

特发性肺纤维化患者外周血T淋巴细胞亚群及相关细胞因子的变化

刘芳 唐婷玉 杜坚宗 钦光跃

[摘要] 目的 探讨特发性肺纤维化(IPF)患者外周血中T淋巴细胞亚群和相关细胞因子的变化。方法 选取35例IPF患者(IPF组)和38例健康体检人员(对照组),分别采用流式细胞技术及酶联免疫吸附法检测外周血CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺T细胞百分率及血清干扰素 γ (IFN- γ)、白介素(IL)-2、IL-4、IL-13的水平。结果 IPF组患者外周血CD³⁺、CD⁴⁺淋巴细胞亚群及CD⁴⁺/CD⁸⁺比值与对照组比较明显下降,CD⁸⁺明显增加,差异均有统计学意义(t 分别=5.65、3.06、-6.10、3.35, P 均<0.05)。IPF组患者外周血中IFN- γ 和IL-2水平明显低于对照组,IL-4和IL-13水平明显高于对照组,差异均有统计学意义(t 分别=6.13、4.03、-5.38、-8.28, P 均<0.05)。结论 IPF患者外周血T淋巴细胞亚群及相关细胞因子发生变化,提示存在免疫系统紊乱,免疫机制可能参与了IPF的发病并在其中发挥重要作用。

[关键词] 特发性肺纤维化; T淋巴细胞亚群; 细胞因子

Changes of T lymphocytes subset and related lymphocytes cytokine in peripheral blood mononuclear cells of patients with idiopathic pulmonary fibrosis LIU Fang, TANG Tingyun, DU Jianzong, et al. Department of Respiratory, Zhejiang Hospital, Hangzhou 310030, China

[Abstract] **Objective** To explore the changes of T lymphocytes subset and related lymphocytes cytokine in peripheral blood mononuclear cells of patients with idiopathic pulmonary fibrosis (IPF). **Methods** Thirty-five patients with IPF and 38 healthy volunteers were selected to detect the percentages of CD³⁺, CD⁴⁺, CD⁸⁺ T lymphocytes in the peripheral blood mononuclear cells by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and the levels of interferon- γ (IFN- γ), interleukin (IL)-2, IL-4, IL-13 in the blood serum by flow cytometry (FCM). **Results** The lymphocytes subset (CD³⁺, CD⁴⁺) and the ratio of CD⁴⁺/CD⁸⁺ in IPF group were significantly lower than those in the control group while the level of CD⁸⁺ in IPF group was significantly higher ($t=5.65, 3.06, -6.10, 3.35, P<0.05$). The level of IFN- γ and IL-2 in IPF group were significantly lower than those in the control group, while levels of IL-4 and IL-13 in IPF group were significantly higher than those in the control group ($t=6.13, 4.03, -5.38, -8.28, P<0.05$). **Conclusion** The changes of T lymphocytes subset and related lymphocytes cytokine in peripheral blood mononuclear cells of patients with idiopathic pulmonary fibrosis indicate that the immune system may participate in and play an important role in pathogenesis of the IPF.

[Key words] idiopathic pulmonary fibrosis; T lymphocytes subset; lymphocytes cytokine

特发性肺纤维化 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) 是一种特殊类型的、原因不明的、慢性进行性纤维化型间质性肺炎, 主要发生于老年人, 病变局限于肺部。目前发病机制尚未完全阐明, 但T淋巴细胞亚群变化和辅助性T细胞Th1/Th2反应失衡逐渐成为研究的热点。本次研究分析了IPF患者外周T淋巴细胞亚群及相关细胞因子如干扰素 γ (interferon- γ ,

IFN- γ)、白介素(interleukin, IL)-2、IL-4和IL-13水平的变化, 旨在初步探讨IPF患者免疫学发病机制, 为IPF的临床诊断和治疗提供一定的参考价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2011年2月至2015年2月浙江医院呼吸内科确诊的IPF患者35例, 其中男性22例、女性13例; 年龄45~82岁, 平均(54.60 \pm 5.92)岁; 均符合2000年美国胸科学会和欧洲呼吸学会共同提出的IPF临床诊断标准^[1], 同时除外近期急性感染、恶

性肿瘤、自身免疫性疾病等可能影响T淋巴细胞亚群的其他疾病。选择同期38例健康体检者为对照组,其中男性25例、女性13例;年龄40~80岁,平均年龄(52.43±6.03)岁。两组年龄、性别比较,差异均无统计学意义(P 均>0.05)。

1.2 方法 两组患者均于清晨空腹时EDTA抗凝静脉血5.0 ml,室温静置约30 min,3000 r/min高速离心5 min分离血浆,放置-80℃冰箱保存待测。采用流式细胞仪检测T淋巴细胞亚群中CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺ T淋巴细胞百分率及CD⁴⁺/CD⁸⁺比值。检测仪器为美国BD

Facscalibur 流式细胞仪,配套原装试剂。采用酶联免疫吸附试验方法检测血清中IFN- γ 、IL-2、IL-4、IL-13水平。ELISA试剂盒为上海船夫生物科技公司提供。

1.3 统计学方法 采用SPSS 18统计软件进行分析和分析。计量资料采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。计量资料比较采用独立样本 t 检验。设 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者外周血T淋巴细胞亚群的变化见表1

表1 两组患者外周血T淋巴细胞亚群水平的比较

组别	n	CD ³⁺ /%	CD ⁴⁺ /%	CD ⁸⁺ /%	CD ⁴⁺ /CD ⁸⁺
IPF组	35	56.12±5.36*	36.17±5.06*	35.54±5.36*	1.02±0.38*
对照组	38	62.31±5.49	40.19±6.13	28.37±4.61	1.50±0.79

注:*,与对照组比较, $P<0.05$ 。

由表1可见,IPF组患者外周血T淋巴细胞亚群CD³⁺、CD⁴⁺ T细胞及CD⁴⁺/CD⁸⁺比例与对照组比较,明显下调,CD⁸⁺ T细胞上调,差异均有统计学意义(t 分

别=5.65、3.06、-6.10、3.35, P 均<0.05)

2.2 两组患者外周血中相关细胞因子水平的变化见表2

表2 两组外周血中各细胞因子水平比较

组别	n	INF- γ / μ g/L	IL-2/ μ ml	IL-4/ μ ml	IL-13/ μ ml
IPF组	35	28.80±10.18*	36.20±19.32*	78.97±23.96*	93.83±23.15*
对照组	38	48.19±17.21	51.98±13.30	53.21±15.67	56.43±14.87

注:*,与对照组比较, $P<0.05$ 。

由表2可见,IPF患者外周血中IFN- γ 及IL-2水平明显低于对照组,差异均有统计学意义(t 分别=6.13、4.03, P 均<0.05);IL-4和IL-13水平明显高于对照组,差异均有统计学意义(t 分别=-5.38、-8.28, P 均<0.05)。

3 讨论

IPF是呼吸道常见的疾病之一,发病机制不完全清楚。目前认为可能与病毒的毒力、感染途径以及宿主的年龄、免疫功能状态等有关。随着细胞和分子生物学的发展,越来越多的研究表明多种细胞和细胞因子相互作用形成的复杂网络促进了IPF的发生和发展,其中T淋巴细胞亚群及相关细胞因子的研究逐渐成为研究的热点^[2]。

T淋巴细胞亚群是正常机体免疫系统功能最重要的一类细胞群,执行免疫功能及免疫调节功能。按其表面分化抗原的不同可分为不同亚群,主要包括CD³⁺、CD⁴⁺和CD⁸⁺ T细胞亚群。其中CD³⁺细胞代表

成熟淋巴细胞,是细胞免疫中主要的活性细胞。CD⁴⁺又称辅助性T细胞,可使T淋巴细胞成为外周血中成熟T淋巴细胞,并协助B细胞分泌抗体和调节其他T细胞的免疫应答。CD⁸⁺ T细胞是细胞毒效应细胞,表现为特异性直接杀伤靶细胞的功能,它与CD⁴⁺ T细胞相互诱导、相互制约共同参与机体免疫调控。正常机体内各细胞亚群除数量正常外还需维持一定的比例,尤其是CD⁴⁺/CD⁸⁺的比值。CD⁴⁺/CD⁸⁺比值降低会导致机体免疫紊乱并产生病理变化^[3,4]。淋巴细胞亚群分析是检测细胞免疫和体液免疫功能的重要指标,它能够总体反映机体当前的免疫功能、状态和平衡水平,从而利于某些疾病的诊断及治疗。本次研究分析了IPF患者外周血T淋巴细胞亚群的变化,结果显示IPF组患者CD³⁺、CD⁴⁺ T淋巴细胞水平及CD⁴⁺/CD⁸⁺比值降低,而CD⁸⁺ T淋巴细胞水平明显高于对照组(P 均<0.05),这表明IPF患者T淋巴细胞免疫功能状态有不同程度的损害,存在免疫功能紊乱,

进而揭示T淋巴细胞可能参与IPF的发生发展。

根据所分泌的细胞因子的种类不同,CD⁴⁺ T细胞可分为两个细胞亚群即Th1和Th2型细胞亚群,其均由前体细胞Th0分化而成。Th1细胞通过分泌相关细胞因子介导与细胞毒和局部炎症反应有关的免疫应答,参与细胞免疫和迟发型超敏性炎症的形成;而Th2细胞所分泌的细胞因子则可以刺激B细胞增殖并产生抗体,与体液免疫相关。正常机体内Th1和Th2细胞因子相互作用、相互抑制,维持着细胞因子网络的平衡^[5]。

IFN- γ 是Th1特征性细胞因子,主要由淋巴细胞和自然杀伤细胞分泌。研究表明IFN- γ 可以通过抑制细胞外基质蛋白、胶原等的合成、加速胶原降解、促进成纤维细胞凋亡等途径发挥抗纤维化作用^[6]。IL-2是一种Th1细胞衍生的细胞因子,诱导CD⁴⁺和CD⁸⁺T淋巴细胞增殖和活化^[7]。本次研究结果显示,IPF患者TH1特征性细胞因子IFN- γ 及IL-2明显低于对照组(P 均 <0.05),提示IPF患者体内可能存在抗纤维化作用的TH1型细胞因子的分泌不足。IL-4和IL-13均为TH2细胞来源的细胞因子,IL-4和IL-13可以通过c-JUN末端激酶依赖途径诱导人肺成纤维细胞向肌成纤维细胞表型转变,共同引发成纤维细胞多功能改变,从而促进纤维化的发生。本次研究还显示,IPF患者外周血IL-4和IL-13水平较对照组升高(P 均 <0.05),进一步证实了IPF患者体内存在Th1/Th2型细胞因子的平衡失衡,具有致纤维化作用的Th2型细胞因子占据了主导优势^[8,9]。本次研究样本均取自患者外周血,未能对肺泡灌洗液及肺组织局部样本进一步进行分析比较,尚不能全面反映相关指标变化在肺组织中的情况。

综上所述,在IPF过程中免疫机制发挥着重要作用,T淋巴细胞亚群及其相应的细胞因子可能从不同的方面参与了纤维化的过程,但机制十分复杂,仍需更深入的研究,从而为临床诊断和治疗提供一定的参考价值。

参考文献

- 1 ATS/ERS. Idiopathic pulmonary fibrosis: diagnosis and treatment of international consensus statement[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2000, 161(1): 646-664.
- 2 Wolters PJ, Collard HR, Jones KD, et al. Pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Annu Rev Pathol, 2014, 9(6): 157-179.
- 3 陈灏珠.实用内科学[M].第11版.北京:人民卫生出版社, 2002.94.
- 4 曹广文,杜平.现代癌症生物学[M].第2版.北京:军医出版社, 1999.20.
- 5 王艳勋,李振华.细胞因子网络与特发性肺纤维化[J]. 国际呼吸杂志, 2010, 30(16): 997-1001.
- 6 Bouros D, Antoniou KM, Tzouveleki A, et al. Interferon-gamma 1b for the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Expert Opin Biol Ther, 2006, 6(10): 1051-1060.
- 7 Sharma R, Sharma PR, Kim YC, et al. IL-2-controlled expression of multiple T cell trafficking genes and Th2 cytokines in the regulatory T cell-deficient scurfy mice: implication to multiorgan inflammation and control of skin and lung inflammation[J]. Immunol, 2011, 186(2): 1268-1278.
- 8 庄谊,张德平.肺纤维化与TH1/TH2失衡[J].国外医学·呼吸系统分册, 2005, 25(5): 249-351.
- 9 Strieter RM. Mechanisms of pulmonary fibrosis: conference summary[J]. Chest, 2001, 120(1 Suppl): 77-85.

(收稿日期 2016-05-27)

(本文编辑 蔡华波)