

· 临床探讨 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.15.024

手足口病患儿 Th17/Treg 及其相关细胞因子的临床意义*

何媛¹, 周小娟¹, 何巍巍¹, 梁晓君¹, 王文娟¹, 江永清¹, 卢军²

九江学院附属医院:1. 检验科;2. 皮肤科, 江西九江 332000

摘要:目的 探讨外周血辅助性 T 细胞 17(Th17)与调节性 T 细胞(Treg),血清中相关细胞因子白细胞介素-17(IL-17)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-10(IL-10)、转化生长因子- β (TGF- β)在手足口病(HFMD)中的作用。方法 选取 125 例 HFMD 急性期患儿和 45 例健康体检者,其中急性期 HFMD 患儿分为普通组(69 例)和重症组(56 例)。外周血 Th17、Treg 百分数检测采用流式细胞术,血清 IL-17、IL-6、IL-10、TGF- β 水平检测利用酶联免疫吸附试验测定。结果 和对照组相比,重症组和普通组患儿外周血 Th17 百分比和 Th17/Treg 比值,以及血清 IL-17、IL-6 水平均升高(均 $P < 0.05$),外周血 Treg 百分比和血清 IL-10、TGF- β 水平均降低(均 $P < 0.05$)。重症组患儿外周血 Th17 百分比和 Th17/Treg 比值,以及血清 IL-17、IL-6 水平均高于普通组(均 $P < 0.05$),外周血 Treg 百分比和血清 IL-10、TGF- β 水平均低于普通组(均 $P < 0.05$)。结论 Th17 和 Treg 及其相关细胞因子水平变化异常与 HFMD 发病及疾病进程相关。

关键词:手足口病; 辅助性 T 细胞 17; 调节性 T 细胞; 白细胞介素-17; 白细胞介素-6; 白细胞介素-10; 转化生长因子- β

中图分类号:R725.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)15-2190-03

手足口病(HFMD)是一种主要由柯萨奇病毒 A16 型(CA16)及肠道病毒 71 型(EV71)等病毒引起的小儿常见传染病,特点为发热和手、足、口、臀等部位出疹。大多数患儿 7 d 内可自愈。少数重症患儿发病后会出现不同程度神经系统、呼吸系统、循环系统受累症状^[1]。关于 HFMD 的发生机制,目前尚不十分明确。相关研究表明,HFMD 的发病与炎症反应、机体免疫功能密切相关^[2]。辅助性 T 细胞[主要是辅助性 T 细胞 17(Th17)]和调节性 T 细胞(Treg)二者比例失衡可引起免疫功能异常。本研究欲通过分析 HFMD 患儿外周血中 Th17、Treg 细胞及相关细胞因子水平的变化,探讨其与 HFMD 的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选自 2016 年 1 月至 2018 年 10 月九江学院附属医院收治的 125 例 HFMD 患儿,其中男 67 例、女 58 例,月龄 10~38 个月,所有患儿均符合国家卫生健康委员会制定的《手足口病诊疗指南(2018 年版)》诊断标准^[3],且均无免疫、神经等系统基础病史。按照《手足口病诊疗指南(2018 年版)》^[3]将急性期 HFMD 患儿分为普通组(69 例)和重症组(56 例)。对照组为同期来本院儿科门诊体检正常的儿童 45 例,月龄 12~40 个月。各组儿童的性别、月龄等一般资料比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

1.2 仪器 BD FACSCanto II 流式细胞仪(美国 BD 公司),ST-360 洗板机和酶标仪(上海科华实验系统有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 标本收集 所有研究对象清晨空腹抽取静脉血 3 mL,3 000 r/min 离心 5 min,分离出血清后,-80 °C 保存,用于检测白细胞介素-17(IL-17)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-10(IL-10)、转化生长因子- β (TGF- β);同时取 2 mL EDTA-K₂ 抗凝静脉血检测 Th17 和 Treg。

表 1 各组一般临床资料比较

组别	n	男(n)	女(n)	月龄($\bar{x} \pm s$,月)
对照组	45	23	22	23.7 \pm 5.9
HFMD 组				
普通组	69	37	32	23.3 \pm 6.5
重症组	56	30	26	22.9 \pm 6.2

1.3.2 检测方法 Th17 和 Treg 检测:采用 BD FACSCanto II 流式细胞仪和美国库尔特公司提供的试剂,严格按照仪器和试剂操作说明书进行操作。并采用 BD Cell Quest 软件分析测定 Th17/Treg 比值。IL-17、IL-6、IL-10、TGF- β 检测:采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定,试剂购自上海江莱生物科技有限公司,严格按照说明书进行操作,绘制标准曲线,计算各指标水平。

1.4 统计学处理 应用 SPSS18.0 统计软件进行数据处理和分析,正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,对不符合正态分布的计量资料经 \log_{10} 对数转换成正态分布,组间比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

* 基金项目:江西省卫生和计划生育委员会科技计划项目(20185489)。

2 结 果

2.1 各组外周血 Th17、Treg 结果比较 HFMD 患儿中,重症组和普通组外周血 Th17 百分数和 Th17/Treg 比值均升高,外周血 Treg 细胞百分比下降,与对照组比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。HFMD 重症组外周血 Th17 百分数和 Th17/Treg 比值高于 HFMD 普通组($P < 0.05$),而外周血 Treg 百分数低于 HFMD 普通组($P < 0.05$)。见表 2。

2.2 各组 IL-17、IL-6、IL-10、TGF- β 水平比较 和对照组相比, HFMD 患儿重症组和普通组血清 IL-17、IL-6 水平均升高,血清 IL-10、TGF- β 水平均下降

(均 $P < 0.05$)。HFMD 重症组血清 IL-17、IL-6 水平高于普通组,血清 IL-10、TGF- β 水平低于普通组(均 $P < 0.05$)。见表 3。

表 2 各组外周血 Th17、Treg 结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Th17(%)	Treg(%)	Th17/Treg
对照组	45	1.67 \pm 0.21	7.19 \pm 2.12	0.19 \pm 0.06
HFMD 组				
普通组	69	3.49 \pm 1.16*	5.23 \pm 1.03*	0.69 \pm 0.08*
重症组	56	8.61 \pm 2.25* Δ	2.98 \pm 0.75* Δ	2.34 \pm 0.68* Δ

注:与对照组比较,* $P < 0.05$;与普通组比较, $\Delta P < 0.05$

表 3 各组 IL-17、IL-6、IL-10、TGF- β 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-17(ng/L)	IL-6(ng/L)	IL-10(ng/L)	TGF- β (μ g/L)
对照组	45	0.66 \pm 0.34	0.58 \pm 0.14	2.31 \pm 0.05	2.08 \pm 0.20
HFMD 组					
普通组	69	1.75 \pm 0.29*	1.52 \pm 0.17*	1.17 \pm 0.11*	1.55 \pm 0.16*
重症组	56	2.82 \pm 0.31* Δ	2.43 \pm 0.28* Δ	0.56 \pm 0.18* Δ	0.78 \pm 0.22* Δ

注:与对照组比较,* $P < 0.05$;与普通组比较, $\Delta P < 0.05$

3 讨 论

HFMD 是一种世界范围内流行的病毒性传染病,好发于 5 岁以内幼儿。其中重症患儿主要因神经源性肺水肿及循环衰竭而死亡^[3]。有研究表明, HFMD 患儿机体免疫状态可发生改变,并且其机体免疫功能随病情程度变化^[4-5]。但是 HFMD 患儿免疫功能发生改变的确切机制并不十分清楚。

淋巴细胞是机体重要的免疫细胞群,可分化为多种亚群,例如 T、NK、B 细胞等。T 细胞包括 CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞,CD4⁺T 细胞亚群一方面通过细胞毒作用和分泌细胞因子直接清除异己,另一方面通过介导作用促进其他免疫细胞增殖、分化,从而发挥效应^[6]。Th17 是一种新的 CD4⁺辅助性 T 细胞亚型,主要分泌 IL-17、IL-6、IL-21、IL-22、TNF- α 等细胞因子^[7],介导炎症反应。有研究发现, EV71 感染引起的 HFMD 高表达 Th17, IL-17A 水平也显著升高,提示 Th17 和 IL-17A 与 EV71 型 HFMD 疾病相关^[8]。此外, LUO 等^[9]研究 CA16 感染引起的 HFMD 患儿,发现 IL-17A 水平明显升高。在本研究中,随着 HFMD 疾病的发生和发展, Th17、IL-17、IL-6 水平上升,这和以上研究相符。进一步说明 Th17、IL-17、IL-6 可能和 HFMD 相关。

CD4⁺CD25⁺Treg 是一类具有免疫抑制作用的 T 细胞亚群,一方面分泌 IL-10、TGF- β 等细胞因子,可维持免疫系统稳定;另一方面可抑制 IL-17 的反应,保护机体因免疫炎症反应引起的损伤^[10]。本研究发现,急性期 HFMD 患儿 Treg 百分数和血清 IL-10、TGF- β 水平均低于对照组,其中重症组 Treg 百分数和血清

IL-10 和 TGF- β 水平比普通组低。本结果说明 HFMD 患儿存在因 Treg 不足导致免疫功能不全,炎症反应加强的情况。

正常情况下, Th17 和 Treg 两者相互拮抗、维持机体动态平衡和正常免疫反应,确保机体处于免疫稳态。本研究结果显示,和对照组相比, HFMD 患儿 Th17/Treg 比值增加,并且随着疾病严重程度而增加,说明在 HFMD 中,存在 Th17/Treg 失衡,并且和患儿的疾病严重程度相关。这和姜涛等^[11]研究观点一致。

有报道说在 HFMD 脑脊液中 IL-6 水平升高^[12]。因 IL-6 是一种促炎因子,生物活性广泛,具有介导机体免疫损伤作用,也影响 Treg 和 Th17 之间的平衡。在本研究中 HFMD 患儿血清 IL-6 水平也升高,说明 IL-6 参与了 HFMD 炎症反应。TGF- β 作为一种细胞因子,有 TGF- β_1 、TGF- β_2 和 TGF- β_3 等亚型,具有免疫调节作用,可拮抗炎症因子作用从而抑制免疫反应。TGF- β 对 Th17 和 Treg 的分化极其重要,添加 IL-6 到 TGF- β_1 ,可抑制 Treg 的生成,并诱导 Th17 的产生^[13]。IL-10 也称细胞因子合成抑制因子,可抑制激活的单核细胞、巨噬细胞、粒细胞、T 细胞作用,是重要的抗炎因子之一。本研究发现,在 HFMD 患儿体内存在血清 IL-17、IL-6 水平升高与血清 IL-10、TGF- β 水平下降,并且均随疾病严重程度变化加剧,说明患儿体内存在促炎和抗炎状态紊乱与失衡。

综上所述,在 HFMD 的发生、发展中,可出现 Th17、Treg 细胞数异常导致 Th17/Treg 失衡。而 Th17、Treg 相应细胞因子水平变化导致促炎因子和

抗炎因子紊乱,则在 Th17/Treg 失衡中进一步发挥了重要作用。联合检测不同 CD4⁺ T 细胞亚群和相应细胞因子水平,可帮助监测 HFMD 的发生和判断疾病的严重程度。

参考文献

[1] 张育才,王荃,钱素云,等.手足口病的临床分期、分型与重症手足口病的早期识别[J].中国临床医生杂志,2018,46(7):757-759.

[2] 孙春艳,徐书珍,张定荣,等.手足口病患儿早期抗炎-促炎机制及免疫功能变化的研究[J].中华妇幼临床医学杂志,2014,10(5):86-89.

[3] 佚名.手足口病诊疗指南:2018年版[J].中国病毒病杂志,2018,8(5):347-352.

[4] 付丹,李成荣,何颜霞,等.肠道病毒 71 型感染患儿免疫功能探讨[J].中华儿科杂志,2009,47(11):829-834.

[5] ZHEN J B, YI P L, JIE H, et al. The significance of Notch ligand expression in the peripheral blood of children with hand, foot and mouth disease (HFMD) [J]. BMC Infect Dis, 2014, 14: 337-343.

[6] 利幸芝,吴曙粤,谢庆玲.重症手足口病细胞免疫功能变化的系统评价[J].中国临床新医学,2018,11(7):654-659.

[7] AGGARWAL S, GHILARDI N, XIE M H, et al. Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state

characterized by the production of interleukin-17 [J]. J Biol Chem, 2003, 278(3): 1910-1914.

[8] LI S, CAI C, FENG J, et al. Peripheral T lymphocyte subset imbalances in children with enterovirus 71-induced hand, foot and mouth disease [J]. Virus Res, 2014, 180: 84-91.

[9] LUO Q, PENG W, CHEN L I. Cocksackievirus A16 infection stimulates imbalances of T cells in children [J]. Exp Ther Med, 2015, 9(6): 2213-2218.

[10] KABIR S. The role of interleukin-17 in the Helicobacter pylori induced infection and immunity [J]. Helicobacter, 2011, 16(1): 1-8.

[11] 姜涛,李双杰,欧阳文献,等.手足口病患儿 Th17、CD4+CD25+调节性 T 细胞的变化及意义[J].中国当代儿科杂志,2013,15(12):1113-1115.

[12] 杜开先,董燕,罗予,等. EV71 手足口病重症患儿脑脊液 IL-2、IL-6 的测定与意义[J].中国实用神经疾病杂志,2014,17(13):57-58.

[13] WANG Y, XING F, YE S, et al. Jagged-1 signaling suppresses the IL-6 and TGF-β treatment-induced Th17 cell differentiation via the reduction of RORγt/IL-17A /IL-17F/IL-23a/IL-12rb1 [J]. Sci Rep, 2015, 5: 8234-8239.

(收稿日期:2019-01-16 修回日期:2019-04-24)

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.15.025

超声造影对甲状腺 TI-RADS4 类结节诊断准确度的影响*

程巧琳,余小琴,贾保霞,刘滨月[△]

广东省深圳市龙岗中心医院超声科,广东深圳 518116

摘要:目的 分析联合超声造影对甲状腺影像报告与数据系统(TI-RADS)4类结节的超声诊断准确度的影响,规范化及标准化甲状腺 TI-RADS 4类结节的超声诊断标准。**方法** 对197个甲状腺 TI-RADS4类结节行超声造影后再次分类,将造影前、造影后甲状腺 TI-RADS 分类与病理结果相对照。**结果** 造影前甲状腺 TI-RADS4类结节诊断准确率为88.8%,造影后诊断准确率为96.9%,两种方法的诊断准确度比较,差异有统计学意义(P<0.05)。**结论** 联合超声造影能提高甲状腺 TI-RADS4类结节的诊断准确度,结合超声造影特征能使甲状腺结节 TI-RADS 分类更精准,值得推广。

关键词:甲状腺结节; 超声造影; 诊断; TI-RADS 分类; 准确度

中图分类号:R445.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)15-2192-05

近年来,各种病理类型的甲状腺癌发病率逐年上升,甲状腺癌的患者数量也随之增加,这不仅严重降低患者生存质量,还给临床甲状腺疾病的治疗增加了负担^[1]。超声检查对甲状腺良性结节及甲状腺癌的鉴别诊断和评估有着重要作用,在临床工作中已经得到了广泛应用,是检测甲状腺结节的首选方法^[2-3]。为了寻找一种量化方法使诊断结果更客观、准确、规

范,2009年,HORVATH等^[4]首次提出了甲状腺影像报告和数据系统(TI-RADS)的概念,国内外开始了 TI-RADS 分类标准的探索。PARK等^[5]、KWAK等^[6]又先后对 TI-RADS 分类标准进行了修改。本研究采用 HORVATH等^[4]提出的 TI-RADS 分类标准,联合超声造影对甲状腺 TI-RADS 4类结节进行重新分类,力图提高超声诊断的准确度,减少临床不

* 基金项目:广东省深圳市龙岗区科技发展基金 2016 医疗卫生扶持类项目(20160606164218364)。

[△] 通信作者,E-mail:lbyxcb@163.com。