DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.17.039
第25卷第17期 第三军医大学学报 Vol.25, No.17
2003年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 200

经验交流

文章编号:1000-5404(2003)17-1586-02

哮喘缓解期患儿 Th 亚群功能状态的研究

Study of T-helper cell function in asthmatic children in remission period

赵文利[1],孔祥英[1],何念海[1],程建保[2] (第三军医大学附属西南医院:[1]儿科;[2]麻醉科,重庆 400038)

大量研究显示急性期哮喘发作存在 Th_2 亚群功能亢进、Th_1 亚群功能低下的失衡。而在容易复发的哮喘缓解期患儿 Th 亚群免疫功能状况尚缺乏系统全面的研究。本研究拟通过观察哮喘缓解期患儿周围血单核细胞(Peripheral blood mon-nuclear cell, PBMC)培养 24 h 后上清液中 IL-4、IFN-γ、IL-10 浓度以及血清 IgE 浓度,以及 PBMC 培养 5 h 后细胞内合成 IL-4 和 IFN-γ 的阳性细胞百分比,同时计数外周血嗜酸粒细胞(Eosinophil, EOS),较全面的评估哮喘缓解期患儿 TH 亚群功能状态,探讨支气管哮喘容易复发的免疫学机制。

1 资料与方法

1.1 对象资料

以支气管哮喘急性期发作治疗后持续 4 周无哮喘发作症状、肺部检查正常、近 4 周内无感染及用糖皮质激素等药物史确定为缓解期纳入标准,哮喘组患儿 20 例,年龄 3~13(7.1±2.9)岁。正常儿童 11 例,年龄 3~12(7.1±2.5)岁。

1.2 试剂

IL-4、IFN-γ、IL-10 ELISA 定量检测试剂盒购自加拿大 Yes 公司;IgE ELISA 定量检测试剂盒购自上海森雄公司;Th_2/Th_1 细胞酶联免疫斑点法检测试剂盒购自北京中日友好医院。

1.3 标本收集

受试者晨起抽取空腹静脉血 5~6 ml,1 ml 不抗凝,室温放置 1 h 离心,取上清,-20 ℃保存待测 IgE;0.5 ml 肝素抗凝后采用瑞氏染色计数嗜酸性粒细胞(Eosinephil, EOS);4 ml 肝素抗凝,常规分离 PBMC 用 PBS 液冲洗 3 次,收集细胞,置于含 10% 小牛血清的 RPMI1640 培养液中,将细胞浓度调整至 2×10^6/ml,胎盘蓝染色显示活细胞数大于 95% 后,分 A、B 两孔培养,每孔细胞 2×10^6 个,均添加 PMA(终浓度 5 μg/L)和离子霉素(终浓度 0.75 mg/L)。B 孔还添加莫能霉素(终浓度 0.208 mg/L)。均置于 37 ℃、5% CO_2 孵育箱中活化刺激,A 孔培养 24 h 后收集上清液待测 IL-4、IFN-γ 和 IL-10。B 孔培养 5 h 后回收细胞进行组化染色。

1.4 操作方法

PBMC 培养上清液 IL-4、IFN-γ、IL-10 和血清 IgE 的浓度测定采用双抗体夹心法 ELISA 法测定,辅助性 T 淋巴细胞亚群检测均按照说明书提供步骤操作。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 统计软件 10.0 版本处理数据,实验数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用独立样本 t 检验及直线相关回归分析。

2 结果

2.1 外周血 EOS 和血清 IgE 检测结果

哮喘缓解期患儿 EOS 计数和血清 IgE 明显升高,与对照组比较有显著差异($t=2.793$ 和 2.197,$P<0.01$ 和 0.05),见表 1。

表 1 哮喘组患儿和正常儿童外周血 EOS 和血清 IgE 水平

分组	n	EOS(10^6/ml)	IgE(IU/ml)
哮喘组	20	311.9±220.0**	233.3±101.2*
对照组	11	120.0±69.8	156.7±74.5

*:$P<0.05$,**:$P<0.01$ 与对照组比较

2.2 哮喘组和对照组 PBMC 培养上清中细胞因子水平的比较

给予 PMA 刺激后,哮喘患儿 PBMC 培养上清中 IL-4、IL-10 均明显高于正常对照组($t=3.049$ 和 2.684,P 分别<0.01 和 0.05),IFN-γ 低于正常对照组($t=4.257$,$P<0.01$),IL-4/IFN-γ 亦明显高于正常组($t=3.729$,$P<0.01$),见表 2。

表 2 哮喘患儿和正常儿童 PBMC 培养上清中细胞因子水平的比较

分组	n	IL-4(ng/L)	IFN-γ(ng/L)	IL-4/IFN-γ	IL-10(ng/L)
哮喘组	20	175.1±83.7**	1 359.7±107.9**	0.13±0.07**	168.0±75.4*
对照组	11	94.3±33.7	1 561.2±154.8	0.06±0.03	102.1±40.0

*:$P<0.05$,**:$P<0.01$ 与对照组比较

2.3 PBMCs Th_2/Th_1 亚群检测结果

哮喘组 PBMCs 中 IL-4 阳性细胞明显高于正常对照组($t=2.174$,$P<0.05$),IFN-γ 阳性细胞明显低于正常对照组($t=2.437$,$P<0.05$),IL-4 阳性细胞/IFN-γ 阳性细胞比值明显高于正常对照组($t=2.913$,$P<0.01$),见表 3。

表 3 PBMCs Th_1/Th_2 亚群检测结果的比较

分组	n	IL-4+ cell(%)	IFN-γ+ cell(%)	IL-4+ cell/IFN-γ+ cell(%)
哮喘组	20	15.05±5.40*	4.85±2.38*	4.13±2.58**
对照组	11	10.95±4.15	7.53±3.73	2.00±1.49

*:$P<0.05$,**:$P<0.01$ 与对照组比较

作者简介:赵文利(1973-),女,重庆市人,硕士,主治医师,主要从事哮喘发病机制与治疗机制方面的研究。电话:(023)68754000-73098

收稿日期:2002-06-25;修回日期:2002-08-29

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.4 指标间的相关分析

哮喘缓解期组血清 IgE 与 PBMCs 培养上清中 IL-4 浓度、IL-4/IFN-γ 比值呈明显正相关（$r=0.845$ 和 0.822，$P<0.01$、$P<0.01$）；哮喘缓解期组 PBMC 培养上清中 IL-10 浓度分别与 IL-4/IFN-γ 比值和 IL-4 呈正相关（$r=0.558$ 和 0.568，$P<0.05$ 和 $P<0.01$）。

3 讨论

哮喘发作期血清 IgE 水平[1]、EOS 计数显著升高，本研究观察到哮喘缓解期血清 IgE、EOS 计数仍较正常对照组升高，提示 IgE、EOS 仍可介导气道炎症。

外源性哮喘患者血清、PBMC、BALF 等中存在以 IL-4、IL-5 为主的明确的 Th_2 优势反应[2]，内源性哮喘患者血清中也出现以 IL-10 显著升高为主的 Th_2 优势。本组患儿 PBMC IL-4/IFN-γ 比值明显高于正常对照组，PBMC 经刺激后 IL-4 阳性细胞/IFN-γ 阳性细胞比值也明显高于正常对照组，均有统计学差异，提示哮喘缓解期，TH 亚群失调依然存在，临床医生应重视和坚持哮喘缓解期的治疗。

IL-10 在哮喘发病中的作用尚存争议[3]。在本研究中，哮喘缓解期患儿 PBMC 生成 IL-10 显著高于正常对照组，这与 John[4] 观察哮喘患者经治疗后 BALF 中巨噬细胞 IL-10 表达较治疗前显著增加结果一致。本组资料显示 IL-10 与 IL-4/IFN-γ 比值和 IL-4 正相关，与符州等[5] 的报道结果一致，提示 IL-10 作为 Th_2/Th_1 亚群重要调节因子主要发挥促进 Th_2 亚群功能的作用，IL-10 升高仍然可能是哮喘发病的原因之一。

关键词：IL-4；IFN-γ；IL-10；IgE；EOS
中图法分类号：R725.622.+5　　文献标识码：B

参考文献：

[1] 刘晓菊，邢祖林. 白细胞介素-4 和γ-干扰素对哮喘患者体外 IgE 合成调控的研究[J]. 中华结核和呼吸杂志，1996，19(5)：286－289.
[2] Bodey K J, Semper A E, Redington A E, *et al*. Cytokine profiles of BAL T cells and T-cell clones obtained from human asthmatic airways after local allergen challenge[J]. Allergy, 1999, 54(10): 1083－1093.
[3] 刘春涛，王增礼，冯玉麟，等. 哮喘动物模型气道中白细胞介素 5 和 10 的动态变化及其意义[J]. 中华结核和呼吸杂志，2000，23(4)：239－242.
[4] John M, Lim S, Seybold J, *et al*. Inhaled corticosteroids increase interleukin-10 but reduce macrophage inflammatory protein-1alpha, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, and interferon-gamma release from alveolar macrophages in asthma[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1998, 157(1): 256－262.
[5] 符　州，杨锡强，李成荣，等. 哮喘患儿 PBMC 产生 IL-4、IL-6 和 IL-10 水平及意义[J]. 中国免疫学杂志，1999，15(7)：334.

（编辑　陈聪连）

文章编号：1000-5404(2003)17-1587-02

经验交流

异位妊娠 228 例临床分析

Clinical analysis of 228 cases of ectopic pregnancy

郑秀惠，李　力，陈竹钦　（第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所妇产科，重庆 400042）

异位妊娠是妇科最常见的急腹症，多数情况下发病急，病情重，是怀孕早期妇女死亡的主要原因之一。及时诊断并采取有效措施是患者生命得到保证的关键。现对我院 228 例异位妊娠临床资料进行了分析。

1 临床资料

1.1 一般资料

我院 1997 年 1 月至 2000 年 1 月共收治异位妊娠病人 228 例，年龄 19～43 岁，平均 29 岁；其中有人工流产史 204 例，最多者达 8 次；剖宫产史 25 例，异位妊娠史 5 例，阑尾炎手术史 3 例；带节育环者 48 例，不孕史 12 例，淋菌性盆腔炎 3 例。手术治疗 177 例，保守治疗 51 例。

1.2 临床症状与体征

临床症状：主要是停经、腹痛和阴道流血 3 种表现，其中有停经史者 158 例（69.3%），腹痛 197 例（86.4%），阴道流血 170 例（74.6%）；此外，肛门坠胀 101 例（44.3%），晕厥 42 例（18.4%）。临床体征：下腹压痛 201 例（88.2%），反跳痛 182 例（79.8%），移动性浊音 103 例（45.2%），宫颈举痛 132 例（57.9%），盆腔包块 193 例（84.6%），休克 29 例（12.7%）。

1.3 辅助检查

①尿 HCG 阳性者 213 例，血 HCG 阳性者 225 例。②后穹隆或腹腔穿刺 171 例中 157 例抽出不凝血。③B 超检查 215 例，209 例提示盆腔积液和/或附件包块。④诊断性刮宫 80 例，其中增生期 24 例，分泌期 16 例，A～S 反应 28 例，蜕膜样反应 12 例。

1.4 诊断及治疗

228 例异位妊娠中，22 例曾在外院诊为早孕并行人工流产术或药物流产，其中 1 例见绒毛为宫内外同时妊娠；19 例诊断为盆腔炎，糖尿病酮症酸中毒、阑尾炎等延误治疗。我院明确诊断后 177 例行手术治疗（其中 3 例为保守治疗失败者），经术后病理检查证实异位妊娠部位如下，见表 1。

作者简介：郑秀惠（1972－），女，山东省淄博县人，医师，主要从事妇科肿瘤方面的研究。电话：(023)68757249

收稿日期：2001-05-01；修回日期：2002-01-15

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net