

· 临床研究 ·

单纯疱疹病毒2型感染者治疗前后Th1/Th2相关细胞因子水平变化及临床意义

寿何庆 茅利明

[摘要] 目的 探讨单纯疱疹病毒2型(HSV-2)感染的生殖器疱疹患者抗病毒药物治疗前后Th1和Th2相关细胞因子水平变化及临床意义。方法 选取经实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测HSV-2基因为阳性的生殖器疱疹患者54例为观察组,同时选取健康体检者44例为对照组,检测治疗前后Th1和Th2细胞的6个免疫细胞因子以及相关淋巴细胞亚群变化。结果 观察组治疗后白介素-2(IL-2)、干扰素- γ (IFN- γ)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)高于治疗前,IL-4、IL-6、IL-10低于治疗前,差异均有统计学意义(t 分别=-16.90、-14.49、-16.75、21.02、14.68、13.37, P 均<0.05);观察组治疗后的IL-2、IFN- γ 水平仍低于对照组,IL-10仍高于对照组,差异均有统计学意义(t 分别=-7.99、-9.88、3.61, P 均<0.05),而观察组治疗后IL-4、IL-6、TNF- α 与对照组比较,差异均无统计学意义(t 分别=0.48、-1.19、0.01, P 均>0.05);观察组治疗后的CD⁴⁺、CD¹⁶⁺/CD⁵⁶⁺和CD⁴⁺/CD⁸⁺高于治疗前,CD⁸⁺低于治疗前,差异均有统计学意义(t 分别=-17.48、-21.44、-15.82、17.61, P 均<0.05);但与对照组比较,差异均无统计学意义(t 分别=-0.48、-0.98、-1.88、-0.05, P 均>0.05)。结论 积极进行抗病毒联合免疫调节剂治疗可以提高生殖器疱疹患者疗效,减少复发及潜伏感染。

[关键词] 生殖器疱疹; 单纯疱疹病毒2型; 实时荧光定量聚合酶链反应; 细胞因子; 细胞免疫

Clinical significance and changes of the Th1/Th2 relative cytokine in patients with herpes simplex virus type 2

SHOU Heqing, MAO Liming. Department of Laboratory, Shaoxing City Kejiao District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shaoxing 312030, China.

[Abstract] **Objective** To discuss the changes and clinical significance of Th1 and Th2 in patients with herpes simplex virus type 2 after treating with antiviral therapy. **Methods** A total of 54 patients with genital herpes were selected as the observation group. The 44 healthy people which examined in our hospital were selected as control group. The changes of Th1, Th2 and relative lymphocyte subsets before and after treatment were detected. **Results** The IL-2, IFN- γ , TNF- α in observation group after treatment were significantly higher than those before treatment, while the IL-4, IL-6, and IL-10 were significantly lower (t =-16.90, -14.49, -16.75, 21.02, 14.68, 13.37, P <0.05). After therapy, the levels of IL-2 and IFN- γ in observation group were significantly lower than those in control group, while the IL-10 was significantly higher (t =-7.99, -9.88, 3.61, P <0.05). The differences in IL-4, IL-6, and TNF- α after treatment were not statistically significant between two groups after treatment (t =0.48, -1.19, 0.01, P >0.05). The CD⁴⁺, CD¹⁶⁺/CD⁵⁶⁺, CD⁴⁺/CD⁸⁺ in observation group were significantly higher than those before treatment, while the CD⁸⁺ was significantly lower (t =-17.48, -21.44, -15.82, 17.61, P <0.05), but there was no significant difference in CD⁴⁺, CD¹⁶⁺/CD⁵⁶⁺, CD⁴⁺/CD⁸⁺, and CD⁸⁺ between two groups (t =-0.48, -0.98, -1.88, -0.05, P >0.05). **Conclusion** The adequate antiviral therapy combined with immune treatment can improve the therapeutic effect of patients with genital herpes, and reduce the recurrence rate and latent infection.

[Key words] genital herpes; herpes simplex virus type 2; real-time polymerase chain reaction; cytokine; cellular immunity

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2020.003.012

作者单位: 312030 浙江绍兴, 绍兴市柯桥区中医医院
检验科(寿何庆); 绍兴市中心医院检验科(茅利明)

生殖器疱疹主要是由单纯疱疹病毒2型(her-

pes simplex virus type 2, HSV-2)感染男女泌尿生殖器及肛周等部位的皮肤黏膜而引起的一种慢性难治性传播疾病。有研究发现,生殖器疱疹属于常见的性传播疾病之一,其发病率可占所有慢性难治性传播疾病的30%以上^[1],其逐年增长的趋势已成为一个公共卫生问题。细胞免疫在人体抗病毒感染中起着主要作用。本次研究拟通过流式细胞技术检测生殖器疱疹患者抗病毒药物治疗前后辅助性T细胞1和2(T helper cell 1/2, Th1/Th2)分泌的白细胞介素-2(interleukin-2, IL-2)、IL-4、IL-6、IL-10,和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)等细胞因子以及相关淋巴细胞亚群的水平,探讨这些细胞因子及淋巴细胞亚群在生殖器疱疹治疗前后的变化趋势以及生殖器疱疹患者免疫功能的变化及归转。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2018年10月到2019年8月在绍兴市柯桥区中医医院和绍兴市中心医院泌尿外科及皮肤性病科就诊且经实时荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)检测HSV-2基因为阳性的生殖器疱疹患者54例为观察组,其中男性32例、女性22例;年龄22~39岁,平均年龄(31.22 \pm 5.61)岁。病例入选标准包括:①经本院PCR检测HSV-2阳性,均为急性期初发病例;②有典型的生殖器疱疹或皮肤红肿、渗液、溃疡等症状。并剔除:有其它致病菌如人乳头瘤病毒、巨细胞病毒、淋球菌等伴随感染的患者,以及既往在本院或其它医院已就诊且治疗过的患者。同时选取同期在本院体检中心进行健康体检者44例为对照组,其中男性28例、女性16例;年龄20~38岁,平均年龄(30.93 \pm 5.14)岁,均体健且无泌尿系感染。两组性别比、年龄比较,差异均无统计学意义(P 均 $>$ 0.05)。

1.2 方法 观察组患者给予伐昔洛韦片1 000 mg口服,每日二次,疗程7~10 d,同时给予胸腺肽肠溶片20 mg口服,每日2~3次,在抗病毒治疗期间服用。

1.3 观察指标

1.3.1 HSV-2的标本采集、DNA处理及PCR检测 本实验适用标本类型为生殖泌尿道分泌物拭子或疱疹渗出液。采集分泌物前2 h禁止小便,采集后的拭子采样管密闭送检。仪器为美国ABI 7500实时荧光定量PCR扩增仪,试剂盒由中山大学达安基因诊断有限公司提供。分泌物标本的处理及DNA提取严格按照项目操作规程处理。反应结束后由电脑自动分析计算结果,根据检测曲线确定标本的阴阳性。本次实验入选患者HSV-2定量检测结果均在 1.0×10^5 以上。

1.3.2 Th1/Th2的标本采集、处理及检测 观察组患者和对照组人员均在空腹状态下抽取2 ml全血注入EDTA-K₂抗凝管内,充分混匀。标本要求采样后4 h内通过流式细胞仪检测细胞因子以及淋巴细胞亚群CD抗原的表达。生殖器疱疹患者在抗病毒治疗康复后复诊时再重复上述项目的检测。试剂盒由杭州赛基生物科技有限公司提供的Th1/Th2细胞因子检测试剂盒。样本处理及检测严格按照试剂盒说明书进行操作。淋巴细胞亚群的簇分化抗原(cluster of differentiation, CD)检测,试剂盒为美国BD公司提供的原装试剂盒,仪器为美国BD公司生产的BD FACS Calibur全自动流式细胞分析仪,仪器光路系统和电压均经过校准。

1.4 统计学方法 采用SPSS 20.0统计学软件对数据进行统计分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。计量资料比较采用 t 检验;计数资料比较采用 χ^2 检验。设 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 观察组治疗前后及对照组的细胞因子检测水平比较见表1

表1 观察组治疗前后及对照组的细胞因子检测水平比较/pg/ml

组别	IL-2	IL-4	IL-6	IL-10	IFN- γ	TNF- α
观察组 治疗前	2.57 \pm 0.49	6.95 \pm 1.57	7.86 \pm 1.43	10.74 \pm 2.09	3.34 \pm 0.62	2.68 \pm 0.49
观察组 治疗后	4.15 \pm 0.42*#	2.50 \pm 0.43*	4.44 \pm 0.51*	4.67 \pm 0.68*#	5.21 \pm 0.59*#	4.82 \pm 0.69*
对照组	4.93 \pm 0.56	2.46 \pm 0.35	4.56 \pm 0.50	4.15 \pm 0.74	6.69 \pm 0.89	4.72 \pm 0.52

注: *:与治疗前比较, $P < 0.05$; #:与对照组比较, $P < 0.05$ 。

由表1可见,观察组治疗后IL-2、IFN- γ 、TNF- α 高于治疗前,IL-4、IL-6和IL-10低于治疗前,差异均

有统计学意义(t 分别=-16.90、-14.49、-16.75、21.02、14.68、13.37, P 均 $<$ 0.05);观察组治疗后IL-10高于

对照组,治疗后的IL-2、IFN- γ 水平仍低于对照组(t 分别=3.61、-7.99、-9.88, P 均<0.05),但IL-4、IL-6、TNF- α 与对照组比较,差异均无统计学意义(t 分别

=0.48、-1.19、0.01, P 均>0.05)。

2.2 观察组治疗前后及对照组的外周血淋巴细胞亚群检测水平见表2

表2 观察组治疗前后及对照组的外周血淋巴细胞亚群检测水平

组别	CD ⁴⁺	CD ⁸⁺	CD ⁴⁺ /CD ⁸⁺	CD ¹⁶⁺ /CD ⁵⁶⁺
观察组 治疗前	27.48 ± 2.78	32.68 ± 2.75	0.84 ± 0.05	14.21 ± 1.55
治疗后	31.31 ± 2.82*	27.70 ± 2.36*	1.15 ± 0.09*	20.20 ± 2.12*
对照组	31.54 ± 1.95	26.98 ± 1.66	1.17 ± 0.05	19.82 ± 1.81

注: *与治疗前比较, P <0.05。

由表2可见,观察组治疗后的CD⁴⁺、CD¹⁶⁺/CD⁵⁶⁺和CD⁴⁺/CD⁸⁺高于治疗前,CD⁸⁺低于治疗前,差异均有统计学意义(t 分别=-17.48、-21.44、-15.82、17.61, P 均<0.05);但与对照组比较,差异均无统计学意义(t 分别=-0.48、-0.98、-1.88、-0.05, P 均>0.05)。

3 讨论

由HSV-2引起的生殖器感染是最常见的性传播疾病之一,它也能引起潜在致命的脑炎,以及在免疫功能低下的宿主引起严重的系统性疾病。生殖器的HSV-2感染有可能一年会有4~15次的复发,而损伤持续周期大约为3~12 d,HSV-2感染引起的疾病发展受到宿主免疫应答效应的影响^[2]。机体生殖器疱疹感染后的表现与其免疫功能有关,潜伏感染是生殖器疱疹复发的根本原因,免疫抑制或缺陷可以导致HSV再度活动。所以调节机体免疫功能是预防和控制生殖器疱疹、消除HSV感染的关键。指导Th1参与的细胞免疫应答在病毒原发性感染中能够降低病毒的复制,其分泌细胞因子主要是IL-2、IFN- γ 和TNF- α ;Th2细胞主要分泌IL-4、IL-6和IL-10、IL-13等,促进抗体产生,介导体液免疫应答。由人体微环境中的Th细胞分泌的细胞因子在免疫应答中起着决定作用^[3]。

本次研究结果显示,生殖器疱疹治疗后的IL-2、IFN- γ 、TNF- α 高于治疗前,IL-4、IL-6和IL-10低于治疗前(P 均<0.05);且生殖器疱疹治疗后IL-2、IFN- γ 水平仍低于健康体检者(P 均<0.05)。表明Th1细胞分泌的IL-2明显高于治疗前,同时Th2细胞分泌的IL-4则明显降低,这与王雪楠等^[4]研究结果一致。提示机体的Th1/Th2细胞平衡被打破,而平衡失调则与病毒感染并且相关。而IFN- γ 的降低可能是由于HSV-2有较强的破坏细胞能力,对单个核细胞的破坏使得Th1型细胞短时表达减少,相应

的细胞因子IFN- γ 表达降低,而IFN- γ 直接反应细胞的免疫水平^[5]。Singh等^[2]研究发现生殖器疱疹感染患者产生IFN- γ 的能力明显下降。细胞因子如IL-2和IFN- γ 可以增强杀伤细胞的细胞毒作用,介导机体细胞免疫反应。然而生殖器疱疹患者Th细胞之间的漂移造成了机体抗病毒的细胞免疫应答减弱,以及清除细胞内病原体的能力减弱。一旦发生由Th1向Th2漂移预示疾病向着慢性和预后差的方向发展。IL-6等细胞因子具有很多生物学活性,比如:选择性杀伤病毒感染的细胞,抑制病毒的复制以及促进淋巴细胞的增殖和分化等作用。HSV-2急性感染期机体IL-6等细胞因子的升高与HSV-2感染细胞的局限性有关。治疗前生殖器疱疹患者的IL-10明显高于对照组和治疗后,是因为IL-10主要抑制Th1细胞的增殖,以及抑制IL-2、IFN- γ 和白三烯等细胞因子的产生,以抑制Th1的免疫应答^[3]。生殖器疱疹患者经过系统抗病毒治疗后,IL-2、IFN- γ 治疗后升高到接近正常水平,但是和正常水平还是有差距(P 均<0.05),这表明生殖器疱疹患者病程长,机体免疫功能恢复比较慢。因此在抗病毒治疗的同时,使用辅助免疫增强剂,可以增强淋巴细胞抗病毒免疫功能。Th1/Th2细胞功能慢慢转换,利用机体自身的免疫系统来纠正细胞因子的失衡。

相对于B细胞介导的体液免疫而言,由HSV-2病毒引起的胞内感染,其由T细胞介导的细胞免疫在清除体内病毒,防止疾病复发上起着主要的作用^[6]。本次研究结果显示,生殖器疱疹治疗后CD⁴⁺值、CD¹⁶⁺/CD⁵⁶⁺和CD⁴⁺/CD⁸⁺比值明显升高(P 均<0.05),CD⁸⁺值降低,表明生殖器疱疹患者急性感染期,机体分化产生Th1/Th2和表达细胞免疫功能的CD⁴⁺细胞和自然杀伤细胞等活性明显降低。

细胞免疫功能的降低是生殖器疱疹发病的主要免疫学机制。自然杀伤细胞是机体重要的免疫

细胞,可以直接杀伤被 HSV-2 感染的细胞,同时可以分泌 IL-2 和 IFN- γ ,后者可在转录水平影响病毒基因的表达而达到抗病毒作用。IL-2 又可以作用于自然杀伤细胞和单核细胞,增强它们的杀伤活性^[7]。本次研究结果发现这两种细胞在生殖器疱疹患者急性感染期活性均明显降低,引起 IL-2 和 IFN- γ 水平的降低,两个细胞因子的浓度水平变化又反过来抑制相应细胞的活性。因为 HSV-2 在人体内不产生永久性免疫,同时又可逃避宿主的防御机制,细胞水平不能完全清除细胞内感染的 HSV-2,所以在疲劳、免疫力低下等情况下容易引起生殖器疱疹反复发作。

综上所述,细胞免疫在人体抗病毒感染中起主要的作用,机体细胞免疫功能状态与疾病的归转密切相关。积极进行抗病毒联合免疫调节剂治疗可以提高生殖器疱疹患者疗效,减少复发及潜伏感染。本次研究的不足之处是因为病例收集有限,未将病例细化分组(单独抗病毒组、抗病毒加免疫调节组等),不能更好地反映免疫调节在辅助抗病毒治疗中的重要性。

参考文献

1 杨勇,孙伟,吴保华.1202 例疑似生殖器疱疹患者 HSV 基

因检测结果分析[J].分子诊断与治疗杂志,2013,5(4):257-260.

- 2 Singh R, Kumar A, Creery WD, et al. Dysregulated expression of IFN- γ and IL-10 and impaired IFN- γ -mediated responses all different disease stages in patients with genital herpes simplex virus-2 infection[J]. Clin Exp Immunol, 2003, 133(1):97-107.
- 3 张杰,钟绮丽,杨红,等.2型单纯疱疹病毒对 HaCaT 细胞分泌 IL-10 和 IFN- γ 的影响[J].中华实用诊断与治疗杂志,2009,23(12):1170-1172.
- 4 王雪楠,刘毅,张勤.单纯疱疹病毒 2 型感染者血清 Th1/Th2 型细胞因子的检测[J].中国麻风皮肤病杂志,2007,23(8):670-671.
- 5 杨励,牛妍艳,刘杨,等.2型单纯疱疹病毒感染后 HaCaT 细胞分泌细胞因子的变化研究[J].哈尔滨医药,2017,37(4):301-303.
- 6 Zheng M, Conrady CD, Ward JM, et al. Comparison of the host immune response to herpes simplex virus 1 (HSV-1) and HSV-2 at two different mucosal sites[J]. J Virol, 2012, 86(13):7454-7458.
- 7 田中伟,宋向凤,彭振辉.生殖器疱疹患者治疗前后血清 IL-2/IFN- γ 干扰素水平及 NK/LAK 细胞活性的变化[J].细胞与分子免疫学杂志,2004,2(2):217-218.

(收稿日期 2019-12-15)

(本文编辑 蔡华波)

· 信 息 ·

《全科医学临床与教育》杂志社微信公众号开通通知

2019年8月起,《全科医学临床与教育》杂志社全面开通“全科医学临床与教育杂志社”微信公众号,实现与在线投稿系统同步,主要包括投稿审稿(我要投稿、专家审稿、稿件追踪、投稿指南、缴费指南)、期刊在线(当期目录、过刊浏览、总目录)、本刊资讯(期刊介绍、编委会、期刊动态、关于我们)。欢迎广大医务人员、教育学者关注并投稿!

《全科医学临床与教育》编辑部

