

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.10.013

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.10.013

树突状细胞亚型变化在儿童咳嗽变异性哮喘中的临床意义

王华, 许志有, 林鲁飞, 张余转

(海口市第三人民医院儿科, 海口 571100)

[摘要] 目的: 观察咳嗽变异性哮喘(cough variant asthma, CVA)儿童外周血树突状细胞mDCs和pDCs两种亚型的变化, 并探讨其临床意义。方法: 收集海口市第三人民医院2017年3月至2018年4月收治的CVA儿童62例。另取同期健康体检的儿童40例作为对照。用流式细胞仪检测外周血mDCs和pDCs的比例, ELISA法检测外周血血浆中IFN- γ 和IL-4表达。结果: 对照组和CVA组儿童mDCs间差异无统计学意义($P>0.05$), CVA组儿童pDCs为(0.92 \pm 0.24)%, 显著高于对照组的(0.31 \pm 0.08)%($P<0.01$), mDCs/pDCs比值在CVA组儿童为0.62 \pm 0.15, 显著低于对照组的1.68 \pm 0.34($P<0.01$)。CVA组儿童IFN- γ 和IFN- γ /IL-4比值分别为(40.47 \pm 8.45) ng/mL和0.92 \pm 0.14, 显著低于对照组的(53.36 \pm 10.42) ng/mL和2.51 \pm 0.46($P<0.05$ 和 $P<0.01$)。CVA组儿童IL-4为(43.81 \pm 7.16) ng/mL, 显著高于对照组的(21.27 \pm 4.15) ng/mL($P<0.01$)。结论: CVA儿童外周血pDCs显著升高, 导致了患儿体内的Th1/Th2失衡, pDCs有可能成为CVA诊断和治疗的新靶点。

[关键词] 咳嗽变异性哮喘; 儿童; 髓样树突状细胞; 浆细胞样树突状细胞; Th1/Th2平衡

Clinical significance of subtypes of dendritic cells in children with cough allergic asthma

WANG Hua, XU Zhiyou, LIN Lufei, ZHANG Yuzhuan

(Department of Pediatrics, No. 3 People's Hospital of Haikou, Haikou 571100, China)

Abstract **Objective:** To detect the changes of mDCs and pDCs subtypes in peripheral blood of children with cough variant asthma (CVA). **Methods:** Sixty-two CVA and 40 healthy children were enrolled in this study. The mDCs and pDCs was detected by flow cytometry. IFN- γ and IL-4 was detected by ELISA analysis. **Results:** There was no significant difference of mDCs between CVA and healthy children ($P>0.05$). The pDCs was (0.92 \pm 0.24)% in CVA children, which was higher than that of (0.31 \pm 0.08)% in healthy children ($P<0.01$). The mDCs/pDCs was 0.62 \pm 0.15 in CVA children, which was lower than that of 1.68 \pm 0.34 in healthy children ($P<0.01$). The IFN- γ and IFN- γ /IL-4 was (40.47 \pm 8.45) ng/mL and 0.92 \pm 0.14 in CVA children, which was lower than that of (53.36 \pm 10.42) ng/mL and 2.51 \pm 0.46 in healthy children ($P<0.05$ and $P<0.01$). The IL-4 was (43.81 \pm 7.16) ng/mL in CVA children, which was higher than that of (21.27 \pm 4.15) ng/mL in healthy children

收稿日期 (Date of reception): 2018-06-20

通信作者 (Corresponding author): 王华, Email: 13637624799@163.com

基金项目 (Foundation item): 海南省自然科学基金 (817391)。This work was supported by the Natural Science Foundation of Hainan Province, China (817391).

($P < 0.01$). **Conclusion:** The pDCs in peripheral blood is increased significantly, which causes Th1/Th2 imbalance in CVA children.

Keywords cough variant asthma; children; myeloid dendritic cells; plasmacytoid dendritic cells; Th1/Th2 balance

咳嗽变异性哮喘(cough variant asthma, CVA)是儿童慢性咳嗽常见的原因, 刺激性干咳可能是其临床上的唯一表现, 给诊断带来困难, CVA也属于哮喘的一种类型, 如果早期不加以干预, 约40%的患儿最终会发展为典型的哮喘^[1]。Th1/Th2细胞免疫失衡是哮喘最重要的免疫异常, 树突状细胞(dendritic cells, DCs)诱导着TH0细胞向Th1或Th2细胞分化^[2], 在哮喘Th1/Th2免疫平衡维持中发挥重要的作用^[3]。DCs有髓样树突状细胞(myeloid dendritic cells, mDCs)和浆细胞样树突状细胞(plasmacytoid dendritic cells, pDCs)两种亚型, 分别在哮喘患者体内发挥不同的免疫激活作用^[4]。本研究观察CVA儿童外周血mDCs和pDCs两种亚型的变化, 以探讨其相关的临床意义。

1 对象与方法

1.1 对象

收集海口市第三人民医院2017年3月至2018年4月收治的CVA儿童62例。其中男34例, 女28例, 年龄3~14(8.26±2.04)岁。纳入对象: 符合中华医学会呼吸病学分会哮喘学组2015制定的CVA诊断标准^[5]。排除对象: 伴发其他自身免疫性疾病儿童, 曾使用相关药物或细胞免疫治疗者, 伴发急性慢性感染儿童。另选择海口市第三人民医院同期健康体检的儿童40例, 作为对照, 其中男22例, 女18例, 年龄3~13(8.22±2.07)岁。对照组和CVA组儿童在性别分布和年龄组成方面差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性。本研究获得海口市第三人民医院医学伦理委员会批准, 并与家属签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 外周 mDCs 和 pDCs 的检测

使用流式细胞仪检测所有入组儿童外周血mDCs和pDCs的比例。简述如下: 抽取2 mL抗凝静脉血, 加入红细胞裂解液, PBS缓冲液洗涤细胞两次, 按照试剂盒说明书加入荧光标记的FITC-HLA-

DR, PE-CD11c, APC-CD304抗体(购自美国RD公司), 以及相应的同行对照, 30 min避光结合后, 置冰上待检。使用美国贝克曼库尔特公司生产MDL-flow流式细胞仪完成检测, 先用侧向散射光和前向散射光做门去除细胞碎片, 然后再以HLA-DR和CD11c做门确定HLA-DR和CD11c双阳性为mDCs, 或以HLA-DR和CD304做门确定HLA-DR和CD304双阳性为pDCs, 使用试剂盒提供的同型对照调节电压, 去除背景干扰, 检测完后记录mDCs和pDCs比例变化。

1.2.2 外周血 IFN- γ , IL-4 的检测

使用ELISA法检测所有入组儿童外周血IFN- γ 和IL-4因子表达。简述如下: 抽取2 mL静脉血, 离心后去上层血浆, 交由检验科使用美国BioRad公司生产Mad550酶标仪完成检测。酶联免疫试剂盒购自上海信帆生物科技有限公司, 严格按照试剂盒说明书操作。使用标准品绘制标准曲线, 对照标准曲线计算各标本中相关因子的表达。

1.4 统计学处理

采用SPSS 16.0软件进行数据分析, 样本总体正态分布且方差齐, 计量资料用 t 检验; 计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组外周血 mDCs 和 pDCs 比较

两组儿童mDCs差异无统计学意义($P > 0.05$), CVA组儿童pDCs为(0.92±0.24)%, 显著高于对照组的(0.31±0.08)%, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。CVA组儿童的mDCs/pDCs为0.62±0.15, 显著低于对照组的1.68±0.34($P < 0.01$, 表1, 图1)。

2.2 两组外周血 IFN- γ 和 IL-4 因子比较

CVA组儿童IFN- γ 和IFN- γ /IL-4比值显著低于对照组($P < 0.05$)。CVA组儿童IL-4显著高于对照组($P < 0.01$, 表2)。

表1 两组外周血mDCs和pDCs比较

Table 1 Comparison of mDCs and pDCs in peripheral blood between the 2 groups

组别	n	mDCs/%	pDCs/%	mDCs/pDCs
对照组	40	0.52 ± 0.13	0.31 ± 0.08	1.68 ± 0.34
CVA组	62	0.57 ± 0.14	0.92 ± 0.24	0.62 ± 0.15
t		0.712	14.726	11.314
P		0.653	<0.001	<0.001

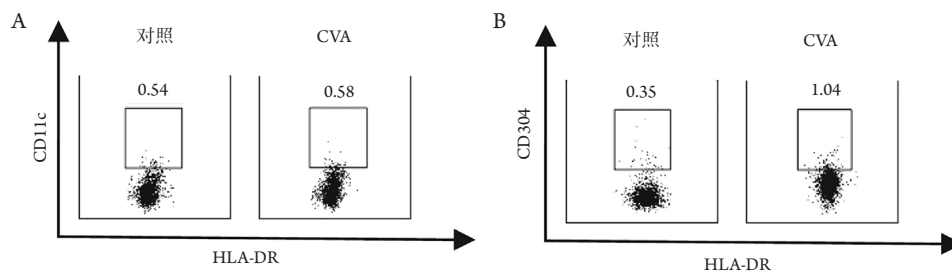


图1 流式细胞仪检测外周mDCs和pDCs

Figure 1 mDCs and pDCs detected by flow cytometry

(A) HLA-DR和CD11c双阳性 mDCs; (B) HLA-DR和CD304双阳性 pDCs。

(A) HLA-DR + CD11c + mDCs; (B) HLA-DR + CD304 + pDCs.

表2 两组外周血IFN- γ 和IL-4因子的比较Table 2 Comparison of IFN- γ and IL-4 in peripheral blood between the 2 groups

组别	n	IFN- γ /(ng·mL ⁻¹)	IL-4/(ng·mL ⁻¹)	IFN- γ /IL-4
对照组	40	53.36 ± 10.42	21.27 ± 4.15	2.51 ± 0.46
CVA组	62	40.47 ± 8.45	43.81 ± 7.16	0.92 ± 0.14
t		3.152	11.163	11.658
P		0.032	<0.001	<0.001

3 讨论

CVA属于哮喘的一个分型,与哮喘有着相似的免疫异常发病机制, Th1和Th2细胞是T细胞的两个亚群^[6],其中Th1细胞分泌IFN- γ 介导细胞免疫, Th2细胞分泌IL-4介导体液免疫,两者维持体内的一个免疫平衡,在哮喘和CVA均可发现Th1/Th2细胞平衡失调,表现为Th2过度活化分泌效应分子,进一步激发和维持炎症反应参与哮喘和CVA的发病过程。DCs是目前已知功能最强的抗原呈递细胞,激活初始T细胞的分化,在哮喘患者中已发现了DCs的增多^[7],并且已有研究^[8]开始针对DCs来治疗哮喘患者,获得了显著的治疗效果。随着对DCs研究的深入,有学者^[9]发现不同亚型的DCs

在不同的疾病中发挥不同的作用,研究DCs亚型在CVA中的作用,可以为疾病的诊断和治疗提供更加精确的靶点。

本研究发现两组mDCs差异无统计学意义,而CVA组儿童pDCs显著升高,说明刘璟等^[3]观察到的CVA患者DCs增多可能是因为pDCs亚型增多导致的,与mDCs关系不密切。刘晓帆等^[10]的观察也获得了与我们类似的结果,但是他们没有检测这一变化对Th1/Th2平衡的影响。IFN- γ 和IL-4是Th1和Th2的主要效应因子,因此检测二者的变化就可以反映出患者体内Th1/Th2细胞失衡的状态^[11],本研究结果显示CVA儿童IFN- γ 和IFN- γ /IL-4比值显著低于对照组,IL-4显著高于对照组,说明Th1/Th2平衡向Th2倾斜。在哮喘患者

中mDCs优先诱导Th1细胞的产生, pDCs诱导Th2细胞的产生, 本研究结果发现CVA组儿童pDCs亚型增多, 这样Th2细胞就会相应的激活, Th1/Th2细胞平衡向Th2细胞倾斜, 导致了Th1/Th2细胞失衡, 以及下游炎症因子的失衡, 促发了呼吸道的炎症反应亢进^[12]。

综上所述, CVA儿童外周血pDCs显著升高, 导致患儿体内的Th1/Th2细胞失衡, pDCs可能成为CVA诊断和治疗的新靶点。本研究中患儿年龄跨度比较大, 由于样本量太少, 未进行分层分析, 在不同的年龄段患儿中各检测指标是否有差异也有待进一步的大样本分析来探明。

参考文献

- Cao Y, Lin SH, Zhu D, et al. WeChat public account use improves clinical control of cough-variant asthma: a randomized controlled trial[J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 1524-1532.
- 范春香, 唐蕊蕊, 吴昆仑. 川芎平喘合剂对哮喘患者血清Th1/Th2及相关转录调节因子T-bet/GATA-3平衡的影响[J]. *上海中医药大学学报*, 2018, 32(1): 23-26.
FAN Chunxiang, TANG Bixin, WU Kunlun. Effect of Chuanxiang Pingchuan Mixture on the balance of serum Th1/Th2 and related transcription factor T-bet/GATA-3 in asthmatic patients[J]. *Journal of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine*, 2018, 32(1):23-26.
- 刘璟, 田冰. 树突状细胞在儿童变异性哮喘中的表达及意义[J]. *中国现代医学杂志*, 2018, 28(2): 65-68.
LIU Jing, TIAN Bing. Expression and significance of dendritic cells in children with allergic asthma[J]. *Chinese Journal of Modern Medicine*, 2018, 28(2): 65-68.
- Leffler J, Mincham KT, Mok D, et al. Functional differences in airway dendritic cells determine susceptibility to IgE-sensitization[J]. *Immunol Cell Biol*, 2018, 96(3): 316-329.
- 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 咳嗽的诊断与治疗指南(2015)[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2016, 39(5): 323-354.
ASTHMA group of the CMA for respiratory diseases. Guideline for diagnosis and treatment of cough (2015)[J]. *Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Medicine*, 2016, 39(5): 323-354.
- 范临夏, 潘辉, 刘华, 等. 苦参碱通过下调SOCS3表达抑制支气管哮喘大鼠炎症反应并调节Th1/Th2平衡[J]. *基础医学与临床*, 2015, 35(2): 191-195.
FAN Linxia, PAN Hui, LIU Hua, et al. Matrine suppresses inflammation and corrects Th1/Th2 imbalance in asthmatic rats via down-regulating SOCS3[J]. *Basic Medical Sciences and Clinics*, 2015, 35(2): 191-195.
- 刘亚尊, 薛征. 树突状细胞在支气管哮喘诊治中的研究进展[J]. *辽宁中医杂志*, 2017, 44(5): 1110-1112.
LIU Yazun, XUE Zheng. Advances of dendritic cells in diagnosis and treatment of bronchial asthma[J]. *Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2017, 44(5): 1110-1112.
- 陈娜, 张双, 高春燕. CRTH2受体拮抗剂对支气管哮喘树突状细胞功能的影响[J]. *免疫学杂志*, 2017, 33(1): 63-67.
CHEN Na, ZHANG Shuang, GAO Chunyan. Effects of CRTH2 receptor antagonist on the function of dendritic cells in patients with bronchial asthma[J]. *Immunological Journal*, 2017, 33(1): 63-67.
- Chambers ES, Nanzer AM, Pfeffer PE, et al. Dendritic cell phenotype in severe asthma reflects clinical responsiveness to glucocorticoids[J]. *Clin Exp Allergy*, 2018, 48(1): 13-22.
- 刘晓帆, 耿爽, 胡轶, 等. 咳嗽变异性哮喘与典型支气管哮喘患者外周血树突状细胞的变化[J]. *暨南大学学报(自然科学与医学版)*, 2017, 38(1): 63-68.
LIU Xiaofan, GENG Shuang, HU Yi, et al. Plasmacytoid dendritic cell in peripheral blood are significantly elevated in cough variant asthma and classic asthma[J]. *Journal of Jinan University. Natural Science and Medicine*, 2017, 38(1): 63-68.
- 杨侠, 张进召, 张洁, 等. 树突状细胞Wnt/ β -catenin信号通路对哮喘小鼠气道变态反应性炎症的调控作用[J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2017, 38(3): 416-421.
YANG Xia, ZHANG Jinzhao, ZHANG Jie, et al. Regulation of allergic airway inflammation in asthmatic mice by Wnt/ β -catenin pathway of dendritic cells[J]. *Journal of Xi'an Jiaotong University. Medical Sciences*, 2017, 38(3): 416-421.
- Li R, Wang J, Li R, et al. ATP/P2X7-NLRP3 axis of dendritic cells participates in the regulation of airway inflammation and hyper-responsiveness in asthma by mediating HMGB1 expression and secretion[J]. *Exp Cell Res*, 2018, 366(1): 1-15.

本文引用: 王华, 许志有, 林鲁飞, 张余转. 树突状细胞亚型变化在儿童咳嗽变异性哮喘中的临床意义[J]. *临床与病理杂志*, 2018, 38(10): 2134-2137. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.10.013
Cite this article as: WANG Hua, XU Zhiyou, LIN Lufei, ZHANG Yuzhuan. Clinical significance of subtypes of dendritic cells in children with cough allergic asthma[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2018, 38(10): 2134-2137. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.10.013