

• 论 著 •

## 联合检测 Th 1、2 型细胞因子在急性胰腺炎中的应用

岳雁鸿<sup>1</sup>, 徐 静<sup>2</sup>, 孙治君<sup>3</sup>

(眉山市中医医院:1. 普外科;2. 检验科, 四川眉山 620010;3. 重庆医科大学附属第二医院普外科, 重庆 400010)

**摘要:**目的 探讨联合检测辅助性 T 淋巴细胞(Th)1、2 型细胞因子的表达在急性胰腺炎(AP)的病情严重程度及疗效评估中的价值。方法 2009 年 11 月至 2013 年 6 月,采用 ELISA 法分别测定 32 例轻型胰腺炎(MAP 组)与 18 例重症胰腺炎(SAP 组)患者住院第 1、4、7 天和 15 例健康者(健康对照组)的 Th1 型细胞因子干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )和 Th2 型细胞因子白细胞介素-4(IL-4)表达水平。结果 MAP 组住院第 1、4、7 天 IFN- $\gamma$  的检测结果分别为(31.47 $\pm$ 4.35)、(36.92 $\pm$ 4.12)、(49.09 $\pm$ 4.97)ng/L; IL-4 的表达水平分别为(54.72 $\pm$ 5.52)、(45.26 $\pm$ 4.89)、(39.79 $\pm$ 3.85)ng/L。SAP 组住院第 1、4、7 天的 IFN- $\gamma$  表达水平分别为(23.97 $\pm$ 5.39)、(26.29 $\pm$ 3.47)、(33.64 $\pm$ 4.47)ng/L; IL-4 的表达水平分别为(70.45 $\pm$ 5.05)、(65.99 $\pm$ 4.58)、(56.23 $\pm$ 4.23)ng/L,健康对照组 IFN- $\gamma$  和 IL-4 的检测结果分别为(49.26 $\pm$ 20.67)、(35.15 $\pm$ 16.32)ng/L。与健康对照组相比,MAP 组除第 7 天外 Th1 型细胞因子 IFN- $\gamma$  和 SAP 组外周血 Th1 型细胞因子 IFN- $\gamma$  表达降低,Th2 型细胞因子 IL-4 表达升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );在相同治疗天数,SAP 组各检测值与 MAP 组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 Th1 型细胞因子和 Th2 型细胞因子在 AP 存在明显极化,其极化程度与病情严重程度有关,联合检测 Th1 型细胞因子和 Th2 型细胞因子有利于判断 AP 的病情严重程度和治疗效果。

**关键词:**急性胰腺炎; 细胞因子; 辅助性 T 淋巴细胞

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.06.013

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)06-0749-03

## Application of combined detection of helper T lymphocyte 1 and 2 type cytokines in acute pancreatitis

Yue Yanhong<sup>1</sup>, Xu Jing<sup>2</sup>, Sun Zhijun<sup>3</sup>

(1. Department of General Surgery;2. Department of Clinical Laboratory, Meishan Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Meishan, Sichuan 620010, China;3. Department of General Surgery, Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

**Abstract: Objective** To explore the value of the combined detection of helper T lymphocyte (Th)1 and 2 type cytokines expression in the evaluation of acute pancreatitis severity and treatment efficacy. **Methods** From May 2009 to June 2013, the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was adopted to detect the expression levels of Th1-type cytokine interferon- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ ) and Th2-type cytokine interleukin (IL)-4 in 32 cases of mild acute pancreatitis (MAP group) and 18 cases of severe acute pancreatitis (SAP group) on 1, 4, 7 d after admission as well as 15 cases of normal healthy people (control group). **Results** The test results of IFN- $\gamma$  on 1, 4, 7 d after admission in the MAP group were (31.47 $\pm$ 4.35), (36.92 $\pm$ 4.12), (49.09 $\pm$ 4.97) ng/L, which of IL-4 were (54.72 $\pm$ 5.52), (45.26 $\pm$ 4.89), (39.79 $\pm$ 3.85) ng/L. The test results of IFN- $\gamma$  on 1, 4, 7 d after admission in the SAP group were (23.97 $\pm$ 5.39), (26.29 $\pm$ 3.47), (33.64 $\pm$ 4.47) ng/L, and which of IL-4 were (70.45 $\pm$ 5.05), (65.99 $\pm$ 4.58), (56.23 $\pm$ 4.23) ng/L. The test results of IFN- $\gamma$  and IL-4 in the normal control group were (49.26 $\pm$ 20.67) ng/L and (35.15 $\pm$ 16.32) ng/L respectively. Compared with the normal control group, the expressions of Th1-type cytokine IFN- $\gamma$  in the MAP group (except which on 7 d) and peripheral blood Th1-type cytokine IFN- $\gamma$  in the SAP group were decreased and the expression of Th2-type cytokine IL-4 was increased, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ); The test results of each index in the same treatment time had statistically significant differences between the SAP group and the MAP group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The obvious polarization of Th1-type cytokine and Th2-type cytokine exists in acute pancreatitis, and the polarization degree is related with the severity of disease. The combined detection of Th1-type cytokine and Th2-type cytokine is beneficial to judge the extent of serious condition and treatment effect of acute pancreatitis.

**Key words:** acute pancreatitis; cytokine; helper T lymphocyte

主要组织相容性复合体(MHC) II 类抗原限制性的辅助性 T(Th)细胞根据其分泌细胞因子的功能不同,可分为 Th1 细胞和 Th2 细胞。Th1 亚群以分泌干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )为主并介导细胞免疫功能, Th2 亚群以分泌白细胞介素-4(IL-4)为主并介导体液免疫功能,二者的平衡对维持机体的免疫状态有重要作用。检测 IFN- $\gamma$  和 IL-4 水平可大体了解 Th1 和 Th2 细胞功能。有研究显示在急性胰腺炎(AP)时存在严重的机体免疫紊乱, AP 患者体内 Th1 型细胞因子向 Th2 型细胞因子飘移, Th2

型细胞因子占优势状态<sup>[1]</sup>。本研究通过采用 ELISA 检测外周血清细胞因子 IFN- $\gamma$  和 IL-4 的表达,探讨 Th1、Th2 型细胞因子在 AP 中的变化及与 AP 严重程度和疗效的关系,现报道如下。

**1 资料与方法**

**1.1 一般资料** 收集 2009 年 11 月至 2013 年 6 月眉山市中医医院普外科收治的 AP 患者 50 例,男 32 例,女 18 例,年龄 23~72 岁,平均 45 岁,其中轻型胰腺炎 32 例(MAP 组),重症

胰腺炎 18 例(SAP 组)。MAP 组患者均在 7~14 d 治愈出院, SAP 组中有 2 例在 2 周后死亡,其余均治愈出院。AP 的诊断及其分型按照中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组《中国胰腺炎诊治指南》(2003 年)进行。SAP 诊断标准为具备 AP 的临床和生化改变且具下列条件之一。(1)局部并发症(胰腺坏死,假性囊肿,胰腺脓肿);(2)Ranson 评分  $\geq 3$  分;(3)APACHE II 评分  $\geq 8$  分;(4)CT 分级为 D、E 级。另取本院体检中心自愿参加的健康者 15 例作为健康对照组,年龄 21~66 岁,平均 43 岁,无胰腺炎病史,近 4 周内无感染及用药史,三组年龄比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。本研究

经医院伦理委员会审核同意,患者签署知情同意书。

**1.2 方法** 所有患者均于住院第 1、4、7 天静脉取血,分离血清后,采用 ELISA 法测定血清 IFN- $\gamma$  和 IL-4 水平(试剂购自上海晶美公司)。操作步骤按试剂说明书进行。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用独立样本  $t$  检验。检验水准  $\alpha = 0.05$ ,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

AP 患者血清 IFN- $\gamma$ , IL-4 水平和 IFN- $\gamma$ /IL-4 比值检测结果见表 1。

表 1 各组 IFN- $\gamma$  和 IL-4 水平及 IFN- $\gamma$ /IL-4 比值比较 (ng/L,  $\bar{x} \pm s$ )

组别		<i>n</i>	IFN- $\gamma$	IL-4	IFN- $\gamma$ /IL-4
健康对照组		15	49.26 $\pm$ 20.67	35.15 $\pm$ 16.32	1.25 $\pm$ 0.11
MAP 组	第 1 天	32	31.47 $\pm$ 4.35 <sup>#*</sup>	54.72 $\pm$ 5.52 <sup>#*</sup>	0.59 $\pm$ 0.13 <sup>#*</sup>
	第 4 天		0.59 $\pm$ 0.13 <sup>#<math>\Delta</math></sup>	45.26 $\pm$ 4.89 <sup>#<math>\Delta</math></sup>	0.83 $\pm$ 0.14 <sup>#<math>\Delta</math></sup>
	第 7 天		49.09 $\pm$ 4.97 <sup>#<math>\blacktriangle</math></sup>	39.79 $\pm$ 3.85 <sup>#<math>\blacktriangle</math></sup>	1.24 $\pm$ 0.15 <sup>#<math>\blacktriangle</math></sup>
SAP 组	第 1 天	18	23.97 $\pm$ 5.39 <sup>#</sup>	70.45 $\pm$ 5.05 <sup>#</sup>	0.34 $\pm$ 0.07 <sup>#</sup>
	第 4 天		26.29 $\pm$ 3.47 <sup>#</sup>	65.99 $\pm$ 4.58 <sup>#</sup>	0.38 $\pm$ 0.05 <sup>#</sup>
	第 7 天		33.64 $\pm$ 4.47 <sup>#</sup>	56.23 $\pm$ 4.23 <sup>#</sup>	0.60 $\pm$ 0.08 <sup>#</sup>

<sup>#</sup>:  $P < 0.05$ , 与健康对照组比较; <sup>\*</sup>:  $P < 0.05$ , 与 SAP 组第 1 天比较;  <sup>$\Delta$</sup> :  $P < 0.05$ , 与 SAP 组第 4 天比较;  <sup>$\blacktriangle$</sup> :  $P < 0.05$ , 与 SAP 组第 7 天比较。

**3 讨 论**

AP 是外科常见急腹症,分为 MAP 和 SAP,特别是 SAP 病程凶险,发展快,病死率高。目前临床上对 AP 的病情判断尚缺乏机体免疫状态方面的指标。已有动物实验提示 AP 的演进过程与辅助性 T 细胞的功能极化及机体免疫状态有关<sup>[2-3]</sup>。一般认为 Th1 型细胞介导细胞免疫反应, Th2 型细胞介导体液免疫反应,二者量和比值的对机体免疫平衡有重要意义<sup>[4]</sup>。

AP 起病首先在胰腺,但其释放的各种炎症介质和毒素很快激活机体免疫系统成为全身性反应,特别是在 SAP 患者,往往早期即可出现全身炎症反应综合征(SIRS)和胰外器官功能障碍<sup>[1]</sup>。过度的免疫炎症反应,被认为是 SAP 最常见的死因, Th1/Th2 细胞免疫漂移在这个过程中发挥重要作用<sup>[5]</sup>。在 AP 中 Th 细胞向 Th2 方向极化,细胞免疫减弱,机体的皮肤和胃肠道黏膜等抵御病菌的屏障作用减弱,易致细菌异位进入血液循环,发生菌血症或脓毒血症,进一步诱导 Th2 型细胞因子发生级联反应式大量增加,导致体液免疫过激和全身炎症反应加重,使胰外其他重要脏器功能发生障碍,最终出现 MODS<sup>[6]</sup>。研究者在鼠 AP 模型中,检测到 IFN- $\gamma$  的活性受到抑制, Th1/Th2 的平衡倾向于 Th1 受抑制和 Th2 极化<sup>[1,7]</sup>。IFN- $\gamma$  是 Th1 细胞的标志性细胞因子,能激活巨噬细胞,促进巨噬细胞杀灭微生物,上调 MHC II 类分子水平。Hayashi 等<sup>[8]</sup>在一项研究中发现, IFN- $\gamma$ (-/-)大鼠在 AP 过程中伴有更严重的中性粒细胞浸润,胰腺损伤更重,但在 AP 诱导后 4 h 给予 IFN- $\gamma$ , 显著减轻胰腺炎的病情。IL-4 是 Th2 细胞的标志型细胞因子,还包括 IL-6、IL-10、IL-5 和 IL-13 等。文献<sup>[9-10]</sup>在动物实验中观察到 Th2 型细胞因子 IL-4 在 AP 时有不同程度的过度生成,可反应 AP 的严重程度, IL-4 水平过高,常常提示疾病预后不良。

AP 中 Th 细胞极化在动物实验中已被证实,但在人体研究中的尚缺乏相关数据。在本研究中无论是 MAP 组还是

SAP 组患者 Th 细胞均向 Th2 方向极化,甚至出现比例倒置现象,呈现 Th1 抑制和 Th2 极化的失衡状态,表明在 AP 发病后即存在免疫系统激活, Th 细胞在 AP 的发展过程中起重要作用。在 SAP 组中 Th 细胞向 Th2 方向极化更显著,与 SAP 组患者全身炎症反应更重相吻合,与国内研究人员在大鼠胰腺炎模型中的研究结果一致<sup>[10-12]</sup>。而随着病情的好转, IFN- $\gamma$ /IL-4 比值接近正常,表明 Th 细胞极化减弱,趋向正常。MAP 疗程通常为 1~2 周,在 MAP 组第 7 天 Th1/Th2 比值接近正常,与其自然病程相符。而在 SAP 组中第 7 天各细胞因子仍有明显极化,与该组患者病情严重有关。临床上早期通过血液滤过或透析去除过度生成的各种细胞因子,抑制 Th1/Th2 的过度极化,可使病情改善,达到一定疗效<sup>[13-14]</sup>。

在 AP 中 Th 细胞趋向 Th2 极化和 Th1 抑制,并且这种极化程度与病情的严重程度相关。通过联合检测 Th1 型细胞因子和 Th2 型细胞因子可反应 Th 细胞的平衡状态,有助于临床上了解 AP 的病情严重程度和治疗效果。

**参考文献**

[1] Ueda T, Takeyama Y, Yasuda T, et al. Significant elevation of serum interleukin-18 levels in patients with acute pancreatitis[J]. J Gastroenterol, 2006, 41(2):158-165.  
 [2] Bhatia M, Wong FL, Cao Y, et al. Pathophysiology of acute pancreatitis[J]. Pancreatology, 2005, 5(2/3):132-144.  
 [3] Rau BM, Krüger CM, Hasel C, et al. Effects of immunosuppressive and immunostimulative treatment on pancreatic injury and mortality in severe acute experimental pancreatitis[J]. Pancreas, 2006, 33(2):174-183.  
 [4] 赵俊桃, 李勇军, 王娜. 强直性脊柱炎患者外周血 Th1, Th2 和 Th17 的表达研究[J]. 现代检验医学杂志, 2013, 18(4):43-47.  
 [5] 黎庶, 张明仪, 陈媛飞, 等. 重症胰腺炎 Fas/FasL 介导的胰腺细胞凋亡与 Th1/Th2 偏移的临床研究[J]. 医药前沿, 2013, 5(5):29-31.  
 (下转第 752 页)

## 2 结 果

**2.1 血红蛋白病检出率比较** 在 7 652 例患者中检出血红蛋白病 1 057 例, 检出率为 13.81%, 其中 Hb A2<2.0% 511 例, 占 6.68%; Hb A2>3.5% 451 例, 占 5.89%, 两者比较差异有统计学意义( $\chi^2 = 3.993, P < 0.05$ ); 异常 Hb(包括 HbF>2.0%) 244 例(3.19%)。Hb A2<2.0% 且有异常 Hb 36 例(0.47%), Hb A2>3.5% 且有异常 Hb 114 例(1.49%), 单纯 Hb A2<2.0% 475 例(6.21%), 单独 Hb A2>3.5% 336 例(4.40%), 正常 Hb A2 且有异常 Hb 94 例(1.23%)。

**2.2 异常 Hb 成分** 在 1 057 例血红蛋白病中, 其中单纯 HbF>2.0% 223 例, 出现异常 Hb 带有 21 例, Hb A2>15% 11 例(怀疑有 Hb CorE), 共 32 例, 其中 Hb H+Hb Bart's 6 例(0.08%)、Hb H 2 例(0.03%)、Hb Bart's 1 例(0.01%)、Hb KorJ 9 例(0.12%)、Hb A2>15% 11 例(0.14%)、Hb CS 或 HB G+Hb D 或 HB G 各 1 例(0.04%)。

**2.3 部分地方血红蛋白病检出率比较** 见表 1。

表 1 部分地方血红蛋白病检出率比较

城市	n	检出例数(n)	检出率(%)
中山小榄	7 652	1 057	13.81*
中山城区 <sup>[2]</sup>	11 519	1 193	10.36
广西柳州 <sup>[3]</sup>	1 500	516	34.40
四川德阳 <sup>[4]</sup>	1 678	139	8.28

\*:  $P < 0.05$ , 与中山城区检出率比较。

## 3 讨 论

Hb 是由 4 条珠蛋白肽链单体聚合而成的四聚体, 血红蛋白病是珠蛋白分子结构或合成数量异常所引起的一类遗传性疾病, 包括异常血红蛋白病(珠蛋白分子结构异常)和地中海性贫血(珠蛋白肽链合成数量异常)。而 Hb 电泳能够定量检测 HbA、HbF、HbA2 水平以及其他异常 Hb, 常用于血红蛋白病的筛查<sup>[3]</sup>。

Hb 电泳分析实验原理是根据不同的 Hb 带有不同的电荷, 等电点不同, 在一定的 pH 缓冲液中, 缓冲液的 pH 大于 Hb 的等电点时其带负电荷, 电泳时在电场中向阳极泳动, 反之, Hb 带正电荷向阴极泳动。经一定电压和时间的电泳, 不同的 Hb 所带电荷不同, 相对分子质量不同, 其泳动方向和速度不同, 可分离出各自的区带, 同时对电泳出的各区带进行电泳扫描, 可进行各种 Hb 的定量分析。该实验是为了确诊是否有异常 Hb 存在, 以及各种 Hb 比例, 可以筛查血红蛋白病。法国 SEBIA 电泳仪是在碱性琼脂糖胶片(pH 8.5)上进行区带

电泳。配套的试剂盒的用途是分离正常的 Hb(A 和 A2), 并检测主要的异常 Hb, 如 Hb H、Bart's、S 或 D 以及 C 或 E 等<sup>[1]</sup>, 研究结果显示, 中山小榄地区血红蛋白病以珠蛋白肽链合成数量异常最常见, 占 12.57%, Hb A2<2.0%(高度怀疑  $\alpha$  地中海性贫血)占 6.68%, 高于 Hb 2>3.5%(高度怀疑  $\beta$  地中海性贫血)的 5.89%( $P < 0.05$ ), 与广东地区  $\alpha$  地中海性贫血发生率比  $\beta$  地中海性贫血要高的观点相一致<sup>[5-6]</sup>。

本研究显示, 中山小榄地区血红蛋白病检出率低于邹单东等<sup>[3]</sup>报道的广西柳州 34.4%, 高于刘朝红等<sup>[4]</sup>报道的四川德阳 8.28%, 说明不同地区、种族血红蛋白病发病率是不一致的; 但本地区血红蛋白病检出率也高于索明环等<sup>[2]</sup>报道的中山城区的 10.81%, 究其原因因为研究的对象不同, 本研究对象是孕妇, 索明环等<sup>[2]</sup>研究的对象是所有人, 而且方法也不一样, 本研究方法是琼脂糖电泳, 索明环等<sup>[2]</sup>研究的方法是毛细管电泳, 其敏感度也不一样。异常 Hb(包括 HbF>2.0%) 244 例, 占 3.19%, 在本地区主要的可疑异常 Hb 是 Hb C 或 E、Hb H、Bart's 和 Hb KorJ, 除了 Hb F 外, 最常见的是 Hb C 或 E, 其次是 Hb H、Bart's。

综上所述, Hb 电泳是研究和分析异常 Hb 的有效方法, 是诊断血红蛋白病不可缺少的筛查方法。在本地区积极开展有关血红蛋白病的宣传教育和产前筛查, 可降低本地区血红蛋白病的发病率、提高人口素质。但要确定诊断, 必须做蛋白质化学结构分析和(或)基因分析或 DNA 碱基序列分析。

## 参 考 文 献

- [1] 王泓, 李磊, 王霞, 等. SEBIA-HYDRASYS 电泳系统在血红蛋白电泳检测中应用评价[J]. 现代临床医学, 2008, 34(3): 183-184.
- [2] 索明环, 温冬梅, 张秀明, 等. 全自动毛细管电泳检测 11519 例血红蛋白的结果分析[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(8): 913-914.
- [3] 邹单东, 兰健萍. 1 500 例血红蛋白电泳检测结果分析及意义[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2010, 31(9): 1387.
- [4] 刘朝红, 邹颜娇. 1 678 例血红蛋白电泳检查结果分析[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(7): 881-882.
- [5] Xu XM, Zhou YQ, Luo GX, et al. The prevalence and spectrum of alpha and beta thalassaemia in Guangdong Province: implications for the future health burden and population screening[J]. J Clin Pathol, 2004, 57(5): 517-522.
- [6] 杜传书. 地中海贫血研究的现状与未来[J]. 中华医学遗传学杂志, 1996, 13(5): 257-258.

(收稿日期: 2014-10-15)

(上接第 750 页)

- [6] 吕云福. 现代胰腺外科学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2003: 126-134.
- [7] Ueda T, Takeyama Y, Yasuda T, et al. Functional alterations of splenocytes in severe acute pancreatitis[J]. J Surg Res, 2002, 102(2): 161-168.
- [8] Hayashi T, Ishida Y, Kimura A, et al. IFN-gamma protects cerulein-induced acute pancreatitis by repressing NF-kappa  $\beta$  activation[J]. J Immunol, 2007, 178(11): 7385-7394.
- [9] 丁海, 闫军. 急性胰腺炎炎症因子的表达及其作用机制的实验研究[J]. 中国药物与临床, 2007, 7(8): 612-613.
- [10] 岳雁鸿, 孙治君. 重症胰腺炎早期 Th1/Th2 型细胞因子变化的实验研究[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(17): 2076-2077.

- [11] 荣忠厚, 吴河水, 杨智勇, 等. 重症急性胰腺炎患者外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>调节性 T 细胞的动态变化研究[J]. 中华普通外科杂志, 2010, 25(12): 992-994.
- [12] 路小光, 战丽彬, 康新, 等. 重症急性胰腺炎并发肺损伤促/抗炎因子变化及大黄附子汤的干预研究[J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2010, 4(11): 2098-2103.
- [13] 陈英全, 谭双, 陈国伟, 等. 血液灌流联合血液透析对急性重症胰腺炎患者抑制性 T 细胞的影响[J]. 中国全科医学, 2012, 15(18): 2098-2100.
- [14] 林军, 单红卫, 叶剑鸿, 等. 不同血液净化方法治疗重症急性胰腺炎的比较研究[J]. 中国急救医学, 2013, 33(7): 618-621.

(收稿日期: 2014-11-10)