

· 论 著 ·

不同程度手足口病患儿血清细胞因子及免疫球蛋白水平变化探讨

周冠寅

(江苏省第二中医院检验科, 南京 210000)

摘 要:目的 探讨不同程度手足口病患儿血清细胞因子及免疫球蛋白水平的变化。方法 将 2015 年 6 月至 2016 年 6 月该院收治的手足口病患儿 84 例纳入该研究, 据临床病情程度将上述患儿分为普通组 46 例和重症组 38 例。另选取同期于该院体检的健康幼儿 35 例作为对照组, 检测并比较各组血清细胞因子的水平, 主要包括白细胞介素(IL)-6、IL-10、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)以及免疫球蛋白(IgA、IgG、IgM)。结果 重症组的 IL-6、IL-10、TNF- α 水平分别为(61.81 \pm 20.17)ng/L、(174.25 \pm 60.41)ng/L、(469.33 \pm 168.23)ng/L, 均高于普通组和对照组($P<0.05$); 普通组的 IL-6、IL-10、TNF- α 水平分别为(15.75 \pm 3.41)ng/L、(33.80 \pm 12.11)ng/L、(78.22 \pm 58.57)ng/L, 高于对照组, 但差异无统计学意义($P>0.05$); 重症组的 IgA、IgG、IgM 水平分别为(0.82 \pm 0.26)g/L、(6.87 \pm 1.38)g/L、(0.76 \pm 0.15)g/L, 普通组的 IgA、IgG、IgM 水平分别为(1.10 \pm 0.29)g/L、(8.26 \pm 1.05)g/L、(1.12 \pm 0.22)g/L, 重症组与普通组的免疫球蛋白水平均低于对照组($P<0.05$), 重症组的免疫球蛋白水平均低于普通组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 手足口病患儿存在细胞因子失衡及免疫功能降低且以重症患儿最为明显, 采用细胞因子及体液免疫检测有助于临床判断病情。

关键词:手足口病; 细胞因子; 免疫球蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.06.027

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)06-0799-03

Changes of serum cytokines and immunoglobulin levels in children with different degrees of hand-foot-mouth disease

ZHOU Guanyin

(Department of Clinical Laboratory, Jiangsu Provincial Second Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu 210000, China)

Abstract: Objective To investigate the changes of serum cytokines and immunoglobulin levels in children patients with different degrees of hand-foot-mouth disease (HFMD). **Methods** Eighty-four cases of HFMD in our hospital from June 2015 to June 2016 were selected and divided into the common group (46 cases) and severe group (38 cases) according to the disease condition. Other 35 healthy children undergoing physical examination were selected as the control group. The levels of serum cytokines IL-6, IL-10, TNF- α , IgG, IgM and IgA were detected and the detection results were compared among various groups. **Results** The levels of IL-6, IL-10 and TNF- α in the severe group were (61.81 \pm 20.17) ng/L, (174.25 \pm 60.41) ng/L and (469.33 \pm 168.23) ng/L respectively which were significantly higher than those in the common group and control group, the differences were statistically significant ($P<0.05$); the levels of IL-6, IL-10 and TNF- in the common group were (15.75 \pm 3.41) ng/L, (33.80 \pm 12.11) ng/L and (78.22 \pm 58.57) ng/L respectively, which were higher than those in the control group, but the difference was not statistically significant ($P>0.05$); the levels of IgA, IgG and IgM in the severe group were (0.82 \pm 0.26)g/L, (6.87 \pm 1.38) g/L and (0.76 \pm 0.15)g/L respectively, which in the common group were (1.10 \pm 0.29)g/L, (8.26 \pm 1.05)g/L and (1.12 \pm 0.22)g/L respectively, which in these two groups were lower than those in the control group, and the immunoglobulin levels in the severe group were lower than those in the common group, the differences were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Children patients with HFMD have the cytokines imbalance and immune function decrease, which in the patients with severe HFMD is most significant, adopting the cytokine and humoral immune detection is helpful to clinically judge the disease condition.

Key words: hand-foot-mouth disease; cytokines; immunoglobulin

(手足口病是多发于 3 岁及以下婴幼儿的肠道病毒传染病, 多数患儿临床症状较轻微, 以发热和手、足、口腔等部位的斑丘疹、疱疹为主要表现, 少数患儿进展为重症手足口病, 可引起心肌炎、脑膜炎、血管神经性肺水肿等并发症, 病情严重, 短期内可导致死亡, 严重威胁婴幼儿的生命健康^[1]。)由此可见, 早发现、早诊断、早治疗对防治重症手足口病具有重要意义。相关研究显示, 重症手足口病与免疫炎性损伤有关^[2]。本次研究观察了不同程度手足口病患儿血清细胞因子及免疫球蛋白水平的变化, 旨在为临床判断病情提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 6 月至 2016 年 6 月该院收治的手足口病患儿 84 例, 患儿入选标准: 符合《手足口病诊疗指南(2010 年版)》^[3] 中的诊断标准, 排除标准: 伴有先天性疾病、心脑血管疾病、肝肾疾病及其他肠道疾病者。根据临床病情程度分为普通组和重症组, 无死亡病例。普通组 46 例患儿, 其中男 26 例, 女 20 例; 年龄最小 7 个月, 最大 48 个月, 平均月龄(22.95 \pm 7.07)月; 平均发病时间(1.5 \pm 0.4)d。重症组 38 例患儿, 其中男 21 例, 女 17 例; 年龄最小 6 个月, 最大 46 个月,

平均月龄(22.02±7.36)月;平均发病时间(1.4±0.5)d。另选取同期于该院体检的健康幼儿 35 例为对照组,其中男 21 例,女 14 例,平均月龄(24.04±8.12)月。比较各组的性别、年龄等基础资料,差异均无统计学意义($P>0.05$)。本研究经本院伦理委员会批准,获得患儿监护人的知情同意。

1.2 方法 抽取所有纳入研究者的清晨空腹肘静脉血 5 mL,以 3 000 r/min 的速度离心 10 min,分离血清后置于-40℃冰箱内贮存待测。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-10(IL-10)以及肿瘤坏死因子- α (TNF- α),试剂盒购自美国安迪公司。采用免疫比浊法测定 IgA、IgG、IgM,检测仪器为东芝 40 全自动生化分析仪,试剂盒由上海复星长征医学科学有效公司提供。

1.3 统计学处理 所有检测数据应用 SPSS19.0 软件进行统计分析,满足正态分布及方差齐性的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较进行单因素方差分析,两两比较采用 LSD- t 法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 细胞因子水平比较 各组指标的检测结果进行正态性 Kolmogorov-Smirnov 检验,均符合正态分布($P>0.05$);各组指标进行 Levene 方差齐性检验,均满足方差齐性($P>0.05$)。各组之间 IL-6、IL-10、TNF- α 水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$),其中重症组的 IL-6、IL-10、TNF- α 水平均高于普通组和对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);普通组的 IL-6、IL-10、TNF- α 水平略高于对照组,但差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

| 表 1 各组细胞因子水平的比较($\bar{x}\pm s$,ng/L) | | | | |
|--|----------|-------------|--------------|---------------|
| 组别 | <i>n</i> | IL-6 | IL-10 | TNF- α |
| 重症组 | 38 | 61.81±20.17 | 174.25±60.41 | 469.33±168.23 |
| 普通组 | 46 | 15.75±3.41* | 33.80±12.11* | 78.22±58.57* |
| 对照组 | 35 | 14.17±3.09* | 24.44±6.63* | 37.20±7.18* |
| <i>F</i> | | 21.321 | 32.679 | 47.080 |
| <i>P</i> | | 0.000 | 0.001 | 0.000 |

注:与重症组比较,* $P<0.05$ 。

2.2 免疫球蛋白水平比较 各组指标进行正态性 Kolmogorov-Smirnov 检验,均满足正态性($P>0.05$);各组指标进行 Levene 方差齐性检验,均满足方差齐性($P>0.05$)。各组之间的 IgA、IgG、IgM 水平比较差异均有统计学意义($P<0.05$),其中重症组与普通组的 IgA、IgG、IgM 水平均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);重症组的 IgA、IgG、IgM 水平均低于普通组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

| 表 2 各组免疫球蛋白水平比较(g/L, $\bar{x}\pm s$) | | | | |
|---------------------------------------|----------|-------------|-------------|-------------|
| 组别 | <i>n</i> | IgA | IgG | IgM |
| 重症组 | 38 | 0.82±0.26*△ | 6.87±1.38*△ | 0.76±0.15*△ |
| 普通组 | 46 | 1.10±0.29* | 8.26±1.05* | 1.12±0.22* |
| 对照组 | 35 | 1.43±0.31 | 9.90±0.99 | 1.45±0.36 |
| <i>F</i> | | 11.739 | 9.359 | 18.430 |
| <i>P</i> | | 0.000 | 0.002 | 0.000 |

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与普通组比较,△ $P<0.05$ 。

3 讨 论

(手足口病是由多种肠道病毒引起的急性传染病,其中以肠道病毒 71 型感染最常见^[4],多发于 3 岁及以下婴幼儿,在东南亚国家及地区十分流行^[5]。大多数手足口病患儿临床症状较轻微,以发热和手、足、口腔等部位的斑丘疹、疱疹为主要表现,少数患儿进展为重症手足口病,可引起心肌炎、脑膜炎、血管神经性肺水肿等并发症,严重者甚至危及生命^[1]。)近年来,我国已有众多地区出现手足口病的暴发流行,特别是重症病例有增加趋势。因此早期通过客观指标判断病情、识别重症患儿对提高治疗效果、降低病死率具有重要意义。

IL-6 是反映机体发生炎症的重要细胞因子,它主要由单核细胞产生,能够促进 B 细胞增殖、分泌抗体,适度表达可发挥抗病毒效应,但表达异常升高则可促进产生强烈的炎症反应,若不加以控制将会造成低血压、多器官功能障碍等严重情况^[6-7]。TNF- α 作为重要炎症因子可参与多种病理生理反应,它主要通过促进炎症细胞黏附、游走、浸润以及单核巨噬细胞释放炎症介质作用而加剧炎症反应,造成局部的免疫炎症性损害^[8]。IL-10 是抗炎细胞因子,免疫抑制作用是其主要生物活性,它能够抑制 IL-6、TNF- α 等细胞因子进而发挥炎症抑制作用^[9-10]。本次研究结果表明,重症组的 IL-6、IL-10、TNF- α 水平均高于普通组和对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),提示 IL-6、IL-10、TNF- α 的表达水平与手足口病的严重程度具有一致性,重症患儿 IL-6、IL-10、TNF- α 水平升高最为明显。分析原因,可能因为病毒入侵后机体启动炎症反应,而重症患儿体内炎症反应更为强烈,随着大量炎性介质 IL-6、TNF- α 等的分泌,IL-10 等抗炎因子也持续大量产生以拮抗过度的炎症反应,这种促炎/抗炎反应同时作用的状态可能导致机体更具损伤性,两种反应共同参与了重症手足口病的免疫损伤过程^[11]。

免疫球蛋白是人体免疫系统的重要组成部分,它们由 B 淋巴细胞生成,通过排除外来抗原及特异性抗原结合发挥免疫作用,IgA、IgG、IgM 是最典型的免疫球蛋白,也是准确反映机体免疫功能的重要标志^[12]。在肠道病毒感染性疾病中,体液免疫系统具有免疫监视及防御的关键作用。本次研究结果表明,重症组与普通组的 IgA、IgG、IgM 水平均低于对照组,重症组的 IgA、IgG、IgM 水平又低于普通组,差异均有统计学意义($P<0.05$),说明手足口病患儿体液免疫功能受到损伤,且以重症患儿免疫损伤最重,与乐燕等^[13]的研究结果一致。

综上所述,手足口病患儿存在细胞因子失衡及免疫功能降低且以重症患儿最明显,采用细胞因子及体液免疫检测对判断病情具有重要指导价值,值得临床推广。

参考文献

[1] 李妍,马超.不同严重程度手足口病患者血清 TNF- α 、IL-6 与胆碱酯酶的变化及意义[J].海南医学院学报,2014,20(10):1428-1430.
[2] 柯江维,陈强,段荣,等.EV71 病毒引起手足口病患者免疫状态变化的研究[J].实验与检验医学,2014,32(1):5-7.
[3] 中华人民共和国卫生部.手足口病诊疗指南(2010 年版)[J].国际呼吸杂志,2010,30(24):1473-1475.
[4] Yu P,Gao ZF,Zong YY,et al.Distribution of enterovirus 71 RNA in inflammatory cells infiltrating different tissues in fatal cases of hand,foot,and mouth(下转第 804 页)

exoU 之间的差异不明显^[8],与 Feltman 等^[9]报告的毒力基因阳性率比较,本研究中铜绿假单胞菌分离株 exoU、exoS、exoT 及 exoY 基因的阳性率均较低,提示本组铜绿假单胞菌菌株与国内外同类研究中的临床分离株在环境适应性和致病能力方面存在一定差异,这也体现了铜绿假单胞菌毒力基因存在一定的地域性差别。两地区间由于毒力基因的差别,铜绿假单胞菌感染的临床症状也可能存在差异,这种差异对铜绿假单胞菌致病性的影响尚需要结合患者临床情况作进一步探讨。

有研究报道,没有 1 株菌同时携带毒力基因 exoU 和 exoS^[5]。exoU 和 exoS 基因在多数分离株中相互排斥,具体原因尚未明了,可能是 exoU 和 exoS 占据了相同的染色体位点^[8],当 exoU 存在时,exoS 就无法存在,反之亦然。但在本研究中,发现了 1 株 exoU 和 exoS 基因型同时阳性的多重耐药铜绿假单胞菌,很可能是由于同一地区的铜绿假单胞菌株通过基因转移在菌株间传递所致,进而导致临床分离菌株毒力的改变,同时携带这两种致病基因对铜绿假单胞菌致病性的影响尚需进一步探讨。

Holder 等^[10]用去除 TTSS、未去除 TTSS 的铜绿假单胞菌分别感染烧伤小鼠,去除 TTSS 的铜绿假单胞菌感染小鼠存活率明显较高。表明铜绿假单胞菌的感染,其菌株毒力和 TTSS 密切相关。本研究中结果表明多重耐药铜绿假单胞菌菌株与非多重耐药菌株在由这 4 类主要毒力基因决定的毒力强弱无明显差异,多重耐药及非多重耐药铜绿假单胞菌株毒力基因携带情况相似。TTSS 阴性菌株对青霉素类、头孢菌素类、碳青霉烯类、氟喹诺酮类、氨基糖苷类、单环类、 β -内酰胺类复合制剂抗菌药物的耐药性都强于 TTSS 阳性菌株,与国内同类报道有差异^[6]。其原因之一可能是多重耐药菌株在获得多药耐药基因的同时其很多毒力因子的表达也同时减少^[11],另外,本研究的标本量较少,今后若增加标本量并结合临床背景资料分析细菌毒力与患者临床感染严重程度之间的关系,可能会得到更可靠的结论。

参考文献

[1] 安浩君,陈惠刚,李霞,等. 感染性心内膜炎患者分离株铜绿假单胞菌耐药基因研究[J]. 中国病原生物学杂志, (上接第 800 页)

disease[J]. Arch Virol, 2015, 160(1): 81-90.

[5] 刘丽婷,胡海霞,王桂茹. 小儿手足口病流行病学研究进展[J]. 中国妇幼保健, 2012, 27(34): 5642-5645.

[6] 戴汝均,林冬云,侯燕明. 不同年龄手足口病患儿血清 IL-6、TNF、WBC 和 CRP 水平观察[J]. 中国实验诊断学, 2013, 17(5): 905-906.

[7] 席里,杨薇斯,许柏华. 肠道病毒 71 型感染手足口病重症患儿血清中 IL-6、TNF- α 水平测定的临床意义[J]. 中国现代医生, 2012, 50(24): 159-160.

[8] 李侗曾,姜太一,梁连春. 手足口病患儿血清细胞因子水平变化及免疫球蛋白治疗效果分析[J]. 国际儿科学杂志, 2014, 41(4): 427-430.

[9] 林友青. 重症手足口病患儿血清免疫水平的变化情况及其临床意义研究[J]. 中国临床新医学, 2015, 8(7): 639-641.

2014, 9(12): 1071-1074.

[2] Liang HH, Kong WN, Shen T, et al. The effect of pmpR on the type III secretion system in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Chinese Science Bulletin, 2012, 57(19): 2413-2418.

[3] 魏磊,吴清平,张菊梅,等. 矿泉水和山泉水中铜绿假单胞菌污染调查及分离菌株毒力基因与耐药性分析[J]. 微生物学通报, 2015, 42(1): 125-132.

[4] 顾玲玲,吴小刚,袁小琛,等. III 型分泌系统抑制剂对铜绿假单胞菌 PAO1 毒性因子的影响[J]. 微生物学通报, 2014, 41(11): 2318-2324.

[5] 董晨晓,宋诗铎,王悦,等. 43 株临床铜绿假单胞菌 exoS、exoU 基因的携带及其耐药性[J]. 中国感染控制杂志, 2010, 9(2): 93-96.

[6] 卓超,王露霞,肖书念,等. 铜绿假单胞菌 III 型分泌系统相关毒力基因的临床意义[J]. 中华烧伤杂志, 2010, 26(5): 354-359.

[7] 赵瑞珍,郑跃杰,陈乾. 铜绿假单胞菌毒力因子的携带状况及其对感染预后的探讨[J]. 中华儿科杂志, 2012, 50(9): 672-677.

[8] 类承斌,晁艳,孙相红,等. 铜绿假单胞菌毒力基因检测及临床意义[J]. 临床检验杂志, 2011, 29(4): 301-303.

[9] Feltman H, Schultert G, Khan S, et al. Prevalence of type III secretion genes in clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Microbiology, 2001, 147(Pt 10): 2659-2669.

[10] Holder IA, Neely AN, Frank DW. Type III secretion/intoxication system important in virulence of *Pseudomonas aeruginosa* infections in burns[J]. Burns, 2001, 27(2): 129-130.

[11] Deptua A, Gospodarek E. Reduced expression of virulence factors in multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains[J]. Arch Microbiol, 2010, 192(1): 79-84.

(收稿日期:2016-08-21 修回日期:2016-10-23)

[10] Bouaziz D, Calbo S, Maho-Vaillant M, et al. IL-10 produced by activated human B cells regulates CD4(+) T-cell activation in vitro[J]. Eur J Immunol, 2010, 40(10): 2686-2691.

[11] 王经纬,孙中运. 手足口病患儿外周血淋巴细胞亚群及血清 IL-6、IL-10 变化的研究[J]. 天津医药, 2012, 40(9): 928-930.

[12] Younger E, Blouin W, Duff C, et al. Subcutaneous immunoglobulin replacement therapy: ensuring success[J]. J InfusNurs, 2014, 38(1): 70-79.

[13] 乐燕,李树军. 手足口病患儿细胞因子、免疫球蛋白和补体水平的变化及临床意义[J]. 中国卫生标准管理, 2015, 6(28): 171-173.

(收稿日期:2016-10-15 修回日期:2017-01-14)