

B 淋巴细胞亚群在儿童过敏原免疫治疗中的作用

陈江,任翼,何娜,石霖

(海口市妇幼保健院儿科,海南 海口 570102)

摘要:目的 通过比较儿童过敏原免疫治疗前后 B 淋巴细胞亚群的变化,明确 B 细胞亚群在过敏原免疫治疗(AIT)治疗机制中的作用。**方法** 使用流式细胞计数法检测 32 例儿童过敏原免疫治疗前后 1 年 B 淋巴细胞亚群的数量,另选取 32 例年龄性别匹配的健康儿童作为对照组。**结果** AIT 治疗后活性 B 淋巴细胞的相对数和绝对数均明显低于治疗前水平($P=0.001$),其余 B 淋巴细胞亚群治疗前后差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 过敏原免疫治疗直接影响 B 淋巴细胞细胞分化,导致活性 B 细胞计数减少。活性 B 细胞计数或可作为 AIT 治疗效果及是否需要继续治疗的评估指标,具有重要的临床应用价值。

关键词:过敏原免疫治疗;B 淋巴细胞;哮喘;过敏性鼻炎

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2017.12.013

Role of B lymphocyte subsets in allergens immunotherapy of children

CHEN Jiang,REN Yi,HE Na,SHI Lin

(Department of Pediatrics, Maternal and Child Health Hospital of Haikou, Haikou, Hainan 570102, China)

Abstract: Objective To compare the changes of B lymphocyte subsets in children before and after allergen immunotherapy (AIT), and to clarify the role of B cell subsets in AIT treatment. **Methods** Flow cytometry was used to detect the number of B lymphocyte subsets in 32 children before and after allergen immunotherapy. Thirty-two healthy children with matched age and sex were selected as the control group. **Results** The relative and absolute numbers of activated B lymphocytes were significantly lower than those before treatment ($P=0.001$). There was no significant change in the other B lymphocyte subsets ($P>0.05$). **Conclusions** Immunotherapy of allergens directly affects the differentiation of B lymphocytes, and results in a decrease in the activity of B cells. Active B cell count can be used as evaluation indicators in AIT treatment effect and whether there is the need for continued treatment, which has important clinical value.

Key words: Allergen immunotherapy; B lymphocytes; Asthma; Allergic rhinitis

过敏原免疫治疗(AIT)是用来治疗由吸入性过敏原引起的免疫球蛋白 E(IgE)介导的变态反应性疾病如哮喘及过敏性鼻炎的有效治疗措施^[1]。一直以来关于 AIT 的作用机制尚无定论^[2]。目前的研究认为其可能的作用机制为减少肥大细胞及嗜碱性粒细胞的应答,降低特异性免疫蛋白 IgE 水平及诱导调节性 T 细胞的产

生^[3]。最近的研究显示 B 细胞的某些亚群具有分泌白细胞介素-10(IL-10)的能力或在 AIT 作用机制中起重要作用^[4],然而尚缺乏 B 细胞亚群在 AIT 治疗机制中的作用相关研究,本研究拟通过比较儿童接受 AIT 治疗前后 B 淋巴细胞亚群的变化,为明确 B 细胞亚群在 AIT 治疗机制中的作用提供参考。

[7] 郝晓晖,姚岚,唐神结,等. 初治耐多药肺结核临床疗效及其转归队列分析[J]. 中国传染病杂志,2012,30(3):157-161.

[8] SKOWRONSKI M,ZOZULINSKA-ZOLKIEWICZ D,BARINOW-WOJEWODZKI A. Tuberculosis and diabetes mellitus — an underappreciated association[J]. Arch Med Sci,2014,10(5):1019-1027.

[9] FAUSTINI A,HALL AJ,PERUCCI CA. Risk factors for multidrug resistant tuberculosis in Europe: a systematic review[J]. Thorax, 2006,61(2):158-163.

[10] 李哲明,谭守勇,邝浩斌,等. 耐多药肺结核患者既往治疗情况对治疗效果的影响[J]. 广东医学,2015,36(20):3169-3172.

[11] 丁晓艳,许卫国,竺丽梅,等. 175 例耐多药肺结核患者治疗转归情况分析[J]. 中国防痨杂志,2014,36(4):238-243.

[12] 范玉美,李贵坚,夏强,等. 浙江省耐多药肺结核患者对二线药物的耐药情况及近期疗效分析[J]. 中华临床感染病杂志, 2015,8(1):26-30.

[13] 张红伟,高志东,贺晓新,等. 个体化方案治疗耐多药肺结核患者不良反应分析[J]. 中国防痨杂志,2016,38(2):133-138.

[14] 周践,武晓玉,张玉萌,等. 5165 例药品不良反应报表分析[J]. 中国药物应用与监测,2004,1(1):45-47.

(收稿日期:2017-01-07,修回日期:2017-02-06)

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 6 月—2017 年 1 月在海口市妇幼保健院接受 AIT 治疗的儿童支气管哮喘或过敏性鼻炎患者 32 例作为观察组,其中男童 18 例(56.3%),女童 14 例(43.7%),年龄 6~12 岁,平均年龄 9 岁,哮喘者 2 例(6.3%),过敏性鼻炎者 7 例(21.9%),哮喘合并过敏性鼻炎者 23 例(71.9%)。按成组年龄性别匹配的方法另选取 32 例健康儿童作为对照组,其中性别构成和平均年龄与观察组相同。32 例患儿均符 ICD-10 疾病分类诊断标准^[5],达到 AIT 治疗要求。本研究获海口市妇幼保健院伦理委员会审批,患儿家属均签署知情同意书。

1.2 研究方案 对照组为健康儿童,无需给予治疗。观察组患者采用每月 1 次 AIT 法在前臂内侧皮下注射 0.1 mL 抗原提取液,治疗周期为 1 年。检测治疗前两组 B 淋巴细胞亚群的差异及观察组治疗前后 B 淋巴细胞亚群的变化,同时评估观察组 AIT 治疗前后支气管哮喘及过敏性鼻炎症状的得分。

1.2.1 B 淋巴细胞亚群检测方法 用乙二胺四乙酸(EDTA)管抽取所有研究对象静脉血 3 mL,以 3 000 r·min⁻¹离心 15 min,避光放置 5 min 后弃上清液,加入 1 mL 磷酸盐缓冲液(PBS)混匀后采用流式细胞仪分析测定 B 淋巴细胞亚群免疫分型,免疫分型采用以下单克隆抗体识别:IgD PE,CD19 APC 和 CD27 FITC,所用试剂由德国 BD Biosciences 公司提供。流式细胞仪为美国 Beckman Coulter 公司 EP-ICS—XL 型流式细胞仪。根据测定结果 B 淋巴细胞亚群可分为活性 B 细胞(CD19⁺ CD38⁻ CD21⁻),记忆 B 细胞(CD19⁺ CD27⁺),幼稚 B 细胞(CD19⁺ IgD⁺ CD27⁻),成熟 B 细胞(CD19⁺ IgD⁻ CD27⁺),成熟敏感 B 细胞(CD19⁺ IgD⁻ CD23⁺),成熟非敏感 B 细胞(CD19⁺ IgD⁻ CD23⁻),幼稚敏感 B 细胞

(CD19⁺ IgD⁺ CD23⁺),幼稚非敏感 B 细胞(CD19⁺ IgD⁺ CD23⁻)。

1.2.2 评估观察组 AIT 治疗前后症状得分 评估哮喘患儿哮喘症状(咳嗽、喘息、呼吸困难、胸部疼痛)得分,评分标准为^[6-7]:(1)白天或晚上均无症状记 0 分;(2)有哮喘症状但不影响日常生活或夜间睡眠记 1 分;(3)有哮喘症状且对日常生活或夜间睡眠有轻微影响记 2 分;(4)哮喘症状每周至少有 2 d 以上影响到日常生活或夜间睡眠。评估观察组过敏性鼻炎症状(打喷嚏、鼻痒、流鼻涕和鼻塞)得分,评分标准为^[5-6]:(1)白天或晚上均无症状记 0 分;(2)有症状但无不适记 1 分;(3)有哮喘症状且有不快感但对日常生活或夜间睡眠无影响记 2 分;(4)症状影响到日常生活或夜间睡眠记 3 分。

1.3 统计学方法 计量资料以中位数、极小值、极大值表示,Mann-Whitney U 检验统计分析,计数资料以百分比及绝对值的形式描述,以 χ^2 检验统计分析,所有统计分析均采用 SPSS20.0 软件, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 AIT 治疗前后 B 淋巴细胞亚群的比较 观察组患儿接受 AIT 治疗前 B 淋巴细胞各亚群(成熟、幼稚、记忆、活性、成熟敏感、成熟非敏感、幼稚敏感、幼稚非敏感)的相对数(百分率)和绝对数与对照组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。观察组 AIT 治疗后 B 淋巴细胞亚群中活性 B 细胞的相对数和绝对数明显低于治疗前水平($P = 0.001$),其余 B 淋巴细胞亚群治疗前后均差异无统计学意义($P > 0.05$),具体数据见表 1。

2.2 观察组在 AIT 治疗前后哮喘或过敏性鼻炎症状比较 经过 1 年的 AIT 治疗后,观察组患儿的哮喘症状或过敏性鼻炎症状与治疗前相比均有明显的改善,差异有统计学意义($P < 0.05$),具体数据见表 2。

表 1 两组 AIT 治疗前后 B 淋巴细胞亚群的比较/(个·mm⁻³)

B 淋巴细胞亚群	观察组		对照组	观察组治疗前 vs 治疗后		观察组治疗前 vs 对照组		观察组治疗后 vs 对照组	
	治疗前	治疗后		χ^2 值	P 值	χ^2 值	P 值	χ^2 值	P 值
成熟 B 细胞	17(426)	15(404)	16(403)	1.025	0.841	1.146	0.832	1.005	0.871
幼稚 B 细胞	42(176)	62(227)	41(152)	1.873	0.436	1.845	0.458	1.836	0.452
记忆 B 细胞	6(22)	5(17)	5(19)	1.269	0.753	1.274	0.739	1.282	0.732
活性 B 细胞	25(147)	4(16)	8(33)	6.428	0.001	3.641	0.106	6.364	0.003
成熟敏感 B 细胞	8(29)	5(22)	6(30)	1.762	0.474	1.791	0.435	1.478	0.452
成熟非敏感 B 细胞	18(109)	13(56)	19(48)	2.864	0.266	2.915	0.261	3.127	0.253
幼稚敏感 B 细胞	44(152)	46(197)	53(201)	2.475	0.381	2.583	0.372	2.476	0.381
幼稚非敏感 B 细胞	16(47)	22(86)	25(104)	1.826	0.479	1.786	0.485	1.845	0.463

表 2 观察组 AIT 治疗前后哮喘或过敏性鼻炎症状比较/分

项目	AIT 治疗前	AIT 治疗后	Z 值	P 值
哮喘症状得分				
咳嗽	3[1~3]	1[0~3]	5.268	0.014
喘息	3[1~3]	1[0~3]	6.836	0.002
呼吸困难	3[0~3]	0[0~2]	6.137	0.008
过敏性鼻炎症状得分				
打喷嚏	3[2~4]	1[0~4]	8.328	<0.001
鼻痒	3[1~4]	1[0~2]	9.416	<0.001
流鼻涕	3[1~3]	1[0~2]	9.539	<0.001
鼻塞	3[0~4]	1[0~2]	8.647	<0.001

3 讨论

过敏原免疫治疗主要是通过对过敏性鼻炎和支气管哮喘患者长期使用过敏原提取液,使机体产生免疫耐受从而缓解临床症状的方法。此外,AIT 治疗法还可以降低过敏性鼻炎进展为哮喘的概率。目前公认的 AIT 治疗机制有^[8-9]:(1)通过纠正 Th1/Th2 平衡失调,Th1/Th2 失衡是过敏性疾病的重要发病基础,AIT 治疗可以提高 Th1/Th2 比例,下调 Th2 细胞的反应抑制其分泌白细胞介素-9(IL-9)、白细胞介素-13(IL-13)等在过敏性疾病起重要作用的细胞因子;(2)诱导调节 T 细胞的产生及免疫耐受,调节 T 细胞可分泌 IL-10 和转化生长因子-β(TGF-β),调节效应性 Th2 细胞的炎症活动,抑制由效应细胞如肥大细胞、嗜碱粒细胞和嗜酸粒细胞介导的过敏性炎症反应;(3)AIT 可减少肥大细胞的数量和降低肥大细胞释放功能。

本研究对接受 AIT 治疗的儿童哮喘或过敏性鼻炎患者采用流式细胞术法检测了 B 淋巴细胞亚群的变化。结果显示经过 1 年的治疗,患者活性 B 淋巴细胞的相对数及绝对数均有显著降低,而其他 B 淋巴细胞亚群未见有明显变化。结果显示活性 B 淋巴细胞可能在 AIT 治疗中起重要作用。B 淋巴细胞在骨髓的成熟过程比较复杂包括前 B 细胞、不成熟 B 细胞、成熟 B 细胞、活化 B 细胞、浆细胞 5 个阶段,成熟 B 细胞受抗原刺激后变成活化 B 细胞,此过程中分泌型 Ig 逐渐增加,免疫反应增强。AIT 治疗后活性 B 细胞数量减少说明抗原依赖性 B 淋巴细胞的分化在过敏性免疫反应中更慢。

一般而言,AIT 治疗后 0.5~1 年时间需要对治疗效果进行评估^[10]。本研究中观察组患者经 1 年治疗后支气管哮喘或过敏性鼻炎症状均有明显改善,而活性 B 细胞的分化与上述症状有显著相关,该结果也与 AIT 治疗后活性 B 细胞数量的减少相一致。

综上所述,AIT 治疗后活性 B 淋巴细胞明显减少,活性 B 淋巴细胞或可作为 AIT 治疗效果及是否需要继续治疗的评估指标,具有临床应用价值。

参考文献

[1] NELSON HS,CALDERON MA,BERNSTEIN DI,et al. Allergen immunotherapy clinical trial outcomes and design;working toward harmonization of methods and principles[J]. Curr Allergy Asthma Rep,2017,17(3):18.

[2] HOFFMANN HJ,VALOVIRTA E,PFAAR O,et al. Novel approaches and perspectives in allergen immunotherapy[J]. Allergy, 2017,72(7):1022-1034.

[3] ŞAHİN E,BAFAQEEH SA,GÜVEN SG,et al. Mechanism of action of allergen immunotherapy[J]. Am J Rhinol Allergy,2016,1(5):1-3.

[4] CELIKSOY MH,SANCAK R,YILDIRAN A. The role of active B cells in allergen immunotherapy[J]. Allergol Immunopathol (Madr),2017,45(1):39-44.

[5] 韦丽群,王艳玫,邹世坤. 几种常见支气管疾病 ICD-10 编码 [C]. 中国医院协会病案管理专业委员会第 22 届学术会议论文集,重庆,2013:112-113.

[6] YUKSELEN A,KENDIRLI SG,YILMAZ M,et al. Two year follow-up of clinical and inflammation parameters in children monosensitized to mites undergoing subcutaneous and sublingual immunotherapy[J]. Asian Pac J Allergy Immunol,2013,31(3):233-241.

[7] BOUSQUET PJ,COMBESURE C,NEUKIRCH F,et al. Visual analog scales can assess the severity of rhinitis graded according to ARIA guidelines[J]. Allergy,2007,62(4):367-372.

[8] 王敏,张伟,张罗. 过敏性鼻炎及过敏原免疫治疗机制的研究进展[J]. 中国免疫学杂志,2010,26(12):1137-1140.

[9] SOYER OU,AKDIS M,AKDIS CA. Mechanisms of subcutaneous allergen immunotherapy[J]. Immunol Allergy Clin North Am, 2011,31(2):175-190, VII-VIII.

[10] COX L,NELSON H,LOCKEY R,et al. Allergen immunotherapy;a practice parameter third update[J]. J Allergy Clin Immunol, 2011,127(1 Suppl):S1-S55.

(收稿日期:2017-04-10,修回日期:2017-05-01)