

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.02.011

尖锐湿疣患者外周血 IL-2、IL-12、IFN- γ 、IL-4 因子水平检测及临床意义

马亚平

湖北省襄阳市中心医院检验科,湖北襄阳 441021

摘 要:目的 探讨尖锐湿疣患者外周血白细胞介素-2(IL-2)、IL-12、 γ -干扰素(IFN- γ)、IL-4 因子水平的表达及临床意义。方法 选取 2017 年 8 月至 2018 年 8 月该院收治的尖锐湿疣患者 50 例作为研究组,另选取同期在该院进行体检的健康者 50 例作为对照组。采用流式细胞仪对两组研究对象外周血 IL-2、IL-12、IFN- γ 、IL-4 及 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ T 细胞亚群水平进行检测。结果 研究组 IL-2、IL-12、IFN- γ 、Th1/Th2 水平均低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);研究组 IL-4 水平与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);研究组 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平均高于对照组,CD8⁺ 水平低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 尖锐湿疣患者外周血 IL-2、IL-12、IFN- γ 、IL-4 因子水平存在明显异常。

关键词:尖锐湿疣; 外周血; 白细胞介素-2; 白细胞介素-12; γ -干扰素; 白细胞介素-4; T 细胞亚群
中图法分类号:R446.1;R752.5+3 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2020)02-0183-03

Detection and clinical significance analysis of the levels of IL-2, IL-12, IFN-gamma and IL-4 in peripheral blood of patients with condyloma acuminatum

MA Yaping

Department of Clinical Laboratory, Central Hospital of Xiangyang, Xiangyang, Hubei 441021, China

Abstract:Objective To investigate the clinical significance of serum levels of interleukin (IL)-2, IL-12, interferon (IFN)- γ and IL-4 in patients with condyloma acuminatum. **Methods** A total of 50 patients with condyloma acuminata admitted to our hospital from August 2017 to August 2018 were enrolled as the study group. And a total of 50 healthy people who underwent physical examination in our hospital were selected as the control group. Peripheral blood in IL-2, IL-12, IFN- γ , and IL-4 were measured by flow cytometry. And CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ T cell subsets were tested. The levels of IL-2, IL-12, IFN- γ , IL-4, Th1/Th2, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ and T cell subsets were compared between the two groups. **Results** The levels of IL-2, IL-12, IFN- γ and Th1/Th2 in the study group were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$). There was no significant difference in IL-4 level between the study group and the control group ($P > 0.05$). The levels of CD3⁺, CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ in the study group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). The CD8⁺ level in the study group was significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$). **Conclusion** The levels of IL-2, IL-12, IFN- γ and IL-4 in peripheral blood of patients with condyloma acuminata have showed abnormal.

Key words:condyloma acuminata; peripheral blood; interleukin-2; interleukin-12; γ -interferon; interleukin-4; T cell subsets

尖锐湿疣是我国临床上比较常见的性传播疾病,主要是由于患者感染了人乳头瘤病毒(HPV)^[1],该疾病的特点为反复发作,临床发现,对于患者的同一部位即使进行相同方法的治疗,治疗后患者复发率与复发程度均不相同。这就说明,导致尖锐湿疣反复发作的原因可能除了与病毒亚型、感染部位有关外,还可能与免疫应答状态存在一定联系^[2]。早在 80 年代,我国发生尖锐湿疣的患者人数逐渐增多,因此,对引发的相关因素进行研究与分析,可为临床治疗尖锐湿疣提供一定的科学依据。本研究对尖锐湿疣患者外

周血白细胞介素-2(IL-2)、IL-12、 γ -干扰素(IFN- γ)、IL-4 因子水平进行检测,并对其临床意义进行分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 8 月至 2018 年 8 月本院收治的尖锐湿疣患者 50 例作为研究组,另选取同期在本院进行体检的健康者 50 例作为对照组。对照组 50 例,男 30 例,女 20 例,年龄 18~54 岁,平均(45.5±4.6)岁;研究组 50 例,男 33 例,女 17 例,年龄 18~55 岁,平均(45.2±4.2)岁;病程 3 个月至 1

年,平均(0.6±0.1)年。两组研究对象性别、年龄等一般资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究得到本院伦理委员会批准。

1.2 纳入和排除标准

1.2.1 纳入标准 (1) 研究组患者均符合尖锐湿疣相关诊断标准;(2) 经临床诊断、检查确诊为尖锐湿疣;(3) 近期未使用任何免疫调节剂、增强剂、抑制剂;(4) 对照组身心健康,无重大疾病;(5) 30 d 内未使用过对研究结果产生影响的药物;(6) 所有研究对象均知情同意此研究并签署知情同意书。

1.2.2 排除标准 (1) 存在自身免疫性疾病的患者;(2) 进行器官移植的患者;(3) 存在肿瘤等恶性疾病的患者;(4) 全身器官发生衰竭的患者;(5) 心肝肾功能异常的患者;(6) 处于怀孕或哺乳期的患者。

1.3 方法

1.3.1 主要试剂 试剂主要有抗 CIM 单抗[异硫氰酸胍(FITC)标记,鼠抗人 IgG,法国基因公司提供];抗 IL-2、IL-12、IL-4 单抗(PE 标记,鼠抗人 IgG)、抗 IFN-1 单抗[藻红素(PE)标记,鼠抗人 IgG]、Cytode-teet™ 试剂盒,均由荷兰 ImmunoQualityProducts 公司提供;淋巴细胞分离液由上海恒信公司提供^[3]。

1.3.2 细胞计数 所有研究对象均在入院后第 2 天清晨采集空腹静脉血 5 mL,采用流式细胞仪计数。对采集的血液进行肝素抗凝,对外周血单个核细胞(PBMC)进行常规分离并制备细胞悬液,细胞浓度大约为 $1\times 10^6/\text{mL}$ ^[4]。取 $2\text{ }\mu\text{mol/L}$ 莫能星、 $1\text{ }\mu\text{mol/L}$ 艾罗霉素、50 ng/mL 巴豆酯、1 mL 细胞悬液加到培养板一孔中,后放置到 37℃、5%二氧化碳条件下进行孵育,大约 5 h 后采用 4%冷多聚甲醛液对细胞固定 10 min,再次加入 500 μL 抗 IL-2PE 单抗、IL-12 单抗、IL-4 单抗、IFN- γ 单抗,最后 1 管为对照,然后将其放置到 4℃条件下避光孵育,大约 20 min 后对其进行细胞破膜液洗涤,并将其重新悬在 HBSS 中,混合均匀后上机检测^[5]。经过流式细胞仪(FAC-Sort,美国 BectonDickinson 公司生产)对细胞表面的抗原进行标记,并对 T 细胞亚群因子进行分选,计数大约为 1×10^4 个,同时采用 CellQuest 软件对数据进行分析,将散点图进行打印,通过荧光抗体染色对阳性细胞百分率进行记录^[6]。

1.4 观察指标 (1) 比较两组研究对象外周血 IL-2、IL-12、IFN- γ 、IL-4、Th1/Th2 水平^[7]。(2) 比较两组研究对象,包括 $\text{CD}3^+$ 、 $\text{CD}4^+$ 、 $\text{CD}8^+$ 、 $\text{CD}4^+/\text{CD}8^+$ 水平。

1.5 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计学软件进行数据分析处理,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组研究对象 IL-2、IL-12、IFN- γ 、IL-4、Th1/Th2 水平比较 见表 1。研究组 IL-2、IL-12、IFN- γ 、

Th1/Th2 水平均低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);研究组 IL-4 水平与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 两组 IL-2、IL-12、IFN- γ 、IL-4、Th1/Th2 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-2 (pg/mL)	IL-12 (pg/mL)	IFN- γ (pg/mL)	IL-4 (pg/mL)	Th1/Th2
对照组	50	6.9±1.2	4.5±1.0	6.1±0.5	1.1±0.6	5.9±0.5
研究组	50	2.3±1.4	2.4±1.6	1.9±0.6	1.2±0.8	1.2±0.6
<i>t</i>		4.890	4.564	5.022	1.435	4.779
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05

2.2 两组研究对象 T 细胞亚群水平比较 见表 2。研究组 $\text{CD}3^+$ 、 $\text{CD}4^+$ 、 $\text{CD}4^+/\text{CD}8^+$ 水平均高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);研究组 $\text{CD}8^+$ 水平低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 2 两组 T 细胞亚群水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	$\text{CD}3^+(\%)$	$\text{CD}4^+(\%)$	$\text{CD}8^+(\%)$	$\text{CD}4^+/\text{CD}8^+$
研究组	50	61.8±3.3	45.3±2.3	27.7±1.7	1.7±0.1
对照组	50	59.9±3.3	37.7±1.7	38.8±2.6	0.8±0.1
<i>t</i>		4.443	5.893	6.006	4.004
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

3 讨 论

尖锐湿疣是我国临床上常见的性传播疾病,发生原因主要与人体感染 HPV 有关,该疾病治疗后复发率较高。因此,采取有效措施防止尖锐湿疣传播、复发是临床研究的重点。临床研究发现,尖锐湿疣的发生、发展与机体免疫功能下降有紧密的联系^[8]。

$\text{CD}4^+$ T 细胞按照分泌的细胞因子谱不同分为 Th1、Th2 功能不同的独立细胞亚群。Th1 细胞主要分泌 IL-2、IL-12、IFN- γ 因子,主要参与细胞毒 T 细胞所介导的细胞免疫,在抗病毒感染免疫期间发挥非常重要的作用;Th2 细胞主要分泌 IL-4,主要参与体液免疫^[9]。Th1、Th2 细胞在维持机体免疫应答平衡方面发挥关键性作用,如果二者平衡被打破,就会导致病毒感染性疾病侵入人体,使人体发生免疫性疾病。Th1、Th2 细胞平衡状态受多种因素的影响,其中 IL-2、IL-12、IFN- γ 因子水平是非常关键的因素,且 IL-12、IL-4 的作用是最关键的^[10]。IL-2 主要由 Th1 细胞分泌而来,其促进细胞毒 T 细胞杀伤的作用非常强,且可以增强自然杀伤(NK)细胞活性,是免疫调节过程中较为重要的因子。尖锐湿疣患者外周血中 PB-MC 分泌的 IL-2、IFN- γ 因子水平降低。IL-2 水平下降会导致 NK 细胞能力降低,最终会降低破坏病毒感染靶细胞、溶解病毒感染靶细胞的能力^[11]。导致尖锐湿疣患者 IL-2 水平下降的原因很多,主要包括:(1) Th1 细胞数量减少,导致 Th1 分泌的 IL-2 因子水平

减少;(2)尖锐湿疣患者体内 IL-10、可溶性抑制因子水平明显升高,促进了 IL-4 分泌;(3)尖锐湿疣患者体内 Th1、Th2 平衡状态遭到破坏,Th1 细胞减少、Th2 细胞增多,最终导致 IL-2 因子水平减少。

IL-12 是当前临床上发现的较为有效的 NK 细胞活性刺激因子与细胞毒 T 淋巴细胞(CVL),它可以促进 Th0 细胞逐渐向 Th1 细胞分化、增殖,并且可以有选择性地促进 Th1 型免疫应答发生。

IFN- γ 主要由 Th1 细胞分泌而来,是巨噬细胞进行免疫反应调控的依赖因子,它可以对巨噬细胞进行激活,使其对细胞内病原体进行清除。IFN- γ 在淋巴细胞免疫功能调节方面也发挥非常重要的作用,并且可以明显增强 NK 细胞的生物活性和抗原递呈细胞的功能。

IL-4 主要由 Th2 细胞分泌而来,它可以抑制 Th0 细胞逐渐向 Th1 细胞分化、增殖,但是会促进 Th0 细胞逐渐向 Th2 细胞分化、增殖,IL-4 因子还可以通过 IFN- γ 因子进行诱导来产生一氧化氮,并且会降低巨噬细胞消除病原体的功能^[12]。尖锐湿疣患者局部淋巴细胞发生失衡会导致 PBMC 功能、淋巴细胞功能降低或者是受到抑制,从而不能有效地对病毒靶细胞进行清除,不能抑制病毒增长与繁殖。同时,IL-4 可以促进自身受体的表达,并抑制 IL-12 的分泌,故会促进 Th1 应答向 Th2 应答转移。

本研究结果显示,研究组 IL-2、IL-12、IFN- γ 、Th1/Th2 水平均低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);研究组 IL-4 水平与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);研究组 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺水平均高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);研究组 CD8⁺水平低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。说明 Th1/Th2 状态发生失衡是导致尖锐湿疣发生的关键原因。因此,在尖锐湿疣发生和发展过程中,患者细胞免疫功能处于紊乱状态,由于 Th1 细胞的表达受到明显抑制,而 Th2 则处于优势,就使 Th1 应答逐渐向 Th2 应答转移。

导致尖锐湿疣发生的原因较多,发生机制较为复杂,尖锐湿疣患者发病后 IL-2、IL-12、IFN- γ 、IL-4 水平异常,T 淋巴细胞亚群也会发生异常,故尖锐湿疣患者细胞免疫功能降低是导致尖锐湿疣反复发作的重要原因。通过对患者各项因子水平进行检测,可为临床治疗尖锐湿疣提供一定的科学依据。

综上所述,尖锐湿疣患者外周血 IL-2、IL-12、IFN- γ 、IL-4 因子水平存在明显异常。

参考文献

- [1] 何泽现,王健,穆雅琴. 原因不明复发性流产患者外周血单核细胞上 Tim-3 和 PD-1 的表达及意义[J]. 免疫学杂志,2017,33(4):321-326.
- [2] 贾春梅,王冬梅,宁立华,等. 槐杞黄辅助治疗哮喘儿童疗效及外周血中 Th1 Th2 相关细胞因子对氧磷酶 1 水平的影响[J]. 中国实用儿科杂志,2018,33(5):50-54.
- [3] 黄燕,罗二平,黄小平,等. 人感染 H7N9 禽流感患者外周血 T 淋巴细胞亚群和细胞因子的变化及其临床意义[J]. 中华传染病杂志,2017,35(2):79-82.
- [4] 马晓蕾,高那,刘政邑,等. 苯烯莫德对特异性皮炎患者外周血单个核细胞白细胞介素 4 和 10、 γ 干扰素、T 细胞转化因子 β 水平的影响[J]. 中华皮肤科杂志,2017,50(1):26-28.
- [5] CAO X X, MENG Q, CAI H, et al. Detection of MYD88 L265P and WHIM-like CXCR4 mutation in patients with IgM monoclonal gammopathy related disease [J]. Ann Hematol,2017,96(6):971-976.
- [6] 陈梦雅,刁立诚,许人杰,等. 皮炎患者血清中细胞因子检测及临床意义[J]. 中华皮肤科杂志,2018,51(1):34-38.
- [7] 沈娟,吴琼丽,杨滨燕,等. IL-12 逆转顺铂对人 NK 细胞免疫功能的抑制及其机制[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2018,25(9):32-37.
- [8] 韩丽红,刘日宏,刘志国,等. 高水平 IFN- γ 可能是布鲁杆菌慢性化的特征之一[J]. 中国人兽共患病学报,2017,33(8):53-56.
- [9] 杜发旺,刘红梅,何正光,等. TGF- β 1 对 γ 8T 细胞 TLR-4 受体及 IL-2、IFN- γ 水平的影响[J]. 中国现代医学杂志,2018,28(11):27-32.
- [10] 郭伟,张同强,徐勇胜. 肺炎支原体肺炎患儿 TNF- α 、IFN- γ 和 IL-4 细胞因子水平的变化[J]. 中国现代医学杂志,2018,28(23):71-74.
- [11] 罗文峰,程喜平,王继辉,等. 奥洛他定联合卡介菌多糖核酸对慢性荨麻疹患者的免疫应答机制探讨[J]. 中国现代医学杂志,2018,28(12):119-123.
- [12] LI M, ZHU Y, SONG H, et al. Subarachnoid hemorrhage in patients with good clinical grade: accuracy of 3. 0-T MR angiography for detection and characterization [J]. Radiology,2017,284(1):191-199.

(收稿日期:2019-05-08 修回日期:2019-09-15)