

• 论 著 •

过敏性哮喘患儿血浆 IFN- γ 与 IL-4 及粪便双歧杆菌检测及分析*张红¹, 顾猛^{2△}

(1. 常州市中医医院检验科, 江苏 213001; 2. 常州市儿童医院检验科, 江苏 213003)

摘要:目的 探讨辅助 T 淋巴细胞(Th)亚群 Th1/Th2 平衡及肠道正常菌群在儿童过敏性哮喘发病中的意义, 为临床通过益生菌的早期干预来纠正 Th1/Th2 平衡提供理论依据。方法 ELISA 检测 165 例小儿过敏性哮喘患儿(哮喘组)及同期进行健康体检且合格的 150 例儿童(对照组)的血清 IFN- γ 与 IL-4 水平, 同时, 使用实时荧光定量 PCR 法检测粪便中双歧杆菌的数量。在应用双歧杆菌制剂调节肠道菌群 6 个月后再检测上述指标, 结合临床相关检查资料, 对检测结果进行统计学分析。结果 哮喘组初入院时血浆 IFN- γ 低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), IL-4 的水平高于对照组, 粪便中双歧杆菌数量少于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。经过 6 个月的益生菌制剂的调理, 哮喘组血浆 IFN- γ 水平升高, IL-4 水平则下降, 粪便中双歧杆菌的数量增多, 与初入院时比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 在儿童哮喘患儿中, 肠道菌群的平衡关系到其免疫是否平衡, 两者相互影响, 临床应早期进行干预调节肠道菌群和免疫平衡。

关键词:过敏性哮喘; 双歧杆菌; 干扰素- γ ; 白细胞介素-4

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.03.034

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)03-0367-03

The determination of plasma IFN- γ and IL-4 and fecal bifidobacteria in children with allergic asthma and analysis*

Zhang Hong¹, Gu Meng^{2△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Changzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Changzhou, Jiangsu 213001, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Changzhou Children's Hospital, Changzhou, Jiangsu 213003, China)

Abstract: Objective To explore the pathogenesis and clinical value of Th1/Th2 and normal intestinal flora from the angle of immunological and intestinal micro environment balance by detecting the plasma interferon- γ (IFN- γ) and interleukin-4(IL-4) and fecal bifidobacteria in Children with Allergic Asthma, so as to provide a theoretical basis through early intervention of probiotics to correct the Th1/Th2 balance. **Methods** The levels of blood plasma IFN- γ , IL-4 and fecal bifidobacteria amount of 165 cases of children with allergic asthma and 150 health students as control group were detected by ELISA and real time fluorescence PCR at the same time. Retesting these above indexes after applying bifidobacteria regulation of intestinal flora for 6 months. The clinical relative factors and experimental data were statistically analyzed. **Results** The level of IFN- γ of asthmatic children were remarkably lower than those in the control group($P < 0.05$), while the level of IL-4 of asthmatic children were remarkably higher than those in the control group($P < 0.05$), and the amount of bifidobacteria of asthmatic children were remarkably lower than those in the control group($P < 0.05$). The level of IFN- γ and bifidobacteria of asthmatic children improved remarkably and the level of IL-4 decreased significantly after applying bifidobacteria regulation of intestinal flora for 6 months. All of them had remarkable statistically significant. **Conclusion** The immune balance was affected by the intestinal flora balance of vice versa. This would provide an important theoretical support to prevent the occurrence of allergic asthma by the early probiotics regulation of intestinal flora and immune balance.

Key words: allergic asthma; bifidobacteria; interferon- γ ; interleukin-4

小儿支气管哮喘是一种由干扰素- γ (IFN- γ)、白细胞介素(IL)-4 等多种细胞因子参与, 表现为反复发作性咳嗽、喘鸣和呼吸困难, 并伴有气道高反应性的可逆的、梗阻性呼吸道疾病, 其发病机制非常复杂, 近年来的研究表明 Th1、Th2 的失衡是哮喘发病的重要机制^[1-2]。Th1/Th2 功能平衡与否与小儿过敏性哮喘的轻重及转归有着直接的关系。但检索文献甚少发现有关调理机体免疫功能与 Th1/Th2 功能相关性的探讨。本研究通过检测过敏性哮喘患儿血浆中 IFN- γ 与 IL-4 及同期粪便中双歧杆菌的数量, 从免疫学和肠道微环境平衡的角度来探索 Th1/Th2 及肠道正常菌群在过敏性哮喘中的发病机制及临床价值, 为临床通过益生菌的早期干预来纠正 Th1/Th2 平衡提供理论依据, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 6 月至 2013 年 11 月在本院门

诊及儿童医院门诊治疗的小儿支气管哮喘患者 165 例, 年龄 1~13 岁, 平均 6.2 岁, 其中男 94 例, 女 71 例。除此之外, 随机选取同期幼儿园和小学生健康体检儿童 150 例为对照组, 无哮喘病及过敏史, 采血前 1 个月内无感染及用药史。两组年龄、性别比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性。

1.2 治疗方法 补充益生菌。

1.3 方法

1.3.1 标本处理 患儿于初次入院和补充益生菌 6 个月后留取外周静脉血标本, 对照组正常体检时留取标本。所有标本留取后离心提取血清, -70°C 保存备用。在留取血液标本的同时留取其粪便标本(复诊前停止服用益生菌制剂)。

1.3.2 IFN- γ 和 IL-4 测定 采用 ELISA 法, 试剂盒由美国 RD 公司提供, 检验程序严格按照说明书进行, 为确保检测结果的稳定性和可比性, 所有样本各项目所用的试剂均为同一批

次和同时检测。

1.3.3 粪便双歧杆菌的检测 实时荧光 PCR 法检测粪便中双歧杆菌的数量。

1.4 统计学处理 利用 SPSS18.0 统计软件进行资料的输入和统计分析,双歧杆菌数量不呈正态分布,但取对数后数据呈正态分布,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 或 t' 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

哮喘组患儿初次入院时及治疗 6 个月后血浆中 IFN- γ 、IL-4 水平、粪便中双歧杆菌的数量与对照组比较,IFN- γ 水平及双歧杆菌的数量均下降,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);IL-4 水平升高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。哮喘组患儿补充益生菌治疗 6 个月后血浆 IFN- γ 、IL-4 水平及同期粪便中双歧杆菌的数量与初次入院时比较,IFN- γ 水平及双歧杆菌的数量均有增加,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);IL-4 水平则下降,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);基本恢复到健康儿童水平,与对照组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 1。

表 1 各组间血浆 IFN- γ 、IL-4 水平及同期粪便中双歧杆菌数量的比较

分组	n	IFN- γ (pg/mL)	IL-4(pg/mL)	双歧杆菌数
哮喘组				
初入院	165	20.55 \pm 26.54	13.52 \pm 8.78	3.56 \pm 2.03
治疗 6 个月后	165	249.12 \pm 69.63	6.63 \pm 7.98	9.13 \pm 9.89
对照组				
t ₁ /P	—	52.71/ $<$ 0.01	12.32/ $<$ 0.01	10.14/ $<$ 0.01
t ₂ /P	—	5.50/ $>$ 0.05	3.30/ $>$ 0.05	2.33/ $>$ 0.05
t ₃ /P	—	39.40/ $<$ 0.01	7.46/ $<$ 0.01	7.09/ $<$ 0.01

t₁:哮喘组初入院与对照组比较;t₂:哮喘组治疗 6 月后与对照组比较;t₃:哮喘组初入院与治疗 6 月后比较;—:无数据。

3 讨 论

哮喘是主要由 Th 亚群 Th1/Th2 细胞比例和功能失衡所引起的免疫反应,主要表现为 Th2 细胞功能亢进,如 IL-3、IL-4、IL-5 等细胞因子分泌增多,而 IFN- γ 、IL-2 等 Th1 细胞因子分泌减少,致 Th1/Th2 比例失衡^[3]。IL-4、IL-5 等 Th2 细胞因子增多可导致气道局部慢性炎症,产生气道高反应性而致哮喘。IL-4 即 B 细胞生长因子,主要作用于 B 细胞,是 IgE 特异性诱导剂,能增强 IgE 介导的体液免疫和杀伤细胞的杀伤能力。IL-4 作为 B 细胞的生长和分化因子,参与 B 细胞增殖及对抗原刺激的应答产生抗体的过程,可以促进 IgE 的合成和释放,同时它也是气道高反应的必需因子,在气道变应性炎症形成过程中主要起着使嗜酸性粒细胞募集、趋化和浸润的作用,并且能够抑制 Th1 细胞分泌 IFN- γ ,在 I 型速发型变态反应中起着关键作用,参与变应性炎症的发生、发展过程。IFN- γ 是一种对细胞功能具有调节作用的小分子多肽,由活化的 Th1 细胞和 NK 细胞产生,可抑制 B 细胞产生 IgE、IgG1 和 IgG4,在哮喘发病中具有至关重要的作用。而 IFN- γ 本身也能促进 Th0 细胞向 Th1 细胞分化,抑制 Th2 细胞的分化;IFN- γ 抑制气道黏膜中嗜酸性粒细胞的聚集和活化;IFN- γ 是 IL-4 的拮抗因子,通过抑制 IL-4 mRNA 转录来抑制 B 细胞表达低亲和 IgE 受体,从而抑制 B 细胞增殖及分泌抗体^[4]。

哮喘组治疗前 IFN- γ 水平明显低于对照组,而 IL-4 水平则明显高于对照组,且与患儿病情严重程度相关,病情越重,

IFN- γ 水平越低。而 IL-4 水平越高,说明 IFN- γ 及 IL-4 在过敏性哮喘发病过程中发挥重要作用,Th1/Th2 失衡与哮喘发病有关。这说明以 IL-4 为代表的 Th2 类细胞因子参与了 I 型变态反应,促进了 IgE 的合成和释放,而以 IFN- γ 为代表的 Th1 细胞因子通过对 IL-4 的拮抗来抑制 B 细胞分泌抗体。经过 6 个月的治疗后,Th1/Th2 细胞比例有了很大的改善,而患儿的临床症状也得到较大的改善,从而也进一步证实了哮喘是由 Th1/Th2 细胞比例和功能失衡所引起的一种免疫反应。

肠道作为人体最大的免疫器官,自出生就暴露于大量的微生物抗原和食物抗原之下,在其刺激下,肠黏膜淋巴细胞被激活,达到全身免疫的效果,一旦菌群失调则可以导致机体体液免疫、细胞免疫以及非特异性免疫功能降低^[5-7]。本研究肠道正常菌群对免疫系统的发育至关重要,一旦肠道发生菌群失调,将导致 Th1/Th2 细胞比例失衡,机体的免疫力将明显下降,提示临床上避免滥用抗菌药物和重视益生菌的补充。益生菌通过诱导 Th0 细胞向 Th1 细胞分化,抑制 Th2 型免疫反应实现对 Th1 和 Th2 的调节,使宿主的免疫应答或免疫耐受达到精细的平衡,从而达到维持宿主健康的最终目的。

综上所述,过敏性哮喘患儿存在着明显的免疫失衡问题,IFN- γ 与 IL-4 是一对相互拮抗的细胞因子,两者均参与了 IgE 的调节,具有协同作用,从而导致 Th1/Th2 平衡失调,这可能是导致小儿哮喘的主要原因之一。过敏性哮喘患儿粪便中双歧杆菌数量明显下降,说明患儿存在肠道菌群的紊乱,通过双歧杆菌制剂的调理,血浆 IFN- γ 水平上升,而 IL-4 水平下降,Th1/Th2 比例趋于平衡,说明哮喘发作时,肠道菌群是否平衡关系到其免疫是否平衡,两者相互影响。本研究可以为临床早期使用益生菌调节肠道菌群和免疫平衡,以期达到预防哮喘的目的,提供理论支撑。

参考文献

- [1] Verhulst SL, Vael C, Beunckens C, et al. A longitudinal analysis on the association between antibiotic use, intestinal microflora, and wheezing during the first year of Life[J]. J Asthma, 2008, 45 (9): 828-832.
- [2] 王华强,张世明,李强. 白细胞介素-4 和 γ -干扰素在哮喘发病机制中的研究[J]. 解放军医学杂志, 1997, 22(1): 59-61.
- [3] Fang SP, Tanaka T, Tago F, et al. Immunomodulatory effects of gyokuheifusan on INF-gamma/IL-4 (Th1/Th2) balance in ovalbumin (OVA)-induced asthma model mice[J]. Biol Pharm Bull, 2005, 28(5): 829-833.
- [4] 肖玲莉,杨毅,周莲宝,等. 益生菌调节湿疹患儿 Th1/Th2 平衡及对肠道菌群的影响[J]. 中国儿童保健杂志, 2007, 15(3): 247-248.
- [5] Vael C, Nelen V, Verhulst SL, et al. Early intestinal Bacteroides fragilis colonisation and development of asthma[J]. BMC Pulm Med, 2008, 8(1): 19.
- [6] Simpson CR, Anderson WJ, Helms PJ, et al. Coincidence of immune-mediated diseases driven by Th1 and Th2 subsets suggests a common aetiology: A population-based study using computerized general practice data[J]. Clin Exp Allergy, 2002, 32(1): 37-42.
- [7] He F, Ouwehand AC, Isolauri E, et al. Comparison of mucosal adhesion and species identification of bifidobacteria isolated from healthy and allergic infants[J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2001, 30(1): 43-47.