

- [19] 于大平,傅瑜.耐多药肺结核 133 例外科治疗效果探讨[J].中华结核和呼吸杂志,2009,32(6):450-453.
- [20] Tao Y, Kitasato Y, Kawasaki M, et al. Clinical investigation of multidrug-resistant tuberculosis—investigation of inpatients in the Kyushu region between 2004 and 2009[J]. Kekkaku, 2011, 86(8):751-755.
- [21] Benjamin JP, Joseph CC, Heather K, et al. Pulmonary resection for multidrug-resistant tuberculosis[J]. J Thoracic and Cardiovasc Surg, 2001, 121(3):448-453.
- [22] 梁海峰,苗朝良.耐多药肺结核手术治疗的临床分析[J].现代中西医结合杂志,2014,23(1):80-82.
- [23] 邱美华.纤维支气管镜下给药治疗气管支气管结核 450 例[J].浙江中西医结合杂志,2014,24(1):31-32.
- [24] 吕康言,刘桑,岳静.经皮肺穿刺空洞内置管注药治疗耐多药空洞肺结核疗效观察[J].临床肺科杂志,2011,16(10):1550-1551.
- [25] 孙鹏,邢玉慧,张金萍,等.介入治疗与内科治疗耐多药肺结核的疗效分析[J].中国实用医药,2011,6(29):141-142.
- [26] 谭红玉.纤维支气管镜介入治疗耐多药肺结核 40 例报道[J].临床肺科杂志,2010,15(4):493-494.
- [27] 弓显凤,张熙伟,张锦博,等.中医辨证配合化疗治疗肺结核 54 例[J].陕西中医,2012,33(2):183-185.
- [28] 杜志荣.补气滋阴方治疗肺结核 709 例[J].陕西中医,2010,31(10):1354-1355.
- [29] 李鬼坚,周敏,崔岩飞,等.芪百合剂对耐多药肺结核患者免疫功能的影响[J].浙江中西医结合杂志,2009,19(3):137-138.
- [30] 赵粹英,陈汉平,严华,等.隔蒜灸治疗难治性肺结核的临床观察[J].中国针灸,1996,16(3):1-3.
- [31] 田红,姚艳红,刘莲花.隔蒜灸治疗复治耐多药肺结核的临床观察[J].中国中西医结合杂志,2008,28(6):560-561.

(收稿日期:2014-10-12)

## · 综 述 ·

T 淋巴细胞功能及检测方法<sup>\*</sup>但 刚, 刘晨霞 综述, 吴丽娟<sup>△</sup> 审校

(成都军区总医院临床实验医学研究与保障中心检验科, 四川成都 610083)

**关键词:**T 淋巴细胞; 免疫; 分化; 功能检测**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2015.03.039**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2015)03-0377-04

经典免疫反应中 T 淋巴细胞是参与机体细胞免疫反应,并在免疫应答中起重要调节作用的免疫细胞。正常情况下 T 细胞及其亚群的数目在周围组织中相对稳定,但机体免疫系统发生变化,各类免疫细胞尤其是 T 淋巴细胞的数量比例及其功能也随之发生相应的变化。因此通过对 T 淋巴细胞功能的认识,检测其数量比例,进行功能试验的检测,可以为机体的免疫状态进行评估。本文就 T 淋巴细胞的功能及检测方法作一综述。T 淋巴细胞简称 T 细胞,来源于骨髓的淋巴样前祖细胞。在人体胚胎期和初生时期,部分多能干细胞或前 T 细胞从骨髓迁移到胸腺内,在胸腺激素的作用下诱导发育分化成熟,最终发育成为有免疫活性的 T 细胞,与 B 细胞、NK 细胞等免疫细胞共同参与了人体的免疫应答。

**1 T 淋巴细胞亚群及其功能**

T 淋巴细胞依据因其 CD3 分子以外的其他表面标记物,以及生物学功能不同,而分为许多亚群,各亚群 T 细胞既相互协作,又有各自的功能特点,共同完成免疫应答并发挥免疫调节功能。

**1.1 TCR $\alpha\beta^+$  T 细胞和 TCR $\gamma\delta^+$  T 细胞** T 细胞表面具有许多重要的膜分子,是区分 T 细胞及 T 细胞亚群的重要标志。T 细胞抗原受体(TCR)为所有 T 细胞均表达的特征性标志,与 CD3 分子结合,形成 TCR-CD3 复合物。TCR 有  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$  四种类型的肽链,根据表达类型的不同,T 细胞可分为 TCR $\alpha\beta^+$  T 细胞和 TCR $\gamma\delta^+$  T 细胞。两者主要区别在于:前者具有 TCR 多样性,具有自身 MHC 限制性;后者识别非肽类分子,其抗原受体缺乏多样性,仅能识别多种病原体表达的共同抗原成分。两者杀伤机制相同,活化后通过分泌细胞因子发挥免疫调节作用。

用和介导炎症反应。

**1.2 Th、CTL 和 Tr 细胞** 根据免疫效应功能,T 淋巴细胞可分为:辅助性 T 淋巴细胞(Th)、细胞毒性 T 淋巴细胞(Tc 或 CTL)、调节性 T 淋巴细胞(Tr)。这些细胞实际上是初始 CD4 $^+$  T 细胞或初始 CD8 $^+$  T 细胞活化后分化成的效应 T 淋巴细胞。

**1.2.1 辅助性 T 细胞** 该细胞为 CD4 $^+$  T 细胞,识别抗原时受 MHC-II 类分子限制,根据分泌的细胞因子不同分为 Th0、Th1、Th2 和 Th3 四个亚型<sup>[1]</sup>,发挥不同的免疫效应。

**1.2.2 Th1 细胞** Th1 细胞在机体中抗胞内病原体感染发挥重要作用,主要介导细胞毒及局部炎症相关的免疫应答,辅助抗体生成以参与细胞免疫和迟发型超敏性炎症的发生。其分泌白细胞介素(IL)-2、干扰素(IFN)- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\delta$  等。

**1.2.3 Th2 细胞** 主要参与机体的体液免疫,刺激 B 细胞增殖,生成免疫球蛋白 IgG1 和 IgE 抗体。其主要分泌 IL-4、IL-5、IL-6 和 IL-10。

**1.2.4 Th3 细胞** 主要作用为通过降低抗原递呈细胞(APC)和 Th1 细胞的活性,起到免疫抑制的作用。其主要分泌 IL-4 和 IL-10 外,还大量表达 TGF- $\delta$ ,但不会分泌 IL-2 和 IFN- $\gamma$ 。

**1.2.5 细胞分化** Th0 细胞又称前体细胞,主要分化为 Th1、Th2 和 Th3 细胞。未接触抗原的 T 细胞被称为 Th 细胞前体。细胞前体通过接触天然免疫细胞摄取的抗原,进而分化成一种不确定的状态称为 Th0 细胞。Th0 细胞同时分泌 Th1 型细胞因子 IL-2 和 IFN- $\gamma$ ,而且分泌 Th2 型细胞因子 IL-4,并且可在不同信号的刺激下分别分化为 Th1 或 Th2 细胞。当机体生理功能正常时,为了维持机体主要的细胞免疫和体液免疫功能,

\* 基金项目:成都军区总医院院管课题(42412E1A)。 作者简介:但刚,主管技师,主要从事临床血液学检验的研究。 △ 通讯作者,E-mail: wulijuan1638@126.com。

Th1 和 Th2 细胞相互间处于一种动态平衡状态;而当机体受到外来刺激或某种抗原攻击时, Th1 细胞主导的细胞免疫应答功能和 Th2 细胞主导的体液免疫功能选择性增强,而另一功能则选择性降低,这种现象称为 Th1/Th2 漂移。在微环境中,细胞因子的种类是影响 Th 细胞分化的关键因素。通常认为,在抗原的刺激下,由于不同的内部微环境影响, Th0 细胞会选择性地分化为 Th1 或 Th2 细胞。

**1.2.6 细胞毒性 T 细胞** 该细胞为 CD8<sup>+</sup> T 细胞,具有细胞毒作用,可杀伤病毒等细胞内寄生物感染的靶细胞;也具有免疫调节作用。该类细胞识别抗原具有 MHC-I 类分子的限制性;杀伤靶细胞具有抗原特异性等作用特点。CTL 杀伤靶抗原的机制为:(1)表达 Fas 配体(FasL)与靶抗原(包括被感染细胞和癌细胞等)表面 Fas 分子交联,激发其凋亡的发生;(2)分泌穿孔素溶解靶细胞膜;(3)分泌细胞因子如 IFN-γ、TNF-α 和 TNF-β 等,抑制或破坏靶抗原 DNA 合成。CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞是早期抗感染和抗肿瘤最主要的免疫细胞<sup>[2]</sup>。

**1.2.7 调节性 T 细胞** Tr 细胞亚群主要通过抑制性调节 CD4<sup>+</sup> T 细胞和 CD8<sup>+</sup> T 细胞的活化与增值,达到免疫负调节的作用。

## 2 T 淋巴细胞的相关试验

**2.1 T 淋巴细胞数量检测** 临幊上各种类型的免疫缺陷症、自身免疫疾病以及肿瘤等疾病均可表现出淋巴细胞的数量比例的变化,因此检测外周淋巴细胞的数量、比例,有助于判断机体细胞水平,对疾病的认识发展,对患者病情的变化,对临床诊疗的指导均有十分重要的意义。目前 T 淋巴细胞数量检测主要有以下方法:(1)免疫荧光法,通过直接或间接检测 T 细胞标志物,确定 T 细胞亚群及比例。如 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、免疫球蛋白等。(2)磁珠分离法,可利用已知抗细胞表面标记的抗体交联于微珠,与细胞悬液反应,磁珠借助抗体结合于相应的细胞表面,将悬液倾入试管并置于磁场中,结合磁珠的细胞最终与未结合磁珠的细胞分离,即可得到高纯度的含有已知细胞表面标记物的细胞群或亚群。如采用抗 CD3 特异性抗体 IMB,即可分离 T 淋巴细胞。(3)淘选法,将已知抗细胞表面标记的抗体包被培养皿,加入淋巴细胞悬液,表达该细胞表面标记的细胞贴附于固相上,与其他细胞分离。(4)流式细胞术,流式细胞术是借助荧光激活细胞分选器,对细胞进行快速而准确鉴定、分类的技术。流式技术常常用于 T 淋巴细胞功能检测。Ahn 等<sup>[3]</sup> 利用流式细胞内因子染色技术,检测结合人乳头瘤病毒 E7 亚单位瘤苗和重组腺病毒 AdIL-12 使用时,所引起的 CTL 反应强度。Suzuki 等<sup>[4]</sup> 使用流式细胞胞内细胞因子分析法,鉴定了结核分枝杆菌保护性抗原的 CTL 表位。

**2.2 T 淋巴细胞的功能检测** 机体免疫系统具有免疫防御、免疫自稳和免疫监视功能。免疫细胞是主要的参与者,因此针对其功能设计的检测技术,往往比单独测定淋巴细胞或其亚群的数量更能反映免疫细胞的功能及机体免疫功能的状态。故通常采用以下技术评价 T 细胞的功能。

**2.2.1 T 细胞增殖试验** 在体外培养的环境下,特定抗原(结核菌素)或非特定的有丝分裂原,如植物血凝素(PHA)、豆刀蛋白 A(Con A)会刺激淋巴细胞代谢和形态变化,导致细胞内蛋白质和核酸和成增加,从而致使 T 细胞发生一系列增殖反应。检测方法主要为以下几种。(1)形态学方法。T 细胞增殖反应,形态学上主要表现为:细胞变大,胞质增多、胞质出现空泡、核染色质疏松、核仁明显,转化为淋巴母细胞。借助光学显微镜检,计数 200 个细胞,按以上形态变化特点为依据分类

计数,计算淋巴细胞转化率,在一定程度上评价细胞免疫功能。该方法简单、成本低、适合基层实验室开展,但主观性较强,易受实验人员的专业素质、能力经验等影响。(2)放射性核素掺入法:在淋巴细胞与丝裂原共同培养终止前,加入放射性核素 3H-TdR,其被转化的淋巴细胞摄取而掺入新合成的 DNA 中。用液体闪烁仪测定放射性核素量,记录每分钟的脉冲数(cpm),计算刺激指数(SI),判断淋巴细胞转化程度。该方法优于形态学检查,避免了主观因素影响,但有放射性危害缺点<sup>[5]</sup>。(3)MTT 法:其原理为活细胞线粒体含有巯基脱氢酶,能使加入的 MTT 还原为难溶性的结晶物 formazan 并沉积在细胞中。依据此原理,将淋巴细胞与丝裂原共同培养,培养一段时间后加入 MTT,再加入 SDS 裂解液,溶解细胞中的结晶物甲瓒,结晶物呈紫色,利用比色仪在 570 nm 波长测定其吸光度<sup>[6-7]</sup>。活细胞数与 MTT 结晶物形成的量成正相关,增殖生长旺盛的细胞产生的 MTT 更多,其吸光度更高,反之,则吸光度则更低<sup>[8]</sup>。MTT 法排除形态观察法的主观差异性,避免同位素掺入法的不稳定性和放射性污染,具有大量样本快速检测的优点,故更适于 T 淋巴细胞的增殖功能和免疫功能评价<sup>[9-11]</sup>。

**2.2.2 T 细胞介导的细胞毒试验** CTL 经抗原刺激,可特异性杀伤相应的靶细胞,主要通过细胞裂解和细胞凋亡两种机制,对靶细胞表现出破坏和溶解作用,可用以下方法评价 CTL 杀伤活性:(1)形态学方法,待检 CTL 与靶细胞混合培养,瑞士染色后镜检,计数残余肿瘤细胞数,计算 CTL 细胞对肿瘤细胞生长的抑制率。该法的优点是操作简便易行,一般实验室即可开展,缺点是受人员主观影响大。(2)51Cr 释放法,51Cr 释放法创建于 1960 年,是测定 CTL 功能经典方法,是评价抗原特异性 CTL 反应的金标准。该法用 51Cr 标记的靶细胞与效应性 CTL 相互作用,靶细胞可释放 51CrO<sub>4</sub>,测定 51CrO<sub>4</sub> 产生的放射性,即可判定效应细胞 CTL 的细胞毒活性。用相同的方法也可测定 NK 细胞的细胞毒活性。此方法结果准确、重复性好。但同时存在以下不足:51Cr 半衰期短,只有 27.8 d,不能进行多次测定;51Cr 释放法为定性分析;不能在单细胞水平测定;由于从外周血中直接采取得到的效应细胞很少,需进行多次体外刺激,取得效应细胞,故而可能会导致 T 细胞的组成及活性与体内状态不同<sup>[12-13]</sup>。(3)LDH 释放法,在细胞培养中,细胞死亡数目与细胞培养上清液中 LDH 活性成正比,所以,测定实验孔上清液中 LDH 活性,并与靶细胞对照孔中 LDH 活性进行比较,即可计算出效应细胞对靶细胞的杀伤百分率<sup>[13]</sup>。LDH 释放法的优点是无需预标靶细胞,能够避免同位素掺入法的不稳定性和放射性污染。同时排除了细胞形态观察法的人为主观差异,能够进行大样本快速检测。LDH 释放法的缺点是效应细胞作用于靶细胞后会有不同程度的细胞损伤,进而释放 LDH,LDH 可能存在部分自发释放现象,都会影响到细胞活性毒性检测。(4)基因转染法,将具生物功能的核酸转移或运送到细胞内,并使核酸维持其生物功能。利用其技术,将荧光素酶(luc)或 β 半乳糖苷酶(β-gal)之类的报告酶基因转染靶细胞,建立转染靶细胞系,测定 CTL 介导的细胞毒。通过测定释放入培养液中的报告酶的活性,即计算出效应细胞杀伤靶细胞的百分率。在实验中,β-gal 因半衰期较长而实际应用较多<sup>[14]</sup>。

**2.2.3 T 细胞分泌功能检测** T 淋巴细胞活化后,能够分泌如 IL-2、IFN-γ、TNF-α 等具有功能的细胞因子。根据细胞因子不同,可以区分出不同功能的细胞,如记忆细胞或效应细胞。

常用的检测细胞分泌功能的方法有酶联免疫吸附测定(ELISA)、固相酶联斑点法(ELISPOT)、PCR/RT、PCR 及细胞内因子检测方法等。

### 2.3 免疫学检测

**2.3.1 ELISA** ELISA 是利用抗原与抗体的特异反应来进行定量检测的方法。ELISA 法可直接检测细胞因子(如 IL-2、IFN- $\gamma$  或 TNF- $\alpha$ )水平,也可用于测定激活的淋巴细胞(诸如 LAK 或 CIK 细胞)培养液中各细胞因子水平。ELISA 法检测的是细胞因子的总量,无法检测出单一细胞的信息,也不能准确估算抗原特异性 T 淋巴细胞的数量,而且,它不能检测被抗原刺激后产生的淋巴细胞产生细胞因子的能力<sup>[15]</sup>。

**2.3.2 ELISPOT** ELISPOT 技术是基于酶联免疫标记技术的原理建立的。CTL 细胞受抗原刺激后分泌具有功能的细胞因子,即可被包埋的抗体捕获,在局部形成斑点数目,通过检测斑点数,即可得出 T 淋巴细胞频数,进而反映出 CTL 的活性。此方法具有较高的灵敏度。Bilhl 等<sup>[14]</sup> 使用循环 ELISPOT 技术,用少量外周血标本,检测了 HIV 病毒、巨细胞病毒、EB 病毒、HBV 病毒及 HCV 病毒等 5 种病毒的近 400 个 CTL 表位所引起的抗病毒免疫,结果显示与普通 ELISPOT 检测相比差异无统计学意义( $P < 0.05$ )。此技术可用于评价多重病毒感染所引起的细胞免疫<sup>[16]</sup>。ELISPOT 的优点在于:敏感性很高;特异性很强;且可直接检测 T 淋巴细胞;能反复检测多种细胞因子;同时反映其功能,与临床结果具有较好的相关性。ELISPOT 法缺点:所检测的 T 淋巴细胞必须分泌目标细胞因子,如果不能分泌目标细胞因子,就有可能导致特异性细胞的数量测定的降低。除了 CTL 外,(CD3 $^+$  和 CD4 $^+$ )、NK 细胞等一些辅助 T 淋巴细胞也能分泌类似的细胞因子,故还需结合细胞表型进行分析<sup>[17]</sup>。

**2.3.3 染色细胞内的细胞因子** 此法是检测人循环淋巴细胞中抗原特异性 T 淋巴细胞的可行方法。先在体外培养、刺激、活化细胞,使用 Brefeldin A 封闭细胞因子的分泌,使其在细胞内累积。使用生物素或荧光标记的 CD4 $^+$  或 CD8 $^+$  的 mAb 对细胞进行标志物染色,再经去污剂固定,同时增高细胞通透性,最终使抗细胞因子荧光抗体结合到细胞内从而达到染色的目的。这种方法应用细胞内累积细胞因子进行染色<sup>[18]</sup>。

**2.3.4 生物活性检测** 根据细胞因子的独特生物学活性,选用相应的实验体系,包括细胞增殖法、直接杀伤法、保护细胞免受病毒致病变法等。要求选用的细胞株增殖反应水平与细胞因子浓度成正相关,如 IL-1、IL-2、IL-4 及 IL-6 水平等。

**2.3.5 基因水平的检测** 通过 PCR、RT-PCR 或荧光定量 PCR 方法,可对细胞因子的 DNA 或 RNA 进行检测。它可以检测一种或多种目标基因转录水平,是一种较准确的分子生物学方法。有学者曾用荧光定量 RT-PCR 法分析了冷冻保存的健康人血标本中的细胞因子 mRNA 水平<sup>[19]</sup>。该法同时作为检测免疫反应的指标应用于肿瘤免疫的临床试验中。荧光定量 RT-PCR 基本上不需要任何体外刺激步骤,即可准确检测抗原特异性 T 淋巴细胞的数目,是目前最敏感的细胞因子检测技术<sup>[11,20]</sup>。

### 3 小结与展望

淋巴细胞,尤其是 T 淋巴细胞在机体免疫应答中发挥着重要的作用。通过深入研究分析 T 淋巴细胞的功能,可以充分认识免疫应答的相应环节,进一步研究机体免疫反应有着重要意义。各种功能试验的认识,能直观有效的评价机体的免疫状态,了解患者病情的发生发展,指导临床诊断治疗,评价临床

疗效。另外,掌握各个功能试验的原理,举一反三,有利于不断的改进优化。

### 参考文献

- [1] Jordan MA, Baxter AG. The genetics of immunoregulatory T cells [J]. J Autoimmun, 2008, 31(3): 237-244.
- [2] Weigelin B, Krause M, Friedl P. Cytotoxic T lymphocyte migration and effector function in the tumor microenvironment[J]. Immunol Lett, 2011, 138(1): 19-21.
- [3] Ahn WS, Bae SM, Kim TY, et al. A therapy modality using recombinant IL-12 adenovirus plus E7 protein in a human papillomavirus 16 E6/E7-associated cervical cancer animal model[J]. Hum Gene Ther, 2003, 14(15): 1389-1399..
- [4] Suzuki M, Aoshi T, Nagata T, et al. Identification of murine H2-D $d$ - and H2-Ab-restricted T-cell epitopes on a novel protective antigen, MPT51, of Mycobacterium tuberculosis[J]. Infect Immun, 2004, 72(7): 3829-3837.
- [5] 陈贤桢,程浩.细胞毒性 T 淋巴细胞活性的检测及应用[J].医学综述,2006,10(19):1205-1207.
- [6] Green LM, Reade JL, Ware CF. Rapid colorimetric assay for cell viability: application to the quantitation of cytotoxic and growth inhibitory lymphokines[J]. J Immunol Methods, 1984, 70(2): 257-268.
- [7] Maj JG, Kankofer M. Activity of 72-kDa and 92-kDa matrix metalloproteinases in placental tissues of cows with and without retained fetal membranes[J]. Placenta, 1997, 18(8): 683-687.
- [8] Yoahimura T, Kurite C, Hayata M, et al. Diagnosis of drug allergy by the lymphocyte stimulation test with the MTT assay[J]. Biol Pharm Bull, 1993, 16(7): 686-689.
- [9] Hussain RF, Nouri AM, Oliver RT. A new approach for measurement of cytotoxicity using colorimetric assay[J]. J Immunol Methods, 1993, 160(1): 89-96.
- [10] Liu J, Wang S, Liu H, et al. The monitoring biomarker for immune function of lymphocytes in the elderly[J]. Mech Ageing Dev, 1997, 94(1/3): 177-182.
- [11] Gallagher RC, Waterfall M, Samuel K, et al. Blood donor derived dendritic cells and cytotoxic T cells for specific fusion-gene adoptive immunotherapy[J]. Vox Sang, 2007, 92(4): 351-360.
- [12] 王政,田菲菲,刘丁,等.细胞毒性 T 淋巴细胞生物杀伤效应的检测方法[J].细胞与分子免疫学杂志,2008,24(12):1222-1224.
- [13] 王跃,谢成彬,刘明方,等.双歧杆菌完整肽聚糖对重组乙肝表面抗原细胞免疫应答的影响[J].细胞与分子免疫学杂志,2006,22(5):617-619.
- [14] Bihl FK, Loggi E, Chisholm JV 3rd, et al. Simultaneous assessment of cytotoxic T lymphocyte responses against multiple viral infections by combined usage of optimal epitope matrices, anti-CD3 mAb T-cell expansion and "RecycleSpot"[J]. J Transl Med, 2005, 3(1): 20.
- [15] Okamoto Y, Abe T, Niwa T, et al. Development of a dual color enzyme-linked immunospot assay for simultaneous detection of murine T helper type 1- and T helper type 2-cells[J]. Immunopharmacology, 1998, 39(2): 107-116.
- [16] Jung T, Schauer U, Heusser C, et al. Detection of intracellular cytokines by flow cytometry[J]. J Immunol Methods, 1993, 159(1/2): 197-207.
- [17] Kruse N, Pette M, Toyka K, et al. Quantification of cytokine mRNA expression by RT PCR in samples of previously frozen blood[J]. J Immunol Methods, 1997, 210(2): 195-203.

- [18] Malyguine A, Strobl S, Zaritskaya L, et al. New approaches for monitoring CTL activity in clinical trials[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2007, 601: 273-284.
- [19] Maciejewski JP, O'Keefe C, Gondek L, et al. Immune-mediated bone marrow failure syndromes of progenitor and stem cells: molecular analysis of cytotoxic T cell clones[J]. *Folia Histochem Cytophisiol*, 2007, 45(1): 5-14.

- [20] Marijt E, Wafelman A, vander Hoorn M, et al. Phase I/II feasibility study evaluating the generation of leukemia-reactive cytotoxic T lymphocyte lines for treatment of patients with relapsed leukemia after allogeneic stem cell transplantation[J]. *Haematologica*, 2007, 92(1): 72-80.

(收稿日期:2014-10-01)

## • 综述 •

## 呼吸道病毒感染与哮喘\*

罗玉岚 综述, 宋传旺<sup>△</sup> 审校

(蚌埠医学院医学检验系免疫学教研室/安徽省感染与免疫重点实验室, 安徽蚌埠 233030)

**关键词:** 哮喘; 呼吸道病毒; 感染; 炎症**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.03.040**文献标识码:**A**文章编号:** 1673-4130(2015)03-0380-03

哮喘是一种以喘息为主要症状并受多种因素影响的慢性气道炎症。呼吸道病毒感染能对哮喘发病的多个方面产生重要影响。婴儿阶段,喘息性疾病通常起源于呼吸道感染病毒,如呼吸道合胞病毒(RSV)、人鼻病毒(HRV)、变性肺病毒、冠状病毒、流感及副流感病毒等。有严重喘息发作的婴幼儿以后更有可能形成哮喘,因此呼吸道病毒感染与哮喘的起始密切相关。在学龄儿童或成人,呼吸道病毒感染相对温和,但近80%的哮喘急性发作与气道病毒感染相关,呼吸道病毒感染是导致哮喘患者因急性发作住院治疗的主要病因之一<sup>[1-2]</sup>。因此加强理解呼吸道病毒感染与哮喘的起始与急性发作之间的关系及其相关机制异常重要,本文就这方面做一综述。

### 1 呼吸道病毒感染与哮喘的起始

呼吸道病毒感染作为哮喘发生的潜在起始因子,已被人们认识很多年了,但随着欧美延续十多年的出生队列研究结果的揭晓,人们对这一现象才有了更深层次的认识。喘息性疾病与气道病毒感染相关,发生在所有年龄段的患者,通过研究生命早期喘息发作与气道感染的联系能得出气道病毒感染与最后的哮喘开始有潜在的联系。这种联系多来自于RSV和HRV的研究。在婴儿阶段,RSV细支气管炎与哮喘的症状有类似之处:哮鸣、短促呼吸、小气道炎症、呼吸窘迫等。婴儿喘息性症状非常多见,特别在呼吸道病毒感染的患儿,但这种症状通常是短暂的,一般到3岁可以自愈;大约三分之一婴儿由于细支气管炎引发的喘息会反复发作,这种现象揭示婴儿RSV细支气管炎性喘息的频繁发作可能启动了哮喘的起始<sup>[3-4]</sup>。Sigrus<sup>[5]</sup>的研究表明,RSV感染及有哮喘家族史的个体哮喘发生的可能性增加。流行病学调查表明,婴儿在出生后120天左右(即出生后最可能感染RSV的时间),因病毒性喘息疾病入院治疗的可能性最大;前瞻性出生队列研究证明生命早期由于RSV感染引发的喘息发作与儿童时期的持续性喘息和哮喘的产生有密切联系。HRV也是生命早期呼吸道病毒感染的重要病因,它不仅限于上呼吸道,也可影响下呼吸道,因此HRV感染导致的细支气管炎一般症状较重。婴儿期HRV感染是哮喘发生的重要预测因子,儿童哮喘起源的出生队列研究表明:对于6岁儿童的哮喘诊断来说,出生第一年HRV感染引发的

喘息发作是比同一时间RSV感染引发的细支气管炎更有力的预测因子,其中RSV感染后的哮喘发生风险增加2.6倍,HRV感染则是9.8倍。与HRV单独感染相比,HRV与RSV联合感染引起的喘息发作并未增加哮喘的发生率,因此HRV的气道感染与哮喘的起始也有密切联系<sup>[6]</sup>。呼吸道病毒也可以联合气源性过敏原影响哮喘的起始。Kusel等<sup>[7]</sup>报道,当有空气变应原致敏记录时,6岁儿童发生哮喘的风险增加2倍,当呼吸道有2种病毒感染的记录时,哮喘发生的风险增加到4倍,如果存在2种致敏原和1种病毒感染的情况,哮喘发生的风险将增加到9倍。对于哮喘来说,呼吸道病毒感染和空气变应原的致敏虽然是独立的危险因子,但他们在起作用时,可能产生了协同效应。

### 2 呼吸道病毒感染与哮喘的急性发作

哮喘的急性发作是哮喘患者入院治疗的重要原因。随着PCR技术的出现,呼吸道感染被认为是哮喘急性发作的主要原因。Johnston等<sup>[8]</sup>的研究发现,85%哮喘急性发作与呼吸道病毒感染有关,其中有三分之二是HRV。Heymann等<sup>[9]</sup>的研究表明,在3~18岁年龄段患者哮喘急性发作有季节性模式,最常见于每年9~11月,对于3岁以上的这种患者,HRV是主要的呼吸道病毒。此外,处于急性发作的患儿体内存在明显升高的IgE,其中84%对至少一种气源性变应原敏感。这些数据表明,致敏机体对于伴有HRV感染的哮喘急性发作是一个重要的危险因素,IgE依赖的反应可能也参与了病毒感染引发的哮喘急性发作。病毒感染和变态反应引起的炎症都能损伤气道上皮,导致哮喘急性发作。一方面,病毒感染削弱了气道上皮的屏障功能,导致变应原和刺激剂的吸收增加,从而加重变态反应性炎症;另一方面HRV在损伤气道上皮细胞中的复制要大于不损伤的上皮细胞,这意味着变应原诱导的气道上皮细胞损伤促进了呼吸道病毒的复制,导致严重的临床病症。这个观点也适用于其他空气污染物,这就解释了为什么暴露到有毒因子(如烟雾、NO<sub>2</sub>)也能增加相关的哮喘发作<sup>[10]</sup>。

### 3 呼吸道病毒导致的免疫平衡的破坏

呼吸道病毒感染可以破坏气道中维持免疫平衡的一系列机制,这其中包括气道黏膜树突状细胞(AMDC),AMDC在迁

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81273273);安徽省自然科学基金资助项目(1308085MH114);感染与免疫安徽省重点实验室开放课题项目(BYKL1203)。作者简介:罗玉岚,男,在读硕士研究生,主要从事炎症的调控方面研究。△ 通讯作者,E-mail:chuanwangsong@163.com。