

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2014.03.012

论著·临床研究

肺炎支原体感染对哮喘患儿支气管肺泡灌洗液中T细胞功能的影响

辛丽红 王静 王贞 程玮 张雯

(西安市儿童医院呼吸二科, 陕西 西安 710004)

【摘要】 目的 评价肺炎支原体(MP)感染对哮喘患儿急性期、稳定期支气管肺泡灌洗液(BALF)中T细胞功能的影响,探讨MP感染与哮喘的关系。**方法** 71例患儿(支气管炎、肺炎、哮喘),分为无MP感染对照组(无MP感染的肺炎、支气管炎)、无MP感染的哮喘组、MP感染的哮喘组;用流式细胞仪技术检测各组患儿急性期、稳定期BALF中CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T细胞和CD4⁺/CD8⁺水平。**结果** 哮喘患儿无论在急性期还是稳定期,BALF中CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺和CD4⁺/CD8⁺与对照组比较均有明显差异($P<0.05$),急性期,CD3⁺、CD4⁺较对照组有所降低,CD8⁺上升,而CD4⁺/CD8⁺则有明显降低($P<0.05$);稳定期,CD3⁺、CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺低于对照组,CD8⁺稍有上升($P<0.05$)。MP感染哮喘患儿与非感染哮喘患儿相比较,急性期CD3⁺、CD4⁺显著下降,CD8⁺升高($P<0.05$)、CD4⁺/CD8⁺显著下降($P<0.05$);稳定期CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺无明显差异($P>0.05$),CD4⁺/CD8⁺明显下降($P<0.05$)。**结论** MP感染的哮喘患儿在急性期和稳定期可使气道T细胞功能明显降低,进而引起免疫紊乱,提示MP可能与哮喘发病有关。

[中国当代儿科杂志, 2014, 16(3): 277-280]

【关键词】 肺炎支原体;哮喘;支气管肺泡灌洗液;T细胞;儿童

Effect of Mycoplasma pneumoniae infection on function of T lymphocytes in bronchoalveolar lavage fluid of asthmatic children

XIN Li-Hong, WANG Jing, WANG Zhen, CHENG Wei, ZHANG Wen. The Second Department of Respiratory Medicine, Children's Hospital of Xi'an, Xi'an 710004, China (Email: xinmandy@163.com)

Abstract: Objective To investigate the effect of Mycoplasma pneumoniae (MP) infection on the function of T lymphocytes in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of asthmatic children in acute and stable periods and the relationship between MP infection and asthma. **Methods** Seventy-one hospitalized children (with bronchitis, pneumonia, and asthma) were divided into non-MP infection control group (group A, pneumonia and bronchitis without MP infection), non-MP infection asthma group (group B), and MP infection asthma group (group C). Flow cytometry was used to determine CD3⁺, CD4⁺, and CD8⁺ T cell counts and CD4⁺/CD8⁺ ratio in BALF among all children in acute and stable periods. **Results** Compared with group A, groups B and C showed significant differences in CD3⁺, CD4⁺, and CD8⁺ T cell counts and CD4⁺/CD8⁺ ratio ($P<0.05$) in acute and stable periods, had decreased CD3⁺ and CD4⁺ T cell counts, an increased CD8⁺ T cell count, and a significantly decreased CD4⁺/CD8⁺ ratio ($P<0.05$) in the acute period, and had decreased CD3⁺ and CD4⁺ T cell counts and CD4⁺/CD8⁺ ratio and an increased CD8⁺ T cell count ($P<0.05$) in the stable period. Compared with group B, group C had significantly decreased CD3⁺ and CD4⁺ T cell counts and CD4⁺/CD8⁺ ratio ($P<0.05$) and a significantly increased CD8⁺ T cell count ($P<0.05$) in the acute period and showed no significant differences in CD3⁺, CD4⁺, and CD8⁺ T cell counts ($P>0.05$) and a significant decrease in CD4⁺/CD8⁺ ratio ($P<0.05$) in the stable period. **Conclusions** The immunological function of T lymphocytes in the airway declines significantly among asthmatic children with MP infection in acute and stable periods, leading to immune system disorder. MP may be associated with the pathogenesis of asthma. [Chin J Contemp Pediatr, 2014, 16(3): 277-280]

Key words: Mycoplasma pneumoniae; Asthma; Bronchoalveolar lavage fluid; T lymphocyte; Child

[收稿日期] 2013-08-10; [接受日期] 2014-01-26

[作者简介] 辛丽红,女,硕士,副主任医师。

支气管哮喘（简称哮喘）是呼吸系统的常见病和多发病，病变主要为可逆性气流受限，儿童常表现为咳嗽、咳痰、气喘，活动时加重，常常严重影响生存质量。肺炎支原体（MP）感染被认为是哮喘重要的发病因素^[1]。研究发现，哮喘患者气道、肺实质、肺血管中均存在着慢性炎症，中性粒细胞、巨噬细胞、嗜酸性粒细胞、T细胞均参与其中，但它们各自在哮喘发展过程中的确切功能目前尚未完全明了^[2-3]。关于T细胞亚群在儿童哮喘的急性期、稳定期中的变化的研究较少，且结果也缺乏一致性。因此本研究就MP感染对哮喘患儿支气管肺泡灌洗液（BALF）中T细胞亚群功能的影响进行了研究。现报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2011年3月至2012年3月入住我院呼吸科的哮喘患儿50例为研究对象，其中非MP感染的哮喘组26例，男19例，女7例，平均年龄 6.8 ± 1.9 岁；MP感染哮喘组24例，男15例，女9例，平均年龄 7.9 ± 2.1 岁。两组患儿均符合我国《儿科学》（第7版）中关于儿童哮喘的诊断标准^[4]，并排除营养不良，先天遗传代谢性疾病、先天性支气管肺发育不良、间质性肺疾病、呼吸衰竭、肺结核、支气管异物以及糖皮质激素使用者。MP诊断标准^[5]：MP-IgM抗体：双份血清（间隔1~2周），恢复期滴度上升4倍或下降至原来的1/4；单份血清抗体滴度持续升高 $>1:160$ 。另选取同期入住我院呼吸科的对照组患儿21例，男14例，女7例，平均年龄 7.4 ± 2.1 岁，无MP感染史，临床表现为单纯咳嗽，经血液分析、痰液细胞学及肺功能检查均无异常发现，胸部影像学提示一般支气管炎、支气管肺炎或大叶性肺炎。

1.2 肺功能测定

入院时应用肺功能仪检测1秒用力呼气容积（FEV1%）。

1.3 BALF检测T细胞亚群

术前签署支气管镜检查知情同意书。选用

3.6 mm直径的纤维支气管镜（Olympus 3C40），于右肺中叶用37℃灭菌生理盐水进行灌洗，每次1 mL/kg，共3次，回收灌洗液，回收率应大于60%；所得BALF用2层纱布过滤黏液后，立即置于4℃、4000 r/min离心15 min。离心后取上清液，冻存于-80℃冰箱中待检^[6]。采用流式细胞术检测BALF中CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺水平。

1.4 统计学分析

采用SPSS 13.0统计软件对数据进行统计学处理，计量资料以均数 ± 标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，多组间比较采用方差分析，组间两两比较用SNK-*q*检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况比较

各组在年龄、性别方面差异均无统计学意义（均 $P > 0.05$ ）。两哮喘组患儿FEV1%均低于对照组（均 $P < 0.05$ ），但两哮喘组间FEV1%差异无统计学意义（均 $P > 0.05$ ）。见表1。

2.2 入院时各组患儿BALF中T细胞亚群水平

入院时两哮喘组患儿BALF中CD3⁺、CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺均低于对照组，但CD8⁺有上升（均 $P < 0.05$ ）。MP感染哮喘患儿CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺明显低于非MP感染哮喘患儿，而CD8⁺则高于非MP感染哮喘患儿（均 $P < 0.05$ ）。见表2。

2.3 稳定期各组患儿BALF中T细胞亚群水平

稳定期两哮喘组患儿BALF中CD3⁺、CD4⁺及CD4⁺/CD8⁺均低于对照组，但CD8⁺上升（均 $P < 0.05$ ）。MP感染哮喘患儿仅CD4⁺/CD8⁺明显低于非MP感染哮喘患儿（ $P < 0.05$ ）。见表3。

表1 各组一般情况比较（ $\bar{x} \pm s$ ，例）

组别	例数	年龄(岁)	男/女	FEV1%
对照组	21	7.4 ± 2.1	14/7	89 ± 9
非MP感染哮喘组	26	6.8 ± 1.9	19/7	54 ± 8 ^a
MP感染哮喘组	24	7.9 ± 2.1	15/9	50 ± 10 ^a
$F(\chi^2)$ 值		1.39	(0.39)	3.02
<i>P</i> 值		0.25	0.50	0.02

注：a为与对照组比较， $P < 0.05$ 。

表 2 入院时各组患儿 BALF 中 T 细胞亚群水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
对照组	21	0.61 ± 0.13	0.48 ± 0.07	0.25 ± 0.03	1.54 ± 0.19
非 MP 感染哮喘组	26	0.45 ± 0.12 ^a	0.22 ± 0.08 ^a	0.29 ± 0.07 ^a	0.80 ± 0.20 ^a
MP 感染哮喘组	24	0.42 ± 0.08 ^a	0.15 ± 0.06 ^{ab}	0.33 ± 0.05 ^{ab}	0.41 ± 0.12 ^{ab}
F 值		7.58	55.73	9.93	168.75
P 值		0.015	0.005	0.02	0.001

注: a 为与对照组比较, $P < 0.05$; b 为与非 MP 感染哮喘组比较, $P < 0.05$ 。

表 3 稳定期各组患儿 BALF 中 T 细胞亚群水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
对照组	21	0.58 ± 0.07	0.33 ± 0.02	0.28 ± 0.04	1.15 ± 0.14
非 MP 感染哮喘组	26	0.54 ± 0.06 ^a	0.27 ± 0.03 ^a	0.31 ± 0.02 ^a	0.84 ± 0.05 ^a
MP 感染哮喘组	24	0.49 ± 0.05 ^a	0.24 ± 0.02 ^a	0.35 ± 0.03 ^a	0.65 ± 0.12 ^{ab}
F 值		5.08	23.97	12.99	51.86
P 值		0.01	0.002	0.045	0.001

注: a 为与对照组比较, $P < 0.05$; b 为与非 MP 感染哮喘组比较, $P < 0.05$ 。

3 讨论

MP 目前已成为儿童与成人呼吸道感染的重要病原^[7], 可引起肺外多系统损害, 部分患儿病程长、病情重, 甚至引起多器官功能障碍综合征, 或多器官功能衰竭, 甚至死亡。研究发现 MP 感染不但引起呼吸系统炎症, 且与哮喘密切相关^[8-10]。MP 诱发和引起哮喘的机制可能有以下几点^[11]: (1) 气道黏膜损伤机制; (2) 作为过敏原诱发 IgE 介导的 I 型变态反应; (3) 细胞因子和炎症介质。

哮喘是由多种炎症细胞和炎症因子共同参与的气道慢性炎症性疾病。作为一种变态反应性疾病, 哮喘存在体液和细胞免疫功能双重紊乱, 表现为辅助性 T 细胞功能增强, 而抑制性 T 细胞功能低下, 研究发现 Th1/Th2 比例失衡与哮喘发病密切相关^[12-13]。CD3⁺ 为总 T 淋巴细胞, 代表机体的细胞免疫功能状态; CD4⁺ 为辅助型 / 诱导型 T 细胞, 对细胞免疫起调节作用; CD8⁺ 为细胞毒抑制型 T 细胞, 与 CD4⁺ 功能相反^[14]。临床上常用 CD4⁺/CD8⁺ 细胞比例来评价患者机体的免疫功能状态^[15]。本研究结果显示, 在哮喘的急性发作期和稳定期, 患儿 BALF 中 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 与对照组相比均有明显差异, 急性期和稳定期, CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 均较对照组降低, 而 CD8⁺ 有上升。急性期时, 伴 MP 感染哮喘患儿的 CD4⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺ 明显低于无 MP 感染的哮喘患

儿, 而 CD8⁺ 有上升; 在稳定期, MP 感染组患儿 BALF 中仅 CD4⁺/CD8⁺ 下降明显。提示无论是在急性期还是稳定期, 哮喘患儿 BALF 中 T 细胞的功能异常主要表现在 CD4⁺/CD8⁺ 的下降, 这种改变在伴 MP 感染的哮喘患儿中尤为突出。患儿 BALF 中 CD4⁺/CD8⁺ 下降可能是 CD8⁺ 数目增加所致, 表现为反复感染, 说明气道局部免疫防御能力下降。

感染是哮喘急性加重的主要原因^[16]。有研究表明, CD8⁺ 细胞的主要功能是通过分泌 IFN- γ 和 TNF 对感染和改变的宿主细胞起到溶解作用, 防止感染发生^[17]。反复呼吸道感染可使 CD8⁺ 细胞过度聚集, 引起肺损伤。本研究结果显示, CD8⁺ 细胞在哮喘患儿气道可能出现异常浸润, 导致免疫损伤, 进一步引起免疫功能下降。

综上所述, 在治疗哮喘的过程中, 有必要进行适当地免疫治疗, 对于有 MP 感染的病例, 必须正规治疗, 清除病原。

[参 考 文 献]

- [1] 刘超, 符州. 儿童支气管哮喘急性发作的病原分布特点 [J]. 临床儿科杂志, 2011, 29(2): 133-135.
- [2] Koh YY, Chae SA, Min KU. Cough variant asthma in associated with a higher wheezing threshold than classic asthma[J]. Clin Exp Allergy, 1993, 23(3): 696-701.
- [3] Daian CM, Wolff AH, Bielory L, et al. The role of a typical ganisms in asthma[J]. Allergy Asthma Proc, 2000, 21(2): 107.
- [4] 沈晓明, 王卫平. 儿科学 [M]. 第 7 版. 人民卫生出版社, 2010: 268-269.

- [5] 胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 第7版(下册). 人民卫生出版社, 2002: 1204-1205.
- [6] 中华医学会呼吸病学分会. 支气管肺泡灌洗液细胞学检测技术规范(草案)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2002, 25(7): 390-391.
- [7] 左慧敏, 刘秀云, 江载芳. 白介素8 白介素10 及干扰素 γ 在肺炎支原体肺炎中的作用[J]. 中国实用儿科杂志, 2008, 23(4): 269-271.
- [8] Varshney AK, Chaudhry R, Saharan S, et al. Association of Mycoplasma pneumoniae and asthma among Indian children[J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2009, 56(6): 25-31.
- [9] Nisar N, Guleria R, Kumar S, et al. Mycoplasma pneumoniae and its role in asthma[J]. Postgrad Med J, 2007, 83(2): 100-104.
- [10] Johnston SL, Martin RJ. Chlamydia pneumoniae and Mycoplasma pneumoniae. a role in asthma pathogenesis?[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2005, 172(11): 1078-1089.
- [11] 伍亚辉, 杨晓鸥, 刘翠梅, 等. 肺炎支原体感染与儿童哮喘发病的关系[J]. 中国实用医药杂志, 2011, 23(6): 5-6.
- [12] 阳艳丽, 潘玉琴, 何帮顺, 等. 哮喘患儿外周血调节性T细胞和Th1/Th2的变化及其与哮喘病情的关系[J]. 中国当代儿科杂志, 2011, 13(6): 482-485.
- [13] 蒋玉红, 王亚秋, 孙宽周. 支气管哮喘患者TH细胞的极化状态及临床意义[J]. 中国当代儿科杂志, 2006, 8(5): 379-381.
- [14] 王超, 吴静, 侯光辉, 等. 1,25-二羟维生素D3对T淋巴细胞的免疫调节作用[J]. 广东医学杂志, 2013, 34(20): 3114-3116.
- [15] 刘洋, 李敏. 肺炎支原体肺炎发病机制研究进展[J]. 临床儿科杂志, 2011, 29(2): 196-198.
- [16] 屈姣华, 屈丽华, 龙勤. 支气管哮喘诱因调查及护理对策[J]. 南华大学学报医学版, 2008, 36(5): 725-726.
- [17] 梁毅, 钟小宁, 何志义, 等. CD8⁺T淋巴细胞在慢性支气管炎与肺气肿大鼠肺血管炎症中作用的实验研究[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2008, 24(7): 734-737.

(本文编辑: 王庆红)

· 消息 ·

2014 西部、东北地区儿科医师和护士培训项目及 2015 儿科高级研修班招生简章

上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心(以下简称“儿中心”)是上海市人民政府与美国世界健康基金会(Project HOPE)的合作建设项目,是一所集医疗、科研和教学于一体的三级甲等儿科综合性医院。2013年,儿中心成为国内首家通过JCI(国际医院认证)复评审的儿童专科医院。为了支持和配合国家西部战略的实施和推进,为全国各地尤其是贫困和欠发达地区培训儿科方面的骨干型人才,儿中心院领导结合医院的具体实际和建院理念-“TRAIN THE TRAINER”,在美国世界健康基金会的通力协作下,筹建了“上海儿童医学中心-西部、东北地区儿科医师和护士培训项目”和儿科高级研修班。培训地区:西部班为西部、东北部地区;高研班不限地区。

培训对象要求:

医生:本科毕业;具有医师资格证书及注册证书;二级医院需工作5年以上;三级医院需工作4年以上。

护士:中专以上学历;具有护士执业证书;二级医院需工作5年以上;三级医院需工作3年以上。

招生专业:急救与PICU、新生儿与NICU、普内科、儿童血液肿瘤、小儿外科、儿童保健、小儿营养、儿童影像(2014年西部班新增儿童影像招生专业)。

培训时间:

西部班:2014年7月~2015年6月(1年)(因西部班各专业的招生名额有限,若面试成绩达优良者,可调剂到明年的高研班);高研班:2015年3月~2016年2月(1年)。

西部奖学金:录取的学员均能获得奖学金,医生10000元/年,护士8000元/年,同时免收进修费、住宿费。

报名办法:请报名者将个人简历、申请表、进修班次(西部班和高研班限选一个)、进修科目(只限选一个专业)、一位正高级职称医师推荐信、盖有单位公章的介绍信于2014年4月30日前寄联系人。2014年6月面试。

联系地址:上海东方路1678号(200127)上海儿童医学中心教学部;电话:021-38626161×83190/83181;传真:021-38626085;申请表请从医院网站下载:www.scme.com.cn;联系人:张老师/王老师

上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心
美国 HOPE 基金会
2014年2月