

• 临床探讨 •

喘息婴幼儿 Th17/Treg 免疫平衡和肺功能变化及其相关性研究*

黄坤玲¹, 刘建华¹, 帅金凤¹, 路素坤¹, 曹丽洁¹, 牛波¹, 李保弛¹, 张卉¹, 刘向飞²

(1. 河北省儿童医院呼吸科, 石家庄 050000; 2. 河北省保定市传染病医院 071000)

摘要:目的 探讨喘息婴幼儿辅助性 T 细胞(Th)17/调节性 T 细胞(Treg)免疫平衡和肺功能变化及其相关性。方法 选取 2015 年 7 月至 2016 年 7 月在河北省儿童医院呼吸科病房住院的感染性喘息患儿 60 例, 非喘息患儿 50 例, 以及健康体检儿童 50 例作为研究对象, 测定 Th17/Treg 在喘息婴幼儿外周血中的变化及血清中白细胞介素-17(IL-17)、IL-10 的表达情况, 采用肺功能检测仪检测患儿潮气呼吸肺功能, 回顾性分析其与肺功能的变化及其相关性。结果 感染性喘息组患儿 Th17/Treg、IL-17/IL-10 水平明显高于非喘息组与健康对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 感染性喘息组患儿到达潮气呼气峰流速时的时间/呼气时间、到达潮气呼气峰流速时的呼气量/呼气容积水平明显低于非喘息组与健康对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。经 Pearson 相关分析结果显示, 感染性喘息患儿 IL-17 与到达潮气呼气峰流速时的时间/呼气时间、到达潮气呼气峰流速时的呼气量/呼气容积潮气呼吸肺功能指标呈负相关($r = -0.327 5, -0.452 5$), 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 感染性喘息患儿 IL-10 与潮气呼吸肺功能指标呈正相关($r = 0.292 1, 0.490 3$), 差异有统计学意义($P < 0.05$)。对感染性喘息组患儿进行 6 个月随访了解预后, 60 例感染性喘息组患儿中有 24 例(40.00%)发展为哮喘, 36 例(60.00%)未发展为哮喘, 哮喘组患儿 Th17/Treg 和肺功能变化与未发展为哮喘组患儿有明显差异, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 Th17/Treg 免疫平衡与喘息婴幼儿肺功能变化存在一定的相关性。早期监测喘息婴幼儿外周血 Th17/Treg 及相关细胞因子(IL-17/IL-10)和肺功能可作为预测儿童哮喘发生的可靠性指标, 对婴幼儿哮喘具有一定的预测意义, 对患儿进行早期干预、治疗, 可有效减轻社会及家庭经济负担。

关键词:辅助性 T 细胞 17; 调节性 T 细胞; 免疫平衡; 婴幼儿喘息性疾病; 肺功能; 相关性

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.16.038 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2017)16-2435-03

近年来, 儿童喘息和哮喘的发病率在全球范围内逐渐上升, 婴幼儿表现尤其明显, 给社会和患儿家庭造成巨大的精神和经济负担^[1]。然而目前婴幼儿喘息性疾病的发病机制尚不明确, 国内临床对细胞分子水平变化与婴幼儿喘息性疾病的相关性研究尚少, 很难找到预测婴幼儿喘息发展为哮喘的可靠指标。随着对细胞分子水平的深入研究, 辅助性 T 细胞(Th)17 和调节性 T 细胞(Treg)在哮喘中的作用日益受到重视^[2]。有研究认为, Th17/Treg 免疫应答失衡与哮喘的发生发展、严重程度及症状控制相关^[3]。本研究为进一步探讨研究喘息婴幼儿 Th17/Treg 免疫平衡和肺功能变化及其相关性, 通过测定 Th17/Treg 在喘息婴幼儿外周血中的变化, 分析其与支气管哮喘发病机制的联系, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 7 月至 2016 年 7 月河北省儿童医院收治 160 例患者纳入本研究, 其中呼吸科病房住院的 60 例感染性喘息患儿为感染性喘息组, 男 22 例, 女 38 例, 平均年龄(1.92±0.77)岁。50 例非喘息患儿为非喘息组, 男 24 例, 女 26 例, 平均年龄(1.98±0.62)岁。50 例保健门诊体检者为健康对照组, 男 25 例, 女 25 例, 平均年龄(2.01±0.52)岁。感染性喘息患儿纳入标准: (1)年龄均在 1 个月至 3 岁, 根据临床表现及实验室检查确诊为细菌感染性喘息的患儿; (2)各项生命体征正常的患儿; (3)能够配合完成研究的患儿。排除标准: (1)心、肝、肾功能严重损伤的患儿; (2)支气管异物、心源性哮喘、先天性喉喘鸣、嗜酸粒细胞性肺炎、胃食管反流等疾病引起喘息的患儿。本研究经伦理委员会批准后实施, 患儿家属对本研究方案均已详细了解, 并主动签署知情同意书, 患儿的临床资料均不公开, 充分尊重患儿的隐私性。以上所有研究对象年龄均为 1 个月至 3 岁, 一般资料比较差异均无统计学意义($P > 0.05$), 具有一定可比性。

1.2 方法 采用流式细胞仪检测 3 组研究对象 Th17 细胞、

Treg 在外周血中的比例, 采用酶联免疫吸附试验测定 3 组研究对象血清中 IL-17、IL-10 的表达情况, 采用肺功能仪测定 3 组研究对象潮气呼吸肺功能。研究中对研究对象肺功能进行检测的技术人员均为本科以上学历的医师, 且受过相关检测培训, 具有同质性, 检测结果准确、可靠。

1.3 评价指标 (1)比较 3 组研究对象外周血 Th17/Treg 及相关细胞因子 IL-17/IL-10 表达和潮气呼吸肺功能变化。潮气呼吸肺功能相关指标主要包括到达潮气呼气峰流速时的时间/呼气时间(TPTEF/TE)、到达潮气呼气峰流速时的呼气量/呼气容积((VPTEF/VE)。根据《2008 年哮喘诊断与防治指南》中的指标标准评估外周血 Th17/Treg 及相关细胞因子 IL-17/IL-10 表达和 TPTEF/TE、VPTEF/VE 潮气呼吸肺功能变化。Th17/Treg 标准值: 0.14~0.18, IL-17/IL-10 标准值: 0.94~1.06, TPTEF/TE 标准值: 24.00%~35.00%, VPTEF/VE 标准值: 21.00%~32.00%。(2)分析感染性喘息患儿 IL-17、IL-10 表达水平与 TPTEF/TE、VPTEF/VE 潮气呼吸肺功能指标的相关性。(3)对感染性喘息组患儿进行 6 个月随访了解预后, 对比发展为哮喘组患儿及未发展为哮喘组患儿 Th17/Treg 和肺功能的变化。婴幼儿哮喘的诊断标准: (1)喘息发作大于或等于 3 次; (2)发作时双肺闻及以呼气相为主的哮鸣音, 呼气相延长; (3)排除其他婴幼儿时期的喘息疾病。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件包进行数据处理, 各组间计数资料以百分率表示, 采用 χ^2 检验; 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验。检验前各组进行正态性检验和方差齐性检验。组间资料比较采用方差分析, 变量相关分析采用 Pearson 相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组研究对象外周血 Th17/Treg、IL-17/IL-10 表达及潮气呼吸肺功能比较 见表 1。感染性喘息组患儿 Th17/Treg、IL-17/IL-10 指标水平明显高于非喘息组和健康对照组, 感染

* 基金项目: 河北省卫生和计划生育委员会青年科技课题资助项目(20170381)。

性喘息组患儿 TPTEF/TE、VPTEF/VE 指标水平明显低于非喘息组和健康对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 3组 Th17/Treg、IL-17/IL-10 表达及潮气呼吸肺功能比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Th17/Treg	IL-17/IL-10	TPTEF/TE(%)	VPTEF/VE(%)
健康对照组	50	0.16 ± 0.03	1.02 ± 0.26	29.35 ± 6.85	26.42 ± 5.23
非喘息组	50	0.22 ± 0.05	1.23 ± 0.29	19.32 ± 4.31	25.19 ± 4.02
感染性喘息组	60	0.49 ± 0.10	2.51 ± 0.77	17.36 ± 4.36	23.32 ± 5.31
t_1		17.359 9	11.109 3	2.359 9	2.048 1
P_1		0.000 0	0.000 0	0.020 1	0.043 0
t_2		22.491 1	13.067 7	11.125 9	3.069 7
P_2		0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.002 7

注: t_1 、 P_1 是感染性喘息组与非喘息组比较; t_2 、 P_2 是感染性喘息组与健康对照组比较

2.2 感染性喘息患儿 IL-17、IL-10 表达水平与潮气呼吸肺功能相关性分析 见表 2。经 Pearson 相关分析显示,感染性喘息患儿 IL-17 与 TPTEF/TE、VPTEF/VE 潮气呼吸肺功能指标呈负相关($r = -0.327 5$ 、 $-0.452 5$),差异均有统计学意义($P < 0.05$);感染性喘息患儿 IL-10 与 TPTEF/TE、VPTEF/VE 潮气呼吸肺功能指标呈正相关($r = 0.292 1$ 、 $0.490 3$),差异均有统计学意义($P < 0.05$);

表 2 感染性喘息患儿 IL-17、IL-10 表达水平与潮气呼吸肺功能相关性分析

相关细胞因子	TPTEF/TE		VPTEF/VE	
	r	P	r	P
IL-17	-0.327 5	0.003 2	-0.452 5	0.002 3
IL-10	0.292 1	0.004 1	0.490 3	0.001 9

2.3 发展为哮喘组患儿及未发展为哮喘组患儿 Th17/Treg 和肺功能比较 见表 3。对感染性喘息组患儿进行随访了解预后发现,60 例感染性喘息组患儿中有 24 例(40.00%)发展为哮喘,36 例(60.00%)未发展为哮喘,发展为哮喘组患儿 Th17/Treg 和肺功能变化与未发展为哮喘组患儿比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 3 两组患儿 Th17/Treg 和肺功能比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Th17/Treg	TPTEF/TE(%)	VPTEF/VE(%)
发展为哮喘组	24	0.47 ± 0.11	18.36 ± 3.99	22.36 ± 2.36
未发展为哮喘组	36	0.21 ± 0.07	26.06 ± 9.35	25.23 ± 6.42
t		11.203 6	3.801 9	2.092 8
P		0.000 0	0.000 3	0.040 7

3 讨 论

婴幼儿喘息是与哮喘密切相关的气道炎症性疾病,反复发作的喘息是哮喘的高危因素^[4]。目前还很难找到可靠的客观指标来区分喘息婴幼儿中的哮喘患儿,导致治疗过度,医疗资源消耗增加,家庭及社会负担加重,甚至可能出现诊断、治疗不足,耽误婴幼儿哮喘早期干预及治疗时间,影响预后^[5]。因此,探讨婴幼儿喘息性疾病的发病机制,分析其与哮喘发病机制之间的关系,寻找预测婴幼儿喘息发展为哮喘的可靠指标,是目前亟待解决的问题。

本研究针对石家庄地区喘息婴幼儿测定 Th17/Treg 免疫平衡变化,结果显示, Th17/Treg、IL-17/IL-10 水平由高到低排序依次为感染性喘息组、非喘息组、健康对照组, TPTEF/TE、VPTEF/VE 水平由低到高排序依次为:感染性喘息组、非喘息组、健康对照组,感染性喘息组与非喘息组、健康对照组比

较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。喘息婴幼儿的气道反应逐渐加强会增加对外界刺激的敏感程度,对其分析显示辅助 T 淋巴细胞免疫失常是影响哮喘的主要因素,即为 Th17/Treg 失衡所致^[6]。当喘息性婴幼儿 Th17 细胞数量降低时其功能也会随之减弱, Th17 类细胞因子一定程度增多并且血液中 IL-4、IL-6、IL-17 等炎性因子水平过多均会使气道反应明显而导致哮喘^[7]。T-reg 降低对支气管高反应性有良好的作用,具有较强大的抗炎作用,能减少炎症物质的分泌,有效抑制患儿气道免疫细胞活性,具有较强的抗炎抗过敏作用,由此可见 T-reg 在预防人类自体免疫疾病及协助抵御微生物感染、保护胎儿方面起到至关重要的作用^[8-9]。在正常情况下 Th17/Treg 是一种相对平衡稳定的状态,二者会分泌不同种类与功能的细胞因子,并且会十分和谐地形成一种相互促进与制约的理想状态进而实现免疫调节作用^[10]。随着婴幼儿喘息病情的发展,患儿免疫功能逐渐减低,这就导致 Th17 及 T-reg 数量改变,因此感染性喘息患儿 Th17/Treg 水平较其他患儿明显失衡^[11]。

本研究对感染性喘息组患儿进行随访了解预后发现,60 例感染性喘息组患儿中有 24 例发展为哮喘,36 例未发展为哮喘,哮喘组患儿 Th17/Treg 和肺功能变化与未发展为哮喘组患儿比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。这也进一步说明相关细胞因子 IL-17/IL-10 和肺功能能够作为预测儿童哮喘发生的可靠性指标,对婴幼儿哮喘具有一定的预测意义,这与张维等^[12]学者的研究结果相似。IL-17、IL-10 相关细胞因子的释放,降低了血管的通透性,可解除支气管平滑肌痉挛,提高支气管黏膜纤毛上皮细胞廓清能力,主要作用于中、小气道,防止呼吸道平滑肌痉挛^[13]。本研究结果显示,随着喘息病情加重,患儿 IL-17 水平升高趋势明显,IL-10 降低趋势明显,这就导致感染性喘息组患儿 IL-17/IL-10 水平明显高于非喘息组和健康对照组。很多临床研究分析表明, TPTEF/TE、VPTEF/VE 都是与气道重塑紧密相关的指标,与细胞增殖、平滑肌增生效果及心血管形成都有一定关系, Th17/Treg 免疫平衡与以上指标具有一定的相关性,其相互综合的效果严重影响气道重塑的效果,且与婴幼儿喘息的进展密切相关^[14-15]。

总之, Th17/Treg 免疫平衡与喘息婴幼儿肺功能的变化存在一定的相关性,为今后防治婴幼儿喘息提供了理论依据。早期监测喘息婴幼儿外周血 Th17/Treg 及相关细胞因子 IL-17/IL-10 和肺功能能够作为预测儿童哮喘发生的可靠指标,对婴幼儿哮喘有一定的预测意义,对患儿进行早期干预、治疗,能有效减轻社会及家庭经济负担。本研究的不足之处在于标本数量过少,这就导致研究结果不具普遍性,可能存在一定的误差。如果想要进一步分析,还需要扩大标本量,以保证结果准确、有效。今后,临床上对 Th17/Treg 免疫平衡与喘息婴幼儿肺功能的相关性还会进一步研究,这也将为防治婴幼儿喘息提供更

为权威的临床依据。

参考文献

[1] 王攀,吕剑平,吕进泉.反复喘息的婴幼儿外周血髓源性抑制细胞和 Th17 细胞的检测及意义[J].中国当代儿科杂志,2015,17(4):312-316.

[2] 卞芳芳,张冲林,甄清,等.瘦素、IL-17 水平与婴幼儿喘息患儿哮喘预测指数的相关性[J].临床肺科杂志,2016,21(10):1853-1855.

[3] 陈晓媛,高英,马金海,等.婴幼儿喘息的相关因素分析[J].宁夏医学杂志,2015,37(2):151-153.

[4] Brembilla NC, Montanari E, Truchetet ME, et al. Th17 cells favor inflammatory responses while inhibiting type I collagen deposition by dermal fibroblasts; differential effects in healthy and systemic sclerosis fibroblasts[J]. Arthritis Res Ther, 2013, 15(5):R151.

[5] 王华英,翁跃颂,应华娟,等.慢性阻塞性肺疾病患者 Th17/Treg 细胞失衡与肺功能相关性研究[J].中华微生物学和免疫学杂志,2014,34(7):527-533.

[6] 龚臣,邓静敏. Th17/Treg 在支气管哮喘发病机制中的作用及研究进展[J/CD].中华哮喘杂志(电子版),2013,7(3):201-205.

[7] 黎明,杨威.孟鲁司特治疗对支气管哮喘患者肺功能及 Th1、Treg 平衡的调节作用[J].临床和实验医学杂志,2017,16(2):190.

[8] Chatterjee S, Das S, Chakraborty P, et al. Myeloid derived

suppressor cells (MDSCs) can induce the Generation of Th17 response from naive CD4⁺ T cells[J]. Immunobiology, 2013, 218(5):718-724.

[9] 赵茜叶,周旭华,于艳艳. Th17/IL-17 与呼吸道合胞病毒毛细支气管炎气道炎症相关性[J].中国儿童保健杂志,2014,22(4):414-416.

[10] 王艳丽,陆小霞,陈鹏,等. Tim-3 在哮喘小鼠中的表达及与 Th17/Treg 细胞的关系[J].实用医学杂志,2015,31(7):1095-1098.

[11] 朱晓华,陈强,李秋根,等.儿童巨细胞病毒感染致喘息发生的免疫学机制[J].中国当代儿科杂志,2016,18(9):831-834.

[12] 张维,王新卫,刘新年. 68 例支气管哮喘患者中 Th17 和 Treg 联合检测的临床意义[J].重庆医学,2013,42(14):1583-1584.

[13] 门翔,尚喜雨. COPD 患者 Th17 细胞和 Treg 细胞介导的免疫应答变化及免疫失衡与肺功能的关系研究[J].中国免疫学杂志,2016,32(12):1826-1829.

[14] Veiga-Parga T, Sehrawat S, Rouse BT. Role of regulatory T cells during virus infection[J]. Immunol Rev, 2013, 255(1):182-196.

[15] 容嘉妍,黄娟,王冰洁,等. 0-3 岁反复喘息婴幼儿 ACE 基因多态性与喘息危险因素的相关性研究[J].中国妇幼保健,2014,29(23):3812.

(收稿日期:2017-02-16 修回日期:2017-04-23)

• 临床探讨 •

丙种球蛋白应用时间对川崎病患儿退热时间及冠状动脉损伤的影响

安娜,姚旭,郭锦明,邢丽梅,吕娜,柏金秀[△]
(河北大学附属医院儿科,河北保定 071000)

摘要:目的 探索丙种球蛋白应用时间对川崎病(KD)患儿退热时间及冠状动脉损伤的影响。方法 选择 2015 年 1-12 月该院儿科住院部接收并经检查确诊的 110 例 KD 患儿纳入临床研究,均静脉注射丙种球蛋白,且根据应用时间的不同将患儿分为 3 组,早期用药组(病程为 1~5 d)32 例,中期用药组(病程为超过 5~10 d)37 例,晚期用药组(病程超过 10 d)41 例。分析其临床症状改善情况、冠状动脉病变发生情况、丙种球蛋白无反应性情况及实验室指标变化情况。**结果** 中期用药组和晚期用药组患儿退热时间及各种症状消退时间均较早期用药组明显增加,差异均有统计学意义($P < 0.05$);晚期用药组患儿退热时间、颈淋巴结肿大消退时间及手足肿胀消退时间均较中期用药组明显增加,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。中期用药组和晚期用药组患儿冠状动脉损伤发生率均明显高于早期用药组患儿,差异均有统计学意义($P < 0.05$);晚期用药组患儿丙种球蛋白无反应性发生率均明显高于早期用药组和中期用药组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。3 组患儿治疗后 C 反应蛋白、血小板计数、红细胞沉降率均较治疗前明显减少,差异有统计学意义($P < 0.05$),但组间两两比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** KD 患儿于发病 6~10 d 时开始静脉注射丙种球蛋白,其冠状动脉损伤发生率、丙种球蛋白无反应性发生率均较低,且治疗所需时间缩短,推测此阶段是丙种球蛋白应用的最好时机,可为临床治疗提供参考。

关键词:丙种球蛋白; 时间因素; 川崎病; 冠状动脉损伤

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.16.039 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2017)16-2437-03

川崎病(KD)是以全身性血管炎为主要病变的小儿急性发热性疾病,也是引起儿童后天获得性心脏病的最常见原因之一,其发病率在近些年一直呈上升趋势,应引起高度重视^[1]。目前临床对 KD 发病原因尚未完全了解,而治疗目的为尽可能减轻全身炎症反应以缓解临床症状、降低冠状动脉损害程度,及时、合理的应用大剂量丙种球蛋白是目前常用的治疗方

法^[2]。静脉注射丙种球蛋白治疗 KD 能缩短发热时间,减少冠状动脉瘤的发生,但临床对其用药时间尚无定论^[3]。本研究将重点探索丙种球蛋白应用时间对 KD 患儿退热时间及冠状动脉损伤的影响,以期为临床应用提供参考,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015 年 1-12 月本院儿科住院部接收

[△] 通信作者, E-mail: baijinx@163.com.