

儿童哮喘患者外周血 Th17, Th2 细胞及不同来源样本相关细胞因子表达与气道炎症诱导痰细胞学分类的相关性研究

陈 芬, 许春华, 姚 彤, 安美玉, 罗新辉

(新疆维吾尔自治区儿童医院儿内科, 乌鲁木齐 830001)

摘要: 目的 探讨不同类型哮喘儿童外周血 Th2, Th17 细胞及不同来源样本相关细胞因子表达与气道炎症诱导痰细胞学分类的相关性。方法 选取 2018 年 4 月~2020 年 8 月新疆维吾尔自治区儿童医院接诊的急性发作期哮喘患儿 55 例行诱导痰中性粒细胞百分比 (NEU%) 和嗜酸性粒细胞百分比 (EOS%) 计数; 根据其结果分为中性粒细胞哮喘组 (NA 组, $n=24$) 和嗜酸性粒细胞哮喘组 (EA 组, $n=31$); 另选取同期健康儿童 50 例作为对照组 (HC 组)。采用流式细胞仪检测外周血 Th17, Th2 细胞及 Th17 细胞中 STAT5 和 BCL-2 表达; ELISA 法检测外周血单核细胞 (PBMC) 培养液和支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中 IL-17 和 IL-10 表达; qRT-PCR 法检测外周血单核细胞 ROR γ t 表达; 采用 Pearson 行相关性分析。结果 NA 组 NEU% 高于 EA 组和 HC 组, EA 组高于 HC 组 ($F=342.918$, $P<0.001$); EA 组 EOS% 高于 NA 组和 HC 组, NA 组高于 HC 组 ($F=118.931$, $P<0.001$), 差异均有统计学意义。NA 组 Th17% 及 IL-17 水平高于 EA 组和 HC 组, EA 组高于 HC 组 ($F=47.569\sim 256.602$, 均 $P<0.001$); EA 组 Th2% 及 IL-10 水平高于 NA 组和 HC 组, NA 组高于 HC 组 ($F=16.636\sim 169.271$, 均 $P<0.001$), 差异均有统计学意义。哮喘患儿诱导痰 NEU% 与 Th17%, IL-17 水平呈明显正相关 ($r=0.695\sim 0.803$, 均 $P<0.05$); EOS% 与 Th2%, IL-10 水平呈明显正相关 ($r=0.684\sim 0.759$, 均 $P<0.05$)。NA 组 ROR γ t 表达及 BCL-2, STAT5 阳性率高于 EA 组和 HC 组, EA 组高于 HC 组, 差异均有统计学意义 ($F=53.390\sim 283.618$, 均 $P<0.001$)。结论 中性粒细胞哮喘患儿与嗜酸性粒细胞哮喘患儿气道炎症分别表现为诱导痰 NEU%, EOS% 明显增高, 并分别与不同来源样本的 Th17%, IL-17 水平及 Th2% 和 IL-10 水平呈正相关, 可将 Th2/ Th17 作为不同类型哮喘患儿诊断、治疗及预后的标志物。中性粒细胞性哮喘气道炎症与 Th17 细胞分化增强及已分化的 Th17 细胞存活延长密切相关。

关键词: 儿童; 哮喘; 辅助性 T 细胞 2; 辅助性 T 细胞 17; 气道炎症

中图分类号: R725.6; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2021) 03-062-06

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.03.014

Study on the Correlation between the Expression of Th17, Th2 Cells and Cytokines in Peripheral Blood and the Cytological Classification of Airway Inflammation-induced Sputum in Children with Asthma

CHEN Fen, XU Chun-hua, YAO Tong, AN Mei-yu, LUO Xin-hui

(Department of Medicine, Children's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830001, China)

Abstract: Objective To investigate the correlation between the expression of Th2, Th17 cells and related cytokines from different samples in peripheral blood of children with different types of asthma and the cytological classification of airway inflammation-induced sputum. **Methods** The percentages of neutrophils (NEU%) and eosinophils (EOS%) in induced sputum were selected from 55 children with acute attack asthma admitted to Children's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region from April 2018 to August 2020. According to the results, they were divided into neutrophilic asthma group (NA group, $n=24$) and eosinophilic asthma group (EA group, $n=31$). Another 50 healthy children in the same period were selected as control group (HC group). The expressions of STAT5 and BCL-2 in Th17 and Th2 cells and Th17 cells in peripheral blood were detected by flow cytometry. The expression of IL-17 and IL-10 in the culture medium of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were detected by ELISA. The expression of ROR γ t in peripheral blood monocytes was detected by qRT-PCR. Pearson line correlation analysis was used. **Results** NEU % in NA group was higher than that in EA group and HC group, and EA group was higher than HC group ($F=342.918$, $P<0.001$). EOS% in EA group was higher than that in NA group and HC group, and NA group was higher than HC group ($F=118.931$, $P<0.001$), respectively, the differences

基金项目: 新疆维吾尔自治区卫生健康青年医学科技人才专项项目 (编号: WJWY-202007)。

作者简介: 陈芬 (1984-), 女, 硕士研究生, 主治医师, 研究方向: 儿童呼吸血液肿瘤专业, E-mail: howareyou3322@163.com。

通讯作者: 罗新辉, 女, 硕士, 主任医师, E-mail: 5876275@qq.com。

was statistically significant. The levels of Th17% and IL-17 in NA group were higher than those in EA and HC group, and those in EA group were higher than those in HC group ($F=47.569\sim 256.602$, all $P<0.001$). The levels of Th2% and IL-10 in EA group were higher than those in NA group and HC group, and those in NA group were higher than those in HC group ($F=16.636\sim 169.271$, all $P<0.001$), respectively, the differences were statistically significant. NEU% was positively correlated with Th17% and IL-17 levels in asthmatic children ($r=0.695\sim 0.803$, all $P<0.05$). EOS% was positively correlated with Th2% and IL-10 levels ($r=0.684\sim 0.759$, all $P<0.05$). The expression, Bcl-2 and STAT5 positive rates of ROR T in NA group were higher than those in EA group and HC group, respectively, the differences were statistically significant ($F=53.390\sim 283.618$, all $P<0.001$). **Conclusion** Airway inflammation in children with neutrophilic and eosinophilic asthma was characterized by induced sputum Neu % and significantly increased EOS%, which were positively correlated with Th17%, IL-17 and Th2%, IL-10 levels, respectively. Th2/ Th17 could be used as a marker for the diagnosis, treatment and prognosis of children with different types of asthma. Airway inflammation in neutrophilic asthma was closely related to increased Th17 cell differentiation and prolonged survival of differentiated Th17 cells.

Keywords: children; asthma; helper T cell 2; helper T cell 17; airway inflammation

哮喘是一种以慢性气道炎症和气道高反应性为特征的异质性疾病,由多种细胞因子共同参与引起,是儿童最常见的慢性呼吸道疾病^[1]。目前,根据哮喘气道炎症不同亚型将哮喘主要分为嗜酸性粒细胞哮喘(eosinophilic asthma, EA)和非嗜酸性粒细胞哮喘(non-eosinophilic asthma, NEA),其中NEA半数以上为中性粒细胞性哮喘(neutrophilic asthma, NA)^[2]。迄今,NA患者气道中性粒细胞(neutrophils, NEU)增多机制尚未明确,但研究发现其存在不依赖于Th1/Th2免疫介导的气道中性粒细胞性炎症^[3]。并发现,Th17细胞及其效应因子IL-17在哮喘发病的免疫机制中具有重要作用,Th17/IL-17可介导NEU的募集、活化及气道重塑,可能是气道NEU增多的机制之一^[4-5]。亦证实,哮喘患者血清IL-17表达升高与哮喘严重程度紧密相关^[6]。因此,本研究拟通过初步探究不同类型哮喘儿童外周血Th2, Th17细胞及不同样本来源相关细胞因子与气道炎症诱导痰细胞学分类的相关性,以期为临床提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取2018年4月至2020年8月我院儿童呼吸科接诊的急性发作期哮喘患儿55例作为研究对象,男性30例,女性25例,年龄2~14岁,哮喘诊断及严重程度分级符合儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016版)^[7],经支气管镜检查排除气管支气管狭窄、支气管异物等气道异常引起的喘息;均未接受糖皮质激素治疗,近1月内无呼吸道感染,排除支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)病原学检查阳性。入院后均行体格检查、病史询问、肺功能、胸X线片检查,外周白细胞计数分类及痰液培养等。根据诱导痰细胞学分类将入组哮喘患儿分为NA组24例,男性13例,女性11例,平均年龄 5.1 ± 1.6 岁,轻-中度哮喘16例、重度哮喘8例;EA组31例,男性17例,

女性14例,平均年龄 4.8 ± 1.9 岁,轻-中度哮喘22例、重度哮喘9例,两组患儿年龄、性别、病情程度差异均无统计学意义($P>0.05$)。另选取同期50例健康体检儿童作为健康对照组(HC组),男性27例,女性23例,年龄3~14岁,平均年龄 5.2 ± 1.4 岁,无变态反应性疾病,无过敏性鼻炎及哮喘病史,无激素类药物使用史,肺功能正常,近1月内无呼吸道感染。本研究获得我院医学伦理委员会通过,患儿家属均知情并签署同意书。

1.2 仪器与试剂 二硫苏糖醇(DTT)购自美国Sigma公司。Diff-Quick染色购自英国Baxter Healthcare公司。APC标记抗人CD4抗体;Per CP-Cy™ 5.5标记抗人CD8抗体;PE标记的抗人IL-17, IL-10抗体及Mouse Ig G1 κ 同型对照;Alexa Fluor 488标记的抗人BCL-2, STAT5及Mouse Ig G1 κ 同型对照均购自美国BD公司。qRT-PCR检测试剂盒购自上海吉玛制药技术有限公司。流式细胞仪购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司;ELISA试剂盒(型号MEXN-H3052)购自上海美轩生物科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 诱导痰细胞分类及计数:参照2016版儿童支气管哮喘诊断与防治指南^[7]进行哮喘严重程度分级,并参照诱导痰液指导指南^[8]对不同程度哮喘患儿及对照组儿童分别进行痰液诱导,咳出痰液处理备用。取处理后痰液标本500 mg, 1 500 r/min, 4℃离心,取上清低温保存用于待测细胞因子。细胞沉淀加入DTT处理,离心弃上清,重悬加入0.1 g/dl台盼蓝,调整细胞浓度为 0.3×10^6 /ml,加120 μ l痰细胞悬液甩片5 min,固定,Diff-Quick染色,光学显微镜下行痰液细胞计数,分类计算NEU和嗜酸性粒细胞(eosinophil, EOS)百分比。分组根据诱导痰细胞学分类:NA组:NEU $\geq 61\%$ 且EOS $< 2\%$;EA组:NEU $< 61\%$ 且EOS $\geq 2\%$ 。

1.3.2 流式细胞仪检测外周血 Th17, Th2 细胞: 采集各组儿童外周静脉血肝素抗凝, 收集培养细胞加入红细胞裂解液, 离心、弃上清、重悬, 分别加入 APC 标记抗人 CD4 抗体和 Per CP-Cy™ 5.5 标记抗人 CD8 抗体, 孵育、洗涤、弃上清; 取胞外染色细胞, 加入固定破膜液, 离心、重悬, 于 Th17, Th2 细胞检测管分别加入 PE 标记的抗人 IL-17 抗体和抗人 IL-10 抗体 20 μ l, 同型对照管加入 PE 标记 Mouse Ig G1 κ 同型对照, 孵育、洗涤、弃上清, 多聚甲醛重悬, 24 h 内上机检测 Th17, Th2 细胞占 Th 细胞的百分比。

1.3.3 流式细胞仪检测 Th17 细胞 STAT5, BCL-2 表达: 操作步骤同 Th17, Th2 细胞检测, BCL-2 检测管加入 Alexa Fluor 488 标记的抗人 BCL-2 和 PE 标记的抗人 IL-17 抗体, 同型对照管加入 Alexa Fluor 488 标记的 Mouse Ig G1 κ 同型对照和 PE 标记的 Mouse Ig G1 κ 同型对照 20 μ l, 其余操作步骤同 2.2。STAT5 检测取胞外染色细胞, 加入 37 $^{\circ}$ C 的固定液, 孵育、洗涤, 加入 -20 $^{\circ}$ C 破膜试剂, 孵育、弃上清、重悬, 检测管加入 Alexa Fluor 488 标记抗人 STAT5 和 PE 标记抗人 IL-17 抗体 20 μ l, 同型对照管加入同 BCL-2 检测, 其余步骤操作同前; 24 h 内上机检测 Th17 细胞 STAT5, BCL-2 表达阳性率。

1.3.4 qRT-PCR 检测外周血单核细胞 ROR γ t 表达: 采集各组儿童外周静脉血, 利用梯度离心法分离单核细胞 PBMC, 取分离培养 PBMC 悬液提取 RNA, 测定其纯度, 逆转录合成 cDNA 并以此为

模板行 RT-PCR 反应, 以 β -actin 为内参。ROR γ t 引物序列, 上游 5'-CGTGCCTGCTGGCGTGACG-3', 下游 5'-TGTCTCTCGCGTCACCGTTGCG-3'; β -actin 引物序列, 上游 5'-CAGCATACTAGCTTCA GATGC-3', 下游 5'-CAATGTCGTCGTTTCGTCA TG-3'; 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 10 min, 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 60 s, 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析 ROR γ t 相对表达量。

1.3.5 PBMC 培养液及 BALF 中 IL-17, IL-10 水平检测: 使用 37 $^{\circ}$ C, 100 ml 生理盐水于病变部位行纤维镜下支气管肺泡灌洗, 抽取各组儿童 BALF。取 PBMC 培养液及 BALF 根据 ELISA 试剂盒说明书分别检测 IL-17 和 IL-10 浓度, 并设置空白对照组、标准孔、待测样品孔, 每孔加入亲和素标记的 HRP, 孵育 1 h, 洗涤、显色, 终止反应, 测定每孔 450 nm 波长处的吸光度值, 绘制标准曲线回归方程, 计算相应样品中 IL-17 和 IL-10 浓度。

1.4 统计学分析 采用统计软件 SPSS 19.0 进行数据分析, 计量数据采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD 检验; 计数资料采用 n 表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 相关性分析采用 Pearson 分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 诱导痰细胞分类计数比较 见表 1。NA 组 NEU% 高于 EA 组和 HC 组, EA 组高于 HC 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); EA 组 EOS% 高于 NA 组和 HC 组, NA 组高于 HC 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

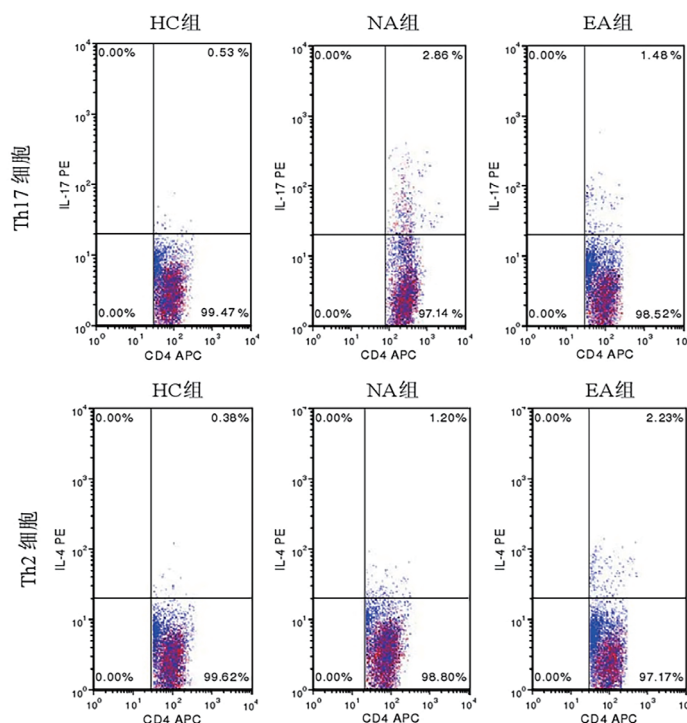


图1 流式细胞仪检测各组外周血 Th17, Th2 细胞表达

表1 各组诱导痰细胞分类计数比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

项目	HC组 (n=50)	EA组 (n=31)	NA组 (n=24)	F	P
NEU	27.5 ± 6.7	38.4 ± 7.5	72.6 ± 6.8	342.918	< 0.001
EOS	0.9 ± 0.5	3.1 ± 0.8	1.7 ± 0.6	118.931	< 0.001

2.2 外周血 Th17%, Th2% 比较: 见图1, 表2。NA组 Th17% 高于EA组和HC组, EA组高于HC组, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$); EA组 Th2% 高于NA组和HC组, NA组高于HC组, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。

根据前向角、侧向角圈出淋巴细胞后以 CD4, CD8 设门, CD4⁺CD8-IL-17⁺ 细胞群为 Th17 细胞亚

表3 PBMC 培养液和 BALF 中 IL-17, IL-10 水平比较 ($\bar{x} \pm s, \text{pg/ml}$)

项目	HC组 (n=50)	EA组 (n=31)	NA组 (n=24)	F	P
PBMC 培养液 IL-17	12.1 ± 4.9	37.6 ± 10.5	49.5 ± 6.2	256.602	< 0.001
IL-10	0.6 ± 0.3	3.2 ± 3.6	1.8 ± 0.5	16.636	< 0.001
BALF IL-17	7.1 ± 4.9	12.8 ± 5.6	19.5 ± 5.2	47.569	< 0.001
IL-10	0.3 ± 0.2	1.9 ± 0.6	0.8 ± 0.3	169.271	< 0.001

2.4 相关性分析 NA组患儿诱导痰 NEU% 与外周血 Th17% ($r=0.803, P < 0.05$), PBMC 培养液 IL-17 水平 ($r=0.736, P < 0.05$) 及 BALF 中 IL-17 水平 ($r=0.695, P < 0.05$) 均呈明显正相关。EA组患儿诱导痰 EOS% 与外周血 Th2% ($r=0.759, P < 0.05$), PBMC 培养液 IL-10 水平 ($r=0.701, P < 0.05$) 及 BALF 中 IL-10 水平 ($r=0.684, P$

表4 各组 ROR γ t-mRNA 及 Th17 细胞中 BCL-2, STAT5 阳性率比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	HC组 (n=50)	EA组 (n=31)	NA组 (n=24)	F	P
ROR γ t-mRNA	1.1 ± 0.4	2.3 ± 0.3	3.6 ± 0.6	283.618	< 0.001
BCL-2+Th17 (%)	2.7 ± 1.6	5.6 ± 3.1	10.4 ± 4.7	53.390	< 0.001
STAT5+Th17 (%)	4.2 ± 2.6	17.3 ± 8.2	29.8 ± 13.5	86.793	< 0.001

3 讨论

气道慢性炎症是哮喘气道高反应性的主要机制。既往认为, Th1/Th2 细胞免疫失衡是哮喘发病的经典免疫学机制, EOS 浸润是哮喘典型的气道炎症改变, Th2 主导的免疫应答及激素治疗敏感的哮喘气道炎症中 EOS 浸润扮演重要角色^[9-10]。但近年随着对哮喘发病机制及气道炎症的深入研究, 发现除 EOS 性炎症外, 部分重症难治性及激素治疗反应差哮喘患者气道炎症 EOS 浸润减少, 对糖皮质激素治疗不敏感, 气道组织活检、痰液及 BALF 中 NEU 数量明显增多, 提示哮喘气道炎症存在不同亚型, NEU 在哮喘气道炎症及气道重塑中具有重要作用^[11,4]。并发现非应变态哮喘患者存在不依赖于 Th2 细胞免疫机制介导的气道中性粒细胞炎症^[3]。本研究根据 SIMPSON 等^[12] 研究结果以痰

液 NEU $\geq 61\%$ 界定 NA, 以痰液 EOS $\geq 2\%$ 界定 EA, 经行诱导痰细胞分类及计数发现, NA 组 NEU% 明显高于 EA 组和 HC 组, EA 组 EOS% 则明显高于 NA 组和 HC 组, 提示不同类型哮喘患儿气道炎症表现差异显著。

表2 各组外周血 Th17%, Th2% 比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	HC组 (n=50)	EA组 (n=31)	NA组 (n=24)	F	P
Th17%	0.6 ± 0.2	1.5 ± 0.6	2.8 ± 0.7	168.188	< 0.001
Th2%	0.4 ± 0.2	2.2 ± 0.7	1.2 ± 0.4	156.030	< 0.001

2.3 PBMC 培养液及 BALF 中 IL-17, IL-10 水平比较 见表3。NA组 PBMC 培养液及 BALF 中 IL-17 水平高于EA组和HC组, EA组高于HC组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); EA组 PBMC 培养液及 BALF 中 IL-10 水平高于NA组和HC组, NA组高于HC组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

<0.05) 均呈明显正相关。

2.5 外周血单核细胞 ROR γ t 表达及外周血 Th17 细胞中 BCL-2, STAT5 阳性率比较 见表4。NA组 ROR γ t-mRNA 表达及 BCL-2, STAT5 阳性率高于EA组和HC组, EA组高于HC组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

液 NEU $\geq 61\%$ 界定 NA, 以痰液 EOS $\geq 2\%$ 界定 EA, 经行诱导痰细胞分类及计数发现, NA 组 NEU% 明显高于 EA 组和 HC 组, EA 组 EOS% 则明显高于 NA 组和 HC 组, 提示不同类型哮喘患儿气道炎症表现差异显著。

目前, NA 患者气道中 NEU 浸润增多的机制尚未明确, 但研究发现 NA 病理生理学改变, 经典的 Th1/Th2 失衡学说并不能完全解释^[13]。Th17 能介导炎症反应, 其效应因子 IL-17 可以趋化、激活 NEU 在气道浸润, 通过与 IL-17 受体结合可诱导 IL-6, IL-8, TNF- α 及粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony stimulating Factor, GM-CSF) 等炎症细胞因子释放, 发挥募集、活化 NEU 的功能, 参与哮喘等变态反应性疾病^[14-16]。既往多项实验证实, NA 哮喘小鼠存在明

显的 Th17 细胞免疫, Th17 细胞通过 IL-17 介导小鼠的气道炎症^[15]。同时临床研究也发现, 哮喘患者外周血 Th17 细胞及血浆 IL-17 水平明显升高, 与气道损伤程度呈正相关^[17]。提示 IL-17 对 NEU 的募集、活化是导致 NEU 气道炎症的机制之一。而本研究中 NA 组和 EA 组患儿外周血 Th17, Th2 细胞表达均较 HC 组明显增高, 其中 NA 组 Th17 细胞升高最明显, EA 组 Th2 细胞升高最明显, 说明 Th17, Th2 细胞均不同程度参与不同类型儿童哮喘的发病。与此相对应的与 HC 组相比, NA 组和 EA 组 PBMC 培养液及 BALF 中 IL-17, IL-10 水平也明显升高, NA 组 IL-17 水平高于 EA 组, 而 EA 组 IL-10 水平高于 NA 组。相关性分析发现, 哮喘患儿诱导痰 NEU% 与 Th17% 和 IL-17 水平呈明显正相关; EOS% 与 Th2% 和 IL-10 水平呈明显正相关。结果表明 Th2, Th17 细胞及相关不同来源样本 IL-17, IL-10 细胞因子分别在 EA, NA 患儿中的表达差异显著, 介导不同类型哮喘气道炎症, 可将其作为不同类型哮喘患儿诊断、治疗及预后的标志物。

Th0 细胞可分化 Th17 细胞, 初始 Th0 向 Th17 分化增强及体内已分化的 Th17 细胞存活延长被认为是导致 Th17 细胞优势的机制之一。LIN 等^[18-19]发现, Th17 细胞分化受维甲酸相关孤儿受体 γ t (retinoid-related orphan nuclear receptor γ t, ROR γ t) 调控, IL-6 和 TGF- β 通过 JAK/STAT3 途径共同上调 ROR γ t 表达, 促进 Th0 向 Th17 分化, 使 Th17 细胞数量及 IL-17 分泌增多。IL-17 通过介导 JAK/STAT5 途径, 可上调 B 细胞淋巴瘤因子 2 生存蛋白, 促进 T 细胞存活、增殖^[20]。既往动物实验通过 NA 小鼠模型研究证实, 小鼠肺组织中 ROR γ t-mRNA 表达升高, 体内已分化 Th17 细胞通过 JAK/STAT5 途径激活维持其存活状态^[21]。且临床发现, 哮喘患者肺组织及外周血中 ROR γ t-mRNA 高表达, IL-17 广泛浸润于肺组织中^[22]。基于此, 本研究初步分析了 Th17 细胞在儿童 NA 中的机制, 经检测发现 NA 组和 EA 组外周血单核细胞 ROR γ t-mRNA 表达及外周血 Th17 细胞 BCL-2, STAT5 阳性表达较 HC 组明显升高, NA 组高于 EA 组, 提示 ROR γ t 表达增强促进 Th17 细胞分化和已分化的 Th17 细胞存活延长应是 Th17 细胞在儿童 NA 中发挥优势的机制之一, 可能因 JAK/STAT5 信号途径被激活引起。本研究在探究不同类型哮喘患儿外周血 Th17, Th2 及相关炎症因子与气道炎症的相关性的同时初步分析了 Th17 参与 NA 的相关机制, 具有一定临床意义及可推广性。然而本研究病例数较少, Th17 介导 NA 中的作用机制还有待于扩大样本量继续深入探究阐明; 其次本研究对于

Th2 介导 EA 的机制未进行初步探究分析, 故可将 Th17, Th2 参与不同类型哮喘的作用机制作为后期研究的新方向。

综上, NA 与 EA 患儿气道炎症分别表现为诱导痰 NEU%, EOS% 明显增高, 并分别与不同来源样本的 Th17%, IL-17 水平及 Th2%, IL-10 水平呈正相关, 提示可将 Th2/Th17 作为不同类型哮喘患儿诊断、治疗及预后的标志物。Th17 细胞可能通过 IL-17 介导中性粒细胞性炎症的发生, Th17 细胞分化增强及已分化的 Th17 细胞存活延长可能是引起中性粒细胞性炎症的机制之一。

参考文献:

- [1] 包海鹏, 史琦, 阎玥, 等. 支气管哮喘的干预现状研究与展望 [J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(11): 164-166.
BAO Haipeng, SHI Qi, YAN Yue, et al. Research and prospect on intervention status of bronchial asthma [J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2020, 38(11): 164-166.
- [2] 盖晓燕, 常春, 王娟, 等. 中性粒细胞型哮喘患者的气道炎症与小气道重构分析 [J]. 北京大学学报 (医学版), 2018, 50(4): 645-650.
GAI Xiaoyan, CHANG Chun, WANG Juan, et al. Airway inflammation and small airway wall remodeling in neutrophilic asthma [J]. Journal of Peking University (Health Sciences), 2018, 50(4): 645-650.
- [3] ZHANG fang, SU Xin, HUANG Gang, et al. Adenosine triphosphate promotes allergen-induced airway inflammation and th17 cell polarization in neutrophilic asthma [J]. Journal of Immunology Research, 2017, 2017: 5358647. doi:10.1155/2017/5358647.
- [4] LI Changchong, SHENG Anquan, JIAO Xiaoxiao, et al. Th17/Treg dysregulation in allergic asthmatic children is associated with elevated notch expression [J]. J Asthma, 2018, 55(1): 1-7.
- [5] 王莉, 王小军. Th17 细胞平衡及免疫微环境在过敏性哮喘发病中的作用 [J]. 中华肺部疾病杂志 (电子版), 2020, 13(05): 648-652.
WANG Li, WANG Xiaojun. Th17 cell balance and mechanism in the immune microenvironment on the pathogenesis of allergic asthma [J]. Chinese Journal of Lung Diseases (Electronic Edition), 2020, 13(5): 648-652.
- [6] 高阳, 杨帆. 支气管哮喘患者外周血 Th1, Th2 与 Th17 细胞表达水平及临床意义 [J]. 解放军医药杂志, 2017, 29(1): 76-79.
GAO Yang, YANG Fan. Expression levels and clinical significances of Th1, Th2 and Th17 in peripheral blood of patients with bronchial asthma [J]. Medical and Pharmaceutical Journal of Chinese People's Liberation Army, 2017, 29(1): 76-79.
- [7] 中华医学会儿科学分会呼吸学组. 《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南 (2016 版) [J]. 中华儿科杂志, 2016, 54(3): 167-181.
The Subspecialty Group of Diseases, the Society of Pediatrics, Chinese Medical Association. The Editorial

- Board of *Chinese Journal of Pediatrics*. Guideline for the diagnosis and optimal management of asthma in children [J]. *Chin J Pediatr*, 2016, 54(3): 167-181.
- [8] 郭敏, 郭孟洁, 邱晨. 诱导痰检查在支气管哮喘中的应用进展 [J]. *广东医学*, 2018, 39(S1): 285-288.
- GUO Min, FENG Mengjie, QIU Chen. Application progress of induced sputum examination in bronchial asthma [J]. *Guangdong Medical Journal*, 2018, 39(S1): 285-288.
- [9] GRAYSON M H, FELDMAN S, PRINCE B T, et al. 2017年哮喘研究进展: 发病机制、生物制剂和遗传学 [J]. *中华临床免疫和变态反应杂志*, 2018, 12(6): 673-685.
- GRAYSON M H, FELDMAN S, PRINCE B T, et al. Advances in asthma research: pathogenesis, biological agents and genetics in 2017 [J]. *Chinese Journal of Clinical Immunology and Allergy*, 2018, 12(6): 673-685.
- [10] 朱智全, 时新慧, 刘红升, 等. Th17及Th1相关细胞因子与支气管哮喘的关系研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2017, 17(20): 3932-3935.
- ZHU Zhiquan, SHI Xinhui, LIU Hongsheng, et al. Study on relationship between Th17 and Th1-related cytokines and bronchial asthma [J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2017, 17(20): 3932-3935.
- [11] CAMINATI M, LE PHAAM D, BAGNASCO D, et al. Type 2 immunity in asthma [J]. *World Allergy Organization Journal*, 2018, 11(1): 13.
- [12] SIMPSON J L, SCOTT R, BOYLE M J, et al. Inflammatory subtypes in asthma: assessment and identification using induced sputum [J]. *Respirology*, 2006, 11(1): 54-61.
- [13] 俞万钧, 姜昊, 王华英. Th17细胞/Treg细胞免疫平衡在慢性气道炎症性疾病发展中的作用研究进展 [J]. *中国慢性病预防与控制*, 2017, 25(3): 234-237.
- YU Wanjun, JIANG Hao, WANG Huaying. Research progress on the role of Th17/Treg cell immune balance in the development of chronic airway inflammatory disease [J]. *Chinese Journal of Prevention and Control of Chronic Diseases*, 2017, 25(3): 234-237.
- [14] 陈硕, 聂汉祥, 刘琳琳. Treg细胞和Th17细胞的研究进展 [J]. *临床肺科杂志*, 2017, 22(10): 1899-1903.
- CHEN Shuo, NIE Hanxiang, LIU Linlin. Research progress of treg cells and Th17 cells [J]. *Journal of Clinical Pulmonary Medicine Surgery*, 2017, 22(10): 1899-1903.
- [15] KRISHNAMOORTHY N, DOUDA D N, THAYSE R, et al. Neutrophil cytoplasts induce TH17 differentiation and skew inflammation toward neutrophilia in severe asthma [J]. *Sci Immunol*, 2018, 3(26): eaao4747.
- [16] 闫成花, 李学真, 郝艳艳, 等. 辅助性T细胞的分化在哮喘和肺癌疾病中的调控作用研究进展 [J]. *中国科学 (生命科学)*, 2019, 49(10): 1336-1353.
- YAN Chenghua, LI Xuezheng, HAO Yanyan, et al. Advances in the regulation of T helper cell differentiation in asthma and lung cancer [J]. *Science China Sciences*, 2019, 49(10): 1336-1353.
- [17] 周晴, 傅玉, 胡良安, 等. 支气管哮喘患者外周血Th17与Th9细胞的变化及临床意义 [J]. *中国免疫学杂志*, 2017, 33(4): 569-573.
- ZHOU Qing, FU Yu, HU Liang'an, et al. Changes and clinical significance of Th17 and Th9 cells in patients with asthma [J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2017, 33(4): 569-573.
- [18] LIN Xiaoliang, LÜ Jiajia, LÜ Jie, et al. Heme oxygenase-1 directly binds STAT3 to control the generation of pathogenic Th17 cells during neutrophilic airway inflammation [J]. *Allergy*, 2017, 72(12): 1972-1987.
- [19] 张伟, 涂敏芳, 邓焕华. 转录因子ROR- γ t与Th17介导的中性粒细胞性哮喘 [J]. *中国免疫学杂志*, 2018, 34(9): 1366-1371.
- ZHANG Wei, TU Minfang, DENG Huanhua. Transcriptional factor ROR- γ t and neutrophilic asthma mediated by Th17 [J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2018, 34(9): 1366-1371.
- [20] 李霞, 陈凌燕, 周小建. 糖皮质激素调节JAK2/STAT5信号抑制小鼠气道重塑平滑肌细胞的增殖作用 [J]. *标记免疫分析与临床*, 2017, 24(6): 702-705.
- LI Xia, CHEN Lingyan, ZHOU Xiaojian. Effect of glucocorticoid regulating JAK2/STAT5 signal on proliferation of smooth muscle cells in mice with a airway remodeling [J]. *Labeled Immunoassay and Clinical Medicine*, 2017, 24(6): 702-705.
- [21] 张敏, 农光民, 蒋敏, 等. Tc17细胞在中性粒细胞哮喘小鼠的表达及意义 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2016, 18(2): 172-176.
- ZHANG Min, NONG Guangmin, JIANG Min, et al. Expression and role of TC17 cells in mice with neutrophilic asthma [J]. *Chinese Journal of Contemporary Pediatrics*, 2016, 18(2): 172-176.
- [22] 王国强, 王昱博, 张维杰, 等. Th17转录因子ROR- γ t和BATF及Th17相关细胞因子在中性粒细胞亚型哮喘发病中的作用 [J]. *吉林大学学报 (医学版)*, 2017, 43(01): 106-110.
- WANG Guoqiang, WANG Yubo, ZHANG Weijie, et al. Effects of Th17 transcription factors ROR- γ t, BATF and Th17 related cytokines in pathogenesis of patients with neutrophilic asthma [J]. *Journal of Jilin University (Medical Edition)*, 2017, 43(1): 106-110.

收稿日期: 2020-11-30

修回日期: 2021-03-13

(上接第61页)

- [17] VERSCHOOR C P, LELIC Alina, PARSONS R, et al. Serum C-Reactive protein and congestive heart failure as significant predictors of herpes zoster vaccine response in elderly nursing home residents [J]. *The Journal of Infectious Diseases*, 2017, 216(2): 191-197.

- [18] CHAI Meng, ZHANG Haitao, ZHOU Yujie, et al. Elevated IL-37 levels in the plasma of patients with severe coronary artery calcification [J]. *Journal of Geriatric Cardiology*, 2017, 14(5): 285-291.

收稿日期: 2020-12-03

修回日期: 2021-01-12