

· 论 著 ·

梅毒血清固定患者外周血调节性 T 细胞/Th17 细胞平衡的变化

杨海晶, 王 飞[△], 董正邦, 潘永正, 张敬东

(东南大学附属中大医院皮肤性病科, 南京 210009)

摘要:目的 观察外周血调节性 T(Treg)细胞/Th17 细胞平衡在梅毒血清固定患者体内的变化。方法 将 2010 年 1 月至 2012 年 9 月东南大学附属中大医院皮肤性病科诊治的梅毒血清固定患者 28 例纳入观察组, 同期选取健康人 30 例纳入对照组, 利用流式细胞仪分别检测外周血 Treg 细胞、Th17 细胞、相关特异性转录因子 Foxp3 及 ROR- γ 表达情况并比较分析。结果 观察组外周血 Treg 细胞比例[(34.02±12.31)%]高于对照组[(21.86±8.24)%], $P<0.05$], 观察组外周血 Th17 细胞比例[(3.08±2.17)%]低于对照组[(9.13±1.96)%], $P<0.01$]; 观察组 CD4⁺T 细胞转录因子 Foxp3 的表达量[(2 946.35±995.63)]高于对照组(2 468.74±869.63), $P<0.05$], ROR- γ 表达量(1 438.29±659.31)低于对照组(1 831.25±426.37), $P<0.05$ 。结论 梅毒血清固定患者外周血存在 Treg 细胞/Th17 细胞失衡, 这种机体细胞免疫抑制可能是导致梅毒患者产生血清固定的原因。

关键词:梅毒; T 淋巴细胞, 调节性; Th17 细胞

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.27.001

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)27-3209-02

Balance between regulatory T cells and T helper 17 cells in peripheral blood of patients with serofast syphilis

Yang Haijing, Wang Fei[△], Dong Zhengbang, Pan Yongzheng, Zhang Jingdong

(Department of Dermatology and Venereology, Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing, Jiangsu 210009, China)

Abstract: Objective To observe the change of the balance between regulatory T(Treg) cells and T helper 17(Th17) cells in peripheral blood of the patients with serofast syphilis. Methods From January 2010 to September 2012, 28 patients with serofast syphilis in our department were selected into the observation group and 30 normal persons were selected into control group. Flow cytometry was used to measure the expression of Treg cells, Th17 cells, specific transcription factors Foxp3 and ROR- γ in the peripheral blood. The comparative analysis was carried out. Results The proportion of Treg cells in the peripheral blood of the observation group was (34.02%±12.31%), which was higher than (21.86%±8.24%) in the control group ($P<0.05$), and the proportion of Th17 cells in the peripheral blood of the observation group was (3.08%±2.17%), which was lower than (9.13%±1.96%) in the control group ($P<0.01$); the expression level of Foxp3 of CD4⁺T cells was (2946.35±995.63) in the observation group, which was higher than (2468.74±869.63) in the control group ($P<0.05$), and the expression level of ROR- γ was (1438.29±659.31), which was lower than (1831.25±426.37) in the control group ($P<0.05$). All above differences had significantly statistical significance. Conclusion The Treg/Th17 cell balance is abnormal in peripheral blood of the patients with serofast syphilis. This cellular immunity suppression of human body may be the reason leading to serofast syphilis.

Key words: syphilis; T-lymphocytes, regulatory; Th17 cells

梅毒是一种常见且较为严重的性传播疾病, 世界范围内皆有分布, 根据中国《性传播疾病临床诊疗指南》^[1], 梅毒治疗应遵循早期、足量、规则用药的原则, 但患者一旦出现血清学固定, 即使大剂量甚至延长治疗疗程也很难达到血清学转阴的目的。国内学者认为血清固定的患者复发率明显升高, 因此, 如何降低血清固定的可能、改善患者生活质量是目前梅毒治疗的重要任务^[2]。作者将 2010 年 1 月至 2012 年 9 月本科室诊治的梅毒血清固定患者 28 例纳入观察组, 同时选择 30 例健康人作为健康对照组, 对两组外周血调节性 T(Treg)细胞、Th17 细胞、相关特异性转录因子 Foxp3 及 ROR- γ 表达情况进行比较分析, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 从 2010 年 1 月至 2012 年 9 月本科室诊治的梅毒患者中选取 28 例血清固定患者作为观察组。选取标准: 梅毒确诊患者按以下方案规范化治疗, 苄星青霉素 240 万 U 肌肉注射, 每周 1 次, 连续 3 周, 并予以跟踪随访; 排除再感染、自身免疫性疾病和人类免疫缺陷病毒(HIV)感染等可能性; 2 年内血清快速血浆反应素试验(RPR)滴度不转阴的患者。其中, 男 10 例, 女 18 例, 年龄 21~50 岁, 1 期梅毒 6 例, 2 期梅毒 7 例, 潜伏期梅毒 15 例。血清 RPR 滴度 6 例 1:1, 4 例 1:2, 13 例 1:4, 5 例 1:8。选取 30 例健康人作为对照组, 其中, 男

12 例, 女 18 例, 年龄 23~45 岁, 2 组人群性别构成、年龄差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经本院伦理委员会审核批准, 两组患者均自愿签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 流式细胞仪购自美国贝克曼库尔特公司。荧光标记的鼠抗人抗体 CD4-FITC、CD25-PerCP-cy5.5、Foxp3-PE、CTLA-4-PE、IL-10-PE 及相应对照抗体均购自 eBioscience 公司, QuantiBRITE PE 流式定量试剂盒购自 BD 公司。PMA、BFA 均购自 Enzo Life Sciences 公司, RPMI1640 购自 Sigma 公司。

1.3 方法 利用流式细胞仪检测观察组、对照组外周血 Treg 细胞和 Th17 细胞比例及相关特异性转录因子 Foxp3 和 ROR- γ 表达情况并进行对比分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 19.0 统计软件对所得数据进行 Mann-Whitney *U* 检验、Spearman 秩和检验。

2 结果

观察组外周血 Treg 细胞比例[(34.02±12.31)%]高于对照组[(21.86±8.24)%], 差异有统计学意义($P<0.05$); 观察组外周血 Th17 细胞比例[(3.08±2.17)%]低于对照组[(9.13±1.96)%], 差异有统计学意义($P<0.01$); 观察组 CD4⁺T 细胞转录因子 Foxp3 的表达量(2 946.35±995.63)高于对照组(2 468.74±869.63), ROR- γ 表达量(1 438.29±659.31)

表 1 两组外周血 Treg 细胞和 Th17 细胞比例及相关转录因子表达的检测结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Treg 细胞(%)	Th17 细胞(%)	Foxp3	ROR- γ
观察组	28	34.02 \pm 12.31	3.08 \pm 2.17	2 946.35 \pm 995.63	1 438.29 \pm 659.31
对照组	30	21.86 \pm 8.24	9.13 \pm 1.96	2 468.74 \pm 869.63	1 831.25 \pm 426.37
P		<0.05	<0.01	<0.05	<0.05

低于对照组(1 831.25 \pm 426.37),差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

3 讨论

近年来,梅毒的患病率呈逐年上升趋势,全世界以每年 1 200 万的增长^[3]。一般来说经规范化治疗的患者 2 年内 RPR 即可转阴,但有部分患者 RPR 持续阳性,称为血清固定^[4]。目前的研究还未能完全揭示梅毒患者发生血清固定的机制,但是有研究认为血清固定与免疫缺陷关系紧密^[5-7]。

Treg 细胞与 Th17 来源于同一种原始 CD4⁺ T 细胞,CD4⁺ T 细胞在转化生长因子- β (TGF- β)的作用下分化为 Treg 细胞,而当 TGF- β 与白细胞介素-6(IL-6)同时存在时则分化为 Th17^[8-10]。近年来发现这两类细胞在免疫功能上发挥重要作用,Treg 细胞主要发挥免疫抑制作用而 Th17 则相反。多项研究结果认为,很多病原体能作用于 Treg 而进一步促进免疫抑制,其免疫缺陷不能及时清除病原体而病原体对机体的侵害持续存在导致疾病的迁延不愈^[11-12]。本实验结果发现观察组外周血 Treg 细胞及转录因子 Foxp3 比例较对照组明显升高,而 Th17 细胞比例及 ROR- γ 则明显下降,提示观察组机体处于免疫抑制状态而不能发挥正常的免疫功能。正常情况下 Treg 细胞与 Th17 保持一种平衡状态,但当这种平衡被打破时则可能会导致疾病的发生^[13-14]。本研究数据提示,观察组 Treg 细胞与 Th17 处于失衡状态,因此,作者认为 Treg 细胞与 Th17 的这种表达失衡可能与梅毒治疗效果欠佳、出现血清固定现象有关。

有研究认为机体免疫异常时梅毒的抗生素治疗并不能达到预期效果^[15]。同时本研究的数据也显示了机体免疫能力可能对梅毒的治疗效果起到关键性作用,当梅毒螺旋体感染人体后人体的免疫功能立即开始发挥作用,梅毒的治愈是药物治疗及自身免疫共同作用的结果。当患者机体免疫功能降低时即使早期规范化治疗也不能完全根除梅毒螺旋体的感染,导致病原体的残存形成慢性感染并持续血清阳性,因此,作者认为在抗生素规范化治疗梅毒的同时需监测患者的免疫能力,及时改善患者的免疫状况,根据患者的个体情况采取不同的治疗措施,也许对降低梅毒复发率及改善治疗效果会起到极大的促进作用。当然血清固定可能不仅仅与免疫功能下降有关,如相关研究认为可能与多种机制介导的细胞凋亡有紧密的联系^[16]。另外梅毒的血清固定多发生在早期梅毒患者,而早期症状多不明显,易延误诊治。因此,早发现、早诊断、早治疗也是治疗梅毒的关键。

综上所述,梅毒患者血清固定与机体免疫抑制紧密相关,治疗过程中需注意患者免疫状态并及时采取干预措施。

参考文献:

- [1] 王千秋,张国成.性传播疾病临床诊疗指南[M].上海:上海科学技术出版社,2007:510-530.
- [2] 吴志华.现代性病学[M].2版.广州:广东人民出版社,2002:147.
- [3] Daskalakis D. Syphilis: continuing public health and diagnostic challenges[J]. Curr HIV/AIDS Rep, 2008, 5(2): 72-77.

- [4] 孙澍彬,欧健梅,庄慈妹. CD4⁺ CD25⁺ 调节 T 细胞与 IL-17 在梅毒血清固定患者外周血中的表达及意义[J]. 皮肤性病诊疗学杂志, 2012, 19(1): 19-21.
- [5] 阮黎明,刘晓艳,蒋筱凌,等. 梅毒血清固定患者 66 例临床分析[J]. 浙江医学, 2012, 34(10): 786-788.
- [6] Lusiak M, Podwinska J. Interleukin 10 and its role in the regulation of the cell-mediated immunol response in syphilis[J]. Arch Immunol Ther Esp, 2001, 49(9): 417-421.
- [7] Salazar JC, Hazlett Kr, Radolf JD. The immune response to infection with treponema pallidum, the stealth pathogen[J]. Microbes Infect, 2002, 4(11): 1133-1139.
- [8] Eisenstein EM, Williams CB. The Treg/Th17 cell balance; a new paradigm for autoimmunity[J]. Pediatr Res, 2009, 65(5): 26-31.
- [9] Zhou L, Lopes JE, Chong MM, et al. TGF-beta-induced Foxp3 inhibits Th17 cell differentiation by antagonizing horgammata function[J]. Nature, 2008, 453(7192): 236-240.
- [10] Bettelli E, Carrier Y, Gao W, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector Th17 and regulatory T cells [J]. Nature, 2006, 451(7090): 235-238.
- [11] McGuirk P, McCann C, Mills KH. Pathogen-specific T regulatory 1 cells induced in the respiratory tract by a bacterial molecule that stimulates interleukin 10 production by dendritic cells: a novel strategy for evasion of protective T helper type 1 responses by Bordetella pertussis [J]. J Exp Med, 2002, 195(2): 221-231.
- [12] MacDonald AJ, Duffy M, Brady MT, et al. CD4 T helper type 1 and regulatory T cells induced against the same epitopes on the core protein in hepatitis C virus-infected persons [J]. J Infect Dis, 2002, 185(6): 720-727.
- [13] Shinohara ML, Kim JH, Garcia VA, et al. Engagement of the type I interferon receptor on dendritic cells inhibits T helper 17 cell development: role of intracellular osteopontin[J]. Immunity, 2008, 29(1): 68-78.
- [14] Quintana FJ, Basso AS, Iglesias AH, et al. Control of treg and Th17 cell differentiation by the aryl hydrocarbon receptor[J]. Nature, 2008, 453(7191): 65-71.
- [15] Podwinska J, Lusiak M, Zaba R, et al. The pattern and level of cytokines secreted by Th1 and Th2 lymphocytes of syphilitic patients correlate to the progression of the disease[J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2000, 28(1): 1-14.
- [16] Fan YM, Zeng WJ, Wu ZH, et al. Immunophenotypes, apoptosis, and expression of Fas and Bcl-2 from peripheral blood lymphocytes in patients with secondary early syphilis[J]. Sex Transm Dis, 2004, 31(4): 221-224.