

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2022.11.021

❖ 临床研究 ❖

肺炎支原体肺炎患儿 T 淋巴细胞亚群、IL-9 及 IFN- γ 水平与喘息的关系

张晓艳, 李涛, 王萍萍

(亳州市中医院儿科, 安徽 亳州 236800)

【摘要】目的: 探讨肺炎支原体肺炎(MPP)患儿 T 淋巴细胞亚群、白细胞介素-9(IL-9)及 γ -干扰素(IFN- γ)水平与喘息的关系。**方法:** 选取 96 例 MPP 患儿为观察组, 同期 93 名体检各项指标正常的儿童为对照组; 观察组再根据肺部听诊有无哮鸣音分为喘息组($n=37$)和非喘息组($n=59$)。比较两组 T 淋巴细胞亚群、IL-9 及 IFN- γ 水平; 喘息组和非喘息组 T 淋巴细胞亚群、IL-9、IFN- γ 水平及肺功能, 分析 T 淋巴细胞亚群、IL-9 及 IFN- γ 水平与肺功能的相关性。**结果:** 观察组 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 低于对照组($P<0.05$), CD8⁺、IL-9 及 IFN- γ 水平高于对照组($P<0.05$)。喘息组 CD8⁺、IL-9、IFN- γ 水平高于非喘息组($P<0.05$), CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 及呼气峰值流量(PEF)低于非喘息组($P<0.05$)。相关性分析显示, CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 与 PEF 正相关($r=0.627, 0.549, P<0.05$); CD8⁺、IL-9、IFN- γ 与 PEF 负相关($r=-0.273, -0.685, -0.417, P<0.05$)。**结论:** T 淋巴细胞亚群、IL-9 及 IFN- γ 水平失调参与了肺炎支原体肺炎发病过程, 且在 MPP 患儿喘息发生发展中有重要意义。

【关键词】 肺炎支原体肺炎; T 淋巴细胞亚群; IL-9; IFN- γ ; 喘息

【中图分类号】 R725.6 **【文献标志码】** A

Relationship between T lymphocyte subsets, IL-9 and IFN- γ levels and wheezing in children with Mycoplasma pneumoniae pneumonia

ZHANG Xiao-yan, LI Tao, WANG Ping-ping

(Department of Pediatrics, Bozhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Bozhou 236800, Anhui, China)

【Abstract】Objective: To study the relationship between the levels of T lymphocyte subsets, interleukin-9 (IL-9) and γ -interferon (IFN- γ) and wheezing in children with Mycoplasma pneumoniae pneumonia (MPP). **Methods:** 96 children with Mycoplasma pneumoniae pneumonia were selected as the observation group, according to the presence or absence of wheezing on lung auscultation, they were divided into 37 cases in the wheezing group and 59 cases in the non-wheezing group, another 93 children with normal physical examination indicators during the same period were selected as the control group. The T lymphocyte subsets, IL-9 and IFN- γ levels of different populations were compared, the T lymphocyte subsets, IL-9, IFN- γ levels and lung function between the wheezing group and the non-wheezing group were compared, and the correlation between T lymphocyte subsets, IL-9 and IFN- γ levels and lung function was analyzed. **Results:** The levels of CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺ in the observation group were lower than those in the control group ($P<0.05$), and the levels of CD8⁺, IL-9 and IFN- γ were higher than those in the control group ($P<0.05$). The levels of CD8⁺, IL-9 and IFN- γ in the wheezing group were higher than those in the non-wheezing group ($P<0.05$), and CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺ and peak expiratory flow (PEF) were lower than those in the non-wheezing group ($P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺ were positively correlated with PEF ($r=0.627, 0.549, P<0.05$), CD8⁺, IL-9, IFN- γ were negatively correlated with PEF ($r=-0.273, -0.685, -0.417, P<0.05$). **Conclusion:** The imbalance of T lymphocyte subsets, IL-9 and IFN- γ levels is involved in the pathogenesis of Mycoplasma pneumoniae pneumonia, which plays an important role in the occurrence and development of wheezing in children with MPP.

【Key words】 Mycoplasma pneumoniae pneumonia; T lymphocyte subsets; IL-9; IFN- γ ; Wheezing

肺炎支原体(mycoplasma pneumoniae, MP)感染通常见于儿童和青少年^[1]。肺炎支原体肺炎(mycoplasma pneumoniae pneumonia, MMP)是由 MP 引发的呼吸道和肺部的急性炎症改变, 临床表现多样,

主要为肺部湿啰音、气促、咳嗽, 部分患者可见喘息。近年来, MMP 发病呈现小流行趋势, 且发病出现小年龄化特点^[2]。有研究^[3]报道, MMP 的发生不仅与 MP 直接侵入呼吸道有一定关系, 也与免疫功能失

调密切相关。近年来的相关研究解释是因为 MP 感染与反复喘息发作有一定联系,说明 MP 感染会导致机体免疫功能紊乱^[4]。T 淋巴细胞亚群是免疫系统失衡的指标,对于诊断免疫功能异常等有重要意义。同时辅助性 T 细胞在免疫反应中扮演中间过程的角色,通过增生、扩张产生其他免疫细胞,Th1 可分泌 γ -干扰素 (γ -interferon, IFN- γ),Th2 可分泌白细胞介素-9 (Interleukin-9, IL-9)^[5]。本研究旨在探讨肺炎支原体肺炎患儿 T 淋巴细胞亚群、IL-9 及 IFN- γ 水平与喘息的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2018 年 7 月至 2021 年 12 月亳州市中医院收治的 96 例 MMP 患儿为观察组,同期 93 名体检各项指标正常的儿童为对照组。观察组中,男性 50 例,女性 46 例;年龄 (8.93 ± 2.15) 岁;体重 (23.45 ± 3.24) kg。对照组中,男性 48 名,女性 45 名;年龄 (8.82 ± 2.11) ;体重 (22.63 ± 3.215) kg。本研究经院伦理委员会审核批准,家属知情同意,两组对象一般资料比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。观察组患儿再根据肺部听诊连续 3 d 有无哮鸣音分为喘息组 ($n = 37$) 和非喘息组 ($n = 59$)。

纳入标准:(1)临床资料齐全;(2)临床诊断符合第 7 版《实用儿科学》^[6]中 MMP 诊断标准;(3)对照组儿童无其它过敏史,近期无任何感染性疾病。排除标准:(1)非首次治疗者;(2)凝血功能或免疫功能异常者;(3)合并其他器官并发症者;(4)认知功能异常,无法正常交流者。

1.2 方法

所有对象均于清晨空腹状态采取外周静脉血 5 mL,分别放置于采用肝素抗凝的真空采血管和非抗凝管,及时送检。其中采用肝素抗凝的真空采血管加入对应的淋巴细胞亚群的荧光抗体 10 μ L,混合放置暗室下孵育,加入稀释完成的溶血素裂解红细胞,再次混合放置暗室下孵育,离心,洗涤后应用流式细胞检测仪器检验 CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺。

表 2 喘息组和非喘息组 T 淋巴细胞亚群、IL-9 及 IFN- γ 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	IL-9 (ng/L)	IFN- γ (ng/L)	PEF (L/min)
喘息组 ($n = 37$)	31.53 \pm 3.08	40.66 \pm 4.11	0.81 \pm 0.12	42.56 \pm 7.42	1127.91 \pm 206.74	72.51 \pm 10.68
非喘息组 ($n = 59$)	39.47 \pm 5.27	33.53 \pm 1.59	1.52 \pm 0.35	26.27 \pm 9.53	972.58 \pm 183.54	91.26 \pm 13.75
<i>t</i> 值	8.308	11.998	11.888	9.388	3.842	7.061
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 T 淋巴细胞亚群、IL-9 及 IFN- γ 水平与肺功能的相关性

非抗凝管标本 3 000 rpm 离心 10 min,采取上清液,应用酶联免疫吸附法检测 IL-9 (货号:WTA4529,购自上海逸星生物科技有限公司)及 IFN- γ (货号:ELSH007,购自福因德科技(武汉)有限公司)水平。观察组采用微型呼气峰值流量计检测其呼气峰值流量 (peak expiratory flow, PEF),男性:PEF (L/min) = 5.29 \times H - 427.1;女性:PEF (L/min) = 4.94 \times H - 399.8;H 为身高 (cm)。

1.3 观察指标

(1)两组 T 淋巴细胞亚群、IL-9 及 IFN- γ 水平;(2)喘息组和非喘息组患儿 T 淋巴细胞亚群、IL-9、IFN- γ 水平及肺功能;(3)T 淋巴细胞亚群、IL-9 及 IFN- γ 水平与肺功能的相关性。

1.4 统计学分析

采用 SPSS21.0 软件对数据进行分析与处理。计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 *t* 检验;计数资料以 [*n* (%)] 表示,采用 χ^2 检验;相关性分析采用 Pearson 相关性分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 T 淋巴细胞亚群、IL-9 及 IFN- γ 水平比较

观察组 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 低于对照组 ($P < 0.05$);CD8⁺、IL-9 及 IFN- γ 水平高于对照组 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组 T 淋巴细胞亚群、IL-9 及 IFN- γ 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	IL-9 (ng/L)	IFN- γ (ng/L)
对照组 ($n = 93$)	48.28 \pm 8.37	29.58 \pm 5.15	1.83 \pm 0.57	16.38 \pm 5.07	450.76 \pm 30.82
观察组 ($n = 96$)	36.41 \pm 6.29	36.28 \pm 7.38	1.25 \pm 0.42	32.55 \pm 7.14	1032.45 \pm 208.33
<i>t</i> 值	11.044	7.256	7.981	17.900	26.643
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 喘息组和非喘息组患儿 T 淋巴细胞亚群、IL-9 及 IFN- γ 水平比较

喘息组患儿 CD8⁺、IL-9、IFN- γ 水平高于非喘息组 ($P < 0.05$);CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 及 PEF 低于非喘息组 ($P < 0.05$)。见表 3。

相关分析显示,CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 与 PEF 正相关 ($r = 0.627, 0.549, P < 0.05$);CD8⁺、IL-9、IFN- γ

与 PEF 负相关 ($r = -0.273$ 、 -0.685 、 -0.417 , $P < 0.05$)。见图 1。

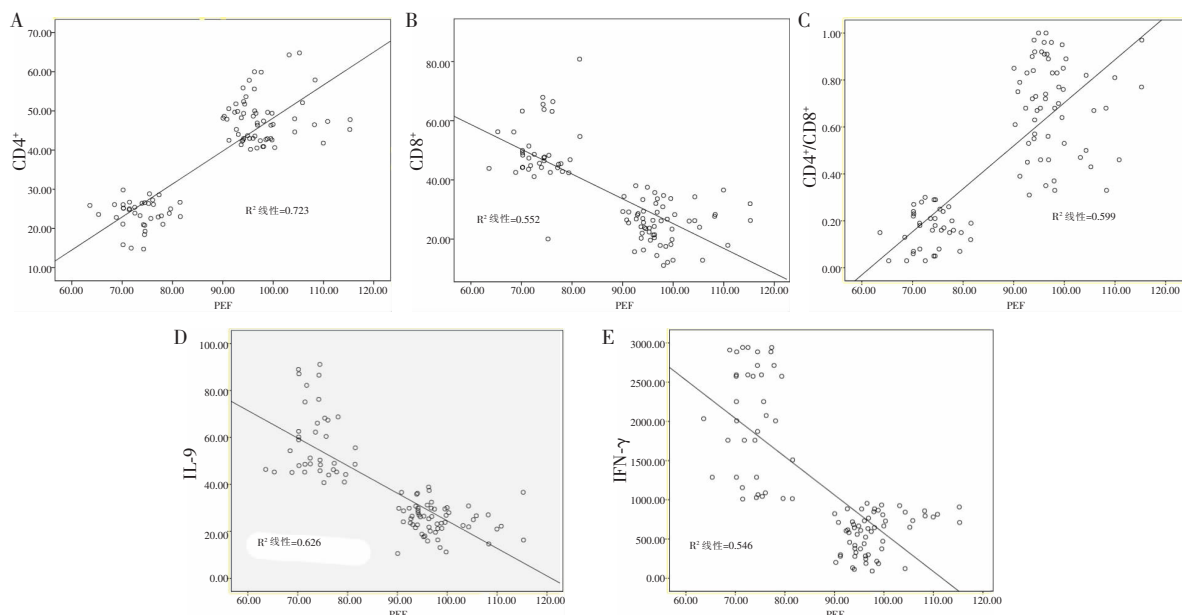


图 1 CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺、IL-9 及 IFN- γ 与 PEF 相关性

A. CD4⁺与 PEF 相关性; B. CD8⁺与 PEF 相关性; C. CD4⁺/CD8⁺与 PEF 相关性; D. IL-9 与 PEF 相关性; E. IFN- γ 与 PEF 相关性。

3 讨论

目前对于 MMP 的发病机制临床尚未有统一观点,但多数研究认为与 MP 直接侵入、呼吸道上皮吸附和免疫功能失衡有关^[7-8],尤其近年来免疫功能失衡备受临床关注。

有研究^[9-10]指出,在 MMP 发病过程中体液免疫和细胞免疫均扮演着重要角色,主要是因为体液免疫和细胞免疫的混乱,主要表现为 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞在体内异常,从而刺激补体系统活化。其中 T 淋巴细胞根据表面抗原可分为 CD4⁺ 辅助 T 淋巴细胞、CD8⁺ 辅助 T 淋巴细胞,CD4⁺ 经辅助 T 淋巴细胞分泌,积极与 MHC II 类分子的非多肽区相结合,对 Th 细胞 TCR 识别抗原过程具有特殊作用^[11-12]。同时,CD4⁺ 辅助 T 淋巴细胞可联合 CD3⁺ 辅助 T 淋巴细胞激活 CD8⁺ 分化,从而加入细胞免疫和体液免疫过程中,而 CD8⁺ 可阻止免疫反应^[13]。曾有国外学者发现在 MMP 患者中 CD4⁺ 出现明显下降,而 CD8⁺ 显著上升^[14]。另一方面,T 淋巴细胞可分为辅助性 T 淋巴细胞,能识别外来抗原,刺激、分化并形成正反馈,可激活 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞分化为浆细胞和记忆细胞,行使免疫功能^[15-16]。此外,其接受抗原后,可分化为效应细胞,主要见于 CD4⁺ T 细胞根据其细胞因子和生物学作用,可分为 Th1、Th2。Th1 细胞介导的细胞免疫反应,如 IFN- γ ; Th2 细胞介导传导液免疫反应,如 IL-9^[17-18]。由此可见,辅助性 T 淋巴细胞在人体免疫

功能中发挥着非常重要的作用^[19]。基于此观点,国内外有研究^[20-21]表明,IFN- γ 可激活单活巨噬细胞系统从而推动 CD8⁺ T 细胞联合自然杀伤细胞扫除 MP,可预防 MP 感染。本研究显示,观察组 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 低于对照组 ($P < 0.05$); CD8⁺、IL-9 及 IFN- γ 水平高于对照组 ($P < 0.05$); 且喘息组 CD8⁺、IL-9、IFN- γ 水平均高于非喘息组 ($P < 0.05$), CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 及 PEF 低于非喘息组 ($P < 0.05$),说明 T 淋巴细胞和辅助 T 淋巴细胞在 MMP 患儿中水平失调,且在喘息患儿中更为明显,原因可能是 T 淋巴细胞和 Th1 分泌的 IFN- γ 和 Th2 细胞分泌的 IL-9 均参与了 MPP 呼吸系统免疫损坏过程。

同时 MP 感染是伴有肺外多系统并发症原因,有研究猜想原因可能是 MP 抗原和一些人体组织的存在与一些常见的抗原中,它通过刺激机体,产生对应自身抗体,从而激活补体、免疫细胞,易损伤多系统免疫^[22]。身体扫除病原体的同时,可释放炎症因子和细胞,可造成 Th1/Th2 比例失调并刺激 B 细胞产生的因子 IgE 和嗜酸性粒细胞的合成和分泌增加,从而出现喘息^[23]。PEF 是测定喘息的判定指标,也是检测肺通气功能指标,其数值可反映气道的变化,被临床广泛应用于哮喘病情评估中。国内外有研究通过检查 MMP 患儿肺功能,包括喘息患儿和非喘息患儿,PEF 出现降低,认为是 MMP 导致的混合性通气功能发生障碍的原因^[24-25]。本研究显示,CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 与 PEF 正相关 ($P < 0.05$),

CD8⁺、IL-9、IFN- γ 与 PEF 负相关 ($P < 0.05$), 提示 MPP 患儿喘息中存在 T 淋巴细胞亚群、Th1 及 Th2 细胞因子失调, 可能参与了 MPP 患儿喘息发病过程, 机制可能是 Th2 细胞分化, 刺激 IL-4 分泌过多, 促进 B 细胞和嗜酸性粒细胞的活化分化, 产生大量特异性 IgE 和 IgG, 进而引起嗜酸性粒细胞在气道中被收集、趋化和浸润, 从而引发气道炎性反应。

综上, T 淋巴细胞亚群、IL-9 及 IFN- γ 水平失调参与了肺炎支原体肺炎发病过程, 在 MPP 患儿喘息发生发展中有重要意义。

参考文献

[1] 张芳芳, 张小玲, 刘艳. 难治性肺炎支原体肺炎患儿 T 淋巴细胞亚群和高迁移率族蛋白 B1 的表达水平及临床意义[J]. 儿科药理学杂志, 2020, 26(8): 6-9.

[2] 窦寅茜, 夏敏, 周华, 等. 肺炎支原体肺炎患儿外周血 CD4-CD8- 双阴性 T 淋巴细胞变化的意义[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2021, 36(16): 1226-1229.

[3] Kutty PK, Jain S, Taylor TH, et al. Mycoplasma pneumoniae Among Children Hospitalized With Community-acquired Pneumonia[J]. Clinical infectious diseases, 2019, 68(1): 5-12.

[4] 刘奇, 郭宏丽. 支原体肺炎患儿血清 PCT, CRP, T 淋巴细胞亚群和免疫球蛋白的变化及意义[J]. 海南医学, 2020, 31(11): 1408-1411.

[5] 杨志允, 李学明, 廖志辉. 淋巴细胞亚群绝对计数与难治性肺炎支原体肺炎患儿的早期预测关系分析[J]. 临床肺科杂志, 2020, 25(11): 1693-1697.

[6] 朱炜杰, 毛丽芬, 王耀明. 布地奈德联合妥洛特罗贴片在喘息性疾病中的应用[J]. 江苏医药, 2011, 37(23): 2854-2855.

[7] Shah SS. Mycoplasma pneumoniae as a Cause of Community-Acquired Pneumonia in Children[J]. Clin Infect Dis, 2019, 68(1): 13-14.

[8] 庞卫花, 李金巍, 宗广帅, 等. 阿奇霉素联合布地奈德对支原体肺炎患儿细胞因子、共刺激分子和免疫功能的影响[J]. 河北医药, 2020, 42(3): 362-365.

[9] Toshihiko O, Jun-ichi K, Masaharu T, et al. Comparison of high-dose and low-dose corticosteroid therapy for refractory Mycoplasma pneumoniae pneumonia in children[J]. J Infect Chemother, 2019, 25(5): 346-350.

[10] 郭靖, 刘亚楠, 郝明明, 等. 哮喘患儿合并肺炎支原体感染免疫状态及 Th1/Th2 平衡的变化[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(9): 1412-1416.

[11] Choi JH, Seong GM, Ko Y, et al. Prevalence and Clinical Features of Community-Acquired Pneumonia Caused by Macrolide-Resistant Mycoplasma pneumoniae Isolated from Adults in Jeju Island[J]. Microb Drug Resist, 2019, 25(4): 577-581.

[12] 钱宇, 王桂兰, 吴小波, 等. 肺炎支原体感染与过敏性紫癜患儿免疫功能的关系研究[J]. 临床肺科杂志, 2020, 25(5): 715-718.

[13] 田伟, 梁淳, 宋亚娟. 肺炎支原体肺炎患儿血清 microRNA-21 和 microRNA-221 水平变化及与炎症因子、T 淋巴细胞亚群的相关性[J]. 中国现代医学杂志, 2021, 31(19): 19-24.

[14] Chawewannakorn W, Ariyoshi W, Okinaga T, et al. Ameloblastin attenuates RANKL-mediated osteoclastogenesis by suppressing activation of nuclear factor of activated T-cell cytoplasmic 1 (NFATc1) [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(2): 1745-1757.

[15] Kumar PS, Monteiro MF, Dabdoub SM, et al. Subgingival Host-Microbial Interactions in Hyperglycemic Individuals[J]. J Dent Res, 2020, 99(6): 650-657.

[16] Bourinbaier AS, Chinburen J, Batchuluun P, et al. Interim results from ongoing Phase III placebo-controlled, randomized trial of hep-cortespensimut-L for advanced hepatocellular carcinoma indication[J]. 肝癌研究 (英文版), 2020, 6(1): 11-18.

[17] 魏琳君, 周江颖, 沈洁娜. 阿奇霉素联合特布他林治疗儿童支原体肺炎的疗效及对血清炎症细胞因子和 T 淋巴细胞亚群水平的影响[J]. 中国妇幼保健, 2021, 36(17): 3988-3990.

[18] DiSabato DJ, Nemeth DP, Liu XY, et al. Interleukin-1 receptor on hippocampal neurons drives social withdrawal and cognitive deficits after chronic social stress[J]. Molecular Psychiatry, 2020, 26(9): 4770-4782.

[19] 杨硕, 段国辰, 闫江泓, 等. 肺结核与肺炎支原体肺炎患儿外周血炎症反应指标及淋巴细胞亚群比例对比观察[J]. 山东医药, 2021, 61(18): 76-79.

[20] Zuo Y, Lu X, Wang XC, et al. High-Dose Aluminum Exposure Further Alerts Immune Phenotype in Aplastic Anemia Patients [J]. Biol Trace Elem Res, 2020, 199(5): 1743-1753.

[21] 宿俊彪, 刘建清, 张永梅. 肺炎支原体感染后机体体液免疫, 外周血 T 淋巴细胞亚群含量测定 [J]. 内蒙古医科大学学报, 2020, 42(1): 91-93.

[22] Tartari APS, Moreira FF, Pereira MCDS, et al. Anti-inflammatory Effect of Ozone Therapy in an Experimental Model of Rheumatoid Arthritis[J]. Inflammation, 2020, 43(3): 985-993.

[23] 寻卫平, 文虹元, 余俊浩, 等. 淋巴细胞 CD3⁺, CD4⁺ 和 CD19⁺ 作为难治性支原体肺炎预测指标研究[J]. 解放军预防医学杂志, 2020, 38(3): 49-51.

[24] Silva FRD, Guerreiro RDC, Andrade HDA, et al. Does the compromised sleep and circadian disruption of night and shiftworkers make them highly vulnerable to 2019 coronavirus disease (COVID-19)? [J]. Chronobiology International, 2020, 37(5): 607-617.

[25] Tomar S, Ganesan V, Sharma A, et al. IL-4-BATF signaling directly modulates IL-9 producing mucosal mast cell (MMC9) function in experimental food allergy [J]. The Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2021, 147(1): 280-295.

(收稿日期: 2022-07-03

修回日期: 2022-09-06)