

DOI:10.13350/j.cjpb.220614

• 临床研究 •

Treg/Th17 失衡及体液免疫功能紊乱与轮状病毒性肠炎伴心肌损害患儿发病风险的关系

杨雨婷¹, 张冉², 汪雅³, 张茂^{1*}

(1. 重庆医科大学附属儿童医院中医科, 国家儿童健康与疾病临床医学研究中心, 儿童发育疾病研究教育部重点实验室, 儿科学重庆市重点实验室, 重庆 400015; 2. 西安市雁塔区曲江社区卫生服务中心儿保科; 3. 成都中医药大学附属医院儿科)

【摘要】 **目的** 探讨调节性 T 淋巴细胞(regulatory T lymphocyte, Treg)/辅助性 T 淋巴细胞(T helper lymphocyte, Th)17 比例失衡及体液免疫功能紊乱与轮状病毒性肠炎伴心肌损害患儿发病风险的关系。 **方法** 选择 2017 年 4 月-2020 年 3 月于成都中医药大学附属医院进行治疗的 123 例轮状病毒性肠炎伴心肌损害患儿作为观察组, 选取同期收治的 123 例轮状病毒性肠炎无心肌损害患儿作为对照组。采用全自动生化分析仪检测血清 CK-MB, 采用化学发光法检测 cTnI 水平, 采用流式细胞仪检测血清 Treg、Th17 水平, 采用免疫比浊法检测血清免疫球蛋白水平, 采用透射比浊法检测补体水平。对 Treg/Th17 比例失衡及体液免疫功能因素进行单因素分析及 *Logistics* 线性回归分析。 **结果** 观察组患儿的血清 CK-MB 和 cTnI 水平((73.25±27.95)U/L、(12.06±4.78)pg/ml)明显高于对照组((17.28±4.03)U/L、(11.02±1.52)pg/ml), 差异具有统计学意义($t=21.981, 2.230$, 均 $P<0.05$)。观察组患儿的血清 Treg 水平((2.28±0.49)%明显低于对照组((3.37±0.78)%), 而血清 Th17 水平((1.66±0.25)%显著高于对照组(0.89±0.12)%), 差异具有统计学意义($t=13.124, 30.745$, 均 $P<0.05$)。观察组患儿的血清 IgA 和 IgG 水平((0.48±0.15)g/L、(7.59±2.13)g/L)明显低于对照组((1.02±0.39)g/L、(9.13±2.52)g/L), 差异具有统计学意义($t=14.333, 5.176$, $P<0.05$), 而两组患儿血清 IgM 水平比较((1.22±0.62)g/L vs (1.23±0.65)g/L), 差异无统计学意义($t=0.123, P>0.05$)。两组患儿血清 C₃ 和 C4 水平比较((1.23±0.49)g/L vs (1.25±0.51)g/L, (0.23±0.07)g/L vs (0.22±0.08)g/L), 差异无统计学意义($t=1.083, 1.043, P>0.05$)。单因素分析结果显示, 两组患儿在 Treg/Th17 比例、IgA 和 IgG 水平方面, 差异具有统计学意义($\chi^2=102.455, 118.609, 104.072$, 均 $P<0.05$)。多因素 Logistic 线性回归分析结果显示, Treg/Th17 比例过低、IgA 和 IgG 水平过低是导致轮状病毒性肠炎伴心肌损害发生的危险因素。 **结论** Treg/Th17 比例失衡及体液免疫功能紊乱是轮状病毒性肠炎伴心肌损害患儿发病的危险因素, 临床需根据上述因素采取针对性的预防对策。

【关键词】 Treg/Th17 比例失衡; 体液免疫功能紊乱; 轮状病毒性肠炎; 心肌损害

【中图分类号】 R378

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2022)06-0689-04

[*Journal of Pathogen Biology*. 2022 Jun.; 17(6):689-692, 697.]

Relationship between Treg/Th17 imbalance, humoral immune dysfunction and the risk of myocardial damage in children with rotavirus enteritis

YANG Yu-ting¹, ZHANG Ran², WANG Ya³, ZHANG Mao¹ (1. *Department of Traditional Chinese Medicine, Children's Hospital of Chongqing Medical University, National Clinical Research Center for Child Health and Disorders, Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders, Chongqing Key Laboratory of Pediatrics, Chongqing 400015, China*; 2. *Department of Children's Health Prevention, Qujiang Community Health Service Center of Yanta District*; 3. *Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine*) *

【Abstract】 **Objective** To investigate the relationship between the imbalance of regulatory T lymphocyte(Treg)/helper T lymphocyte(th)17 ratio and the disorder of humoral immune function and the risk of rotavirus enteritis with myocardial damage. **Methods** To investigate the relationship between the imbalance of regulatory T lymphocyte(Treg)/helper T lymphocyte(th)17 ratio and the disorder of humoral immune function and the risk of rotavirus enteritis with myocardial damage. Methods 123 children with rotavirus enteritis with myocardial damage treated in the Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine from April 2017 to March 2020 were selected as the observation group, and 123 children with rotavirus enteritis without myocardial damage treated in the same period were selected as the control group. Serum CK-MB was detected by automatic biochemical analyze, cTnI level was detected by chemiluminescence

* **【通讯作者】** 张茂, E-mail: zhangmao_238@163.com

【作者简介】 杨雨婷(1994-)女, 重庆人, 硕士研究生, 住院医师, 主要从事小儿常见病的中医诊治。E-mail: yytatwork@163.com

method, serum Treg and Th17 levels were detected by flow cytometry, serum immunoglobulin level was detected by immunoturbidimetry, and complement level was detected by transmission turbidimetry. Univariate analysis and logistic linear regression analysis were performed for factors of Treg/Th17 imbalance and humoral immune function. **Results** The serum levels of CK-MB and cTnI in the observation group ((73.25 ± 27.95) U/L, (12.06 ± 4.78) pg/ml) were significantly higher than those in the control group ((17.28 ± 4.03) U/L, (11.02 ± 1.52) pg/ml), and the differences were statistically significant ($t = 21.981, 2.230, P < 0.05$). The serum level of Treg ($(2.28 \pm 0.49)\%$) in the observation group was significantly lower than that in the control group ($(3.37 \pm 0.78)\%$), while the serum level of Th17 ($(1.66 \pm 0.25)\%$) was significantly higher than that in the control group ($(0.89 \pm 0.12)\%$), the differences were statistically significant ($t = 13.124, 30.745, P < 0.05$). Serum levels of IgA and IgG in the observation group ((0.48 ± 0.15) g/L, (7.59 ± 2.13) g/L) were significantly lower than those in the control group ((1.02 ± 0.39) g/L, (9.13 ± 2.52) g/L), and the differences were statistically significant ($t = 14.333, 5.176, P < 0.05$). There was no significant difference in serum level of IgM between the two groups ((1.22 ± 0.62) g/L vs (1.23 ± 0.65) g/L) ($t = 0.123, P > 0.05$). There were no significant differences in serum levels of C3 and C4 between the two groups ((1.23 ± 0.49) g/L vs (1.25 ± 0.51) g/L, (0.23 ± 0.07) g/L vs (0.22 ± 0.08) g/L) ($t = 1.083, 1.043, P > 0.05$). Univariate analysis showed that there were statistically significant differences in Treg/Th17 ratio, IgA and IgG levels between the two groups ($\chi^2 = 102.455, 118.609, 104.072, P < 0.05$). Multivariate logistic linear regression analysis showed that low Treg/Th17 ratio, low IgA level and low IgG level were the risk factors leading to rotavirus enteritis with myocardial damage. **Conclusion** The imbalance of Treg/Th17 ratio and the disorder of humoral immune function are the risk factors of rotavirus enteritis with myocardial damage. Targeted preventive measures should be taken according to the above factors.

【Key words】 Treg/Th17 imbalance; humoral immune dysfunction; rotavirus enteritis; myocardial damage

轮状病毒性肠炎是由轮状病毒感染所致的消化系统疾病,多且好发于6~24个月的婴幼儿,其常有小流行,发病高峰常在秋季,因此又称为婴儿秋季腹泻^[1-2]。轮状病毒性肠炎约占婴幼儿感染性腹泻的50%,在全球5岁以下婴幼儿中的发病率为25%~47%^[3-4]。由于婴幼儿消化系统发育不完善、功能较弱,因而机体防御机能较差。轮状病毒具有较强的抵抗力,通过在人体小肠绒毛细胞中复制衍生导致肠黏膜损伤,从而导致婴幼儿出现腹泻、脱水及酸中毒等临床症状,严重者可致婴幼儿营养不良、发育迟缓,甚至威胁生命安全^[5]。由于婴幼儿免疫功能受损,轮状病毒感染后产生的非特异性物质可通过血液进入人体循环,影响其他器官,系统功能受损,心肌损害则是其中最为常见的并发结果,发病率为43.4%~68.9%^[6-7]。而此类心肌损害多无明显症状,仅心电图非特异性异常或心肌酶显著增高,一旦救治不及时将引发爆发性心肌炎,甚至猝死,临床需格外关注^[8]。轮状病毒性肠炎并发心肌损害与婴幼儿机体免疫力息息相关。调节性T淋巴细胞(regulatory T lymphocyte, Treg)能够维持机体免疫耐受,具有抗炎作用;辅助性T淋巴细胞17(T helper lymphocyte 17, Th17)是一类产生IL-17的Th细胞亚群,能够介导、促进炎性反应发生与发展, Treg和Th17相互制约与平衡, Treg/Th17比例失衡可能是许多炎症反应的启动与发展因素^[9-10]。体液免疫具有监视和防御清除轮状病毒及其产生的有毒物质的功能,通过血清免疫球蛋白及补体水平的检测可判断体液免疫功能情况^[11]。目前,对于机体免疫对

轮状病毒性肠炎并发心肌损害的影响鲜有报道,本研究旨在探讨Treg/Th17比例失衡及体液免疫功能紊乱与轮状病毒性肠炎伴心肌损害患儿发病风险的关系,为早期发现、预防轮状病毒性肠炎并发心肌损害提供参考。

资料与方法

1 一般资料

选择2017年4月-2020年3月于成都中医药大学附属医院进行治疗的123例轮状病毒性肠炎伴心肌损害患儿作为观察组,其中男68例,女55例;年龄1.5~4.0岁,平均年龄 (2.80 ± 0.55) 岁;体重8~15kg,平均体重 (9.05 ± 2.39) kg;病程3~5d,平均 (4.01 ± 0.41) d。随机选取同期成都中医药大学附属医院收治的123例轮状病毒性肠炎无心肌损害患儿作为对照组,其中男66例,女57例;年龄1.5~4岁,平均年龄 (2.87 ± 0.51) 岁;体重7~15kg,平均体重 (9.15 ± 2.42) kg;病程3~5d,平均 (4.07 ± 0.51) d。两组患儿在性别($\chi^2 = 0.066, P = 0.798$)、年龄($t = 0.068, P = 0.302$)、体重($t = 0.307, P = 0.745$)和病程($t = 0.059, P = 0.310$)方面,差异均无统计学意义。心肌损害诊断标准^[12]:CK-MB>25 U/L, CK>195 U/L, AST>40 U/L, LDH>240 U/L,其中至少2项出现异常则可以判定为心肌损害,ECG检查发现ST-T改变、频率异常。

全部患儿的监护人均知情同意,本研究经院伦理委员会批准通过。

2 观察组纳排标准

纳入标准:1)均经胶体金标准法检测轮状病毒阳性;2)符合2009年《儿童腹泻病诊断治疗原则的专家共识》的诊断标准^[13];3)病程<2周;4)大便次数>10次/d,呈蛋花汤或水样;5)伴发热、恶心、呕吐等症状;6)既往无心肌损害史。

排除标准:1)临床资料不完整患儿;2)合并严重心、肝、肺、肾等功能不全;3)严重营养不良;4)严重脱水;5)4周内用过糖皮质激素或免疫调节剂者;6)其他原因导致腹泻。

3 方法

治疗前,抽取患儿静脉血2 ml,以1 500 r/min(离心半径12 cm)离心10 min,分离血清,-80℃保存待检。

3.1 心肌损害检测 采用全自动生化分析仪(AU5800,美国贝克曼库尔特公司)测定血清CK-MB水平;采用化学发光分析仪(美国ThermoFisher, Luminoskan Ascent)测定血清cTnI水平。均使用配套试剂进行检测,检测步骤、方法均严格按照说明书进行。

心肌损害判定标准:CK-MB>25 U/L,CK>195 U/L,AST>40 U/L,LDH>240 U/L,其中至少2项出现异常则可以判定为心肌损害,ECG检查发现ST-T改变、频率异常。

3.2 Treg和Th17检测 血清中加入CD4、CD25抗体(英国Abcam公司产品),标记Treg,使用PBS洗涤后进行固定破膜;再加入酶标FoxP3抗体(英国Abcam公司产品)标记细胞,于37℃培养箱避光孵育30 min。血清分离得到外周血清单核细胞,加入CD3、CD4的酶标抗体(英国Abcam公司产品),标记Th17;使用RPML1640培养液洗涤后加入含胎牛血清的DMEM培养液中,于37℃培养箱中孵育18~20 h后避光孵育30 min,PBS洗涤。使用流式细胞仪(美国BD公司,FACSAria II)测定细胞的荧光强度。

3.3 免疫球蛋白水平检测 使用免疫比浊法检测血清IgA、IgG、IgM水平。IgA、IgG、IgM试剂盒均购自武汉明德生物科技公司,检测过程严格按照说明书进行。

3.4 补体水平检测 使用全自动蛋白分析仪(日本,日立7180),透射比浊法检测补体C3、C4水平。C3、C4试剂盒购自上海研生实业有限公司,检测过程严格按照试剂盒使用说明书进行。

4 统计学方法

所有数据均采用SPSS 20.0软件分析。计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 t 检验;计数资料采用例数(%)表示,采用 χ^2 检验;多因素Logistics线性回归分析轮状

病毒性肠炎伴心肌损害的危险因素。以 $\alpha=0.05$ 作为检验水准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 两组患儿血清CK-MB和cTnI水平比较

观察组患儿的血清CK-MB $[(73.25 \pm 27.95) \text{U/L}]$ 和cTnI $[(12.06 \pm 4.78) \text{pg/ml}]$ 水平明显高于对照组[分别为 $(17.28 \pm 4.03) \text{U/L}$ 和 $(11.02 \pm 1.52) \text{pg/ml}$],差异具有统计学意义($t=21.981, 2.230, P=0.000$)。

2 两组患儿血清Treg和Th17水平比较

观察组患儿的血清Treg水平 $[(2.28 \pm 0.49)\%]$ 明显低于对照组 $[(3.37 \pm 0.78)\%]$,而血清Th17水平 $[(1.66 \pm 0.25)\%]$ 显著高于对照组 $[(0.89 \pm 0.12)\%]$,差异具有统计学意义($t=13.124, 30.745$, 均 $P=0.000$)。

3 两组患儿血清免疫球蛋白水平比较

观察组患儿的血清IgA和IgG水平明显低于对照组,差异具有统计学意义(均 $P<0.01$),而两组患儿血清IgM水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)(表1)。

表1 两组患儿血清免疫球蛋白水平比较 $[(\bar{x} \pm s) \text{g/L}]$
Table 1 The comparison of serum levels of immunoglobulin between the two groups

组别 Group	n	IgA	IgG	IgM
观察组	123	0.48±0.15	7.59±2.13	1.22±0.62
对照组	123	1.02±0.39	9.13±2.52	1.23±0.65
t		14.333	5.176	0.123
P		0.000	0.000	0.451

4 两组患儿血清补体水平比较

观察组患儿血清C3 $[(1.23 \pm 0.49) \text{g/L}]$ 和C4 $[(0.23 \pm 0.07) \text{g/L}]$ 水平与对照组[分别为 $(1.25 \pm 0.51) \text{g/L}$ 和 $(0.22 \pm 0.08) \text{g/L}$]比较,差异均无统计学意义($t=1.083, 1.043, P=0.250, 0.149$)。

5 轮状病毒性肠炎伴心肌损害的单因素分析

单因素分析结果显示,两组患儿在Treg/Th17比例、IgA和IgG水平方面比较,差异具有统计学意义(均 $P<0.01$)(表2)。

6 轮状病毒性肠炎伴心肌损害多因素Logistics线性回归分析

将Treg/Th17比例、IgA和IgG水平列入多因素Logistics线性回归模型中,对其进行赋值,均为连续变量。结果显示Treg/Th17比例过低、IgA和IgG水平过低是导致轮状病毒性肠炎伴心肌损害发生的危险因素(表3)。

表 2 轮状病毒性肠炎伴心肌损害单因素分析(n)
Table 2 Univariate analysis of rotavirus enteritis with myocardial damage(n)

组别 Group	n	Treg/Th17		IgA		IgG		IgM		C ₃		C ₄	
		偏低	正常	偏低	正常	偏低	正常	偏低	正常	偏低	正常	偏低	正常
		Low	Normal	Low	Normal	Low	Normal	Low	Normal	Low	Normal	Low	Normal
观察组	123	107	16	110	13	101	22	19	104	15	108	13	110
对照组	123	28	95	25	98	21	102	17	106	14	109	12	111
χ^2		102.455		118.609		104.072		0.130		0.039		0.045	
P		0.000		0.000		0.000		0.718		0.843		0.833	

表 3 轮状病毒性肠炎伴心肌损害多因素 Logistic 线性回归分析
Table 3 Multivariate logistic linear regression analysis of rotavirus enteritis with myocardial damage

因素 Factors	β	S.E	Wald	P	OR	95%CI
Treg/Th17 过低	0.343	1.325	4.461	0.003	2.490	1.090~3.452
IgA 水平过低	0.358	1.407	4.389	0.005	2.691	1.145~3.342
IgG 水平过低	0.347	1.370	4.201	0.006	2.521	1.190~3.312

讨 论

据统计,全球每年约有 100 万婴幼儿因为轮状病毒感染而死亡,约占全球 5 岁以下儿童死亡人数的 5%^[14-15]。轮状病毒性肠炎是轮状病毒感染最为常见的疾病,临床症状主要为呕吐、腹泻,且伴有发热,部分患儿早期还呈现呼吸道症状^[16]。临床发现,轮状病毒性肠炎多并发心肌损害、病毒性心肌炎,严重者可出现心源性休克,甚至猝死^[17]。研究表明心肌损害可能由轮状病毒直接引起,也可能由轮状病毒分泌的毒素间接引发^[18]。还有研究^[19]总结轮状病毒性肠炎并发心肌损害的机制可能是:①轮状病毒通过体液循环、血液循环直接攻击心肌细胞;②轮状病毒性肠炎导致患儿脱水,患儿外周血液循环及冠脉流量降低,间接导致心肌细胞缺氧、缺血和酸中毒,形成心肌损害;③轮状病毒感染启动患儿机体免疫,引发机体炎症反应和氧化应激反应,体液中分泌出大量炎性因子或氧自由基等对心肌造成损害。本研究从机体免疫切入,探讨其对轮状病毒性肠炎伴心肌损害发病的影响。

本研究检测结果显示,观察组患儿的血清 CK-MB 和 cTnI 水平明显高于对照组,进一步确认观察组患儿心肌损害情况。Treg 和 Th17 细胞都是 CD4⁺T 细胞的重要亚型,健康组织中,Treg 和 Th17 细胞并存,且两者之间保持一定的比例,相互制约,形成一种动态平衡。Treg 和 Th17 细胞可有效调节机体免疫,Treg 细胞通过免疫抑制因子分泌而抑制免疫反应,而 Th17 细胞则会增强免疫应答,主要原因是其可以分泌促炎因子。Treg/Th17 比例一旦失衡将降低机体免疫力或导致机体免疫耐受^[20]。本研究结果表明,观察组患儿的血清 Treg 水平明显低于对照组,而血清 Th17 水平显著高于对照组,提示观察组患儿 Treg/Th17 比例显著低于对照组,观察组患儿机体炎症反应增强,免疫

应答增强,将明显导致患儿出现心肌损害。

体液免疫是一种特异性免疫,具有非常重要的作用,是机体免疫应答的重要组成部分之一。体液免疫系统可以有效监视和预防轮状病毒的感染,血清 IgA、IgG、IgM 及补体 C₃、C₄ 水平是体液免疫检测的主要对象^[21]。IgA 具有抗病毒作用,主要在黏膜发挥局部免疫作用;IgG 具有中和毒素和抗感染作用,通过激活补体、增强吞噬达到免疫作用;IgM 能够高效对抗微生物而发挥免疫作用;补体在人体含量较为稳定,可参与机体免疫应答和自稳作用^[22-23]。本研究结果发现,观察组患儿的血清 IgA 和 IgG 水平明显低于对照组,而两组患儿血清 IgM、C₃ 和 C₄ 水平比较无显著差异,提示观察组患儿的体液免疫功能较对照组呈紊乱状态,其中 IgA 和 IgG 可能是观察组患儿心肌损害的危险因素。

本研究对 Treg/Th17 比例及血清 IgA 和 IgG 水平进行单因素分析,结果显示两组患儿在 Treg/Th17 比例、IgA 和 IgG 水平方面的比较差异具有统计学意义,进一步作 Logistic 线性回归分析,结果显示 Treg/Th17 比例过低、IgA 和 IgG 水平过低是导致轮状病毒性肠炎伴心肌损害发生的危险因素。

综上所述,Treg/Th17 比例失衡及体液免疫功能紊乱是轮状病毒性肠炎伴心肌损害患儿发病的危险因素,临床需根据上述因素采取针对性预防对策。因受样本量限制,本研究结果有待扩大化的中心试验证实。

【参考文献】

- [1] Dong H, Qu S, Chen X, et al. Changes in the cytokine expression of peripheral Treg and Th17 cells in children with rotavirus enteritis[J]. Exp Ther Med, 2015, 10(2): 679-682.
- [2] 庞其方, 丘福禧, 俞富荣, 等. 婴幼儿秋季急性胃肠炎病原——轮状病毒的研究[J]. 中华医学杂志, 1979, 59(10): 589-592.
- [3] Yin Y, Metselaar HJ, Sprengers D, et al. Rotavirus in organ transplantation: drug-virus-host interactions [J]. Am J Transplant, 2015, 15(3): 585-593.
- [4] 中华预防医学会. 儿童轮状病毒胃肠炎免疫预防专家共识(2020版)[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2021, 36(1): 2-13.
- [5] 康庚庚, 李慧, 李卫巍, 等. 2018-2020 年人轮状病毒锦州地方株 VP4 及 VP7 基因特征[J]. 微生物学通报, 2021, 48(2): 545-554.
- [6] 陈方, 陈全景. 轮状病毒性肠炎伴心肌损伤危险因素探讨及风险列线图模型的建立[J]. 中国医师进修杂志, 2020, 43(12): 1101-1105.
- [7] 王荣花, 李娟利, 姜红, 等. 轮状病毒性肠炎患儿心肌损伤的危险因素及益生菌干预效果研究[J]. 实用心脑血管病杂志, 2019, 27(1): 57-61.
- [8] 黄玲玲, 雷琼飞. 自拟温中止泻汤联合西药治疗小儿轮状病毒肠炎并发心肌损伤的临床研究[J]. 四川中医, 2019, 37(11): 96-98.
- [9] 王勇, 王莉. 直肠癌不同术式对患者围术期 Treg/Th17 免疫平衡, 应激水平以及肿瘤生物学指标的影响[J]. 医学分子生物学杂志, 2019, 16(2): 175-179, 191.

