

## 特应性皮炎患者外周血 IL-4、IFN- $\gamma$ 、IL-2 水平的检测

陈保疆

**摘要** **目的** 了解特应性性皮炎(Atopic dermatitis, AD)患者外周血单个核细胞(PBMCs)培养上清液中部分细胞因子水平。 **方法** 分离培养 97 例 AD 患者及 20 例健康对照者外周血单个核细胞(PBMCs),采用 ELISA 方法检测细胞培养上清液白介素 4(IL-4)、 $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ )、白介素 2(IL-2)水平。 **结果** AD 患者 PBMCs 培养上清液 IL-4、IL-2 水平高于健康对照组( $P$  分别 $<0.01$  及  $0.05$ ) ,而 IFN- $\gamma$  水平显著低于对照组( $P<0.01$ )。 **结论** 细胞因子 IL-4、IFN- $\gamma$ 、IL-2 水平的变化在 AD 患者发病过程中起到一定的作用。

**关键词** 皮炎 ;特应性 ;细胞因子

**中图分类号** R-331 **文献标识码** B **文章编号** :1009-9727(2011)10-1267-02

**Detection of IL-4, IL-2 and IFN- $\gamma$  levels in supernatant of PBMCs from patients with atopic dermatitis.** CHEN Bao-jiang.(1 Dept .of Dermatology TEDA Hospital ,Tianjin 300457 ,P. R. China)

**Abstract; Objective** To understand the levels of interleukin 4(IL-4) ,interferon  $\gamma$ (IFN- $\gamma$ ) and interleukin 2(IL-2) in culture supernatants of peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from patients with atopic dermatitis (AD). **Methods** The levels of IL-4、IFN- $\gamma$ 、IL-2 in supernatants of PBMCs from 97 patients with AD and 20 normal controls were measured by ELISA method. PBMCs were cultured for 72 hours in vitro. **Results** The levels of IL-4 and IL-2 were both significantly higher than those of the controls ( $P<0.01$  or  $0.05$ )and levels of IFN- $\gamma$  was significantly lower than that of in the controls. **Conclusion** The change of the levels of IL-4、IFN- $\gamma$ 、IL-2 played an important role in the pathogenesis atopic dermatitis.

**Key words:** Dermatitis ;Atopic ;Interleukin

特应性皮炎 (Atopic dermatitis, AD), 是临床上常见的慢性、瘙痒性、炎症性皮肤病, 临床表现为湿疹和极度瘙痒, 可因感染、精神压力、气候变化、刺激物和过敏原等因素作用而加重。

近年来, AD 的发病率有所上升<sup>[1]</sup>, 关于其发病机制目前还没有统一的认识, 为了探讨细胞因子在 AD 发病中的作用, 作者对 AD 患者体外培养的外周血单个核细胞 (PBMCs) 上清液中

作者单位 :天津市泰达医院皮肤科 ,天津 300457

支原体耐药菌株产生逐渐增多, 建议应同时作支原体培养及药敏试验, 以便指导临床治疗, 避免滥用抗生素, 提高治疗效果缩短病程。从表 2 可知, 对支原体敏感的抗生素主要有强力霉素、美满霉素、交沙霉素。其敏感度与支原体感染类别不同有所差异。Uu 对美满霉素的敏感率为 97.6%, 强力霉素次之 (96.9%), 交沙霉素为 83.1%。Mh 对这三种抗生素的敏感度则依次为 93.3%、88.2% 和 61.4%。Mh+Uu 对这三种抗生素的敏感度则依次 97.1%、96.1% 和 78.6%。目前治疗支原体感染常用的药物有罗红霉素, 而我们的实验资料显示耐药率在 25.3%~97% (平均 54.8%)。差异的形成同临床药物使用的频率、年使用量以及耐药性有关。所以不能单独以 Uu 的培养及药敏结果, 来指导临床诊断和治疗由支原体引起的泌尿生殖道感染。应对 Uu 和 Mh 同时进行检测, 依据检出类型的不同, 合理的选用抗生素。

### 参考文献:

- [1] Bayraktar M R, Ozerol I H, Gucluer N, et al. Prevalence and antibiotic susceptibility of Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum in pregnant women[J]. Infect Dis, 2010, 14 (2): 90-95.
- [2] 周庭银, 赵虎. 临床微生物学[M]. 上海: 上海科学技术出版社出版, 2001, 193-195
- [3] 邹翠文. 泌尿生殖道支原体感染状况及药敏试验结果分析[J]. 中华中西医杂志 2006, 7 (16): 1448-1450
- [4] 郑松贵, 金玲玲. 泌尿生殖道支原体体外药敏试验结果分析[J]. 中华医院感染学杂志 2003, 13 (12): 1187-1188
- [5] 徐传如, 李琳, 毕重秀, 等. 泌尿生殖道与支原体培养及药敏结果分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2006, 16 (8): 944-946.
- [6] Zuo CX, Huang JH, Chen J, et al. Female urogenital mycoplasma infection and drug sensitivity status in Changshu[J]. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao, 2006, 26 (6): 831-836.
- [7] 梁沛杨, 郭志勤, 罗北京. 泌尿生殖道支原体感染状况及药敏动态分析[J]. 中华现代临床医学杂志, 2004, 24 (2): 186-187.

收稿日期 2011-05-15 编辑 杜中华

IL-4、IFN- $\gamma$ 、IL-2 进行了检测,报告如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

1.1.1 病例来源 97 例 AD 患者来自 2008 年 1 月~2009 年 2 月天津市泰达医院皮肤科门诊,其中男 52 例,女 45 例,年龄 11~24 岁,平均 16.6 $\pm$ 9.8) 岁。病程 9.5~17.5 年,平均 14.5 $\pm$ 7.6) 年。AD 诊断参照 1994 年 Williams 等提出的诊断标准<sup>[2]</sup>。

1.1.2 正常对照组 选择本院 20 例志愿献血者作为正常对照组,其中男 12 例,女 8 例,年龄 18~43 岁,平均年龄 24.7 $\pm$ 18.6) 岁。AD 组与对照组性别、年龄经统计学分析,组间无显著统计学意义 ( $P$  均 $>0.05$ ),具有可比性。

1.2 实验方法

1.2.1 主要仪器与试剂 超净工作台 ( 苏净公司 );CO<sub>2</sub> 孵育箱 ( Thermo 公司 );洗板机 ( Thermo 公司 德国 );全波长酶标仪 ( Thermo 公司 德国 )。胎牛血清 ( 天津川叶公司 );RPMI-1640 ( Sigma 公司 );淋巴细胞分离液 中国协和医科大学血液病研究所 );植物血凝素 PHA( Sigma 公司 );人 IL-4、IFN- $\gamma$ 、IL-2 检测 ELISA 试剂盒 深圳晶美生物公司)。

1.2.2 实验步骤

1.2.2.1 单个核细胞分离 取患者及对照组人员肝素抗凝血 5ml,加入淋巴细胞分离液,离心 2 000r/min,20min;用滴管吸出单个核细胞,加入 5ml Hank's 液,混匀,离心 1 500r/min,10min,弃上清液;用 RPMI-1640 培养液调整细胞浓度为 1 $\times$ 10<sup>6</sup>/mL。

1.2.2.2 单个核细胞培养 于 96 孔培养板中每孔加入细胞悬液 100 $\mu$ L 及 PHA 80 $\mu$ L ( 5mg/mL )。放入含 5%CO<sub>2</sub> 及饱和湿度条件下的培养箱,37 $^{\circ}$ C 孵育 72h。离心,取上清,待测

1.2.2.3 上清液细胞因子检测 将标准品用 1ml 标准品稀释液溶解,然后按需要进行稀释,IL-2、IL-4、IFN- $\gamma$  标准曲线下浓度分别采用 1 000、500、250、125、62.5、31.25、15.625pg/mL;将不同浓度的标准品或标本 100 $\mu$ L 分别加入相应孔中,封孔,37 $^{\circ}$ C 孵育箱 60min,洗板 4 次;加入 100 $\mu$ L 生物素化抗体工作液,封板,37 $^{\circ}$ C 孵育箱中孵育 60min,洗板 4 次;加入 100 $\mu$ L 酶结合物工作液,封板,37 $^{\circ}$ C 孵育箱中孵育 30min,洗板 4 次;加入显色剂 100 $\mu$ L/ 每孔,37 $^{\circ}$ C 避光,孵育 15min;加入每孔 100 $\mu$ L 终止液,混匀,在酶标仪上即刻测量 OD450 值,计算细胞因子浓度。

1.2.2.4 统计学方法 数据经 SPSS10.0 统计软件处理,计量资料采用  $t$  检验。

2 结果

AD 患者及健康对照组 PBMCs 培养上清液细胞因子 IL-4、IFN- $\gamma$ 、IL-2 检测结果,见表 1。

表 1 两组 PBMCs 上清液细胞因子 IL-4、IFN- $\gamma$ 、IL-2 检测结果 (  $\bar{x}\pm$ SD,pg/mL)

组别	例数	IL-4	IFN- $\gamma$	IL-2
AD 患者组	97	56.38 $\pm$ 12.17*	4 237.2 $\pm$ 1 183.6*	1 151.7 $\pm$ 368.4#
对照组	20	29.09 $\pm$ 6.14	12 387.4 $\pm$ 2 572.5	818.1 $\pm$ 192.2
$t$ 值		5.17	17.69	4.88

注 \* 与对照组比较  $P<0.01$  # 与对照组比较  $P<0.05$ 。

AD 患者 PBMCs 培养上清液 IL-4、IL-2 水平均高于健康对照组 ( $P<0.01$ , $P<0.05$ ), 而 IFN- $\gamma$  水平显著低于对照组 ( $P<0.01$ )。

3 讨论

AD 的病因复杂,许多研究已经证实免疫异常是其发病的关键环节。在 AD 的发病机理中 IL-4 是关键的细胞因子,可诱导 B 细胞生成 IgE,促进 B 细胞增殖及 IgE 低亲和力受体 ( Fc $\epsilon$  R ) 的表达,在 IgE 生成调节中起重要作用<sup>[3]</sup>。在 AD 等变态反应中 IgE 水平增高与 IL-4 分泌过量有关<sup>[4]</sup>。IFN- $\gamma$  又称免疫干扰素,主要活性是参与免疫调节,是体内重要的免疫调节因子,可以激活自然杀伤细胞 ( NK ) 等,增强其抗病毒、抗肿瘤的功能,同时 IFN- $\gamma$  能抑制 B 细胞分泌 IgE,从而抑制 IgE 水平过高导致的 I 型超敏反应的发生。Heninger ,E 等研究发现 IFN- $\gamma$  能强烈抑制组胺酸脱羧酶在黑色素瘤细胞系内的表达<sup>[5]</sup>,而组胺酸经脱羧作用而形成的组胺是过敏反应的中介物质,在包括炎症反应、变态反应及各种肿瘤的发生等一系列过程中扮演着非常重要的角色,可引起平滑肌收缩,临床症状常表现为荨麻疹、过敏性休克等。IFN- $\gamma$  作为主要由 Th1 细胞分泌的细胞因子,在 AD 的发病过程中起到重要的作用<sup>[6]</sup>。

IL-2 在维持 Th1 和 Th2 平衡中有重要作用。同时,国外有人皮内注射 IL-2 可导致 AD 患者和正常人的皮肤瘙痒<sup>[7]</sup>,认为 IL-2 可能是 AD 的一个重要的致痒介质。虽然,AD 患者 IL-2 水平变化各家报道不尽一致,但随着 Th2 向 Th1 依序活化为 AD 的病因理论的提出,作为 Th1 细胞分泌的主要因子之一的 IL-2 在 AD 发病中的作用将被越来越重视。本文体外培养 AD 患者 PBMCs 上清液 IL-4、IL-2 水平均高于健康对照组 ( $P$  分别 $<0.01$  及  $0.05$ ),而 IFN- $\gamma$  水平显著低于对照组 ( $P<0.01$ )。AD 发病不是简单的 Th2 占优势,而是 Th2 和 Th1 共同参与病程。随着疾病发展变化,Th1 分泌的主要因子 IL-2 和 IFN- $\gamma$  等的水平也随之升高,因而 AD 患者 IL-2 水平可能高与健康人。但 IL-2 参与 AD 发病的具体机制尚不清楚,有待进一步研究证实。

参考文献:

[ 1 ] Oh SH,Bae BG,Park CO,et al . Association of stress with symptoms of atopic dermatitis[ J ] . Acta Derm Venereol,2010,9( 6 ) :582-588.

[ 2 ] Williams HC,Burney PG,Hay RD,et al . The UK Working party's Diagnostic Criteria for Atopic Dermatitis Derivation of a minimum set of discriminators for atopic dermatitis[ J ] . Br J Dermatol,1994,131: 383.

[ 3 ] Werfel T . The role of leukocytes,keratinocytes,and allergen-specific IgE in the development of atopic dermatitis [ J ] . J Invest Dermatol, 2009,129( 8 ) :1878-91.

[ 4 ] 陈保疆,张玉环,刘玉环,等 . 脾虚湿盛型特应性皮炎患者部分免疫学特点研究 [ J ] . 天津中医药,2005,22( 5 ) :380-383

[ 5 ] Heninger E,Falus A,Darvas Z,et al . Both interferon( IFN) alpha and IFN gamma inhibit histidine decarboxylase expression in the HT168 human melanoma cell line. Inflammation Res,2000,49( 8 ) ,393-397.

[ 6 ] 张玉环,陈保疆,焦振山,等 . 特应性皮炎患者单个核细胞 Th1/Th2 和 IFN- $\gamma$  及 IL-4 mRNA 表达 [ J ] . 天津医药,2006,34( 12 ) :833-834

[ 7 ] Kajiyama Y,Umezu-Goto M,Kobayashi N,et al . IL-2-induced IL-9 production by allergen-specific human helper T-cell clones [ J ] . Int Arch Allergy Immunol,2007,143 Suppl 1:71-75.