

## 罗红霉素对哮喘儿童外周血单个核细胞 Th1/Th2 平衡的影响

孙立峰<sup>1</sup>, 鞠云飞<sup>2</sup>, 杨锡强<sup>3</sup>, 朱春梅<sup>4</sup>, 冯学斌<sup>5</sup>, 王莉佳<sup>3</sup>

(1. 山东大学 山东省立医院 呼吸科, 济南 250021; 2. 山东省胸科医院 呼吸科, 济南 250013; 3. 重庆医科大学附属儿童医院 儿科研究所 临床免疫室, 重庆 400014; 4. 首都儿科研究所, 北京 100020; 5. 滨州医学院 儿科, 山东 滨州 256603)

### Effects of Roxithromycin on Balance of TH1/TH2 Cytokines in Peripheral Blood Mononuclear Cells of Asthmatic Children

SUN Li-feng<sup>1</sup>, JU Yun-fei<sup>2</sup>, YANG Xi-qiang<sup>3</sup>, ZHU Chun-mei<sup>4</sup>, FENG Xue-bin<sup>5</sup>, WANG Li-jia<sup>3</sup>

(1. Department of Respiration, Shandong Provincial Hospital, Shandong University, Jinan 250021, China; 2. Department of Respiration, Shandong Provincial Chest Hospital, Jinan 250013, China; 3. Department of Clinical Immunology of Pediatric Institute, Children's Hospital Affiliated to Chongqing University of Medical Science, Chongqing 400014, China; 4. Pediatric Institute of Capital, Beijing 100045, China; 5. Department of Pediatrics, Binzhou Medical College, Binzhou 256603, China)

**Abstract: Objective** To observe the effects of roxithromycin (RXM) on the expression of Th1/Th2 cytokine in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of asthmatic children. **Methods** Twenty asthmatic children and 19 healthy children were included. PBMCs were isolated from venous blood. Fifty mg/L or 5 mg/L RXM was added to cultures at the time of initial stimulation. The levels of interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), interleukin (IL)-4, IL-10 and IL-12 in culture supernatants were determined by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results** Fifty mg/L RXM could promote the secretion of IFN- $\gamma$  obviously and IL-12, but not IL-4. It also tended to increase the production of IL-10. Fifty mg/L RXM could restore the imbalance of Th1/Th2 cell function in terms of IFN- $\gamma$ /IL-4 bioactivity. **Conclusions** Fifty mg/L RXM may promote the secretion of IFN- $\gamma$  and IL-12 obviously, and restore the balance of Th1/Th2 existed in asthmatic children, and induce IL-10 secretion as well. RXM may be used in clinical treatment of asthma.

J Appl Clin Pediatr, 2006, 21(4): 239-240

**Key words:** asthma; roxithromycin; monocyte

**【摘要】目的** 观察不同浓度罗红霉素对哮喘儿童外周血单个核细胞(PBMC)中两个功能性亚群(TH1/TH2)功能状态的影响。**方法** 采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测20例哮喘及19名健康儿童PBMC经不同浓度的罗红霉素体外干预培养后,上清中的IFN- $\gamma$ 、IL-4、IL-10和IL-12水平变化。**结果** 哮喘组儿童的PBMC分泌IL-4明显增多,IFN- $\gamma$ /IL-4比值明显降低,哮喘组50  $\mu$ g/mL的罗红霉素可明显促进哮喘儿童PBMC分泌IFN- $\gamma$ 和IL-12,并可恢复TH1/TH2平衡,亦有促进IL-10分泌的倾向。**结论** 50  $\mu$ g/mL的罗红霉素可明显促进IFN- $\gamma$ 及IL-12分泌,恢复哮喘儿童体内TH1/TH2平衡,并能促进IL-10分泌,有利于协调机体细胞和体液免疫的功能。

实用儿科临床杂志, 2006, 21(4): 239-240

**【关键词】** 哮喘; 罗红霉素; 单核细胞

**【中图分类号】** R725.6

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1003-515X(2006)04-0239-02

大环内酯类抗生素(红霉素、罗红霉素等)是临床上常用的抗感染药物,最近有报道称此类抗生素具有免疫调节作用<sup>[1]</sup>。因此,我们拟测定支气管哮喘儿童外周血单个核细胞(PBMC)分泌IFN- $\gamma$ 、IL-4、IL-10和IL-12的水平以及用不同浓度罗红霉素干预后的变化,以观察哮喘和健康儿童PBMC中Th1/Th2的平衡状态及罗红霉素对其的影响。

### 资料与方法

**一、一般资料** 实验血样均来自2001年6月~2002年6月重庆医科大学附属儿童医院就诊或体检的儿童39例。其中支气管哮喘患儿20例(哮喘组),男13例,女7例,年龄3~12岁,近1个月内未使用过糖皮质激素、丙种球蛋白(IVIG)及其他影响免疫功能的药物,诊断均符合哮喘诊断标准<sup>[2]</sup>;健康体检儿童19例(对照组),男11例,女8例,年龄3~9岁。无支气管哮喘及其他呼吸系统疾病,无过敏史,近1周末服用过任何药物。依罗红霉素的干预浓度将对照组分为A、B、C组;将哮喘组分为A'、B'、C'组,A和A'组为未干预组,B和B'组为50 mg/L罗红霉素干预组,C和C'组为5 mg/L罗红霉素干预组。

**二、方法** 两组均空腹取静脉血5 mL,各分成3组采用密

度梯度离心法分离PBMC,调细胞浓度至 $10^6$ /mL,分别加植物血凝素(PHA)或脂多糖(LPS)至终浓度100和10 mg/L,做3组培养,于37  $^{\circ}$ C、5%二氧化碳(CO<sub>2</sub>)孵箱中培养48 h后收集上清,置-20  $^{\circ}$ C冻存备测。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测培养上清中IFN- $\gamma$ 、IL-4、10、12的浓度。试剂盒由深圳晶美生物工程有限公司及法国Diclone公司提供,罗红霉素来自美国Sigma公司。

**三、统计学处理** 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用 $t$ 检验,组内比较用单因素方差分析(ANOVA)法,检验水准为 $\alpha = 0.05$ 。

### 结果

两组培养上清细胞因子的表达 见表1,2。

表1 对照组儿童培养上清细胞因子表达及IFN- $\gamma$ /IL-4值比较( $\bar{x} \pm s$ , ng/L)

Table 1 Secretion of Cytokines and the Ratio of IFN- $\gamma$ /IL-4 in PBMC of Healthy Age-Matched Volunteers( $\bar{x} \pm s$ , ng/L)

组别	n	IFN- $\gamma$	IL-4	IL-10	IL-12	IFN- $\gamma$ /IL-4
A	19	10334.82 $\pm$ 2280.81	9.13 $\pm$ 1.52	2325.00 $\pm$ 387.64	4.99 $\pm$ 0.85	1905.29 $\pm$ 542.84
B	19	11620.19 $\pm$ 2684.52	8.14 $\pm$ 1.25	2636.67 $\pm$ 405.45	5.02 $\pm$ 1.11	2067.68 $\pm$ 564.83
C	19	10528.37 $\pm$ 2282.73	8.42 $\pm$ 1.20	2603.57 $\pm$ 520.01	4.66 $\pm$ 1.07	1949.58 $\pm$ 719.60
F		0.16	0.15	0.24	0.18	0.69
P		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

**【收稿日期】** 2005-12-19

**【作者简介】** 孙立峰,男,住院医师,硕士学位,研究方向为呼吸免疫。

## 讨 论

支气管哮喘是一种以呼吸道高反应性、嗜酸性粒细胞增多性肺炎及 IgE 分泌过高为特征的疾病,免疫失常在其发病机制中占主导地位<sup>[3]</sup>。本研究结果显示,与正常对照组相比,哮喘组 IL-4 明显升高,若以 IFN- $\gamma$ /IL-4 代表 Th1/Th2 平衡状态,则其偏向 Th2,即存在体液免疫应答亢进状态。但本研究未能观察到 IFN- $\gamma$  和 IL-12 水平降低的现象,可能是由于过高的 IL-4 促进 I 型树突状细胞(DC1)的成熟,而 DC1 可分泌大量 IL-12 优势诱导 Th0 向 Th1 分化,使 IL-12 和 IFN- $\gamma$  水平并不下降。本实验室另外的研究发现,哮喘发作初期以 IL-4 升高为主,后期以 IL-13 升高为主<sup>[4]</sup>,而 IL-13 能在较高水平上促进 Th1 类细胞因子产生。因此,本研究我们发现哮喘儿童存在 Th2 细胞功能亢进,而 Th1 细胞功能正常。

国内有报道称用红霉素对哮喘患者 PBMC 进行体外干预后发现,IL-4 及 IL-6 的 mRNA 表达阳性率明显下降,而 IFN- $\gamma$  表达率有所增高,IL-2 无变化<sup>[5]</sup>;另有研究发现红霉素可以下调血清 IL-2、IL-6 水平<sup>[6]</sup>。Asano 等<sup>[7]</sup>实验证明红霉素抑制 T 细胞 IL-4 及 IL-5 的分泌,但不影响 IL-2、IFN- $\gamma$  的产生;Noma 等<sup>[8]</sup>发现红霉素在 1~10 mg/L 浓度范围内可抑制 IL-4、IL-5 分泌,而在 50 mg/L 时可促进 IFN- $\gamma$  的产生,从而纠正 Th1/Th2 失衡。其另一研究还发现红霉素还可促进淋巴细胞凋亡<sup>[9]</sup>。我们发现红霉素在 50 mg/L 时可明显促进 IFN- $\gamma$  产生,并可逆转 Th1/Th2 失衡,与 Noma 等<sup>[9]</sup>的研究结果一致,此外,50 mg/L 红霉素还可促进 IL-12 的分泌,而 IL-12 又可促进 IFN- $\gamma$  的产生;但在 5 mg/L 时并不能抑制 IL-4 分泌,对 IL-12 和 IFN- $\gamma$  产生无影响,产生这种差异的原因尚不清楚。

IL-10 主要由调节性 T 细胞(regulatory T cells, Tr1)分泌,也可由 T 细胞其他亚群(Th0、Th2、Th3、CTL)以及 B 细胞、单核-巨噬细胞、肥大细胞等产生。它不仅可抑制 IL-12 和 IFN- $\gamma$  的产生,还可抑制单核-巨噬细胞、NK 细胞和 Th2 细胞分泌细胞因子,并可诱导 T 细胞对过敏原耐受,缩短嗜酸性粒细胞存活时间及抑制 IgE 产生,此外还具有抗肿瘤作用<sup>[10]</sup>。因此,IL-10 是一种具有免疫抑制作用的保护性因子。与正常对照组相比,本文哮喘组 IL-10 有升高的趋势,这与其免疫调节作用相符;哮喘组 50 mg/L 红霉素有促进 IL-10 分泌的倾向,说明红霉素可能通过上调 IL-10 水平来抑制过强的 Th2 反

应。

通过本研究我们发现,稍高浓度罗红霉素可明显促进 IFN- $\gamma$  分泌,并可逆转 Th1/Th2 失衡,有利于哮喘患者病情恢复;而且罗红霉素可通过上调体内 IL-10 水平间接发挥调节免疫功能的作用。这对于解释大环内酯类抗生素治疗哮喘的机制可能具有重要意义。

表 2 哮喘组儿童培养上清细胞因子表达及 IFN- $\gamma$ /IL-4 值比较( $\bar{x} \pm s$ , ng/L)

Table 2 Secretion of Cytokines and the Ratio of IFN- $\gamma$ /IL-4 in PBMC of Asthmatic Children( $\bar{x} \pm s$ , ng/L)

组别	n	IFN- $\gamma$	IL-4	IL-10	IL-12	IFN- $\gamma$ /IL-4
A	20	11562.50 $\pm$ 1557.06	19.29 $\pm$ 2.99 <sup>△△</sup>	2767.31 $\pm$ 565.02	4.46 $\pm$ 1.11	715.59 $\pm$ 135.58 <sup>△</sup>
B	20	19437.50 $\pm$ 3375.83*	17.25 $\pm$ 2.98	3961.54 $\pm$ 753.67	5.59 $\pm$ 1.53*	1567.09 $\pm$ 358.28*
C	20	13141.67 $\pm$ 2798.06	18.45 $\pm$ 3.01	3248.33 $\pm$ 705.54	4.77 $\pm$ 1.52	1048.84 $\pm$ 327.32
F		0.04	0.14	0.21	0.72	0.46
P		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

\*与 A 组比较 IFN- $\gamma$  组  $F=4.64$ , IL-12 组  $F=2.66$ , IFN- $\gamma$ /IL-4 组  $F=4.50$   $P<0.05$ ,<sup>△</sup>与正常对照组相应值相比  $t=2.45$   $P<0.05$ ,<sup>△△</sup>与正常对照组相应值比较  $t=13.27$   $P<0.01$

## [参考文献]

- [1] 宋红转,何庆.红霉素的非抗菌机制研究进展[J].实用医药杂志,2005,22(9):844-846.
- [2] 中华医学会儿科学分会呼吸学组.儿科支气管哮喘防治常规(试行)[J].中华儿科杂志,2004,42(2):100-104.
- [3] 贺彬,彭向东.治疗支气管哮喘中药研究进展[J].中南药学,2005,3(5):315-318.
- [4] 朱晓萍,杨锡强,符州,等.IL-13 和 IL-4 在哮喘发病中的作用及相互关系[J].中华微生物和免疫学杂志,2004,24(7):519-522.
- [5] 肖伟,余惠,郑春燕,等.哮喘患者外周血单个核细胞中 Th1/Th2 类细胞因子的偏移状态及红霉素的纠偏作用[J].中华结核和呼吸杂志,2000,23(6):347-350.
- [6] 胡庆东,栾红,冯金环,等.哮喘患儿外周血单个核细胞诱导白细胞介素-2、白细胞介素-6 及红霉素的调节作用[J].实用儿科临床杂志,2004,19(2):125-126.
- [7] Asano K, Kamakazu K, Hisamitsu T, et al. Modulation of Th2 type cytokine production from human peripheral blood leukocytes by a macrolide antibiotic, roxithromycin in vitro[J]. Int Immunopharmacol, 2001, 1(11):1913-1921.
- [8] Noma T, Aoki K, Hayashi M, et al. Effect of roxithromycin on T lymphocyte proliferation and cytokine production elicited by mite antigen[J]. Int Immunopharmacol, 2001, 1(2):201-210.
- [9] Noma T, Ogawa N. Roxithromycin enhances lymphocyte apoptosis in dermatophagoides-sensitive childhood asthma[J]. J Allerg Clin Immunol, 2003, 111(3):646-647.
- [10] Segal BM, Glass DD, Shevach EM. Cutting Edge: IL-10-producing CD4<sup>+</sup> T cells mediate tumor rejection[J]. J Immunol, 2002, 168(1):1-4.

(本文编辑:周二强)

(上接第 216 页)

份和 11 月份,而且年龄越小,两种病毒混合感染的机会越大,与小婴儿免疫力低下有关。针对不同病毒选用最敏感药物,及干扰素雾化吸入已取得很大进展,目前在呼吸道感染发病季节进一步选用不同疫苗接种预防有待开发。

三、各种病毒性肺炎各具临床特点 RSV 肺炎以 6 个月以下常见,发热轻、喘息重,患儿营养状况好。IFV 肺炎以 6 个月~3 岁常见,发热、咳嗽重,易见喘息,常伴腹泻。ADV 肺炎以 6 个月~3 岁常见,发热、咳嗽、中毒症状重,常伴腹泻。PIV 肺炎以 1~3 岁多见,发热轻、咳嗽不剧。CMV 肺炎以 1~3 岁多见,除一般肺炎症状外,常伴肝功能异常。

## [参考文献]

- [1] 邵雪军,缪美华,丁云芳,等.C 反应蛋白和儿科感染性疾病[J].苏州大学学报:医学版,2002,22(1):52-54.
- [2] 傅文永,成焕吉,邹映雪.小儿病毒性肺炎的病原学诊断与治疗[J].新医学,2001,32(5):268-269.
- [3] 曾庆红,华香.C 反应蛋白检测在儿科感染性疾病中的应用[J].右江医学,2004,32(6):565-566.
- [4] 陈昌辉,叶长宁,李茂军,等.新生儿感染性肺炎的临床和免疫功能研究[J].中华儿科杂志,2003,41(12):884-887.
- [5] 张建华,杨丽君,盛锦云,等.小儿肺炎病毒病原学及临床[J].江苏医药杂志,2002,28(8):597-599.
- [6] 王明明,汪受传.不同地区小儿病毒性肺炎病原学动态观察[J].实用儿科临床杂志,2005,20(3):243-245.
- [7] 郑淑梅,刘文彬,王太森,等.呼吸道合胞病毒肺炎免疫机制及双黄连疗效研究[J].实用儿科临床杂志,2004,19(12):1041-1042.

(本文编辑:邓丽娜)