文章编号:1000-5404(2012)18-1873-04

论著

IL-4、IFN-γ及LTE_4浓度在婴幼儿喘息性疾病中的变化及其意义

颜 婷[1],孙 萍[2],陈婷婷[2],王 倩[1],黄正刚[2] (330006 南昌,南昌大学:研究生院[1],第一附属医院儿科[2])

[摘要] **目的** 探讨患喘息性疾病的婴幼儿血清白介素-4(IL-4)、干扰素-γ(IFN-γ)及尿白三烯E_4(LTE_4)浓度的变化及其意义。**方法** 采用竞争性酶联免疫吸附法(ELISA)检测22例急性期、恢复期喘息性疾病患儿(喘息组),20例急性期非喘息的下呼吸道感染患儿(非喘息组),20例健康体检儿(正常对照组)血清IL-4、IFN-γ及尿LTE_4水平,分析IL-4与IFN-γ的比值,分析IL-4、IFN-γ与尿LTE_4的相关性。**结果** 喘息组急性期血清IL-4水平较非喘息组急性期及正常对照组均明显升高($P<0.05$,0.01);血清IFN-γ水平明显降低($P<0.01$);尿LTE_4水平较正常对照组明显升高($P<0.01$),但与非喘息组急性期比较差异无统计学意义($P>0.05$);喘息组恢复期血清IL-4水平较急性期明显下降($P<0.01$),但仍高于正常对照组($P<0.01$);血清IFN-γ水平明显升高($P<0.01$),但仍低于正常对照组($P<0.01$);尿LTE_4水平明显降低($P<0.01$),但仍高于正常对照组($P<0.01$)。喘息组急性期血清IL-4/IFN-γ比值较非喘息组急性期及正常对照组均明显升高($F=15.86$,$P<0.01$);恢复期血清IL-4/IFN-γ比值较急性期明显下降($t=4.14$,$P<0.01$),但仍高于正常对照组,且有统计学差异($t=5.94$,$P<0.01$)。喘息组急性期尿LTE_4水平与血清IL-4水平呈正相关($r=0.82$,$P<0.01$),与血清IFN-γ水平呈负相关($r=-0.81$,$P<0.01$)。**结论** IL-4、IFN-γ及LTE_4可能共同参与婴幼儿喘息性疾病的气道炎症反应,喘息患儿存在Th1/Th2免疫失衡。

[关键词] 喘息;白细胞介素-4;干扰素-γ;白三烯E_4;婴幼儿
[中图法分类号] R392.11;R392.3;R725.6 [文献标志码] A

Change and significance of serum IL-4 and IFN-γ and urinary leukotriene E4 in infants with asthmatic diseases

Yan Ting[1], Sun Ping[2], Chen Tingting[2], Wang Qian[1], Huang Zhenggang[2] ([1]School of Postgraduate, [2]Department of Pediatrics, First Affiliated Hospital, Nanchang University, Nanchang, Jiangxi Province, 330006, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the changes in serum levels of interleukin-4 (IL-4), interferon-γ(IFN-γ) and urinary level of leukotriene E_4(LTE_4) in infants with asthmatic diseases and their significances. **Methods** Serum levels of IL-4 and IFN-γ and urinary levels of LTE_4 were measured by competitive ELISA in 22 infants with acute and convalescence asthmatic diseases (asthmatic group), 20 infants with acute non-asthmatic diseases but with respiratory tract infection (non-asthmatic group), and 20 healthy infants (normal control group). The ratio of IL-4 to IFN-γ and the correlations between urinary LTE_4 and serum IL-4, and between urinary LTE_4 and serum IFN-γ were analyzed. **Results** The serum levels of IL-4 in acute asthma period was obviously higher than that of acute non-asthma and normal control ($P<0.05$, 0.01). The serum levels of IFN-γ in acute asthma period was significantly lower than those of acute non-asthma and normal control ($P<0.01$). The urinary levels of LTE_4 in acute asthma period was higher than normal control group ($P<0.01$), but were not significantly different from acute non-asthma ($P>0.05$). In remission/convalescence, the serum levels of IL-4 were lower than those of acute period ($P<0.01$), but were still higher than normal control group ($P<0.01$). The serum levels of IFN-γ were higher than those of acute period ($P<0.01$), but were still lower than normal control group ($P<0.01$). The urinary levels of LTE_4 were obviously lower than those of acute period ($P<0.01$), but were still higher than normal control ($P<0.01$). The ratio of IL-4 to IFN-γ in acute asthma period was higher than that of acute non-asthma and normal control group ($F=15.86$, $P<0.01$). In re-

[基金项目] 江西省教育厅科学研究基金(GJJ11323)
[通信作者] 孙 萍,电话:(0791)8692558,E-mail:supping158@163.com

mission, the ratio of IL-4 to IFN-γ was lower than that in acute period ($t=4.14$, $P<0.01$), but was still higher than normal control group ($P<0.01$). There was positively correlation between urinary LTE_4 and serum IL-4 levels in the acute stage in asthmatic group($r=0.82$, $P<0.01$). There was negative correlation between urinary LTE_4 and serum IFN-γ levels in the acute stage in asthmatic group($r=-0.81$, $P<0.01$). **Conclusion** IL-4, IFN-γ and LTE_4 may all be involved in the pathogenesis of respiratory tract inflammation in infant with asthmatic diseases. There are immune imbalance of Th1/Th2 in infant with wheezing.

[**Key words**] asthma; interleukin-4 ;interferon-γ; leukotriene E4; infants

Supported by the Foundation of Science Research of Jiangxi Provincial Department of Education (GJJ11323). Corresponding author: Sun Ping, Tel:86-791-8692558, E-mail:supping158@163.com

喘息性疾病是婴幼儿时期常见的疾病。目前资料表明 Thl/Th2 免疫失衡,是毛细支气管炎等喘息性疾病的免疫功能紊乱的免疫学基础[1]。免疫学上一般以 IL-4 和 IFN-γ 分别作为 Th2 型和 Th1 型细胞的标志性细胞因子。研究[2]表明白三烯与多种变态反应性疾病及炎症性疾病有关。文献[3]报道支气管炎和肺炎患儿分别有 55.0%、40.6% 的病例有喘息,其中 64.5% 的病例年龄在 2 岁以下。本研究同时将 1 组具有喘息症状的疾病与非喘息的下呼吸道感染及健康婴幼儿进行对照研究,剔除了非喘息呼吸道感染因素的影响,通过观察喘息性疾病患儿病情发展不同时期的血清 IL-4、IFN-γ 及尿 LTE_4 水平和 IL-4/IFN-γ 比值变化,探讨喘息性疾病可能的发病机制,为临床治疗喘息性疾病提供一定的理论依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

喘息组为 2011 年 1 月至 2011 年 12 月伴有不同喘息症状在南昌大学第一附属医院儿科住院的婴幼儿 22 例,入选标准[4]:①年龄 <3 岁;②肺部有明显哮鸣音;③ 排除心源性哮喘、肺结核、支气管异物及其他大气道梗阻等疾病引起的喘息;④入院前 4 周内未服白三烯调节剂及激素类药物。恢复期标准:患儿喘息症状、肺部哮鸣音消失。其中男性 16 例,女性 6 例,年龄 1 个月至 3 岁(1.01 ±0.88)岁。非喘息组为同期因下呼吸道感染但不伴有喘息住院的婴幼儿 20 例,入选标准:①年龄 <3 岁;② 存在下呼吸道感染,肺部无哮鸣音;③ 既往无喘息病史; ④ 排除肺结核及心脏病;⑤入院前 4 周内未服白三烯调节剂及激素类药物。恢复期标准:患儿发热、咳嗽临床症状、肺部湿性罗音消失。其中男性 14 例,女性 6 例,年龄 1 个月至 3 岁(1.56 ±0.93)岁。正常对照组为同期在本院体检的儿童 20 例,男性 13 例,女性 7 例,年龄 1 个月至 3(1.64 ±0.90)岁,既往无免疫性疾病史和慢性疾病史,近 4 周无感染及服药史。3 组的性别及年龄比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 喘息组在急性期、恢复期和非喘息组急性期及正常对照组分别清晨空腹抽静脉血各 3 ml,室温 20 ~ 25 ℃放置 60 min,以 2 000 r/min 的速度离心 5 min 后取血清,置 -30 ℃冰箱内保存待测。同时收集尿液 8 ml,放于冷冻管,-70 ℃冰箱保存待测。

1.2.2 检测方法 采用竞争性酶联免疫吸附法(ELISA)检测各组血清 IL-4、IFN-γ 及尿 LTE_4 水平。人 IL-4、IFN-γ、LTE_4 试剂盒均购自上海西唐生物科技有限公司,操作严格按试剂盒说明书的操作步骤进行。各细胞因子检测的板内、板间变异系数均 <10% 。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 13.0 for Windows 软件对数据进行分析。所得实验数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示,先用 Barlett 法行方差齐性检验,方差齐的指标应用单因素方差分析(One-Way ANOVA);多组间比较采用单因素方差分析及 q 检验,组内均数比较采用配对 t 检验;相关性分析采用 Person 分析。

2 结果

2.1 3 组血清 IL-4 INF-γ 及尿 LTE_4 急性期水平的比较

喘息组急性期血清 IL-4 水平较非喘息组急性期及正常对照组均明显升高($P<0.05$,0.01);喘息组急性期血清 IFN-γ 水平较非喘息组急性期及正常对照组均明显降低($P<0.01$);喘息组急性期尿 LTE_4 水平较正常对照组明显升高($P<0.01$),但与非喘息组急性期比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 3 组血清 IL-4 INF-γ 及尿 LTE_4 急性期水平的比较

($\bar{x}\pm s$, pg/ml)

组别	IL-4	INF-γ	LTE_4
喘息组	113.24 ±45.88^{ab}	7.98 ±3.30^{ab}	364.25 ±87.70^{ab}
非喘息组	83.10 ±26.95	18.52 ±7.72	335.20 ±82.42
正常对照组	8.35 ±3.17	25.07 ±7.05	159.06 ±40.98

a: $P<0.05$, $P<0.01$,与非喘息组比较,b: $P<0.01$,与正常对照组比较

2.2 喘息组恢复期血清 IL-4 水平比较

息组恢复期血清 IL-4 水平较急性期明显下降($P<0.01$),但仍高于正常对照组($P<0.01$);喘息组恢复期血清 IFN-γ 水平较急性期明显升高($P<0.01$),但仍低于正常对照组($P<0.01$);喘息组恢复期尿 LTE_4 水平较急性期明显降低($P<0.01$),但仍高于正常对照组($P<0.01$),见表 2。

表 2 喘息组 IL-4 INF-γ 及尿 LTE_4 急性期与恢复期水平的比较
($\bar{x} \pm s$, pg/ml)

	IL-4	INF-γ	LTE
急性(发作)期	113.24 ±45.88	7.98 ± 3.30	364.25 ±87.70
临床缓解期(恢复期)	49.83 ±31.45	15.81 ± 4.41[a]	253.17 ±63.54[a]

a: $P<0.01$, 与临床缓解期(恢复期)比较

2.3 3 组 IL-4 与 IFN-γ 比值

喘息组急性期血清 IL-4/IFN-γ 比值较非喘息组急性期及正常对照组明显升高($F=15.86$, $P<0.01$);恢复期血清 IL-4/IFN-γ 比值较急性期明显下降($P<0.01$),但仍高于正常对照组,且有统计学差异($t=5.94$, $P<0.01$)。见表 3。

表 3 3 组血清 IL-4 与 IFN-γ 比值

组别	n	急性期	恢复期	t	P
喘息组	22	19.38 ±19.01[ab]	3.46 ±2.42[cd]	4.14	<0.01
非喘息组	20	5.15 ±2.56	–	5.94	<0.01
正常对照组	20	0.38 ±0.23	–		

a、b: $P<0.01$, 与非喘息组及正常对照组比较; c: $P<0.01$, 与急性期比较; d: $P<0.01$, 与正常对照组比较

2.4 相关性分析

喘息组急性期尿 LTE_4 水平与血清 IL-4 水平呈正相关($r=0.82$, $P<0.01$);喘息组急性期尿 LTE_4 水平与血清 IFN-γ 水平呈负相关($r=-0.81$, $P<0.01$)。均有显著性统计学意义。见图 1、2。

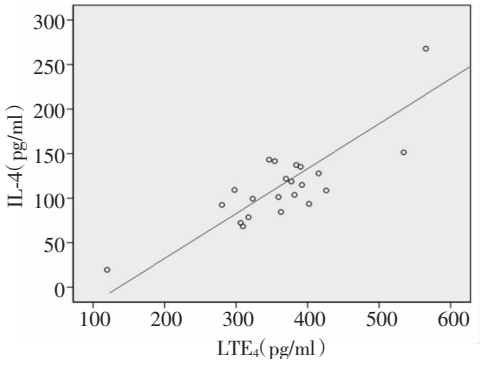


图 1 喘息组急性期血清 IL-4 与尿 LTE_4 的相关性分析

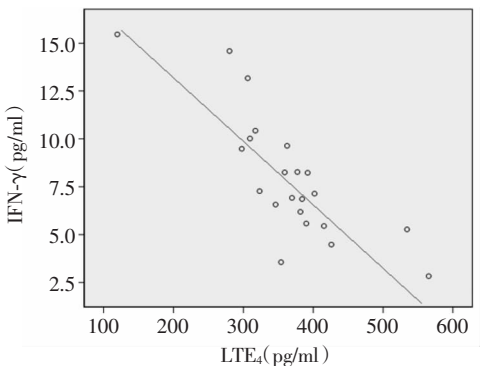


图 2 喘息组急性期血清 IFN-γ 与尿 LTE_4 的相关性分析

3 讨论

婴幼儿非特应性喘息是儿童下呼吸道感染最常见的症状。其发病原因众多,其中 50% ~70% 的患儿可以反复发作,约 1/3 患儿可发展成为儿童支气管哮喘[5]。因此,研究婴幼儿喘息的发病机制,对其早期干预,防止发展为儿童哮喘有其重要意义。但其发病机制尚未完全明确[6]。其发病原因众多,其中一部分患儿将反复发作,甚至发展为支气管哮喘。目前已证实 Th1/Th2 比例失衡是引起哮喘发病的主要原因[7],其中 IFN-γ 及 IL-4 是 Th1/Th2 细胞分化中的特征因子。IFN-γ,IL-4 在体内对哮喘发病起调节作用,IFN-γ/IL-4 失衡是哮喘发病的关键因素之一,且与哮喘的病情加重有关[8]。鉴于此,人们也十分关注婴幼儿喘息性疾病是否也存在类似的免疫应答,但研究结果并不相同。最近 Upham 等[9]研究显示外周血在刺激下产生的细胞因子与婴幼儿喘息的发生关系密切,IL-4、IL-10、IL-4/IFN-γ 等水平的升高明显增加喘息的概率。马彩霞等[10]研究显示毛细支气管炎患儿急性期血清 IL-4 水平高于非喘息性肺炎组,IFN-γ 水平低,存在 Th1/Th2 失衡,以 Th2 占优势。而马兰等[11]对 34 例 RSV 感染的分析表明,无论有无喘息,病毒性肺炎时均呈 Th1 应答优势。刘雅丽等[12]研究表明毛细支气管炎患儿体内 IFN-γ 却无明显下降,但也存在 Thl/Th2 免疫失衡。本研究结果发现喘息组急性期与正常对照组比较血清 IL-4 明显升高,血清 IFN-γ 水平明显降低,IL-4/IFN-γ 比值明显升高,与非喘息的下呼吸道感染组比较均有统计学意义。于华凤等[13]的研究提示 IFN-γ 有利于 Th1 细胞分化,而抑制 Th2 的分化,达到 Th1 和 Th2 细胞亚群的平衡状态,使哮喘患者气道炎症得到改善。本研究中随病情缓解,IL-4 水平下调,IFN-γ 水平上调,IL-4/IFN-γ 比值也下调,但均未恢复正常。提示血清 IL-4、IFN-γ 参与了喘息性疾病急性期与恢复期的炎症反应。婴幼儿喘息亦存在 Th1/Th2 免疫失衡,Th2 应答占优势。缓解期其比值明显下降,但仍高于正常对照组,说明虽病情缓解,但体内 Th1 与 Th2 未达到平衡状态,提示患喘息疾病的婴幼儿在临床症状缓解后可能还需要持续一段时间的抗炎治疗,当然,这还需进一步的大规模的研究结果证实。

白三烯是喘息性疾病的重要炎症介质。研究[14]表明白三烯的生物学效应几乎涉及喘息发生、发展的各个环节。白三烯受体位于气道平滑肌细胞及其他类

型细胞的细胞膜部分,白三烯通过和其受体结合发挥作用,导致喘息发作[15]。白三烯受体拮抗剂(LTRAs)已广泛适用于临床,研究[16]表明孟鲁司特钠对RSV毛细支气管炎的喘息有较好的疗效,体内白三烯水平较常规治疗组显著下降。LTRAs不但可缓解喘息性患儿的气道炎症,还可以减少其反复喘息的发作次数[17]。本研究结果显示尿LTE_4水平在喘息组急性期明显升高,但与非喘息组急性期比较差异无统计学意义($P>0.05$),与刘焕等[4]的研究结果不一致,可能与患儿的病情程度、感染的病原体不同有关。本研究还发现随喘息症状的缓解,尿LTE_4水平明显降低,有利于喘息的病情监测,但仍高于正常对照组,提示喘息缓解后,体内仍存在高水平的白三烯浓度,其可能是婴幼儿喘息易反复的原因所在。

国内欧维琳等[18]研究提示白三烯D_4可上调IL-4,从而诱导嗜酸性粒细胞趋化因子-3(Eot-3)在支气管上皮细胞的表达,参与支气管哮喘的变态反应炎症。本研究发现婴幼儿喘息急性发作期血清IL-4与尿LTE_4有显著的正相关性,提示IL-4与CysLTs可能共同参与了喘息性疾病的急性发作,且二者之间可能具有促进作用,从而加重喘息的发生与发展,研究还发现血清IFN-γ与尿LTE_4有显著的负相关性,为糖皮质激素及白三烯受体拮抗剂(孟鲁司特钠)联合运用治疗重症喘息患儿提供了一定的理论依据。

目前关于喘息的研究多数是将正常健康儿童作为对照组,但IL-4及IFN-γ在下呼吸道感染者中亦不同程度的变化[19],LTE_4水平较健康儿童升高[20],将3组疾病一起研究,有助于排除下呼吸道感染的影响,更有助于说明喘息的发病机制,另外LTE_4的水平在体内有昼夜节律的变化,要注意标本采集时间的一致性。

参考文献:

[1] 唐书生, 钟永红, 朱炜春. 毛细支气管炎患儿的血清白介素-4与干扰素γ的水平及其临床意义——附40例报告[J]. 新医学, 2008, 39(5): 321-322.

[2] Yan C, Liao K. The role of leukotrienes in the pathogenesis of atopic dermatitis and chronic urticaria. Journal of Clinical Dermatology, 2003, 32(10): 623-626.

[3] Rattanadilok Na Bhuket T, Sunakorn P, Suwanjutha S, *et al*. Wheezing-associated lower respiratory infections in under 5-year-old children: study in Takhli District Hospital[J]. J Med Assoc Thai, 2002, 85(Suppl 4): S1247-1251.

[4] 刘焕, 何庆南, 曾才秀, 等. 婴幼儿喘息性疾病血、尿白三烯浓度变化及其意义研究[J]. 当代医学, 2009, 15(19): 51-53. Steinke

[5] JW. Anti-interleukin-4 therapy[J]. Immunol Allergy Clin North Am, 2004, 24(4): 599-614.

[6] Stephen T, Holgate. Pathogenesis of Asthma[J]. Clin Exper Allergy. 2008, 38(6): 872-897.

[7] Nakanishi K, Tsutsui H, Yoshimoto T. Importance of IL/-18-in-duced super Th1 cells for the development of allergic inflammation[J]. Allergol Int, 2010, 59(2): 137-141.

[8] 郭玲, 刘伟, 刘丰梅. 哮喘患者IFN-r/IL-4的失衡及相应肺功能变化[J]. 临床肺科杂志, 2005, 10(4): 497-498.

[9] Upham JW, Zhang GC, Rate A, *et al*. Plasmacytoid dendritic cells during infancy are inversely associated with childhood respiratory tract infections and wheezing[J]. J Allergy Clin Immunol, 2009, 124(4): 707-713.

[10] 马彩霞, 张建, 包鹰, 等. Thl/Th2细胞功能变化在婴幼儿毛细支气管炎中的意义[J]. 中国临床医学, 2008, 15(3): 335-336.

[11] 马兰, 侯安存, 吕芳, 等. 喘息与非喘息型病毒性肺炎患儿淋巴细胞亚群的研究[J]. 中国实用儿科杂志, 2006, 21(8): 577-580.

[12] 刘雅丽, 杨锡强. 毛细支气管炎患儿的免疫功能状态评价的意义[J]. 实用儿科临床杂志, 2006, 21(10): 584-586.

[13] 于华凤, 王广新, 韩玉玲, 等. 儿童支气管哮喘血清IL-4、IL-10、IFN-r的浓度的测定及其临床意义[J]. 中国哮喘杂志, 2010, 4(5): 320-323.

[14] Dent G, Ruhlmann E, Bodtake K, *et al*. Up-regulation of human eosinophil leukotriene C4 generation through contact with bronchial epithelial cells[J]. Inflamm. Res, 2000, 49(5): 236-239.

[15] Lynch KR, O'Neill GP, Liu Q, *et al*. Characterization of the human cysteinyl Leukotriene CysLT, receptor[J]. Nature 1999;399: 789-793.

[16] 李兰, 王智斌, 蒋虹, 等. 孟鲁司特对呼吸道合胞病毒毛细支气管炎患儿血清半胱氨酰白三烯的影响[J]. 临床儿科杂志, 2009, 27(9): 883-885.

[17] 张姣. 白三烯受体拮抗剂治疗婴幼儿喘息性疾病疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2010, 19(26): 3304-3305.

[18] 欧维琳, 朱春江, 黄健, 等. 白三烯D4对白细胞介素4诱导嗜酸性粒细胞趋化因子-3在支气管上皮细胞表达的影响[J]. 中国实用儿科杂志, 2007, 22(4): 285-288.

[19] 孙立锋, 鞠云飞, 陈星, 等. 肺炎支原体肺炎急性期患儿血清Th1/Th2类细胞因子水平变化及临床意义[J]. 山东医药, 2010, 50(49): 49-50.

[20] Deborah A, Gentile, Fireman, *et al*. Elevations of local leukotriene C4 levels during viral upper respiratory tract infections[J]. Annals of Allergy, Asthma and Immunology, 2003, 91(3): 270-274.

(**收稿**:2012-03-21;**修回**:2012-05-07)

(编辑 王 红)