

[19] SCHNEIDER-HOHENDORF T, MOHAN H, BIEN C G, et al. CD8⁺ T-cell pathogenicity in Rasmussen encephalitis elucidated by large-scale T-cell receptor sequencing [J]. Nat Commun, 2016, 7: 11153.

[20] 于文静, 白雪, 张雯, 等. 健脾止动汤对多发性抽动症患儿神经递质的影响[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(5): 1757-1761.

[21] 邹英杰, 王骥超, 李志飞. 全蝎蜈蚣对抽动症模型小鼠行为及单胺类神经递质的影响[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(2): 434-437.

[22] 李小平, 李杏色, 李进华, 等. 抽动障碍儿童单胺类神经递质和血锌、钙水平分析[J]. 河北医科大学学报, 2014, 35(6): 704-706.

(编辑:杨丹)

(收稿日期:2017-05-31 修回日期:2017-08-05)

doi:10. 13407/j. cnki. jpp. 1672-108X. 2018. 06. 002

· 论 著 ·

肺炎支原体肺炎患儿外周血 Th9、IL-9 和 IFN-γ 水平变化及意义

沈进, 沈国强, 王小明, 孙少君, 杨茜云 (无锡市第九人民医院, 江苏无锡 214000)

[摘要] 目的:探讨 Th9、IL-9 和 IFN-γ 在肺炎支原体肺炎(MPP)患儿发病中的作用及其与肺功能变化的相关性。方法:选择 100 例 MPP 患儿,其中喘息组 42 例,非喘息组 58 例;另选体检健康的儿童 25 例为对照组。采用流式细胞术检测外周血 Th9 细胞比例,采用 ELISA 测定 IL-9 和 IFN-γ 水平;采用肺功能仪检测肺功能,检测指标为第 1 秒用力呼气容积占预计值的百分比(FEV1%-pred)、第 1 秒用力呼气容积占用力肺活量的百分比(FEV1/FVC%)及残气量占预计值的百分比(RV%-pred)。采用 Pearson 相关分析检验结果的相关性。结果:喘息组患儿的 FEV1%-pred 和 FEV1/FVC% 低于非喘息组患儿,RV%-pred、Th9、IL-9、IFN-γ 水平均高于非喘息组患儿(P 均 <0.05)。MPP 患儿的 Th9 细胞比例(r 分别为 -0.9624 、 -0.9611)、IL-9 水平(r 分别为 -0.9510 、 -0.9580)、IFN-γ 水平(r 分别为 -0.9609 、 -0.9629)与 FEV1%-pred 和 FEV1/FVC% 均呈负相关,与 RV%-pred 呈正相关(r 分别为 0.9789 、 0.9825 、 0.9635)。结论:MPP 患儿外周血 Th9、IL-9 和 IFN-γ 水平明显升高,且升高程度随着患儿出现喘息而加大,这种变化可为临床判断患儿肺功能降低提供参考。

[关键词] 肺炎支原体;肺炎;Th9 细胞;白细胞介素-9;IFN-γ;肺功能

[中图分类号]R725.6

[文献标识码]A

[文章编号]1672-108X(2018)06-0004-03

Changes and Significance of Th9, IL-9 and IFN-γ Levels in Peripheral Blood of Children with *Mycoplasma Pneumoniae* Pneumonia

Shen Jin, Shen Guoqiang, Wang Xiaoming, Sun Shaojun, Yang Qianyun (The Ninth People's Hospital of Wuxi City, Jiangsu Wuxi 214000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the role of Th9, IL-9 and IFN-γ levels in children with *Mycoplasma Pneumoniae* pneumonia (MPP) and its correlation with pulmonary function. **Methods:** A total of 100 children with MPP were divided into asthma group ($n=42$) and non-asthma group ($n=58$); and another 25 healthy children were extracted as control group. The percentage of Th9 cells in peripheral blood were detected by flow cytometry and IL-9 and IFN-γ levels were measured by ELISA. Pulmonary function was determined by spirometer, with the testing indicators of FEV1%-pred, FEV1/FVC% and RV%-pred. Correlation of the results of pulmonary function indicators were analyzed by Pearson analysis. **Results:** The FEV1%-pred and FEV1/FVC% in asthma group were lower than those in non-asthma group, and the RV%-pred, Th9, IL-9 and IFN-γ levels were higher than those in non-asthma group ($P < 0.05$). The ratio of Th9 cells (r were respectively $-0.962,4$ and $-0.961,1$), IL-9 levels (r were respectively $-0.951,0$ and $-0.958,0$), IFN-γ levels (r were respectively $-0.960,9$ and $-0.962,9$) showed significant negative correlation with FEV1%-pred and FEV1/FVC% and had positive correlation with RV%-pred (r were respectively $0.978,9$, $0.982,5$ and $0.963,5$) in children with MPP. **Conclusion:** The Th9, IL-9 and IFN-γ levels in peripheral blood of children with MPP increased significantly, and the degree is aggravating with the pulmonary wheezing, which can provide reference for clinical judgment of pulmonary function decline in children.

[Keywords] *Mycoplasma pneumoniae*; pneumonia; Th9 cells; IL-9; IFN-γ; pulmonary function

肺炎支原体肺炎(*Mycoplasma pneumoniae* pneumonia, MPP)是由肺炎支原体(*Mycoplasma pneumoniae*, MP)感染引起的间质性肺炎及毛细支气管炎样改变,临床表现为

顽固性剧烈咳嗽^[1]。MPP 的发病机制不仅与 MP 侵袭有关,还与免疫功能紊乱有关^[2-3]。辅助性 T 细胞(Th 细胞)中,Th1 分泌 γ 干扰素(IFN-γ)、白介素(IL)-2 等细

作者简介:沈进(1991.10-),男,硕士,初级检验师,主要从事病原生物学研究,E-mail: shenjin199@qq.com。

胞因子,参与细胞免疫反应,清除体内病原微生物;Th2 分泌 IL-9 等细胞因子,在体液免疫中发挥重要作用;Th9 是最近发现的一种新型 CD4⁺ 效应 T 细胞,通过特异性分泌 IL-9 作用于炎性细胞和组织细胞^[4]。MPP 患儿常存在 Th1/Th2 失衡。本研究旨在探讨 Th9、IL-9 和 IFN- γ 在 MPP 患儿发病中的作用及其与肺功能变化的相关性。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选择 2013 年 9 月至 2016 年 11 月我院儿科收治的 MPP 患儿 100 例,其中男 48 例,女 52 例,年龄(7.5 \pm 3.9)岁。纳入标准:(1)临床诊断符合第 7 版《实用儿科学》中 MPP 的诊断标准^[5];(2)实验室检测 MP 阳性;(3)首次接受治疗,之前未使用激素及免疫调节剂等影响免疫功能的药物;(4)家属同意并签署知情同意书。排除标准:(1)伴有其他呼吸系统疾病;(2)伴有过敏性及免疫相关性疾病。根据有无喘息症状(气急、哮鸣音等)分为喘息组 42 例,其中男 26 例,女 16 例,年龄(7.1 \pm 2.8)岁;非喘息组 58 例,其中男 34 例,女 24 例,年龄(7.7 \pm 3.6)岁。另选同期我院门诊体检健康的儿童 25 例作为对照组,其中男 16 例,女 9 例,年龄(7.8 \pm 2.9)岁。三组儿童性别、年龄比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

三组儿童于入院当日或次日清晨空腹抽取外周静脉血 6 mL,分置于抗凝管和非抗凝管中。非抗凝管血样经 3 000 r/min 离心 10 min 后分离血清,采用 ELISA[严格按照试剂盒(R&D Systems 公司)说明书]检测 IL-9、IFN- γ 水平。抗凝管血样采用淋巴细胞分离液分离单个核细胞(PBMC),用 PBS 充分洗涤,再用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 调整细胞密度为 3 $\times 10^6$ /mL,分别加入鼠抗人 CD3、CD28 mAb(美国 BD-PharMingen 公司,终浓

度分别为 0.2 mg/L、1.0 mg/L),置于 5% CO₂ 培养箱中孵育 6 h,然后收集 PBMC 用 PBS 洗涤 3 次。将收集好的 PBMC 进行荧光标记抗体表面染色,每管加入 100 μ L 细胞悬液(细胞 1 $\times 10^6$ 个),然后加入 CD4-PC5 荧光 mAb 5 μ L,4 $^{\circ}$ C 避光孵育 30 min,洗涤,除去上清液,细胞固定、破膜、胞内染色。测定管中加入抗人 IL-9-PE 5 μ L,同型对照管中加入同型对照抗体 5 μ L,混匀后于 4 $^{\circ}$ C 避光反应 30 min。反应结束后,用 3 mL PBS 洗涤 2 次,除去上清液,每管加入 1% 多聚甲醛固定液 0.5 mL 固定后采用流式细胞仪检测。首先设门于淋巴细胞,再以 CD3⁺T 细胞设门,进一步检测 CD3⁺CD4⁺IL-9⁺ 细胞(主要表达于 Th9 细胞),计算 Th9 细胞比例。

采用肺功能仪检测三组儿童的肺功能,检测指标为第 1 秒用力呼气容积占预计值的百分比(FEV1% -pred)、第 1 秒用力呼气容积占用力肺活量的百分比(FEV1/FVC%)及残气量占预计值的百分比(RV% -pred)。

1.3 统计学方法

应用 SPSS18.0 软件,计量资料以均数 \pm 标准差表示,两两比较采用 *t* 检验,三组比较采用 *F* 检验,相关性分析采用 Pearson 相关分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组儿童外周血 Th9、IL-9、IFN- γ 水平及肺功能比较

三组儿童外周血 Th9、IL-9、IFN- γ 水平及 RV% -pred 比较,喘息组>非喘息组>对照组(P 均<0.05);FEV1% -pred、FEV1/FVC% 比较,喘息组<非喘息组<对照组(P 均<0.05)。见表 1。

2.2 MPP 患儿外周血 Th9、IL-9、IFN- γ 水平与肺功能指标的相关性

MPP 患儿外周血 Th9、IL-9、IFN- γ 水平与 FEV1% -pred、FEV1/FVC% 呈负相关,与 RV% -pred 呈正相关。见表 2。

表 1 三组儿童外周血 Th9、IL-9、IFN- γ 水平及肺功能比较

组别	例数	Th9/%	IL-9/(pg/mL)	IFN- γ /(pg/mL)	FEV1% -pred	FEV1/FVC%	RV% -pred
喘息组	42	1.82 \pm 0.34 ^{ab}	33.27 \pm 6.35 ^{ab}	1 139.71 \pm 265.44 ^{ab}	60.34 \pm 10.57 ^{ab}	57.19 \pm 9.37 ^{ab}	157.90 \pm 29.47 ^{ab}
非喘息组	58	1.31 \pm 0.29 ^a	27.19 \pm 5.92 ^a	793.58 \pm 166.45 ^a	75.62 \pm 9.94 ^a	70.25 \pm 13.86 ^a	130.70 \pm 20.12 ^a
对照组	25	0.83 \pm 0.17	17.82 \pm 3.47	424.72 \pm 132.65	93.57 \pm 16.07	85.42 \pm 10.33	90.54 \pm 19.77
<i>F</i>		95.28	57.97	102.42	65.28	45.23	63.85
<i>P</i>		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注:a 与对照组比较, $P<0.05$;b 与非喘息组比较, $P<0.05$ 。

表 2 MPP 儿童外周血 Th9、IL-9、IFN- γ 水平与肺功能指标的相关性

指标	FEV1% -pred			FEV1/FVC%			RV% -pred		
	<i>r</i>	95% CI	<i>P</i>	<i>r</i>	95% CI	<i>P</i>	<i>r</i>	95% CI	<i>P</i>
Th9	-0.962 4	-0.992 3 ~ -0.826 6	<0.01	-0.961 1	-0.992 0 ~ -0.820 8	<0.01	0.978 9	0.899 6 ~ 0.995 7	<0.01
IL-9	-0.951 0	-0.989 9 ~ -0.778 7	<0.01	-0.958 0	-0.991 4 ~ -0.807 8	<0.01	0.982 5	0.916 2 ~ 0.996 4	<0.01
IFN- γ	-0.960 9	-0.990 5 ~ -0.791 4	<0.01	-0.962 9	-0.993 3 ~ -0.827 6	<0.01	0.963 5	0.871 4 ~ 0.982 7	<0.01

3 讨论

MP 是常见的呼吸道病原体,主要通过飞沫传播,存

在于呼吸道纤毛上皮之间,不侵入肺实质,通过细胞膜上的神经氨酸受体位点,吸附于宿主呼吸道上皮细胞表面,抑制纤毛活动并破坏上皮细胞^[6]。MP 感染不但可

引起肺部损伤,还可造成肺外多器官的损害^[7]。关于 MPP 的发病机制目前研究主要倾向于 MP 的直接侵入、呼吸道上皮细胞吸附和免疫调节机制异常,其中免疫调节机制异常近年来备受关注^[3]。研究表明,体液免疫和细胞免疫共同参与 MPP 的发病过程,体液免疫和细胞免疫的平衡紊乱,主要表现为 T 淋巴细胞免疫功能的低下和 B 淋巴细胞异常活化,同时激活机体内的补体系统^[8]。

王鑫等^[9]指出,MPP 患儿存在免疫功能失调,表现为 Th1/Th2 下降,Th2 占优势。MPP 患者体内,常存在 Th1/Th2 失衡^[10]。本研究以 IFN- γ 代表 Th1 功能,IL-9 代表 Th2 功能,结果显示喘息组和非喘息组患儿的 IL-9 和 IFN- γ 水平均明显高于对照组,表明 Th1、Th2 均参与了 MPP 患儿呼吸系统的免疫损伤,与其他研究结果^[9]相符。

Th9 是一种新型效应 CD4⁺T 细胞亚群,可促进炎症细胞数量上升并分泌相关炎症介质,促进炎症的发生发展^[4]。IL-9 是 Th9 细胞的效应因子,主要通过肥大细胞发挥生物学效应,介导 JAK/STAT 信号通路,在哮喘、实验性变态反应性脑脊髓炎、肿瘤等多种自身免疫性疾病和免疫耐受、蠕虫免疫的发生发展过程中具有重要作用^[11]。国内研究提示,Th9 及 IL-9 的异常高表达可能参与了儿童 MP 感染的发病^[12]。本研究结果显示,MPP 患儿的 Th9 和 IL-9 水平均高于对照组,且喘息组患儿均高于非喘息组患儿,表明 Th9 及 IL-9 在 MPP 患儿中的表达升高,且随着患儿出现喘息升高程度更加明显,与其他研究结果^[12]相符。

MP 感染也会影响患儿的肺功能^[13]。FEV1% -pred、FEV1/FVC% 和 RV% -pred 是反映肺部功能的常用检测指标^[14]。本研究结果显示,MPP 患儿的 FEV1% -pred、FEV1/FVC% 均明显低于健康儿童,RV% -pred 高于健康儿童,且随着肺部出现喘息症状,患儿的肺功能进一步减退。提示 MPP 患儿存在气道黏膜受损和气流受限,尤其伴喘息的患儿受限明显,可能是发展为哮喘的高危儿童。气道黏膜受损是气道高反应性的主要因素,而气流受限是气道黏膜受损的一个表现。MP 感染诱发哮喘发作不仅与气道黏膜损伤有关,还与细胞免疫失衡有关^[15]。本研究结果显示,MPP 患儿外周血 Th9、IL-9、IFN- γ 水平与 FEV1% -pred、FEV1/FVC% 均呈负相关,与 RV% pred 呈正相关,说明 Th9、IL-9、IFN- γ 在 MPP 发生发展中具有重要作用。

综上所述,MPP 患儿外周血 Th9、IL-9 和 IFN- γ 水平

明显升高,且程度随着患儿出现喘息而加大,这种变化可为临床判断患儿肺功能降低提供参考。

参考文献:

- [1] REITNER P, MÜLLER N L, HEYNEMAN L, et al. *Mycoplasma pneumoniae pneumonia* [J]. American journal of roentgenology, 2012, 174(1): 37-41.
- [2] 刘晓静. 儿童肺炎支原体感染耐药现状及抗生素治疗进展 [J]. 医学综述, 2014, 20(20): 3736-3738.
- [3] 郭赞. 儿童重症肺炎支原体肺炎的免疫机制研究 [J]. 国际儿科学杂志, 2012, 39(2): 199-202.
- [4] KAPLAN M H. Th9 cells: differentiation and disease [J]. Immunological reviews, 2013, 252(1): 104-115.
- [5] 胡亚美, 江载芳. 诸福堂实用儿科学 [M]. 第 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1143.
- [6] PRINCIPI N, ESPOSITO S. Macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae*: its role in respiratory infection [J]. Journal of antimicrobial chemotherapy, 2013, 68(3): 506-511.
- [7] MEYER SAUTEUR P M, STREULI J C, IFF T, et al. *Mycoplasma pneumoniae*-associated encephalitis in childhood--nervous system disorder during or after a respiratory tract infection [J]. Klinische pdiatrie, 2011, 223(4): 209-213.
- [8] 郭彦斌, 尚莉丽, 桂金贵, 等. 肺炎支原体肺炎患儿机体免疫功能变化 [J]. 安徽医学, 2014, 35(7): 913-915.
- [9] 王鑫, 马春艳, 张亚京, 等. 肺炎支原体肺炎患儿外周血 Th1/Th2 表达及肺功能变化的临床意义 [J/OL]. 中华临床医师杂志(电子版), 2014, 8(6): 39-43.
- [10] 康妍萌, 丁明杰, 韩玉玲. 细胞因子与肺炎支原体感染的相关研究进展 [J]. 山东医药, 2011, 51(21): 113-114.
- [11] XIN W, LI P, XIAO L, et al. The effects of IL-9 on CLL correlate with activation of the JAK/STAT pathways and micromnas [J]. Blood, 2013, 122(21): 1627.
- [12] 王建勇, 郑静, 邢海燕, 等. Th9 细胞与 IL-9 在肺炎支原体感染患儿中的检测及其临床意义 [J]. 中国当代儿科杂志, 2015, 17(4): 308-311.
- [13] 周彩丽, 刘宗伟, 周清霞, 等. 肺炎支原体对支气管哮喘患儿肺功能的影响 [J]. 中国儿童保健杂志, 2016, 24(7): 762-764.
- [14] 周明娟, 郑劲平. 肺功能检查临床实用方法指标及含义 [J]. 中国实用内科杂志, 2012, 32(8): 575-577.
- [15] 陈志敏. 肺炎支原体与支气管哮喘 [J]. 临床儿科杂志, 2011, 29(8): 701-704.

(编辑:刘雄志)

(收稿日期:2017-05-03 修回日期:2017-06-16)

· 编者 · 作者 · 读者 ·

本刊特别欢迎各类基金课题论文

为了鼓励作者将基金课题(包括国家自然科学基金、国家各部委及各省、市、自治区级的各种基金)产生的论文投到《儿科药理学杂志》发表,以进一步提高本刊的学术水平,由上述基金课题产生的论文将在本刊优先发表,同时对该基金课题产生

的研究性论文给予优厚稿酬。基金项目稿件需附基金课题文件复印件并在文中注明基金名称及编号,否则无效。热忱欢迎广大作者投稿。投稿网址:<http://www.ekyzz.com.cn>。