维普资讯 http://www.cqvip.com

儿童Graves病IFN－γ/IL－4水平失衡及意义

儿科学院内科教研室 董文斌* 邓蕾丽

提 要 采用ELISA法对42例Graves病病儿细胞因子失衡及其与发病的关系进行研究。结果:(1)与正常组相比,初诊组IFN－γ水平、IFN－γ/IL－4比值明显升高,IL－4水平明显降低($P<0.001$或0.002);IFN－γ抗体阳性组与阴性组相比,IFN－γ水平、IFN－γ/IL－4比值明显降低($P<0.05$),而IL－4水明显升高($P<0.001$);且IFN－γ/IL－4比值与血清T3和T4水平呈显著正相关($r=0.54、0.56$和$0.55、0.63$, $P<0.05$);(2)复诊组中,治疗效果好组IFN－γ水平、IFN－γ/IL－4比值明显降低($P<0.05$),IL－4水平无明显变化($P<0.05$);而治疗效果差组细胞因子水平无显著变化($P>0.05$)。提示:Graves病体内存在以Th1类占优势的细胞因子水平的失衡;抗体阳性病儿其细胞因子类型向Th2转化;异常的细胞因子可导致甲状腺功能受损;细胞因子的监测对于Graves病的病情估价、协助诊断及判断预后有一定的指导意义。

关键词 Graves病; 甲状腺病; 自身免疫性; IFN－γ; IL－4
中图分类号 R581

近年来研究表明辅助性T细胞(CD_4^+)产生的细胞因子可分为两类,即Th1和Th2,前者包括IL－2、IFN－γ、TNF－β等,和细胞免疫有关;后者包括IL－4、IL－5、IL－6 IL－10等,和体液免疫有关。正常情况下,两类因子相互调控,形成网络,共同维持机体正常的免疫反应,一旦由于某些因素使这种平衡打破,出现极化的Th1类或Th2类,将导致机体免疫病理损害[1]。已有研究表明:自身免疫甲状腺病(包括桥本甲状腺炎和Graves病)存在着异常的细胞因子类型,但是,究竟是Th1类为主还是Th2类为主,目前存在着争议[1-6]。基于此,本研究选用目前认为最能代表体内Th1/Th2类细胞因子的指标——IFN－γ、IL－4、IFN－γ/IL－4比值[6],研究了Graves病儿外周血单个核细胞(PBMC)产生这两种因子水平的情况,并探讨了与发病的关系。

1 对象和方法

1.1 对象

42例临床表现及实验室检查均符合Graves病诊断标准的患儿;其中,初诊组24例,女性20例(83.3%),男性4例(16.7%),年龄5～14岁,平均9.73±2.93岁,系1996年5月～1997年6月在我院内分泌专科首次确诊的病儿;复诊组18例,均为女性患儿,年龄3～15岁,平均9.67±3.21岁,系1995年6月～1997年6月在我院内分泌专科正规随访抗甲状腺药物治疗(他巴唑,心率增快者辅以心得安)的病儿(抽血前1月内未使用影响免疫功能的药物),按照文献的标准[7],治疗效果好(抗甲状腺药物治疗1－3月内甲状腺功能恢复正常,减量不复发)11例,治疗效果差(抗甲状腺药物治疗甲状腺功能不易恢复正常或(和)减量易复发)7例;正常对照组:均为健康查体儿童,临床及实验室检查,排除了心、肝、肾及免疫性疾病,年龄和性别与疾病组无显著性差异。

1.2 实验方法及检测指标

1.2.1 标本准备

1.2.1.1 PBMC的分离和培养 无菌抽取静脉血2ml,肝素抗凝,用密度梯度离心法(淋巴细胞分离液系上海试剂二厂生产)分离单个核细胞(PBMC),用0.2%胎盼蓝鉴定细胞活力在95%以上后,用含10%FCS(成都市华西生物制品厂产品)的RPMI－1640液(美国Gibco公司产品)重悬细胞并将其浓度配成1×10^6/ml,加入PHA(终浓度为100μg/ml,广州医药工业研究所产品)和LPS(终浓度为2μg/ml,北京邦定公司产品)作为刺激剂,在5%CO_2,37℃条件下培养72小时,收集上清液,在－30℃保存,集中检测。

1.2.1.2 血清的分离 无菌抽取静脉血3ml(不抗凝),静置分离,血清在—4℃保存,集中检测T3、T4、TSH及抗甲状腺自身抗体。

1.2.2 检测方法及指标

1.2.2.1 上清液IFN－γ水平 ABC－ELISA法,试剂盒购自第二军医大学微生物学教研室,严格按说明书操作,在450型酶联仪(Bio－Rad产品)测得OD值后,根据标准浓度制定标准曲线,然后在标准曲线上查找相应的值,单位为pg/mL。

1.2.2.2 上清液IL－4水平 双抗体夹心ELISA法,试剂盒购自深圳晶美生物工程分司,操作同时。

1.2.2.3 甲状腺功能及自身抗体 RIA法,由同位素室专人操作。

* 男,1967－11出生,硕士研究生,讲师

维普资讯 http://www.cqvip.com

表1 初诊病儿与正常儿童细胞因子水平的比较($\bar{x}\pm s$)

分 组	n	IFN－γ(pg/ml)	IL－4(pg/ml)	IFN－γ/IL－4
正常组	15	1292.41±637.25	352.65±123.16	5.52±3.71
Graves病	24	2626.60±1270.17*	238.36±64.53**	11.89±5.69**

与正常组比较 *$P<0.002$ **$P<0.001$

表2 细胞因子水平失衡与外周血清抗甲状腺自身抗体的关系($\bar{x}\pm s$)

分 组	n	IFN－γ(pg/ml)	IL－4(pg/ml)	IFN－γ/IL－4
阳性组	11	1919.71±765.45*	271.38±48.59**	7.34±2.90*
阴性组	13	3094.73±1413.88	203.20±37.13	13.47±5.93

*与阴性组比较$P<0.05$ **与阴性组比较 $P<0.001$

表3 复诊组细胞因子水平及其与抗甲状腺药物治疗效果的关系($\bar{x}\pm s$)

分 组	n	IFN－γ(pg/ml)	IL－4(pg/ml)	IFN－γ/IL－4
效果好组	11	1716.06±733.83*	245.52±70.28**	7.75±4.24*
效果差组	7	2965.34±1378.97	209.24±28.27	13.93±4.76

与效果差组比较 *$P<0.05$ **$P>0.05$

1.3 统计学方法

结果用均数±标准差表示，凡进入统计的指标输入Primer软件，在计算机上统计，进行正态性检验和方差齐性检验，对于方差齐的资料用两样本均数比较的t检验，不齐者用t检验或经数据转换使方差齐后再作t检验；各指标间的关系用直线相关分析进行处理，求出r值和P值，检验水准$\alpha=0.05$。

2 结果

2.1 初诊组儿童PBMC上清液IFN－γ/IL－4水平的检测结果(表1)

由表1可以看出：与正常组比较，Graves病儿PBMC产生IFN－γ水平、IFN－γ/IL－4比值明显升高，IL－4水平明显降低，且IFN－γ/IL－4与血清T3和T4水平呈显著正相关(r分别为0.54，0.56和0.55，0.63，$P<0.05$)。

2.2 细胞因子水平失衡与外周血清抗甲状腺自身抗体的关系

按照标准：抗甲状腺球蛋白抗体≥0.3和/或抗微粒体抗体≥0.15为抗体阳性，将24例初诊病儿分为抗体阳性组和阴性组，比较两组细胞因子水平的差异(表2)。

由表2可见，抗体阳性组Th1细胞因子水平下降，但仍高于正常组，Th2细胞因子水平升高，但仍低于正常组。

2.3 复诊组儿童PBMC上清液IFN－γ/IL－4水平的检测结果(表3)

由表1，3可见，治疗效果好组与初诊组和效果差组比较IFN－γ水平、IFN－γ/IL－4比值明显降低，IL－4水平无明显变化；与正常组比较IFN－γ水平、IFN－γ/IL－4比值差异无显著性意义($P>0.05$)，而IL－4水平仍降低($P<0.05$)。而效果差组与正常组相比，IFN－γ水平、IFN－γ/IL－4比值明显升高($P<0.001$)，IL－4水平明显降低($P<0.001$)；与初诊组比较，细胞因子水平无明显变化($P>0.05$)。

3 讨论

Graves病和桥本甲状腺炎同属自身免疫病，其发病与机体免疫功能紊乱有关。而细胞因子作为免疫反应中的一类高活性的蛋白质介质，是认识本病发病机制的重要线索，本研究显示：Graves病儿外周血PBMC产生IFN－γ水平，IFN－γ/IL－4比值明显升高，IL－4水平明显降低，且这些变化与甲状腺功能受损和抗甲状腺药物治疗效果密切相关，但抗体阳性组Th2类细胞因子(IL—4)

维普资讯 http://www.cqvip.com

水平明显高于阴性组。

近年来，细胞因子与自身免疫甲状腺病关系的研究受到国外学者的广泛重视。Romagnai S等[1]认为在自身免疫甲状腺病，浸润至甲状腺的CD_4^+等T细胞，在PHA刺激可以产生IFN－γ，但不能产生IL－4;Watson PF等[4]进一步检测到Graves病甲状腺局部淋巴细胞存在IL－2、IFN－γ和TNFα的mRNA，而缺乏IL－4mRNA的表达:Zipris D等[3,4]在DR－BB鼠自发形成甲状腺炎过程中，IFN－γ、IL－1 2P40mRNA表达增强，且与疾病进展密切相关，而IL－4mRNA表达很弱甚至检测不到。本研究在初诊和治疗效果差的Graves病儿均检测到Th1类细胞因子(IFN－γ)水平升高，Th2类细胞因子(IL－4)水平降低，结合国外学者的研究结果，有理由推测本病发作期细胞因子类型以Th1类占优势，但Watson PF等[2]在另一项研究中发现在Graves病人手术切除的甲状腺标本中两类因子的mRNA均可检测得到，与上述结论不一致，我们认为造成这种差异的原因可能:手术病例多为内科保守治疗无效者，且使用了许多影响免疫功能的药物，致使体内细胞因子的类型已经发生转化。

本研究还显示抗体阳性组虽然仍呈现极化的Th1类细胞因子，但Th2类细胞因子IL－4水平较抗体阴性组明显升高。这与HeuerM等[8]研究相一致，Heuer M等[8]发现抗体升高的Graves病甲状腺IL－4mRNA表达强于抗体不升高者，推测这些病人体内细胞因子向Th2模式转化。由于Th2类因子与体液免疫有关，因此这种发现与本病体内存在体液免疫功能紊乱的观点相一致[7]，但由于在发作期Th1类因子起主导作用，Th2类因子处于抑制状态，因此与Th2类因子有关的自身抗体水平的高低与疾病的病情程度不一致[7]，这提示在临床上不能以自身抗体的水平高低来评估病情和转归。

正常情况下，两类细胞因子相互调控，维持动态平衡，使机体处于正常的免疫状态，一旦这种平衡打破，将导致机体出现免疫病理损害[1]。本研究显示极化的Th1类细胞因子与本病甲状腺功能损害密切相关，证实上述观点。异常细胞因子导致甲状腺功能损害的机理十分复杂，可能是:IFN－γ可以增强甲状腺上皮细胞HLAⅡ类分子的表达，从而增强递呈抗原的作用，通过自身反应T细胞使B细胞活化、增殖，产生TSH受体抗体[9]，该抗体在Graves病是刺激性抗体，可刺激甲状腺细胞内cAMP升高，产生大量甲状腺激素，出现Graves病甲状腺素症[10]。

本研究还发现，通过使用抗甲状腺药物(他巴唑等)治疗，随着病情的控制，Graves病患者体内的细胞因子紊乱可以得到部分纠正，这可能与这些药物抑制免疫功能有关:这也从侧面解释了相当比例的Graves病患者(本研究占11/18例)缓解后不再复发这一现象。

综上所述，Graves病体内以Th1类细胞因子反应占优势，异常的细胞因子反应参与甲状腺功能受损;抗体阳性病儿向Th2类反应转化。随着病情的控制，失衡的Th1/Th2类细胞因子水平可得到部分纠正。IFN－γ/IL－4比值是最能代表体内Th1/Th2类细胞因子强弱的指标，对于估价Graves病的病情，协助诊断及判断预后有一定的指导意义。

参考文献

1.Romagnani S.Immunol Today, 1991;12:256
2.Watson PF.Pickerill AP.Davies R, et al. J Clin Endocrinol Metab, 1994;79:355
3.Zipris D, Greiner DL, Malkani S, et al. J Immunol 1996;156:1315－1321
4.Zipris D. J Autoimmune, 1996;9:315
5.Paxchike R, Schuppet F, Taton M, et al. J Endocrinol.1994;141:309
6.Rocken M, Racke M;Shevach EM. et al. Immunol Today, 1996;17:225
7.颜纯，李永超主编.小儿内分泌学·北京:人民卫生出版社，第一版 1990;111－120
8.HeuerM, Aust G,Ode－Hakims,et al. thyroid, 1996;6:97
9.Mandrup－Poulsen, T. Nerup J,Reimers JI, et al.European Journal of Endocrinology,1996; 134:21
10.Lafranchi S.Pediatric endocrinology.Curr Probl Pediatr,1993;23:91

(收稿日期 1997－09－29)

维普资讯 http://www.cqvip.com

The imbalance and its significance of levels of IFN－γ/IL－4 in children with Graves′ disease

Dong Wenbin,et al
College of Pediatrics

The imbalance of cytokines and its relationship to development of Grave′s disease(GD) were investigated in 42 children with GD. The results showed:(1)The levels of IFN－γ, and the ratios of IFN－γ/IL－4 were significantly increased, but IL－4 was significantly decreased in first visit groups compared with normal controls($P<0.001$ or 0.002);Comparing antibody－positive with negative group, the levels of IFN－γ, and the ratios of IFN－γ/IL－4 were significantly decreased($P<0.05$), IL－4 was significantly increased($P<0.001$);The IFN－γ ratios of IFN－γ/IL－4 were positively correlated with individual serum T3 and T4 levels($r=0.54$、0.56 and 0.55、0.63 respectively, $P<0.05$).(2) As far as further consultion children are concerned, in good theraputic effect groups, the levels of IFN－γ, and the ratios of IFN－γ/IL－4 were markedly lower($P<0.05$), but IL－4 was unchanged($P>0.05$);But in poor therapeutic effect groups, the levels of cytokines was unchanged($P>0.05$). The present study demonstrates that the levels of cytokines were dislocated, which showed that Th1 type was dominant and could play a major role in the development of Grave′s disease. But, the cytokine type of antibody－positive children began shifting to Th2 type. The detection of cytokine levels would be used for evaluating state, and diagnosing prognosis of illness.

KEY WORDS Graves′ disease;Thyroid disease, autoimmune; IFN－γ;IL－4

143－146

医学生新生与在校生16PF比较

G645.5
R395.6

临床学院精神科 沉 利* 兰长安 李 进 张 琪 杨德兰
重钢医院精神科 汪仲春

提 要 本文用卡他尔十六种人格因素测试量表(16PF)、艾森克成人个性问卷(EPQ)对我校新生(入学一月内)114名和在校的三年级大学生119名同期进行测定。发现16PF量表中A、O、Q_4因子分，次级因素中感情与安详型、怯懦与果断型两个年级的学生有差异，新生较老生开朗，但对当前的处境较忧虑，独立性较差。EPQ量表中三年级学生P量表分较新生高，一年级学生中女生P量表分高于男生，说明高年级学生及一年级女生具有更多的心理问题。两个年级的男生均比女生聪慧，学习能力较强，更能适应环境。医学教育工作应针对不同的性别和年龄段区别对待。

关键词 16PF; EPQ; 医学生 心理卫生 新生，旧生
中图分类号 R749

近年来，国内研究认为医学生心理障碍发生率约为15～35%[1,2]，多数研究仅对在校高年级学生个性因素进行分析[3]。本研究通过对新生的心理测评同在校高年级学生进行比较，不仅能及时了解和掌握医学生心理卫生状况和人格特征，使他们顺利通过大学阶段，也能给学生心理咨询工作和心理卫生保健工作提供详实的参考数据，同时也为人才的选拔提供较为客观的参考标准。

1 资料与方法

* 女，1962－10出生，主治医师