应该采取手术治疗,防止脊髓产生不可逆的损伤。由于 HSP 是临床较为罕见的疾病,临床诊断具有较大困难,临床医生必须明确掌握 HSP 患者的病理表现、MRI 以及 CT 成像等影像学特点,不断增强对 HSP 的认知。CT、MRI 检查对 HSP 具有非常高的临床诊断价值,二者能够有机地结合起来互为补充,在检查过程中结合患者的实际情况予以明确

诊断,避免漏诊、误诊的发生。

参考文献

- [1] 张忻宇,隋庆兰.耳源性肥厚性硬脑膜炎的临床表现和 CT、MRI 特点[J].中国医学影像技术,2007,23(3):370-373.
- [2] 陶晓峰,黄流清,肖湘生.特发性肥厚性硬脊膜炎的 MRI 诊断[J].中华放射学杂志,2003,37(7):665.
- [3] 毛文萍,陈峰,侯一民.肥厚性硬脑、脊膜炎的影像诊断[J].现代医用影像学,1998,7(5):207-209.
- [4] 曹代荣,慕容慎行,倪希和,等.肥厚性硬脑膜炎 12 例临床表现和影像特征[J].中华神经科杂志,2011,34(3):213-215.
- [5] Takuma H, Shimada H, Inoue Y, et al. Hypertrophic pachymeningitis with anti-neutrophil cytoplasmic antibody (p-ANCA), and diabetes insipidus[J]. Acta Neurol Scand, 2011, 104(6):397-401.
- [6] Voller B, Vass K, Wanschitz J, et al. Hypertrophic chronic pachymeningitis as a localized immune process in the craniocervical region[J]. Neurology, 2001, 56(1):107-109.
- [7] 侯铁胜,倪斌,欧阳跃平.肥厚性硬脊膜炎的诊断与治疗[J].中华小儿外科杂志,1995,16(6):324-325.
- [8] 张海鹰,林志坚.肥厚性硬脑膜炎的临床表现及影像学特征[J].中风与神经疾病杂志,2007,24(3):306-308.

(收稿日期:2014-04-20 修回日期:2014-05-30)

(上接第 3192 页)

- 患者外周血 IFN- γ 、IL-4、IL-18 的检测[J].中国麻风皮肤病杂志,2013,29(1):21-22.
- [2] 曾美,高谦,李庆祥,等.46 例特应性皮炎患者临床分析及外周血 T 细胞亚群检测[J].中国麻风皮肤病杂志,2013,29(5):353-355.
 - [3] 梁源,张霞,燕丽,等.0.03%他克莫司软膏治疗中重度特应性皮炎患儿疗效和安全性观察[J].中华皮肤科杂志,2013,46(1):49-51.
 - [4] Ucak H, Demir B, Cicek D, et al. Efficacy of topical tacrolimus for the treatment of persistent pruritus ani in patients with atopic dermatitis[J]. J Dermatolog Treat, 2013, 24(6):454-457.
 - [5] Williams HC, Burney PG, Pembroke AC, et al. Validation of the U. K. diagnostic criteria for atopic dermatitis in a population setting. U. K. Diagnostic Criteria for Atopic Dermatitis Working Party[J]. Br J Dermatol, 1996, 135(1):12-17.
 - [6] Lan CC, Fang AH, Wu PH, et al. Tacrolimus ointment: a review of its use in clinical dermatology[J]. J Practical Dermatol, 2013, 6(1):28-30.
 - [7] 秦思,温炬,郑荣昌,等. T 细胞在银屑病与特应性皮炎发病机制中的研究进展[J].广东医学,2013,34(7):1126-1129.

- [8] 马蕾,薛海波,周荣佼,等.特应性皮炎患者外周血调节性 T 细胞与 Th17 细胞平衡状态分析[J].中华皮肤科杂志,2012,45(7):481-484.
- [9] Sugiura K, Hiramoto K, Shamoto M, et al. Immunological cell situation in the skin of atopic model mice[J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2004, 18(2):148-152.
- [10] Ardern-Jones MR, Black AP, Bateman EA, et al. Bacterial superantigen facilitates epithelial presentation of allergen to T helper 2 cells[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(13):5557-5562.
- [11] 许银姬,佟金平,王惠娟. IL-10 基因多态性与特应性皮炎发生的相关性[J].基础医学与临床,2010,30(7):763-766.
- [12] 彭华,陈勇挺,汪建,等.白介素 4 与白介素 12 在变应性鼻炎、哮喘和特应性皮炎中的表达及意义[J].广东医学,2010,31(6):727-728.
- [13] 郑静,曹雪梅,孙万邦. IL-31 与特应性皮炎的相关性研究进展[J].北京医学,2009,31(5):296-298.
- [14] 盛楠,宗文凯,余美文,等.咪喹斯汀治疗湿疹和特应性皮炎临床疗效及免疫机制的初步研究[J].临床皮肤科杂志,2009,38(7):440-442.

(收稿日期:2014-03-08 修回日期:2014-06-29)