

• 论 著 •

Th1 及 Th2 型细胞的变化与子宫内膜异位症相关性研究*

王洪珍¹, 王 芳^{2△}, 马春玲³

(1. 江苏省镇江市第四人民医院检验科 212000; 2. 南京医科大学附属第一医院医学检验科/江苏省现代病原生物学重点实验室 210029; 3. 山东省医学高等专科学校免疫学实验室, 山东临沂 276002)

摘 要:目的 从免疫学角度探讨 Th1 及 Th2 型细胞的变化与子宫内膜异位症(EM)的关系。方法 应用流式细胞技术检测 40 例 EM 及 40 例对照组外周血中 Th1/Th2 型细胞的百分比。结果 EM 组外周血中, Th1 型细胞较对照组显著降低($P<0.05$); 而 Th2 型细胞较对照组显著升高($P<0.05$); EM 组Ⅲ~Ⅳ期患者外周血中, Th2 型细胞明显高于Ⅰ~Ⅱ期患者($P<0.05$)。结论 EM 患者外周血中 Th1 型细胞明显减少, Th2 型细胞明显增多, 呈 Th2 优势漂移的现象, 并且与疾病的分期相关, Th1/Th2 型细胞模式失衡在 EM 的发病机制及疾病进展中可能具有重要的作用。

关键词:子宫内膜异位症; Th1 细胞; Th2 细胞; 流式细胞术

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.03.008

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)03-0303-02

The correlation between the changes of Th1/Th2 and endometriosis*

Wang Hongzhen¹, Wang Fang^{2△}, Ma Chunling³

(1. The Fourth People's Hospital of Zhenjiang, Zhenjiang 212000, China; 2. Department of Laboratory Medicine, The First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Key Lab of Pathogen Biology of Jiangsu Province, Nanjing 210029, China; 3. Laboratory of Immunology of Shandong Medical College, Linyi 276002, China)

Abstract: Objective To investigate the correlation between the changes of Th1/Th2 cells and endometriosis(EM). **Methods** The percentages of Th1/Th2 cells in peripheral blood of 40 EM patients and those of 40 controls adults were detected by flow cytometry. **Results** The percentages of Th1 cells in peripheral blood of 40 EM patients were significantly lower than those of control adults ($P<0.05$), but the percentages of Th2 cells in peripheral blood of 40 EM patients were significantly higher than those of control adults ($P<0.05$). The percentages of Th2 cells of stage 3-4 EM patients were much higher than those of stage 1-2 ($P<0.05$). **Conclusion** Th1 cells shift toward Th2 cells in patients with endometriosis. The changes of Th1/Th2 cells have also correlate with stage. Th1/Th2 cells balance disturbances might play the important role in the pathogenesis of endometriosis.

Key words: endometriosis; Th1 cells; Th2 cells; flow cytometry

子宫内膜异位症(endometriosis, EM)是生育期妇女常见疾病之一,是具有恶性行为的良性疾病,是导致不孕症的最重要原因之一,发病有逐年上升趋势,但发病机制尚不清楚^[1-2]。辅助性T细胞(helper T cell, Th)对机体免疫系统有重要的调节作用,根据其分泌细胞因子的不同,可分为Th1和Th2型细胞。IFN- γ 是Th1细胞分泌的特征性细胞因子;IL-4是Th2细胞的特征性细胞因子,是Th2型细胞应答强度的重要衡量指标。当机体处于正常状态时,2种类型的细胞因子互为制约,处于动态平衡,维持正常的细胞免疫和体液免疫功能,一旦这种动态平衡被打破将导致疾病的发生及发展^[3]。研究表明EM发病与免疫功能紊乱有关,特别是与Th1/Th2型细胞的变化相关^[4]。

为探讨Th1与Th2型细胞的变化与EM的关系,以IL-4、IFN- γ 分别代表Th2及Th1型因子,采用流式细胞技术检测EM患者Th1/Th2型细胞因子的表达水平,探讨Th1/Th2型细胞的变化与EM的关系,为临床正确处理提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 (1)EM组:选自镇江市第四人民医院住院手术的40例EM患者,入选病例均经病理检查证实,年龄22~41

岁,平均(27.5 $\pm$ 4.2)岁。并按1985年美国生育协会分期标准(RAS)^[5]分为Ⅰ~Ⅱ期18例,年龄22~39岁,平均(28.1 $\pm$ 5.3)岁;Ⅲ~Ⅳ期22例,年龄23~41岁,平均(27.9 $\pm$ 4.5)岁,所有病例3个月内未用过激素类药物,近期无感染史。(2)对照组:为同期手术的40例盆腔结构正常行输卵管结扎术的妇女,年龄22~39岁,平均年龄(26.8 $\pm$ 4.5)岁。之前未接受过任何治疗,均无自身免疫性、过敏性疾病及急性炎症反应,未应用过糖皮质激素类药物治疗,与EM组年龄差异无统计学意义。

1.2 仪器及试剂 RPMI-1640培养基购自美国GIBCO公司;流式抗体抗-CD3-PE-Cy5、抗-IFN- γ -PE、抗-IL-4-PE、抗-CD8-FITC及isotypic mAbs购自BD PharMingen公司;佛波酯(PMA)、离子霉素(Ionomycin)购自美国Sigma公司;Cytofix/cytoperm Plus Fixation/Permeabilization kit购自BD公司;流式细胞检测仪为BD FACS Calibur公司产品。

1.3 方法 取肝素抗凝血0.1 mL,用等量RPMI-1640培养液稀释,加入刺激剂,37℃孵育5 h;之后加入20 μ L抗-CD8-FITC和10 μ L抗-CD3-PE-Cy5室温避光孵育20 min;每管再加入100 μ L Fixation,室温避光孵育15 min;每管加入100 μ L

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(30901344);江苏省卫生厅开放课题(XK31 200904);山东省医药卫生科技发展计划项目(2007HW134);山东省教育厅科研发展计划项目(J07YE06)。△ 通讯作者, E-mail: shywf74@sina.com。

Permeabilization,同时分别加入 10 μ L 抗-IFN- γ -PE 及抗-IL-4-PE,室温避光孵育 15 min;同时,设同型抗体对照组,即加入等量 PE 标记的鼠抗人 IgG1 抗体,以去除非特异性染色,并设定检测象限。FACS Calibur 流式细胞仪检测、分析分泌细胞因子 IFN- γ 的 Th1 型细胞和分泌细胞因子 IL-4 的 Th2 型细胞所占的百分比。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。计量资料比较采用 *t* 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组外周血 Th1、Th2 型细胞百分比比较 EM 组 Th2 型细胞百分比为 $(0.72\pm0.15)\%$,显著高于对照组 $(0.15\pm0.07)\%$,差异具有统计学意义($P<0.05$);EM 组 Th1 型细胞百分比为 $(4.56\pm2.01)\%$,显著低于对照组 $(8.74\pm1.70)\%$,差异具有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 EM 组外周血 Th1、Th2 型细胞百分比与临床分期关系比较 EM 组Ⅲ~Ⅳ期患者外周血中 Th2 型细胞百分比为 $(0.85\pm0.17)\%$,明显高于 I~Ⅱ期 EM 患者 $(0.59\pm0.12)\%$,差异具有统计学意义($P<0.05$);EM 组Ⅲ~Ⅳ期患者外周血中 Th1 型细胞百分比为 $(4.73\pm1.91)\%$,与 I~Ⅱ期患者 $(4.39\pm2.23)\%$ 比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨 论

近年来研究表明,机体免疫系统的作用是识别和清除外来和自身衰老物质。机体允许异位的内膜组织在腹腔内种植,表明机体的免疫系统功能异常。因此,EM 免疫学方面的研究已成为近年来的研究热点之一^[4,6]。

在人类细胞免疫系统中,原始 Th 细胞通过克隆,增殖和分化成为效应性亚细胞群,依据其不同的细胞因子分泌谱,Th 细胞可以分为 Th1 和 Th2 型细胞,其中 Th1 型细胞分泌 IFN- γ 、IL-2 及 TNF- α 等,参与细胞免疫和迟发型超敏反应,协助 B 细胞产生抗体,在抗细胞内感染和细胞免疫所引起的炎症反应中发挥作用;Th2 型细胞分泌 IL-4、IL-5、IL-10 及 IL-13 等,能协助和促进 B 细胞的增殖和分化,促进抗体的产生,主要参与体液免疫。Th1、Th2 型细胞和细胞因子之间相互作用、相互调节、又相互抑制,它们之间的平衡决定着机体的免疫状态,以维持机体正常的细胞免疫和体液免疫功能,这种平衡一旦被打破,将导致相关疾病的发生^[3]。

本研究通过分析 EM 患者外周血中 Th1、Th2 型细胞百分比来探讨 EM 中 Th 亚群功能变化。结果显示,EM 组外周血中 Th2 型细胞显著高于对照组,而 Th1 型细胞显著低于对照组,并且与疾病的临床分期密切相关,即 EM 组Ⅲ~Ⅳ期外周血中 Th2 型细胞明显高于 I~Ⅱ期,但 Th1 型细胞在不同分期 EM 患者中无明显差异。研究结果提示,EM 患者体内存在 Th1 型细胞向 Th2 型细胞漂移的现象,即 EM 患者 Th1 型细胞免疫反应下调而 Th2 型细胞免疫反应相对增强,机体处于 Th2 免疫反应倾向,而且随着疾病的临床分期增高,此漂移现象越明显。Th2 型细胞的相对优势降低了 Th1 型细胞对异物的清除作用,机体允许异位的内膜组织在腹腔内种植。腹腔内种植的内膜组织反过来可以直接或间接方式对 Th1 型细胞产生破坏作用,致使 Th1 型细胞的数量及其细胞因子分泌水平降低,进一步加大 Th1、Th2 型细胞亚群间的功能失衡,加重 EM 的临床症状。

因此,Th1、Th2 型细胞的平衡失调以及它们之间相互作用所致的免疫病理损伤,可能是 EM 发病的重要因素。

参考文献

[1] 王秀霞,张合龙. 子宫内膜异位症的免疫学发病机制及防治[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2007,23(12):906-908.
[2] 史常旭. 子宫内膜异位症的临床研究现状与展望[J]. 重庆医学,2010,39(2):129-132.
[3] Wan YY,Flavell RA. How diverse-CD4 effector T cells and their functions[J]. J Mol Cell Biol,2009,1(1):20-36.
[4] Siedentopf F,Tariverdian N,Rucke M,et al. Immune status,psychosocial distress and reduced quality of life in infertile patients with endometriosis[J]. Am J Reprod Immunol,2008,60(5):449-461.
[5] Binningham A. The American fertility society revised American fertility society classification of endometriosis[J]. Fertil Steril,1985,43:351-354.
[6] Podgaec S,Abrao MS,Dias JA,et al. Endometriosis:an inflammatory disease with a Th2 immune response component[J]. Hum Reprod,2007,22(1):1373-1379.

(收稿日期:2010-05-28)

(上接第 302 页)

于空腹甘油三酯[J]. 新医学,2003,34(10):652-652.
[6] 江滨,方向华,刘运海,等. 总胆固醇及甘油三酯与卒中亚型关系的前瞻性研究[J]. 中华心血管病杂志,2010,38(3):268-271.
[7] 张月红,刘英华,王颀,等. 中长链脂肪酸食用油降低超重甘油三酯患者血脂和低密度脂蛋白胆固醇水平的研究[J]. 中国食品学报,2010,10(2):20-27.
[8] 王南,董慧,陆付耳,等. 不同体质指数的 2 型糖尿病患者肝脏甘油三酯含量分析[J]. 中国糖尿病杂志,2010,18(2):106-108.
[9] 贾雄飞,王惠萱,陈忠明,等. 2 种生化试剂测定 ALP 的方法对比

及偏差评估[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(9):1045-1046.
[10] 丛玉隆,冯仁丰,陈晓东. 临床实验室管理学[M]. 北京:中国医药科技出版社,2004:111-123.
[11] 陈文祥. 血清甘油三酯测定的方法学沿革和标准化[J]. 中华检验医学杂志,2008,31(4):476-480.
[12] 刘浩,刘志高,杨健,等. 高甘油三酯患者凝血纤溶活性的变化及血脂康对其的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2008,28(1):35.

(收稿日期:2011-01-06)