

血 IL-10、IL-5、IL-2、IFN- γ 水平在反复腹痛患儿及其家庭成员中的比较

周义忠^{1,2)}, 颜如¹⁾, 刘梅¹⁾, 赵亚玲¹⁾, 丁臻博¹⁾, 黄永坤¹⁾

(1) 昆明医科大学第一附属医院儿科, 云南昆明 650032; 2) 师宗县人民医院儿科, 云南曲靖 655700)

[摘要] **目的** 了解血细胞因子 IL-10、IL-5、IL-2、IFN- γ 水平在反复腹痛患儿及其家庭成员中的变化。**方法** 采集 3~14 岁 16 名反复腹痛患儿及 89 名家庭成员血液标本 3 mL, 应用 ELISA 试剂盒完成 IL-10、IL-5、IL-2、IFN- γ 的测定。根据有无腹痛分为腹痛患儿组、腹痛家庭成人组、无腹痛成人组。**结果** 血 IL-10 和 IL-5 水平在腹痛患儿组和腹痛家庭成人组中低于无腹痛家庭成人组 ($F_{10} = 26.77$, $P < 0.01$; $F_5 = 23.92$, $P < 0.01$)。IL-2 和 IFN- γ 水平在腹痛患儿组和腹痛家庭成人组中高于无腹痛家庭成人组 ($F_2 = 25.03$, $P < 0.01$; $F_{IFN-\gamma} = 21.50$, $P < 0.01$)。**结论** 在腹痛患者血中 IL-10 和 IL-5 水平低提示其抗炎能力减弱 (Th2 功能减弱), IL-2 和 IFN- γ 水平高提示其促炎症反应活跃 (Th1 功能强)。

[关键词] 腹痛; 患儿; 家庭; 成员; 细胞因子

[中图分类号] R725.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-4706(2012)06-0066-04

Plasma Level of IL-10, IL-5, IL-2 and IFN- γ in the Family Members of Children with Recurred Abdominal Pain

ZHOU Yi-zhong^{1, 2)}, YAN Ru¹⁾, LIU Mei¹⁾, ZHAO Ya-ling¹⁾, DING Zhen-bo¹⁾, HUANG Yong-kun¹⁾
(1) The 1st Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650032; 2) Dept. of Pediatrics, Shizong County People's Hospital, Qujing Yunnan 655700, China)

[Abstract] **Objective** To understand the level of IL-10, IL-5, IL-2 and IFN- γ in the family members of children with recurred abdominal pain. **Methods** The venous EDTA blood specimen (3 mL/one) were obtained from 89 family members of 16 children under 3 to 14 years old with recurred abdominal pain for investigating the level of IL-10, IL-5, IL-2 and IFN- γ by ELISA. The family members were divided into three groups: children with recurrent abdominal pain, family adult members with recurrent abdominal pain and adults without recurrent abdominal pain. **Results** The levels of IL-10 and IL-5 were lower in family children and adult members with recurrent abdominal pain than adults without recurrent abdominal pain ($F_{10} = 26.77$, $P < 0.01$; $F_5 = 23.92$, $P < 0.01$). The levels of IL-2 and IFN- γ were higher in family children and adult members with recurrent abdominal pain than adults without recurrent abdominal pain ($F_2 = 25.03$, $P < 0.01$; $F_{IFN-\gamma} = 21.50$, $P < 0.01$). **Conclusion** The lower levels of IL-10 and IL-5 in family children and adult members with recurrent abdominal pain suggest the poor anti-inflammatory abilities (poor Th2 function). The high levels of IL-2 and IFN- γ in family children and adult members with recurrent abdominal pain suggest the productive and active inflammatory responses (productive Th1 function).

[Key words] Abdominal pain; Children; Family; Members; Cytokines

[基金项目] 云南省自然科学基金资助项目 (2009CD163)

[作者简介] 周义忠 (1970~), 男, 曲靖师宗县人, 医学学士, 主任医师, 主要从事普通儿科和消化系统疾病临床工作。颜如与周义忠对本论文有同等贡献。

[通讯作者] 黄永坤. E-mail: hykkmyncnwd@163.com

腹痛是儿科常见的一种症状, 而反复腹痛是小儿来门诊诊治和住院的常见病症, 它严重地影响儿童的就学、身心健康和家庭的经济和生活质量. 近年来, 随着科学技术的不断发展, 诊疗水平不断提高, 以往认为是功能性腹痛的病人, 一部分被逐步确认有器质性病变. 本研究在反复腹痛患儿及其家庭成员中用 ELISA 试剂盒完成其血细胞因子 IL-10、IL-5、IL-2、IFN- γ 水平的测定, 以了解在反复腹痛患者中这些因子的变化.

1 材料与方法

1.1 研究对象

选择 3~14 岁因反复腹痛半年以上 (并有 3 次以上的发病) 来昆明医科大学第一附属医院就诊的患儿, 将患儿及其家族一级 (即患儿父母辈) 和二级亲属 (即患儿祖辈) 列为研究对象, 并询问家族成员的病史和详细记录有反复腹痛的相关资料. 所有研究对象必须符合以下条件: (1) 在云南出生且生活 3 a 以上; (2) 无严重的心、肺、脑、肾、皮肤、营养、内分泌疾病及免疫缺陷病; (3) 无服用抗生素、铋剂、质子泵阻滞剂和激素史. 共有 20 个家族 118 名成员为研究对象. 根据有无反复腹痛症状分为有腹痛患儿 (A 组)、腹痛家庭成人组 (B 组)、无腹痛家庭成人组 (C 组).

1.2 标本收集

经家族成员知情同意后, 所有患儿和部分家庭成人经行胃肠钡餐或胃镜检查, 并分别收集每个家族成员的外周血液样本, 收集后, 立即将血浆和血白细胞分离, 尽快从分离的白细胞中提取其 DNA, 并放置于 -70°C 冰箱内待测和研究.

1.3 细胞因子的试剂和测定

人白细胞介素 2 (IL-2) ELISA 检测试剂盒 (批号: CK-E10144H)、人白细胞介素 10 (IL-10) ELISA 检测试剂盒 (批号: CK-E10155H)、人白细胞介素 5 (IL-5) ELISA 检测试剂盒 (批号: CK-E10141H) 和人 γ 干扰素 (IFN- γ) ELISA 检测试剂盒 (批号: CK-E10162H) 均从昆明硕阳科技公司购买, 并由公司专人按试剂说明书完成以上细胞因子的测定工作.

1.4 统计学处理

应用 IBM SPSS statistics 20 版软件包处理数据, 计量资料均进行正态性检验, 各指标服从正态分布, 以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 进行方差齐性检验, 方差均齐采用单因素方差分析, 以 $\alpha = 0.05$ 为统计标准, 当 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, 有统计学意义再应用 LSD-t 检验进行两两比较, 以 $\alpha = 0.05$ 为统计标准, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

16 名反复腹痛患儿经行胃肠钡餐或胃镜检查均有慢性浅表胃炎或 / 和十二指肠球炎.

血 IL-10 和 IL-5 水平在腹痛患儿组和腹痛家庭成员组中低于无腹痛家庭成员组, 经统计学处理有显著性差异 ($P < 0.01$). IL-2 和 IFN- γ 水平在腹痛患儿组和腹痛家庭成员组中高于无腹痛家庭成员组, 经统计学处理也有显著性差异 (见表 1). 应用 LSD-t 检验进行两两比较均有有显著性差异 ($P < 0.01$).

表 1 反复腹痛患儿及其家庭成员中血 IL-10、IL-2、IL-5、IFN- γ 水平 [$(\bar{x} \pm s)$, pg/mL]

Tab. 1 Level of IL-10, IL-5, IL-2 and IFN- γ in the family members of children with recurred abdominal pain [$(\bar{x} \pm s)$, pg/mL]

分 组	n	IL-10	IL-5	IL-2	IFN- γ
腹痛患儿组	16	19.42 \pm 3.47	725.44 \pm 111.02	53.04 \pm 8.26	453.44 \pm 65.76
腹痛家庭成人组	32	23.17 \pm 2.15**	822.89 \pm 78.19**	45.1 \pm 5.17**	383.38 \pm 42.75**
无腹痛家庭成人组	41	26.32 \pm 3.89** $\Delta\Delta$	943.3 \pm 135.75** $\Delta\Delta$	37.51 \pm 9.06** $\Delta\Delta$	337.9 \pm 69.4** $\Delta\Delta$

与腹痛患儿组比较, ** $P < 0.01$, 与腹痛家庭成人组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$.

3 讨论

反复腹痛病因繁多, 根据有无器官损害大致可以将反复腹痛分为器质性与功能性 2 种, 以功能

性较为常见, 约占儿童反复腹痛的 95% 以上^[1], 主要为肠痉挛. 近年来, 随着科学技术的不断发展, 诊疗水平不断提高, 以往认为是功能性腹痛的病人, 一部分被逐步确认有器质性病变.

研究表明慢性胃炎与 CD4/CD8T 细胞比例升高相关^[3]。T 细胞被激活后可引起辅助性 T 细胞 Th1 型和 Th2 型应答。已知 Th1 细胞主要介导细胞免疫反应，Th1 细胞的优势细胞因子主要是 IL-2、IFN- γ ^[2]，Th1 细胞主要参与细胞毒性 T 淋巴细胞介导的细胞免疫，有效的 Th1 反应在机体清除病原微生物过程中不可缺少，Th1 细胞的优势细胞因子 IFN- γ 均能促进 CD4⁺T 细胞向 Th1 细胞极化而抑制向 Th2 细胞极化，Th1 反应过度可造成上皮细胞的损伤和溃疡形成。Th2 细胞主要介导体液免疫反应，Th2 细胞的优势细胞因子是 IL-10、IL-5、IL-4^[4]。Th2 细胞参与黏膜表面的分泌性免疫应答和过敏反应，有利于宿主清除细菌，Th2 细胞的优势细胞因子 IL-4，能促进 CD4⁺T 细胞向 Th2 细胞极化而抑制向 Th1 细胞极化，调节着机体的免疫平衡，一旦这种平衡机制失调，机体就会产生各种疾病^[5]。

IL-10 可由 T 细胞 (CD4⁺ 和 CD8⁺ 细胞)、B 细胞、单核细胞、巨噬细胞、肥大细胞、嗜酸细胞、表皮细胞及某些肿瘤细胞合成。IL-10 具有双重的免疫功效，它一方面抑制细胞免疫，直接或间接抑制 T 淋巴细胞的增殖与成熟，从而抑制 γ -干扰素 (IFN- γ) 及 IL-6、IL-8、IL-12 和 TNF- α 的产生；另一方面刺激 B 细胞增殖分化，诱导其分化为能分泌大量 IgM、IgG、IgA 的细胞。

IL-5 是由活化的 T 细胞、单核细胞、血管内皮细胞和成纤维细胞等产生的小分子细胞因子。可诱导激活的 B 细胞进行终末分化成为分泌免疫球蛋白分泌细胞。IL-5 在 B 细胞和酸粒细胞的作用是被广泛认可的。对于 B 细胞，IL-5 可以减少有活性的常规 B-2 细胞分化成 Ig 分泌细胞。另外，它减少 B-1 起始细胞的生长，IgM 是由 B-1 细胞产生的。在鼠体内 IL-5 可以促进产生 IgA、IgE 和 IgG^[6]。

IL-2 产生细胞有末梢血淋巴细胞、脾细胞、扁桃腺细胞、骨髓细胞和人白血病来源的传代 jurkat 细胞系。IL-2 是机体免疫调节网络中的核心物质，与其他细胞因子有协同和拮抗作用，共同完成机体免疫机能的平衡调节作用；促 T 细胞增殖和 B 细胞增殖分化作用，促使 B 胞增殖和产生免疫球蛋白，能刺激 NK 细胞、细胞毒性 T 淋巴细胞、LAK 细胞的活化和增殖，能增强 T 细胞的杀伤活性，也能促使 T 淋巴细胞、NK 细胞产生干扰素、肿瘤坏死因子等，刺激巨噬细胞，提高其吞噬能力。所以在抗病毒、抗细菌感染和抗肿瘤等疾病治疗中能够进行广泛应用^[7]。

IFN- γ 由活化 T 细胞所产生，具有抗病毒、抗肿瘤和免疫调节等作用。IFN- γ 为重要的 Th1 类细胞因子之一，对机体抵抗病原微生物，特别是细胞内病原微生物起积极的作用，IFN- γ 同时还能促进 NK 细胞的功能，增强机体非特异性免疫功能^[8]。NK 细胞作为固有免疫系统的重要组成部分，可以在无预先活化的情况下对病原体的入侵作出快速广泛的应答，杀伤靶细胞并释放细胞因子，尤其是 IFN- γ 。IFN- γ 与 NK 细胞的作用是相互影响的。

本研究发现血 IL-10 和 IL-5 (主要由 Th2 细胞分泌) 水平在腹痛患儿组和腹痛家庭成人组中低于无腹痛家庭成人组；IL-2 和 IFN- γ (主要由 Th1 细胞分泌) 水平在腹痛患儿组和腹痛家庭成人组中高于无腹痛家庭成人组，经统计学比较也有显著性差异。这些结果提示在本研究组的慢性腹痛患者中存在 Th1 功能增强或亢进，而 Th2 功能减弱的现象。这种现象存在的结果是机体抗炎和缓解炎症的能力均减弱，易使炎症持续的存在，使疾病迁延和变成慢性过程。从另一角度来看机体抗或清除病原菌作用加强，炎症反应明显，会伴有胃肠黏膜的损伤或病变的发生。

调节性 T 细胞被认为是一类能产生免疫抑制作用的相对独立的 T 细胞亚群，调节性 T 细胞 Tr1 可分泌高水平的 IL-10。肠道内环境的稳定需要 Tr1，当肠道病原体被清除后，Tr1 可通过 IL-10 下调炎症反应，IL-2、IFN- γ 等促炎细胞因子能被 IL-10 下调^[9,10]。有研究发现 Hp 感染后 CD4⁺T 淋巴细胞产生的细胞因子，自然感染 Hp 导致 Th1 型免疫应答，表现为胃黏膜组织内特异性 CD4⁺T 淋巴细胞增加，T 细胞产生 IL-2、IFN- γ 、IL-12 等细胞因子增加。Th1 细胞通过其分泌的细胞因子，尤其是 IFN- γ 导致胃黏膜炎症损伤甚至溃疡。激活的 Th1 细胞可以直接损伤上皮细胞，或通过分泌 IFN- γ 、TNF- α 等细胞因子，促进炎症反应。而 Th2 相关细胞因子 IL-4 的产生可以避免严重的黏膜病理损害的产生，并能逆转 Th1 细胞因子的副作用。与此相似的现象：激活 Th2 细胞应答，可改善消化不良的症状。Th2 释放 IL-4，通过刺激 D 细胞分泌生长抑素抑制胃泌素的分泌，来缓解胃炎^[11,12]。Th2 细胞的另一效应分子 IL-10 也可以缓解 Hp 感染的胃炎。Harris 等研究发现 Treg、细胞因子 IL-10 的显著增加与儿童胃炎下降有关^[13]。

以上研究的报道与本研究的结果是一致的，因此，可以认为机体的 Th1 功能增强或亢进，Th2 功能减弱现象存在可能是慢性腹痛患者的重要免疫发

病机制.

[参考文献]

- [1] 胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 267.
- [2] KRENSKA-WIACEK A, SZAFIARSKA-SZCZEPANIK A, WYSOCKI M. Flow cytometric analysis of peripheral blood lymphocytes in children with chronic gastroenteritis with and without Helicobacter pylori infection [J]. Pol Merkuriusz Lekarski, 2002, 13(74): 107 - 110.
- [3] MITA Y, DOBASHI K, ENDOU K, et al. Toll-like receptor 4 surface expression on human monocytes and B cells is modulated by IL-2 and IL-4 [J]. Immunol Lett, 2002, 81(1): 71-75.
- [4] IQBAL N, OLIVER J R, WAGNER F H, et al. T helper 1 and T helper 2 cells are pathogenic in an antigen specific model of colitis [J]. J Exp Med, 2002, 195(1): 71 - 84.
- [5] IWASAKA H, NOGUCHI T. Th1/Th2 balance in systemic inflammatory response syndrome (SIRS) [J]. Nippon Rinsho, 2004, 62(12): 2 237 - 2 243.
- [6] 叶民. 白介素-5 研究进展 [J]. 海峡药学, 2006, 18(1): 18 - 21.
- [7] 郑建华. 白介素-2 研究进展 [J]. 海峡药学, 2006, 18(3): 1 - 3.
- [8] 毛卫林, 陈瑜. T细胞亚群对乙型肝炎发病机制的作用 [J]. 国际流行病学传染病学杂志, 2007, 34(2): 128 - 130.
- [9] YU Q T, SARUTA M, AVANESYAN A, et al. Expression and functional characterization of FOXP3⁺CD4⁺ regulatory T cells in ulcerative colitis [J]. Inflamm Bowel Dis, 2007, 13(2): 191 - 199.
- [10] 蔡春晓, 刘玉兰. 溃疡性结肠炎的免疫机制 [J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2007, 16(5): 497 - 498.
- [11] LARUSSA T, SURACI E, LEONE I, et al. Short-term therapy with celecoxib and lansoprazole modulates Th1/Th2 immune response in human gastric mucosa [J]. Helicobacter, 2010, 15(5): 449 - 459.
- [12] SMYTHIES L E, WAITES K B, LINDSEY J R, et al. Helicobacter pylori-induced mucosal inflammation is Th1 mediated and exacerbated in IL-4, but not IFN- γ , gene-deficient mice [J]. J Immunol, 2000, 165(2): 1 022 - 1 029.
- [13] HARRIS P R, WRIGHT S W, SERRANO C, et al. Helicobacter pylori gastritis in children is associated with a regulatory T-cell response [J]. Gastroenterology, 2008, 134(2): 491 - 499.

(2012-02-10 收稿)

(上接第 65 页)

- prevalence of 6 weeks postpartum abnormal glucose tolerance in Caucasian women with gestational diabetes [J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2009, 84(3): 239 - 244.
- [10] MCLACHLAN KA, O'NEAL D, JENKINS A, et al. Do adiponectin, TNF α , leptin and CRP relate to insulin resistance in pregnancy? Studies in women with and without gestational diabetes, during and after pregnancy [J]. Diabetes Metab Res Rev, 2006, 22(2): 131 - 138.
- [11] SHALI MAZAKI-TOVI, HANNAH KANETY, CLARA P-ARIENTE. Insulin sensitivity in late gestation and early postpartum period: the role of circulating maternal adipokines [J]. Gynecological Endocrinology, 2011, 27(9): 725 - 731.
- [12] SAAD MF, KHAN A, SHARMA A, et al. Physiological insulinemia acutely modulates plasma leptin [J]. Diabetes, 1998, 47(4): 544 - 549.
- [13] ZEIGERER A, RODEHEFFER M S, MCGRAW T E, et al. Insulin regulates leptin secretion from 3T3-L1 adipocytes by a PI 3 kinase independent mechanism [J]. Exp Cell Res, 2008, 314(11-12): 2 249 - 2 561.

(2012-02-20 收稿)