

论著·临床研究

IM 患儿外周血单核细胞 TLR2、TLR9 及 CD19⁺、CD23⁺ 表达水平及意义

孙 丹,李艳艳,田秀颖,钱 同[△]
(徐州市儿童医院检验科,江苏徐州 221000)

摘 要:目的 探究传染性单核细胞增多症(IM)患儿外周血单核细胞 TLR2、TLR9 及 CD19⁺、CD23⁺ 表达水平及意义。方法 选取 2017 年 1 月至 2018 年 1 月该院儿科初治的 IM 患儿 40 例作为研究对象,根据 IM 治疗过程分期分为急性期组、恢复期组,同时选取同期体检健康 40 例儿童作为对照组,对所有参与该研究儿童外周血单核细胞的 TLR2mRNA、TLR9mRNA 的表达水平,以及外周淋巴 B 细胞 CD19⁺ 和 CD19⁺CD23⁺ 的阳性表达率进行测定。对比分析各组以上指标的变化情况。结果 急性期组 CD19⁺ 和 CD19⁺CD23⁺ 阳性表达率显著低于恢复期组和对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);恢复期组 CD19⁺ 和 CD19⁺CD23⁺ 阳性表达率显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);急性期组 TLR2mRNA 和 TLR9mRNA 表达水平显著高于恢复期组和对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);恢复期组 TLR2mRNA 和 TLR9mRNA 表达水平显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 IM 患儿的外周血单核细胞 TLR2、TLR9 及 CD19⁺、CD23⁺ 在不同时期的阳性表达率存在差异,这些指标可能参与了 IM 发病全过程。

关键词:传染性单核细胞增多症; 单核细胞; 外周血

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.06.017

中图法分类号:R725.5

文章编号:1673-4130(2019)06-0707-03

文献标识码:A

The expression of TLR2, TLR9, CD19⁺ and CD23⁺ in peripheral blood mononuclear cells in children with infectious mononucleosis

SUN Dan, LI Yanyan, TIAN Xiuying, QIAN Tong[△]

(Department of Clinical Laboratory, Xuzhou Children's Hospital, Xuzhou, Jiangsu 221000, China)

Abstract: Objective To explore the expression and significance of peripheral blood mononuclear cells TLR2, TLR9, CD19⁺ and CD23⁺ in children with infectious mononucleosis(IM). **Methods** 40 children with IM who were first treated in the department of pediatrics from January 2017 to January 2018 were selected as study subjects. According to the stages of IM treatment, they were divided into acute stage group and convalescent stage group. At the same time, 40 healthy children were selected as control group. The expressions of TLR2 and TLR9 in peripheral blood mononuclear cells, CD19⁺ and CD19⁺CD23⁺ in peripheral lymphocyte of all the children involved in the study were detected. The expression rate was determined. The changes of above indicators in each group were compared and analyzed. **Results** The positive expression rates of CD19⁺ and CD19⁺CD23⁺ in the acute phase group were significantly lower than those in the convalescent phase group and the control group ($P<0.05$). The positive expression rates of CD19⁺ and CD19⁺CD23⁺ in the convalescent phase group were significantly lower than those in the control group ($P<0.05$). The expression levels of TLR2 and TLR9 in the acute phase group were significantly higher than those in the convalescent phase group and the control group ($P<0.05$). The expression levels of TLR2 and TLR9 in convalescent group were significantly higher than those in control group ($P<0.05$). **Conclusion** The expression levels of TLR2, TLR9, and CD19⁺ and CD23⁺ in peripheral blood mononuclear cells in children with IM are different at different periods, and these indicators may be involved in the whole process of IM.

Key words: infectious mononucleosis; mononuclear cells; peripheral blood

传染性单核细胞增多症(IM)是发生在 EBV 感染 病之一,近年来发病率逐渐在增加^[1]。有研究指出 B 之后常见的表现形式,作为儿童时期常见的感染性疾 细胞是 EBV 感染的最初靶细胞,在淋巴细胞中

作者简介:孙丹,女,主管技师,主要从事儿童免疫学检验研究。 [△] **通信作者,** E-mail:124183077@qq.com。

本文引用格式:孙丹,李艳艳,田秀颖,等. IM 患儿外周血单核细胞 TLR2、TLR9 及 CD19⁺、CD23⁺ 表达水平及意义[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(6): 707-709.

CD19⁺ 为 B 细胞,而 CD19⁺ 和 CD23⁺ 同时为阳性即为永生 B 细胞,在 EBV 侵入机体后,Toll 样受体(TLRS)参与了该病毒病原体的识别,同时在 EBV 的感染及转归中起到了重要的作用,TLR2 和 TLR9 是该受体的重要组成成分^[2]。本研究将通过观察 IM 患者外周血某些指标在不同时期内的变化并对其在 IM 发病过程中的作用进行探究。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 1 月至 2018 年 1 月本院儿科初治的 IM 患儿 40 例作为研究对象,40 例 IM 患儿根据 IM 治疗过程分期分为急性期组(初始发病至 1 周时间内)和恢复期组(初始发病期进行治疗后第 25~30 天)^[3],年龄 2~13 岁,平均(6.93±3.72)岁,其中男 21 例,女 19 例;纳入标准:符合 IM 诊断的标准且均为初次发病且均无糖皮质激素类药物或细胞毒性药物使用史。另选取同期在本院儿童保健门诊进行常规体检的 40 例健康儿童作为对照组,年龄 2~12 岁,平均(7.09±4.11)岁,其中男 22 例,女 18 例;对照组均无发生变态反应性疾病史和其他免疫性的疾病,各组在性别和年龄上比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。参与本次研究的患儿均签署了知情同意书,且本研究均经过了本院伦理学会讨论通过。

1.2 样本采集处理 分别采集各组静脉血 2 mL,乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝,样本采集当天后进行 B 细胞流式细胞分析,分离的血浆进行 TLR2 和 TLR9 荧光定量聚合酶链反应(PCR)分析。

1.3 指标测定 采用 CD19⁺ 和 CD19⁺CD23⁺ 由美国 BD 公司提供的 BD FACSCanto™ 流式细胞仪器进行测定。相应的配套试剂也由该公司提供。TLR2 和 TLR9 的 mRNA 测定采用美国 ABI 公司 7900 hT Fast Real-Time PCR System 型实时荧光定量 PCR 仪器进行测定;其中引物由上海生物工程技术公司提供。Trizol 试剂盒购自美国 Invitrogen 公司,逆转录试剂盒购自美国 ABI 公司,SYBR Premix Ex Taq™ II 试剂盒购于大连宝生物工程有限公司;根据参考基因进行相对定量的 ΔC_t 法计算目的基因相对表达量的计算。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计学软件对本研究所涉及的数据进行整理和统计学分析,计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,IM 不同分期组之间的比较采用配对 t 检验,各组间比较采用单因素方差分析,计数资料用率表示,两组间比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组 CD19⁺ 和 CD19⁺CD23⁺ 表达情况 通过研究发现,急性期组的 CD19⁺ 和 CD19⁺CD23⁺ 阳性

表达率显著低于恢复期组和对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);恢复期组的 CD19⁺ 和 CD19⁺CD23⁺ 阳性表达率显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 各组 CD19⁺ 和 CD19⁺CD23⁺ 阳性表达率(%, $\bar{x}\pm s$)

组别	CD19 ⁺	CD19 ⁺ CD23 ⁺
急性期组	3.81±1.17	0.39±0.11
恢复期组	8.15±1.22 [#]	0.79±0.25 [#]
对照组	18.12±2.35 ^{#*}	1.42±0.29 ^{#*}
F	352.19	126.32
P	<0.05	<0.05

注:与急性期组比较,[#] $P<0.05$;与恢复期组比较,^{*} $P<0.05$

2.2 各组 TLR2mRNA 和 TLR9mRNA 表达水平情况 急性期组 TLR2mRNA 和 TLR9mRNA 表达水平显著高于恢复期组和对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);恢复期组的 TLR2mRNA 和 TLR9mRNA 表达水平显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 各组 TLR2mRNA 和 TLR9mRNA 表达水平($\bar{x}\pm s$)

组别	TLR2mRNA	TLR9mRNA
急性期组	3.71±0.79	9.12±1.29
恢复期组	3.02±0.84 [#]	5.44±1.09 [#]
对照组	2.43±0.58 ^{#*}	3.69±0.78 ^{#*}
F	22.781	184.292
P	<0.05	<0.05

注:与急性期组比较,[#] $P<0.05$;与恢复期组比较,^{*} $P<0.05$

3 讨 论

IM 是由 EBV 感染所致。有研究指出淋巴 B 细胞的表面存在 EBV 的特异性受体,所以淋巴 B 细胞也成了该病毒持续感染的终身潜伏场所。在 EBV 细胞感染 B 细胞后可以逃避免疫的监视过程,为建立持续性感染的 B 细胞库提供了机会,在细胞免疫功能低下的时候,造成了永生 B 细胞不断地繁殖^[4-5]。CD19⁺ 分子是 B 细胞表面的糖基化的跨膜蛋白,是 B 细胞表面的特异性蛋白,该蛋白水平直接代表了 B 细胞的水平。CD23⁺ 是主要在活化的 B 细胞表面表达的跨膜蛋白,可以作为 B 细胞活化的重要标志物,当 CD19⁺ 分子和 CD23⁺ 同时阳性时代表永生 B 细胞^[6-7]。对于 CD19⁺ 和 CD23⁺ 两个分子水平的测定,是对 IM 患儿外周血 B 细胞和永生 B 细胞水平的较好的反应^[8]。在 B 细胞活化的过程中与 B 细胞表面的抗体是密不可分的,其中 Toll 样受体提供了 B 细胞活化的途径。最主要的两种是 TLR2 和 TLR9。TLR2 能够较多地识别配体,在 EBV 感染时是参与到免疫应答的直接受体,能够直接地刺激 B 细胞激活,

在 EBV 感染的时候能够刺激炎症因子的产生继发相应的病理反应^[9-10]。TLR9 能够被 EBV 病毒的 DNA 基序所激活,能够促进 B 细胞的激活,促进其增殖和活化,活化后的 TLR9 又能反过来上调 TLR9。在动物实验中已经有证实,在抗病毒的免疫应答中 TLR9 具有积极的作用^[11]。

在本研究中发现,在急性期组的 CD19⁺ 和 CD19⁺CD23⁺ 的阳性表达率明显低于恢复期,在感染的急性期,病毒入侵 B 细胞,在细胞表面的受体就会对抗原进行识别和提呈给免疫细胞,引起体内的免疫反应,进而对感染了 EBV 病毒的 B 细胞进行杀灭^[11]。所以体内 CD19⁺ 和 CD19⁺CD23⁺ 阳性表达率就会下降,相对而言,急性期的下降幅度和数量要显著高于恢复期的患儿。而处于恢复期的患儿上述指标表达水平也要低于对照组。同时本研究还发现,急性期组的 TLR2mRNA 和 TLR9mRNA 水平要显著高于对照组,且急性期组的二者要显著高于恢复期组,Toll 样受体作为一种跨膜的信号传递受体,在识别入侵性的病原微生物中发挥着重要的作用^[12-13]。在 IM 的急性期,TLR2 通过机体的固有免疫反应,限制 EB 病毒的传播和表达,TLR9 识别 EBV 且限制其传播并控制已被病毒感染的潜伏 B 细胞而发挥作用^[14]。在病原体侵入机体后,机体通过上调 TLR2mRNA 和 TLR9mRNA 来更全面地识别和更迅速地提呈给免疫细胞,进行机体免疫反应^[15]。在疾病处于恢复期时,TLR2 与 TLR9 的配体对 TLR2 与 TLR9 的刺激作用减少,从而二者的 mRNA 表达下调。

4 结 论

IM 患儿的外周血单核细胞 TLR2、TLR9 及 CD19⁺、CD23⁺ 各分子指标在 IM 的患者的不同时期表达水平不同,这些指标可能参与了 IM 的发生和转归的全过程。

参考文献

- [1] 杜娟. 经尿道手术标本收集器的设计及应用[J]. 中华护理杂志, 2016, 51(11): 1366-1367.
- [2] 梁少媛, 唐敏贤, 陈广道. EB 病毒致传染性单核细胞增多症患儿外周血病毒量与临床特征的相关性[J]. 实用医学杂志, 2016, 32(2): 278-280.
- [3] 谢正德, 申昆玲. 重视儿童肺肿瘤性 EB 病毒感染疾病的研究[J]. 首都医科大学学报, 2010, 25(10): 706-708.
- [4] 张庆群, 陈秀霞, 付元, 等. 过敏性紫癜患儿外周血单核细胞表面 TLR2, 4, 6 的表达及其与辅助性 T 细胞 17 的相

关性分析[J/CD]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版), 2014, 10(5): 55-59.

- [5] 高辉香, 田玲玲, 常红, 等. 过敏性紫癜患儿外周血单核细胞 TLR2、TLR4、TLR6 及与 Treg 相关细胞因子的表达[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(38): 6222-6227.
- [6] 孔庆瑜, 黄玉娴, 俞纯山, 等. 流式细胞仪检测哮喘患儿外周血单核细胞表型的变化[J]. 现代医学仪器与应用, 2003, 20(1): 1-3.
- [7] HAGN M, PANIKKAR A, SMITH C, et al. B cell-derived circulating granzyme B is a feature of acute infectious mononucleosis[J]. Clin Trans Immunol, 2015, 4(6): 138-139.
- [8] 王淦培, 刘汉嘉, 黄永智, 等. 哮喘患儿外周血单核细胞中 Toll 样受体 4 表达及意义[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2015, 29(12): 1212-1214.
- [9] 张瑞城. 激素敏感型肾病综合征患儿 CD19⁺CD23⁺ B 细胞、CD4⁺CD25⁺ T 细胞、E-选择素和白介素-12 水平变化及其与白蛋白、血胆固醇的相关性[J]. 中国医药导报, 2016, 13(13): 40-43.
- [10] 章爱莲, 沈方方, 帅秀珍, 等. 外周血淋巴细胞 CD19⁺CD23⁺ 在支气管哮喘患儿的表达及临床意义[J]. 中国优生与遗传杂志, 2015, 23(10): 30-31.
- [11] PANIKKAR A, SMITH C, HISLOP A, et al. Impaired Epstein-Barr Virus-Specific Neutralizing Antibody Response during Acute Infectious Mononucleosis Is Coincident with Global B-Cell Dysfunction[J]. J Virology, 2015, 89(17): 9137-9141.
- [12] 郭娟娟, 常虹, 郝国平, 等. 传染性单核细胞增多症患儿外周血 EBV-DNA 载量与 T 细胞亚群的相关性分析[J]. 中国现代医生, 2011, 49(34): 1-2.
- [13] FABER A C, COFFEE E M, COSTA C, et al. mTOR inhibition specifically sensitizes colorectal cancers with KRAS or BRAF mutations to BCL-2/BCL-XL inhibition by suppressing MCL-1[J]. Cancer Dis, 2014, 4(1): 42-52.
- [14] SIVEEN K S, SIKKA S, SURANA R, et al. Targeting the STAT3 signaling pathway in cancer: role of synthetic and natural inhibitors[J]. Bio Chim Biophys Acta, 2014, 1845(2): 136-154.
- [15] LOHRI C, SCHALTEGGER C S, VANDENBROEK M, et al. Neutrophil ex-pression of ICAM1, CXCR1, and VEGFR1 in patients with breast cancer before and after adjuvant chemotherapy[J]. Anticancer Res, 2014, 34(9): 4693-4699.

(收稿日期: 2018-09-11 修回日期: 2018-12-22)