

尖锐湿疣患者外周血 Th1/Th2 淋巴细胞比的改变

李莉¹, 袁再高¹, 袁抗¹, 袁刘萍¹, 袁洗汶¹, 袁正山² 第一军医大学南方医院¹ 皮肤科袁血液科袁广东 广州 510515 袁

摘要目的 探讨 CA 患者 Th1/Th2 淋巴细胞分布失衡情况及其与发病的相关性遥方法 采用流式细胞分析技术检测 40 例 CA 患者及 20 例健康志愿者的外周血 CD4⁺T 淋巴细胞中胞内细胞因子 IFN- γ 和 IL-4 的表达并分析 Th1/Th2 比值在 CA 发病中的作用遥结果 CA 患者外周血分泌 IFN- γ 的 Th1 细胞显著减少 渊<0.05 袁 而分泌 IL-4 的 Th2 细胞显著增高 渊<0.05 袁 Th1/Th2 比值降低袁与健康对照组相比有显著差异 渊<0.01 袁 结论 CA 患者存在 Th1/Th2 淋巴细胞分布失衡情况遥外周血中 Th1 细胞减少袁 Th2 细胞增多并相对占优势遥 Th1/Th2 淋巴细胞平衡在 CA 发病机制及复发中具有重要作用遥

关键词 尖锐湿疣 淋巴细胞 流式细胞术

中图分类号 袁 392.11;R752.53 文献标识码 袁 文章编号 院 000-2588 渊 003 袁 7-0737-03

Changes in peripheral blood Th1/Th2 cell balance in patients with condyloma acuminatum

LILi¹, ZHOUZai-gao¹, ZENGLiang¹, LIANGLiu-ping¹, ZHOUXian-yi¹, YIZheng-shan²

Departments of Dermatology¹ and Hematology², Nanfang Hospital, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China

Abstract: Objective To explore the association of peripheral blood Th1 and Th2 imbalance with the occurrence of condyloma acuminatum (CA). Methods Interferon- γ (IFN- γ) and interleukin-4 (IL-4) secreted by CD4⁺T-cells were detected by flow cytometry in 40 patients with CA and 20 healthy volunteers, and significance of Th1/Th2 cell ratio in the etiology of the CA was analyzed. Results Peripheral blood Th1 cells that secreted IFN- γ were significantly decreased in number in patients with CA ($P < 0.05$), while Th2 cells producing IL-4 increased ($P < 0.05$). The Th1/Th2 cell ratio was significantly reduced in CA patients as compared with the health control subjects ($P < 0.01$). Conclusion Increases of Th2 cells and decrease of Th1 cells in the peripheral blood of CA patients result in relative Th2 predominance and breach the Th1/Th2 balance, which may play an important role in the etiology and recurrence of CA.

Key words: condyloma acuminatum; T-lymphocytes; flow cytometry

尖锐湿疣 condyloma acuminatum, CA 是目前最常见的性传播疾病之一袁由人乳头瘤病毒 HPV 感染引起袁机体对于入侵的 HPV 主要以 T 细胞介导的细胞免疫为主遥人类 CD4⁺T 淋巴细胞可根据产生的不同类型的细胞因子分为 3 个亚群 院 Th1 尧 Th2 和 Th0 细胞 袁 其中 Th1 细胞主要产生干扰素- γ 尧 IFN- γ 尧 白细胞介素-2 渊 IL-2 袁 和肿瘤坏死因子- α 渊 TNF- α 袁 等 袁 Th2 细胞主要产生 IL-4 尧 IL-5 尧 IL-6 和 IL-10 等遥 本研究通过流式细胞仪检测 CA 患者外周血 CD4⁺T 细胞胞内细胞因子 IFN- γ 和 IL-4 的表达袁旨在探讨 CA 患者 Th1/Th2 淋巴细胞分布的失衡情况及其与 CA 发病的相关性遥

1 对象和方法

1.1 研究对象

2001 年 7 月 ~2002 年 10 月在我院皮肤科门诊

收稿日期 院 003-04-18

作者简介 李莉 渊 974 袁 女 袁 广东梅县人 袁 现为第一军医大学在读硕士研究生 袁 电话 院 20-61641888-87138 袁 袁-mail:lilyzzr@sohu.com

初次就诊的 40 例 CA 患者 袁 均有明确接触史 遥 临床确诊 袁 醋酸白实验阳性 袁 病理组织检查有典型的空泡细胞遥 病程 1~24 周 袁 平均 2.6 周 袁 女 22 例 袁 男 18 例 袁 已婚 23 例 袁 未婚 17 例 袁 年龄 18~52 岁 袁 平均 28.1 岁遥 所有患者就诊前 4 周内未用过免疫调节药物 袁 并排除患有肝肾疾病 尧 糖尿病及其他免疫性疾病遥 正常对照 20 例 袁 均为健康志愿者 袁 其中男 11 例 袁 女 9 例 袁 平均 21.3 岁遥

1.2 主要试剂及仪器

CYTODETECTTM 试剂盒购自荷兰 ImmunoQuality Products 公司 袁 PMI1640 培养液及胎牛血清购自美国 GIBCO BRL 公司 袁 D8-FITC 单克隆抗体 尧 CD3-Cy 单克隆抗体和 PE 标记的鼠 IgG₁ 同种型对照免疫球蛋白均购自 Becton Dickinson 公司 袁 E 标记的抗人 IL-4 及抗人 IFN- γ 购自荷兰 IQ 公司遥 流式细胞仪为 Becton Dickinson 公司产品遥

1.3 方法

1.3.1 培养活化 取 1ml 新鲜外周血 袁 肝素抗凝 遥 按 1 颐 1 比例用 RPMI1640 培养液混匀后取 1ml 加入 24

孔培养板分别加入刺激剂佛波酯、离子霉素和蛋白质转运抑制剂莫能霉素各 20 μg。对照组则只加莫能霉素。在 37 ℃、5% CO₂ 温箱中孵育 5 h。

1.3.2 标记表面抗原及固定 在试管中加入 10 μg CD3-cy 和 10 μg CD8-FITC。各管中分别加入 300 μl 培养全血。室温下暗处孵育 20 min。加入 4 ml 溶血剂。南方医院血液科实验室提供。暗处孵育 10 min。1000 r/min 离心 5 min。后弃上清。用 Hanks 液。BSS 洗涤。后弃上清。加入 500 μl 2% 多聚甲醛。室温下孵育固定 10 min。置冰箱过夜。

1.3.3 破膜及标记细胞内抗原 加入 1.5 ml 的破膜剂。离心后弃上清。在 100 μl 的破膜液中使细胞悬浮。分别加入 10 μg 的 PE 标记的抗人 IL-4 及抗人 IFN-γ 单克隆抗体。同型对照采用 PE 标记的小鼠 IgG₁ 单克隆抗体。4 ℃ 暗处孵育 20 min。破膜液洗涤后。在 100 μl HBSS 中制成混悬液。2 h 内上机检测。

1.3.4 流式细胞仪分析 因为 CD4 抗原的表达在刺激剂佛波酯作用下会下调。因此用 CD3⁺CD8⁻ 设门来圈定 CD4⁺ T 淋巴细胞群。收集 1 × 10⁴ 细胞。用 CellQuest 软件分析数据。打印出散点图。以荧光抗体染色阳性细胞的百分率记录结果。

1.3.5 统计学处理 应用 SPSS11.0 统计软件。行 t 检验。

2 结果

由表 1 可见。CA 患者外周血分泌 IFN-γ 的 CD4⁺ T 淋巴细胞数显著多于分泌 IL-4 的 CD4⁺ T 淋巴细胞数。与健康对照组相比。CA 患者分泌 IFN-γ 的 Th1 细胞阳性细胞数降低。而分泌 IL-4 的 Th2 细胞阳性细胞数增高。差异有统计学意义。P < 0.05。同时患者 Th1/Th2 比值显著低于对照组。P < 0.01。

表 1 Th1 和 Th2 细胞流式细胞仪检测结果 (%、 \bar{x} 、s)

Tab.1 Flow cytometry of Th1 and Th2 cells (%、Mean、s)

Group	n	Th1 cell (IFN-γ positive)	Th2 cell (IL-4 positive)	Th1/Th2
Control	20	19.27 ± 6.63	1.48 ± 0.92	7.54 ± 4.45
CA	40	11.11 ± 7.79*	2.43 ± 2.21*	5.30 ± 7.76**

*P < 0.05, **P < 0.01 vs control

3 讨论

HPV 感染后 CA 的发生、发展、消退及癌变等都与机体的免疫应答密切相关。而辅助性 T 细胞在抗病毒免疫中起着重要作用。Th1 细胞主要参与细胞免疫。介导迟发型变态反应。Th2 细胞主要参与体液免疫。介导速发型变态反应。Th1/Th2 比值的平衡是维持正常免疫功能的重要因素。在清除病毒和肿瘤诱导免疫耐受等方面起着重要作用。对于细胞内病

毒感染的免疫反应。以 Th1 应答为主。Th1 细胞可能通过清除病毒来促使机体恢复。而 Th2 细胞亚群功能的增高。则可能造成机体对病毒的耐受。使疾病迁延不愈。

国内外有关 CA 免疫状态的研究发现。在其免疫应答过程中存在着 Th1 和 Th2 类淋巴细胞分泌细胞因子交互作用失衡的现象。IL-10 等 Th2 型细胞因子增多。而 IFN-γ 等 Th1 型细胞因子减少。据此国外学者认为在 CA 免疫状态中存在克隆漂移。clonal diversion 现象。

本研究中。分别选用 IFN-γ 和 IL-4 作为 Th1 和 Th2 类代表性细胞因子。在体外对 CA 患者外周血 T 淋巴细胞进行激活后。经流式细胞仪对其 CD4⁺ T 淋巴细胞中 Th1 和 Th2 细胞亚群进行检测。实验结果显示。CA 患者普遍存在 Th1 型细胞亚群降低。Th2 型细胞亚群增高。以及 Th1/Th2 比值降低。说明在 CA 患者中。由 HPV 激发的细胞免疫应答中。Th2 亚群功能增强。其细胞活动处于相对强势。而不能诱导有效细胞免疫应答。而清除病毒。导致临床上 CA 的迁延和复发。

传统检测 Th1/Th2 细胞的方法。采用对标本中 T 淋巴细胞进行培养后。测定培养上清液中的细胞因子成分。通过计算上述细胞因子的比率。而推测计算 Th1 和 Th2 细胞频率。不够精确且费时。本研究采用荧光标记的抗细胞因子单克隆抗体。结合细胞固定破膜打孔技术。用流式细胞仪来检测单个细胞水平内细胞因子的方法。能够大大增加对 Th1/Th2 亚群检测的敏感性和特异性。

对 Th1/Th2 细胞亚群的检测。主要在于观察和分析机体的免疫状况及疾病发展动向。根据 CA 患者机体 Th1/Th2 的漂移情况。设计治疗方案。调整机体的 Th1/Th2 平衡状态。设法使得免疫反应由 Th2 型向 Th1 型逆转。将有助于临床治疗 CA 及其抗复发的研究。

参考文献

DeL-Prete G. The concept of type-1 and type-2 helper T cells and their cytokines in humans. *Int Rev Immunol*, 1998, 16(3-4): 427-55.

Bonagura VR, Hatam L, de-Voti J, et al. Recurrent respiratory papillomatosis: altered CD8(+) T-cell subsets and T(H)1/T(H)2 cytokine imbalance. *Clin Immunol*, 1999, 93(3): 302-11.

al Saleh W, Giannini SL, Jacobs N, et al. Correlation of T-helper secretory differentiation and types of antigen-presenting cells in squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix. *J Pathol*, 1998, 184(3): 283-90.

El-Sherif AM, Seth R, Tighe PJ, et al. Quantitative analysis of IL-10 and IFN-γ mRNA levels in normal cervix and human papillomavirus type 16 associated cervical precancer. *J Pathol*, 2001, 195(2): 179-85.

咱暂GrasseggerA,Rollinger-HolzingerI,ZelgerBW.Spontaneousorinterferon-gamma-inducedT-cellinfiltration,HLA-DRandICAM-1 expression in genitoanal warts are associated with TH1 or mixed TH1/TH2cytokineRNAexpressionprofiles 咱暂 ArchDermatol Res,1997,289(5):243-50.

咱暂RostaingL,TkaczukJ,DurandM, et al. Kineticsofintracytoplasmic Th1 andTh2cytokineproductionassessed by flowcytometry following invitro activationofperipheralbloodmononuclearcells 咱暂 Cytometry,1999,35(4):318-28. 瀑任编辑黄开颜

肺胚胎性癌肉瘤 1 例报告

Pulmonary blastoma: report of one case

邱跃灵¹ 袁张耀亭¹ 袁张闽峰² 解放军第 175 医院¹ 肺科白病理科 福建 漳州 363000 冤

关键词肺肿瘤 / 治疗 胚胎性癌肉瘤

中图分类号R734.2 文献标识码B 文章编号院000-2588(2003)07-0739-01

肺胚胎性癌肉瘤pulmonaryblastoma是临床上极其罕见的一种肺部恶性肿瘤遥我院于 1999 年 5 月收治 1 例袁经手术和病理证实遥现报告如下遥

1 临床资料

患者男袁0 岁遥1998 年 3 月起出现活动后胸闷尧气喘袁息可缓解袁未诊治遥 999 年 2 月起症状加重袁咳嗽袁咳少量白痰袁右胸背部疼痛袁无发热遥既往体健遥同年 5 月 17 日入本院袁体检示右胸廓稍塌陷袁右肺语颤减弱袁叩诊实音袁呼吸音消失遥胸片示右全肺大片致密影袁纵隔宽尧影无移位遥胸部 CT 示右主支气管呈棒槌状扩张袁右肺部分萎缩袁向内侧聚拢袁右肺及右胸腔呈大片高密度影袁可见多个空腔袁伴有气液平面遥胸腔内未见积液遥拟诊右肺先天性发育不全袁先天性囊肿并慢性感染遥于 5 月 25 日开胸探查袁见壁层及脏层胸膜明显增厚遥胸腔内有一大囊腔袁内有分隔及胶冻状物及暗红色积液遥约 650 ml 冤 胸顶部有一 4 cm伊 4 cm伊 4 cm 病灶袁包膜较薄袁呈烂鱼肉状 右肺明显受压袁纵隔胸膜及肺门部广泛结节状病灶袁并在肺门处形成巨块状遥病理检查肿瘤组织质嫩袁肉状遥光镜下见肿瘤由腺管样结构的上皮成分和肉瘤样间质混合组成遥上皮细胞核大尧深染袁核型明显袁呈巢团状排列 肉瘤样细胞梭形袁胞丰富袁排列紧密袁呈编织状 两种成分之间无移行过渡袁并可见小灶性坏死遥肉瘤成分免疫组化检查 院imentin(+), Keratin (-)遥病理诊断院右肺胚胎性癌肉瘤 鳞癌 + 梭形细胞肉瘤 冤

2 讨论

肺肉瘤是一种罕见的复合性肿瘤袁发病率仅占肺部肿瘤的 0.1% 遥肺胚胎性癌肉瘤更为罕见 袁其组织成分除具有癌肉瘤特点外袁尚含有胎儿肺样结构及幼稚组织遥肺肉瘤可以是任何类型的癌和肉瘤以任何比例复合 袁其成分以鳞癌最多见袁腺癌次之 袁肉瘤成分以纤维肉瘤及梭形细胞肉瘤最常见 遥

关于肺癌肉瘤的组织发生袁目前看法仍不一致 袁主要有以下 3 种观点 袁1) 多克隆学说院癌和肉瘤同时来源于不同的细胞 冤2) 单克隆学说院由一种多能干细胞向癌和肉瘤两种方向分

化 冤3) 上皮或间质中的一种成分恶变袁诱发了另一种成分产生恶变 遥近有学者提出以肉瘤样癌取代癌肉瘤诊断 二者区别在于肉瘤样癌中肉瘤样结构免疫组化检查有上皮性标志物表达 袁光镜下有明确的癌和肉瘤样成分之间的移行过渡 遥

本病好发于男性 袁男女发病比例约为 5 遥遥临床表现有咳嗽尧胸痛尧痰血等 袁无特异性症状遥按肿瘤生长部位袁可分为中央型和周围型遥前者好发于叶尧段支气管袁呈息肉状袁生长较慢 袁恶性程度稍低 袁易造成管腔堵塞 袁较早出现症状而引起警觉 尧后者起源于较小的支气管 袁常侵犯肺实质 袁瘤体较大 袁恶性程度较高 袁早期出现广泛转移 袁因症状轻而较难发现 袁因此病程较长 袁发现时已属晚期 袁预后差遥胸片常为孤立性肿块 袁约 1/3 病例肿块直径大于 6 cm 遥术前一般很难确诊 袁原因是本病发病率极低 袁临床上不易考虑 袁临床症状及 X 线表现与肺癌极相似 袁纤维支气管镜检查或肺穿刺活检常只能获取一种恶性细胞 袁而痰脱落细胞学检查又不能发现肉瘤细胞遥治疗首选手术 袁术后可辅以放疗 袁治疗效果不理想遥肺癌肉瘤预后不佳 袁中位生存期 9 个月 袁年生存率少于 10% 遥遥本病例由于胸片及胸部 CT 均表现为右全肺致密阴影 袁T 尚可见右主支气管棒槌状扩张 尧多个空腔并气液平面 袁误诊为先天性肺尧支气管发育不良遥胸顶部肿块从病理结果看 袁属外周型肺癌肉瘤遥类似本病例表现 袁国内尚未见报道遥本例患者术后放射治疗 2 个疗程 袁生存 11 个月遥

参考文献院

咱暂蔡执敏,蔡廉甫.肺癌肉瘤三例报告并文献复习咱暂中华结核和呼吸杂志(ChinJTubercRespirDis),1989,12(3):164-6.
咱暂胡正群,张开广.肺癌肉瘤的临床分析咱暂中华结核和呼吸杂志(ChinJTubercRespirDis),1998,21(10):593-4.
咱暂HolstVA,FinkelsteinS,ColbyTV, et al. P53andK-rasmutational genotyping inpulmonarycarcinosarcoma, spindlecell carcinoma andpulmonaryblastoma: implicationsforhistogenesis 咱暂 AmJ Surgpathol,1997,21(7):801-11.
咱暂丁华野,廖松林.癌肉瘤和肉瘤样癌咱暂诊断病理学杂志(JDiag Pathol),1999,6(1):56-7.
咱暂IshidaT,TateishiM,KunekoS, et al. Carcinosarcomaandspindle cell carcinomaofthelung咱暂ThoracSurg,1990,100(5):844-7.

收稿日期院002-11-26

作者简介院邱跃灵,男,福建龙海人,袁990 年毕业于第一军医大学,副主任医师,电话院596-2960360