

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.02.013
文章编号: 1005-8982 (2018) 02-0065-04

树突状细胞在儿童变应性哮喘 中的表达及意义*

刘璟¹, 田冰²

(1. 重庆三峡医药高等专科学校, 重庆 404120; 2. 重庆市三峡中心医院, 重庆 404000)

摘要: 目的 研究树突状细胞 (DCs) 在儿童变应性哮喘中的异常表达及其意义。**方法** 选取健康儿童和变应性哮喘患儿为对照组和观察组, 收集健康儿和患儿发病时和治疗缓解后气管黏膜相关淋巴结资料, 采用免疫组织化学法检测 DCs 协同刺激分子 CD80、CD86 的表达, 酶联免疫吸附法检测细胞上清白细胞介素 4 (IL-4)、IL-10、IL-12 含量的变化。**结果** 观察组患儿 CD80 值与对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 观察组患儿细胞因子 IL-4、IL-10、IL-12 水平与对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。治疗缓解后, 患儿气道黏膜相关淋巴结 DCs 表型及细胞因子情况与对照组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** 在儿童变应性哮喘中, DCs 表型表达及其分泌细胞因子影响疾病的发生、发展, 可以通过干预 DCs 的表达来治疗及预防儿童变应性哮喘。

关键词: 树突状细胞; 变应性哮喘; 超敏反应; 细胞因子

中图分类号: R725.6

文献标识码: A

Expression of dendritic cells in children with allergic asthma and its significance*

Jing Liu¹, Bing Tian²

(1. Chongqing Three Gorges Medical College, Chongqing 404120, China; 2. Chongqing Three Gorges Central Hospital, Chongqing 404000, China)

Abstract: Objective To investigate the role of dendritic cells (DCs) in the pathogenesis of allergic asthma in children. **Methods** The control group and the observation group were respectively established for healthy children and children with allergic asthma. The data of airway mucosa associated lymph nodes of the two groups were collected at the onset of the disease and remission. The expressions of CD80 and CD86 on DCs were detected by immunohistochemical technique. ELISA was used for detection of changes of IL-4, IL-10 and IL-12 content in cell supernatant. **Results** The value of CD80 was statistically different between the observation group and the control group ($P < 0.05$). The IL-4, IL-10 and IL-12 levels in the observation group were significantly different from those in the control group ($P < 0.05$). After treatment remission, there was no significant difference in the phenotype or cytokine profile of DCs in the airway mucosa associated lymph nodes between the children with allergic asthma and the healthy controls ($P > 0.05$). **Conclusions** In children with allergic asthma, the phenotypic expression of dendritic cells and their secretory cytokines affect the occurrence and progression of the disease. Allergic asthma in children can be treated and prevented by interfering with the expression of dendritic cells.

收稿日期: 2016-06-14

* 基金项目: 重庆市万州区科委自然科学基金 (No: 201403052)

Keywords: dendritic cell; allergic asthma; hypersensitivity; cytokine

在目前已知抗原提呈细胞中, 树突状细胞 (dendritic cells, DCs) 功能最强大^[1]。DCs 主要存在 2 种功能状态: imDC 和 mDC。根据成熟状态及表型不同, 其表达不同的功能, 在免疫调节中具有免疫应答和免疫耐受双重作用^[2]。其膜表面高表达主要组织相容复合体 II 类分子、共刺激分子白细胞介素 4 (interleukin-4, IL-4)、白细胞介素 10 (interleukin-10, IL-10)、白细胞介素 12 (interleukin-12, IL-12), 可激活辅助性 T 细胞 (helper T cell, TH), 并调节 TH 细胞功能^[3-4]。同时其分泌的细胞因子分泌高致炎症细胞因子和趋化因子, 能够吸引和活化免疫细胞, 形成并调控免疫应答^[5]。目前国内外很多研究发现, DCs 与多种超敏反应, 如变应性鼻炎, 具相关性^[6-7], 且国外已有研究通过人为干预 DCs 的表达, 来延缓甚至阻止超敏反应发生^[8-9]。儿童变应性哮喘是儿科常见疾病, 患儿往往同时发生临床或亚临床的上呼吸道和下呼吸道过敏性症状, 又称儿童过敏性鼻炎-哮喘综合征^[10]。本研究分析 DCs 在儿童变应性哮喘中的异常表达情况, 以探讨通过人为干预 DCs 表达, 治疗和预防儿童变应性哮喘的可行性, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2014 年 10 月-2015 年 10 月在重庆市三峡中心医院诊疗的儿童变应性哮喘患儿 50 例作为观察组, 年龄 8~12 岁。患儿变应性哮喘的诊断依据儿童支气管哮喘诊断与防治指南 (2008 年修订)^[11]。将观察组患儿发病时及治疗缓解后气道黏膜资料作为发病组和缓解组。选取 30 例健康儿童作为对照组。本研究经本院伦理委员会审批通过, 并征得监护人同意。

1.2 方法

免疫组织化学法检测 DCs 表型表达。兔抗多克隆抗体 CD80、兔抗多克隆抗体 CD86 购自北京鼎国生物技术有限公司。酶联免疫吸附法检测细胞上清 IL-4、IL-10、IL-12 含量变化, IL-4、IL-10、IL-12 酶联免疫试剂盒购自上海信帆生物科技有限公司。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 18.0 统计软件, 计量资料用以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组患儿 DCs 共刺激因子的表达

发病组、缓解组及对照组患儿 DCs 表面 CD80、CD86 水平比较, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 发病患儿呼吸道内树突状共刺激分子有异常表达, CD80、CD86 升高。见表 1。

2.2 3 组患儿相关细胞因子比较

发病组、缓解组及对照组患儿相关细胞因子 IL-4、IL-10、IL-12 水平比较, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 患儿发病时 IL-4 升高, IL-10、IL-12 降低。见表 2。

表 1 3 组患儿 CD80、CD86 表达水平比较
($\bar{x} \pm s$, pg/ml)

组别	CD80	CD86
发病组 (n=50)	16.517 ± 4.156	37.013 ± 14.116
缓解组 (n=50)	13.308 ± 3.346	24.637 ± 8.465
对照组 (n=30)	13.192 ± 3.417	23.891 ± 8.747
F 值	2.376	36.191
P 值	0.007	0.001

表 2 3 组患儿 IL-4、IL-10、IL-12 水平比较
($\bar{x} \pm s$, pg/ml)

组别	IL-4	IL-10	IL-12
发病组 (n=50)	139.324 ± 11.412	3.613 ± 0.248	28.800 ± 8.201
缓解组 (n=50)	34.013 ± 4.917	6.752 ± 1.014	44.229 ± 9.207
对照组 (n=30)	33.743 ± 5.107	6.902 ± 0.900	44.601 ± 9.703
F 值	2470.818	2.301	54.214
P 值	0.001	0.008	0.001

3 讨论

DCs 是目前发现的唯一能激活初始型 T 细胞的抗原提呈细胞^[12-13]。T 细胞的激活是双重信号的结果, 即除 T 细胞受体信号外, 还必需有辅助信号, 即协同刺激信号。如果缺乏协同刺激信号, T 细胞不能产生反应。CD80 和 CD86 是协同刺激分子中的 DCs 相关分化抗原^[14-15]。CD80 主要诱导 TH1 分化, 对 TH2 分化也有影响, 此外 CD80 对抗原所致的炎症反应起维持和增强作用^[16]。CD86 信号可启动 TH0 向 TH2 分化^[17],

阻断 CD80/CD86 与 CD28 的作用可抑制 TH2 型细胞因子的表达^[18]。DC 对 T 细胞的刺激作用强度与其表面协同刺激分子表达有关。协同刺激分子表达率越高, 对 T 细胞的刺激能力越强。国外研究者发现, 变应性鼻炎和变应性哮喘患者 DCs 的 CD80/CD86 在发病期有异常表达, 与 T 细胞激活分化及疾病发生呈正相关^[19-21]。在本研究中, 发病组患儿 DCs 表面 CD80、CD86 协同刺激分子出现异常表达, 与疾病程度呈正相关, 而经治疗后的缓解组与对照组协同刺激因子表达基本无差异, 可能因为发病组协同刺激分子导致 T 细胞过度活化, 特别是 TH2 类细胞的过度活化, 诱导 TH1/TH2 型应答的偏移, 引起气道变态反应性炎症和气道高反应性, 导致变应性哮喘的发生。而经治疗后, CD80、CD86 水平与对照组无差异, 可以进一步证实上述观点。

DCs 相关细胞因子 IL-10 是抗炎作用的主要细胞因子^[22]。其可以抑制多种促炎细胞因子的合成, 还可以抑制成熟肥大细胞的分泌作用, 减轻气道炎症反应, 诱导产生免疫耐受。有研究证实, IL-10 可抑制 TH0 细胞分化为 TH1, 并在 TH2 细胞分化及增殖反应中具有重要意义^[23]。DC 分泌的 IL-12 是目前已知诱导 TH0 分化为 TH1 的最关键细胞因子^[24-25]。IL-12 还可减少 EOS 浸润, 抑制肥大细胞等释放炎症介质, 抑制变应原或乙酰胆碱诱发的气道高反应性等。TH2 型细胞因子 IL-4 可诱使成熟浆细胞分泌 IgE, 促进炎症细胞趋化, 加速并加重气道炎症反应。有研究证实, IL-4 的分泌可以直接或间接接受 DCs 调控^[26]。在本研究中, 发病组患儿 IL-4 高表达, DCs 相关细胞因子 IL-10、IL-12 低表达, 可诱使 TH2 活化并功能亢进, 分泌相关细胞因子, TH1 分化减少、相关细胞因子减少, TH 细胞的免疫调节功能因此失衡, 可造成组织免疫损伤, 也是诱发患儿变应性哮喘的重要原因。疾病缓解后患儿的细胞因子水平与对照组无差异, 也进一步说明 DCs 通过其细胞因子对变应性哮喘的病程产生影响。

DCs 通过 CD80、CD86 及相关细胞因子 IL-4、IL-10、IL-12 的异常表达, 导致 TH1 细胞分化减少、TH2 细胞活化增多并功能亢进, 诱导并加重气道炎症反应, 影响儿童变应性哮喘的发生、发展。可以预见, 通过人工干预 DCs 的表达, 来预防或治疗变应性哮喘, 是治疗变应性哮喘的重要方向。

参 考 文 献:

- [1] SCHRAML B U, REISE S C. Defining dendritic cells[J]. *Curr Opin Immunol*, 2015, 32: 13-20.
- [2] KLEINJAN A. The crucial role of dendritic cells in rhinitis[J]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2011, 11(1): 12-17.
- [3] ZANONI I, GRANUCCI F. The regulatory role of dendritic cells in the induction and maintenance of T-cell tolerance[J]. *Autoimmunity*, 2011, 44(1): 23-32.
- [4] ZHU M, LIANG Z, WANG T. Th1/Th2/Th17 cells imbalance in patients with asthma with and without psychological symptoms[J]. *Allergy Asthma Proc*, 2016, 37(2): 148-156.
- [5] KALANTARI T, KAMALI-SARVESTANI E, CIRIC B, et al. Generation of immunogenic and tolerogenic clinical-grade dendritic cells[J]. *Immunol Res*, 2011, 51(2/3): 153-160.
- [6] EKMAN A K, ERJEFIILT J S, JANSSON L, et al. Allergen-induced accumulation of CD68⁺ CD123⁺ dendritic cells in the nasal mucosa[J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2011, 155(3): 234-242.
- [7] 赵长青, 索丽敏, 何韶衡, 等. 树突状细胞参与呼吸道过敏性疾病的研究进展 [J]. *临床耳鼻喉头颈外科杂志*, 2011, 25(12): 575-576.
- [8] CHOI Y S, JEONG J A, LIM D S. Mesenchymal stem cell-mediated immature dendritic cells induce regulatory T cell-based immunosuppressive effect[J]. *Immunol Invest*, 2012, 41(2): 214-229.
- [9] LU M, DAWICKI W, ZHANG X, et al. Therapeutic induction of tolerance by IL-10-differentiated dendritic cells in a mouse model of house dust mite-asthma[J]. *Allergy*, 2011, 66(5): 612-620.
- [10] 张婷, 王海洋, 马莹, 等. 树突状细胞与上下呼吸道炎症反应一致性研究进展 [J]. *医学综述*, 2012, 18(4): 484-487.
- [11] 中华医学会儿科学会呼吸学组. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南 (2008 年修订) [J]. *中华儿科杂志*. 2008, 46(10): 745-753.
- [12] TSURUGA K, WATANABE S, OKI E, et al. Imbalance towards Th1 pathway predominance in purpura nephritis with proteinuria[J]. *Pediatr Nephrol*, 2011, 26(12): 2253-2258.
- [13] 田发青, 李娟, 李举亨, 等. 树突状细胞促进外周血 CRTH2 (CD4⁺ CD294⁺ Th2) 细胞增殖和辅助 B 细胞分泌免疫球蛋白 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2016, 24(4): 1163-1167.
- [14] PAN Y X, YE Q, SHAO W X, et al. Relationship between immune parameters and organ involvement in children with Henoch-Schonlein purpura[J]. *PLoS One*, 2014, 9(12):207-214.
- [15] PEN J J, KEERSMAECKER B D, HEIRMAN C, et al. Interference with PD-L1/PD-1 co-stimulation during antigen presentation enhances the multifunctionality of antigen-specific T cells[J]. *Gene Ther*, 2014, 21: 262-271.
- [16] YING L, FU Z, LUO J, et al. Cytotoxic T lymphocyte antigen 4 immunoglobulin modified dendritic cells attenuate airway inflammation and hyperresponsiveness by regulating the development of T helper type 1 (Th1)/Th2 and Th2/regulatory T cell subsets in a murine model of asthma[J]. *Clin Exp Immunol*, 2011, 165(1): 130-139.
- [17] LOMBARDI V, SINGH A K, AKBARI O, et al. The role of

- costimulatory molecules in allergic disease and asthma[J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2010, 151(3): 179-189.
- [18] 高振家. 树突状细胞在支气管哮喘发病机制中的作用研究[J]. *中国医学工程*, 2014, 22(2): 194-196.
- [19] KIRSCH H, NIEDERFUHR A, DEUTSCHLE T, et al. Cytotoxic T lymphocytes mediate chronic inflammation of the nasal mucosa of patients with atypical allergic rhinitis[J]. *N Am J Med Sci*, 2011, 3(8): 378-383.
- [20] van HEIDEN M J, LAMBRECHT B N. Dendritic cells in asthma[J]. *Curr Opin Immunol*, 2013, 25: 745-754.
- [21] 潘珍珍, 李羚, 郭赞, 等. CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺调节性T细胞与IL-33在儿童哮喘发病机制中的作用[J]. *中国当代儿科杂志*, 2014, 16(12): 1211-1214.
- [22] KOYA T, MATSUDA H, TAKEDA K, et al. IL-10-treated dendritic cells decrease airway hyperresponsiveness and airway inflammation in mice[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2007, 119(5): 1241-1250.
- [23] DABBAGH K, DAHL M E, STEPICK B P, et al. Toll-like receptor 4 is required for optimal development of Th2 immune responses: role of dendritic cells[J]. *J Immunol*, 2002, 168: 4524-4530.
- [24] 靳怀安, 刘彤, 王炜. RNAi 沉默小鼠树突状细胞 CD80、CD86 表达诱导 T 细胞无能的体外研究[J]. *天津医科报*, 2007, 13(3): 428-432.
- [25] 邹丽娟, 刘艾然, 张曦文, 等. 调节性树突状细胞在急性呼吸窘迫综合征免疫治疗中的应用[J]. *中华重症医学电子杂志*, 2016, 2(2): 123-126.
- [26] 曹雪涛, 熊思东, 姚智. 医学免疫学[M]. 第6版, 北京: 人民卫生出版社, 2013: 49-55.

(童颖丹 编辑)