DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.11.040
第23卷第11期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 11
2001年11月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Nov. 2001

文章编号:1000-5404(2001)11-1335-02

论著

银屑病 Th1/Th2 模式的体外试验

阎 衡[1],叶庆俏[1],郝 飞[1],项贵明[2],黄东平[1],麦 跃[1] (第三军医大学:[1]附属西南医院皮肤科,重庆 400038;[2]附属新桥医院检验科,重庆 400037)

提 要:目的 研究银屑病的Th1/Th2反应模式。方法 标本取自33例寻常型银屑病患者和20名正常对照者,利用植物血凝素(PHA)和葡萄球菌肠毒素B(SEB)分别刺激外周血单个核细胞增殖,通过ELISA法检测PBMC培养上清中IL-2、IFN-γ和IL-4水平。结果 SEB显著促进银屑病组3种细胞因子的分泌($P<0.01$);SEB和PHA刺激组中,进行期IFN-γ/IL-4的比值均明显高于静止期($P<0.01$)。结论 银屑病属于Th1型反应模式。

关键词:银屑病;Th1/Th2;细胞因子;葡萄球菌肠毒素B
中图法分类号:R392.11;R758.630.2 文献标识码:A

In vitro study on Th1/Th2 pattern of psoriasis

YAN Heng, YE Qing-yi, HAO Fei, XIANG Gui-ming, HUANG Dong-ping, MAI Yao (Department of Dermatology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To study the Th1/Th2 pattern in psoriasis. Methods The levels of IL-2, IFN-γ and IL-4 secretion in the supernatant of cultured peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from 33 patients with psoriasis vulgaris and 20 normal controls were assessed by ELISA respectively. Cytokine synthesis was induced by activation with phytohemagglutinin (PHA) and staphylococcal enterotoxin B (SEB). Results Levels of IL-2, IFN-γ and IL-4 secreted by PBMCs from psoriatic patients increased markedly when incubated with SEB ($P<0.01$). The ratios of IFN-γ/IL-4 stimulated by PHA and SEB were both significantly higher in active stage than in static stage ($P<0.01$). Conclusion The Th1/Th2 pattern of psoriasis belongs to Th1 type.

Key words: psoriasis; Th1/Th2; cytokine; SEB

根据细胞因子分泌模式,$CD4^+$ T细胞可分为Th1和Th2亚群,它们来自一个共同的前体细胞Th0,Th1和Th2是由Th0发育而来的2种极化形式。Th1主要分泌IL-2、IFN-γ等,称为Th1型细胞因子,介导细胞免疫;Th2主要分泌IL-4、IL-6、IL-10等,称为Th2型细胞因子,介导体液免疫[1]。正常机体内,Th1/Th2维持着动态网络平衡,当Th1/Th2平衡失调时,则表现为Th1或Th2细胞中某一亚群功能增强,另一亚群功能减弱。研究表明辅助性T细胞亚群及其细胞因子在自身免疫病的发病机制及治疗中有非常重要的作用。目前,许多学者倾向于将银屑病归于自身免疫性疾病,认为其发病初期表现为外周血T细胞过度活化[2]。本研究通过检测3种主要的Th1/Th2型细胞因子(IL-2、IFN-γ、IL-4)的水平变化,探讨银屑病的Th1/Th2反应模式。

1 材料与方法

1.1 病例

寻常型银屑病患者33例(进行期21例,静止期12例),均来自本科门诊和病房,并经临床和病理确诊。其中男性23例,女性10例,年龄12~66岁,平均35岁,病程1~25年。纳入病例要求:①1个月内无任何发热史;②3个月内未接受任何系统治疗,如皮质类固醇、维A酸类和免疫抑制剂等;③3个月内无大面积外用强效皮质类固醇药物。正常对照组20例,选自本院健康献血者,男性13例,女性7例,年龄23~40岁,平均28岁,无银屑病家族史。

1.2 标本的收集

设进行期银屑病组、静止期银屑病组和正常对照组。空腹静脉采血,肝素抗凝,采用密度梯度离心法分离外周血单个核细胞(Peripheral blood mononuclear cell, PBMC),用完全培养基配成1×10^6细胞/ml,加入96孔板(200 μl/孔),再分别加入终浓度为10 μg/ml植物血凝素(Phytohemagglutinin, PHA)(Sigma公司)和1 μg/ml葡萄球菌肠毒素B(Staphylococcal enterotoxin B, SEB)(军事医学科学院微生物免疫研究所制备);均设空白对照组,于37 ℃,5% CO_2条件下培养3 d,收集24 h及72 h培养上清,−20 ℃冻存、待检。

1.3 细胞因子检测

采用双抗体夹心ELISA法,按人IL-2、IFN-γ、IL-4 ELISA检测试剂盒(邦定公司)说明书操作。24 h培养上清用于检测IL-2,72 h培养上清用于检测IL-4、IFN-γ。

1.4 统计学处理

采用SPSS软件进行单因素方差分析,结果以$\bar{x}\pm s$表示。

2 结果

2.1 PHA刺激组

三种细胞因子分泌水平在正常对照及银屑病进行期间差异不显著;但静止期IL-2及IFN-γ分泌量明显低于正常对照和进行期,IL-4分泌水平又显著高于正常对照和进行期;静止期

作者简介:阎 衡(1974—),女,天津市人,硕士,医师,主要从事自身免疫性疾病的研究。电话:(023)68754491
收稿日期:2001-02-09;修回日期:2001-07-20

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

的 IFN-γ/ IL-4 浓度比明显低于进行期，见表 1。

表1 PHA 刺激下培养上清中 IL-2、IFN-γ、IL-4 的分泌水平($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 IL-2, IFN-γ, IL-4 levels in supernatant stimulated by PHA($\bar{x}\pm s$)

Group	IL-2 (pg/ml)	IFN-γ (pg/ml)	IL-4 (pg/ml)	IFN-γ/ IL-4 Specific value
Control	1 836.00±231.48	3 679.35±256.91	253.25±51.75	15.21±3.66
active stage	1 952.38±178.24	3 542.76±193.07	238.29±42.84	15.35±2.94
static stage	1 426.58±175.40△*	3 313.75±186.61△*	369.25±34.62△*	9.05±0.94△*

△: $P<0.01$ *vs* control; *: $P<0.01$ vs active *stage*

2.2 SEB 刺激组

进行期及静止期分泌的 IL-2、IFN-γ、IL-4 水平均显著高于正常对照组；尽管进行期与静止期间三种因子水平无明显差异，静止期的 IFN-γ/ IL-4 浓度比仍显著低于进行期，见表2。未加任何刺激因子的空白组上清中未检测到三种细胞因子的表达。

表2 SEB 刺激下培养上清中 IL-2、IFN-γ、IL-4 的分泌水平($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 IL-2, IFN-γ, IL-4 levels in supernatant stimulated by SEB($\bar{x}\pm s$)

Group	IL-2 (pg/ml)	IFN-γ (pg/ml)	IL-4 (pg/ml)	IFN-γ/ IL-4 Specific value
Control	1 781.60±247.13	3 485.85±255.11	292.80±36.64	12.04±1.40
active stage	2 205.90±287.24△	3 927.71±207.86△	332.14±30.44△	11.91±1.17
static stage	2 135.33±226.22△	3 791.83±239.18△	361.17±31.07△	10.54±0.76*

△: $P<0.01$ *vs* control; *: $P<0.01$ *vs* active stage

3 讨论

银屑病的病因与发病机制尚未完全明确，但免疫功能异常是一个重要因素。临床上经常见到产生超抗原性毒素的葡萄球菌、链球菌的咽部或皮肤感染会诱发银屑病发病或加重病情，因此超抗原在银屑病发病中所起的作用成为近年来关注的焦点。已证实在银屑病患者体内具有含特异 TCR Vβ 片段 T 细胞的活化和增殖，与正常人 TCR Vβ 特异性差异明显。不同的细菌性超抗原活化含有不同 TCR Vβ 片段的 T 细胞，SEB 被证实可体外选择性刺激表达 $V\beta12^{+}$ 等 T 细胞[3]。另外，Yamamoto 等[4] 应用 SEB 反复注射免疫缺陷鼠皮下，可以诱导其产生银屑病样损害。我们正是利用 SEB 体外诱导银屑病患者 PBMC 增殖来模拟银屑病发病初期外周血 T 细胞的过度活化状态。至于超抗原是否能作为银屑病的确切病因，目前仍有很多不同观点，但可以肯定超抗原是银屑病的相关因素。

辅助性 T 细胞亚群及其细胞因子在许多类疾病的发病及治疗中有着非常重要的作用[1]。机体 Th1/ Th2 平衡失调后，可导致肿瘤、感染、自身免疫性疾病及移植排斥反应。如在类风湿性关节炎、胰岛素依赖型糖尿病、念珠菌感染[5] 中，Th1 及其细胞因子占优势；而在肿瘤、系统性红斑狼疮[6]、硬皮病及 HIV 感染[7] 中，Th2 及其细胞因子占优势。研究证实通过逆转 Th1/ Th2 失衡可以一定程度的改善病情。

IL-2、IFN-γ 和 IL-4 是 Th1/Th2 型细胞因子的典型代表，且 IFN-γ 和 IL-4 水平变化有相似的规律性，具有可比性，所以我们选择 IFN-γ /IL-4 比值来代表 Th1/ Th2 水平，探讨银屑病是否存在 Th1/Th2 失衡现象。结果显示：在 PHA 刺激下，静止期组 IL-2 和 IFN-γ 水平较正常对照组的进行期组偏低；而静止期又伴随着 IL-4 水平的明显增高；其 IFN-γ/ IL-4 比值显著低于进行期。在超抗原 SEB 刺激下，伴有银屑病组细胞因子水平的整体提高，但静止期的 IFN-γ/ IL-4 比值仍显著低于进行期。由此推论，银屑病进行期外周血中 Th1 型细胞因子水平占优势，当病情趋于稳定后，Th1 型细胞因子水平下降，Th2 型细胞因子水平升高，可见银屑病属于 Th1 优势应答，推测 Th1 型细胞因子会加重银屑病病情，而 Th2 型细胞因子则起着保护作用，这一结论与国外报道相符[8]。

细胞因子网络在皮肤病的全身性及局部性发病中起着重要作用，许多皮肤病已被发现存在 Th1/Th2 失衡。对 Th1/ Th2 模式变化规律的深入研究，可帮助我们更好地理解皮肤病的发病机制，也为预防和治疗疾病提供了新的思路。

参考文献：

[1] Abbas A K, Murphy K M, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes[J]. Nature, 1996, 383(6 603): 787—793.

[2] Barker J N. Pathogenesis of psoriasis[J]. J Dermatol, 1998, 25(12): 778—781.

[3] Choi Y W, Herman A, DiGiusto D, *et al*. Residues of the variable region of the T-cell-receptor beta-chain that interact with S. aureus toxin superantigens[J]. Nature, 1990, 346(6 283): 471—473.

[4] Yamamoto T, Matsuuchi M, Katayama I, *et al*. Repeated subcutaneous injection of staphylococcal enterotoxin B stimulated lymphocytes retains epidermal thickness of psoriatic skin graft onto severe combined immunodeficient mice[J]. J Dermatol Sci, 1998, 17(1): 8—14.

[5] Romani L. Immunity to Candida albicans: Th1, Th2 cells and beyond[J]. Curr Opin Microbiol, 1999, 2(4): 363—367.

[6] Segal R, Bermas B L, Dayan M, *et al*. Kinetics of cytokine production in experimental systemic lupus erythematosus: involvement of T helper cell 1/ T helper cell 2—type cytokines in disease[J]. J Immunol, 1997, 158(6): 3 009—3 016.

[7] Voiculescu C, Avramescu C, Radu E, *et al*. Current laboratory assays and in vitro intracellular Th1 and Th2 cytokine synthesis in monitoring antiretroviral therapy of pediatric HIV infection[J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2000, 27(1): 67—71.

[8] Austin L M, Ozawa M, Kikuchi T, *et al*. The majority of T cells in Psoriasis vulgaris lesions can produce type 1 cytokines, interferon-gamma, interleukin-2, and tumor necrosis factor-alpha, defining TC1 (cytotoxic T lymphocyte) and TH1 effector populations: a type 1 differentiation bias is also measured in circulating blood T cells in psoriatic patients[J]. J Invest Dermatol, 1999, 113(5): 752—759.

（编辑 冯崇英）

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