

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.23.014  
文章编号: 1005-8982 (2018) 23-0065-04

## 肺炎支原体肺炎患儿 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 和 IL-4 细胞因子水平的变化\*

郭伟, 张同强, 徐勇胜

(天津市儿童医院 呼吸科, 天津 300074)

**摘要:目的** 研究儿童肺炎支原体肺炎(MPP)血清及肺泡灌洗液(BALF)中细胞因子肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、 $\gamma$ 干扰素(IFN- $\gamma$ )和白细胞介素-4(IL-4)的表达,以进一步研究MPP的发病机制。**方法** 选取行纤维支气管镜介入治疗的90例MPP患儿作为MPP组,依据病程分为MPP1组(<7d)、MPP2组(7~14d)和MPP3组(15~30d),每组30例。对照组为同期非MPP且需经纤维支气管镜检查或治疗的患儿。留取血清和BALF进行相关细胞因子测定。**结果** MPP组患儿血清TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 和IL-4水平较对照组升高( $P < 0.05$ );MPP1组TNF- $\alpha$ 和IFN- $\gamma$ 水平最高( $P < 0.05$ ),MPP2组细胞因子IL-4水平最高( $P < 0.05$ )。MPP组患儿BALF中TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 和IL-4水平高于对照组( $P < 0.05$ );MPP1组TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 升高最明显( $P < 0.05$ ),MPP2组IL-4水平最高( $P < 0.05$ )。直线相关分析结果显示,血清与BALF中炎症因子表达有相关性( $r = 0.939$ 、 $0.958$ 和 $0.912$ ,均 $P = 0.000$ )。**结论** 细胞因子TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 和IL-4在MPP患儿血清及肺泡灌洗液中升高,病程<7d以细胞因子TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 升高为主,病程7~14d以细胞因子IL-4升高为主,提示细胞因子在MPP的发展过程中可能有重要意义。

**关键词:** 支原体肺炎;儿童;细胞因子

**中图分类号:** R725.6

**文献标识码:** A

## Changes of TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ and IL-4 levels in children with *Mycoplasma pneumoniae pneumoniae*\*

Wei Guo, Tong-qiang Zhang, Yong-sheng Xu  
(Tianjin Children's Hospital, Tianjin 300074, China)

**Abstract: Objective** To analyze the levels of TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  and IL-4 in serum and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of children with *Mycoplasma pneumoniae pneumoniae* (MPP). **Methods** The data of 90 patients with MPP who were admitted to Tianjin Children's Hospital from January 2017 to December 2017 were collected. The patients were randomly divided into MPP1 group (<7 d), MPP2 group (7-14 d) and MPP3 group (15-30 d) according to the course of disease on admission with 30 cases in each group. The control group was non-MPP children who were having fiberoptic bronchoscopy. The levels of cytokines (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  and IL-4) were detected by ELISA. **Results** The serum levels of TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  and IL-4 increased significantly in the MPP patients compared with the controls ( $P < 0.05$ ); the serum expression levels of TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  were the highest in the MPP1 group ( $P < 0.05$ ), while the serum level of IL-4 was the highest in the MPP2 group ( $P < 0.05$ ). The levels of cytokines (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  and IL-4) in BALF increased significantly in the MPP groups compared with the control group ( $P < 0.05$ ); the increase of TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  levels was the most obvious in the MPP1 group ( $P < 0.05$ ), and

收稿日期: 2018-04-13

\* 基金项目: 天津市卫生局科技基金 (No: 2013KY12)

the level of IL-4 was the highest in the MPP2 group ( $P < 0.05$ ). The expressions of cytokines in serum had obvious correlations with those in BALF by linear correlation analysis (TNF- $\alpha$ ,  $r = 0.939$ ; IFN- $\gamma$ ,  $r = 0.958$ ; IL-4,  $r = 0.912$ ). **Conclusions** The levels of TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  and IL-4 significantly increase in serum and BALF of children with MPP, and the expressions of TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  are the highest in the children with the disease course  $< 7$  days. In the course of 7-14 days, IL-4 is elevated significantly. Our data suggested that these cytokines may be involved in the pathogenesis of *Mycoplasma pneumoniae pneumoniae*.

**Keywords:** *Mycoplasma pneumoniae pneumoniae*; child; cytokines

肺炎支原体肺炎 (*mycoplasma pneumoniae pneumoniae*, MPP) 是常见的儿童社区获得性肺炎, 发病率高, 发病年龄呈逐年减小趋势, 难治性及耐药 MPP 呈逐年增高趋势<sup>[1]</sup>。MPP 除肺部表现外, 亦可引起皮肤、肝脏、心脏、血液等多器官、多系统受损, 对儿童的生命健康造成较大危害<sup>[2]</sup>。研究发现, 细胞因子介导的免疫反应在 MPP 的发病中起重要作用, 尤其细胞因子的激活起关键作用<sup>[3-5]</sup>。本研究以 MPP 患儿血清和肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 中细胞因子为切入点, 探讨 MPP 的发病机制。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选取 2017 年 1 月 -2017 年 12 月在天津市儿童医院行纤维支气管镜治疗的 90 例 MPP 患儿作为 MPP 组, 年龄 1 ~ 15 岁, 性别不限。纳入标准: ①符合 MPP 的诊断标准<sup>[6]</sup>。②胸部影像学表现为大片状阴影, 占据  $\geq 1$  个肺段。③无混合其他感染的依据, 如衣原体、细菌、病毒等病原体感染。④不伴有肺结核、支气管哮喘等其他呼吸系统疾病。⑤既往未诊断患有免疫性疾病, 无不明原因的长期发热、关节肿痛。⑥无近期或长期服用糖皮质激素史, 近 2 个月内未应用免疫球蛋白、干扰素等免疫调节剂和免疫抑制剂。⑦所有患儿有纤维支气管镜介入治疗指征。依据病程分为 MPP1 组 ( $< 7$  d)、MPP2 组 (7 ~ 14 d) 和 MPP3 组 (15 ~ 30 d), 每组 30 例。对照组为同期因支气管异物 (20 例) 或慢性咳嗽 (10 例) 行纤维支气管镜检查患儿, 共 30 例。

### 1.2 方法

**1.2.1 标本采集** 所有研究对象取得家属同意后行纤维支气管镜局部肺泡灌洗, 留取血清和 BALF。对照组选择非病变部位侧行局部灌洗, 留取血清和 BALF。所有标本经离心取上清液置于  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱保存。

**1.2.2 细胞因子测定** 采用双抗体夹心 ELISA 法测定血清及 BALF 中肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis

factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、 $\gamma$  干扰素 (Interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) 和白细胞介素-4 (Interleukin-4, IL-4) 含量, 试剂盒购自杭州联科生物科技股份有限公司, 严格按照说明书进行操作。

### 1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 16.0 统计软件, 计量资料均以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 比较用方差分析, 两两比较用 LSD- $t$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 血清中细胞因子的表达

MPP 患儿血清中 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  和 IL-4 水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。进一步两两比较经 LSD- $t$  检验, MPP1 组 TNF- $\alpha$  水平最高 ( $P < 0.05$ ), 而 MPP2 组与 MPP3 组 TNF- $\alpha$  水平比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); MPP1 组 IFN- $\gamma$  水平最高 ( $P < 0.05$ ), MPP2 组较 MPP3 组 IFN- $\gamma$  水平升高 ( $P < 0.05$ ); MPP2 组 IL-4 水平最高 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

### 2.2 BALF 中炎症因子的表达

MPP 患儿 BALF 中 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  和 IL-4 水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。进一步两两比较经 LSD- $t$  检验, MPP1 组 TNF- $\alpha$ 、

表 1 各组血清中细胞因子表达水平比较

( $n = 30$ , ng/L,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	TNF- $\alpha$	IFN- $\gamma$	IL-4
MPP1 组	26.2 $\pm$ 1.7 <sup>†</sup>	26.4 $\pm$ 2.8 <sup>†</sup>	11.5 $\pm$ 2.2 <sup>†</sup>
MPP2 组	17.5 $\pm$ 2.6 <sup>†</sup>	15.5 $\pm$ 3.4 <sup>†</sup>	23.9 $\pm$ 4.3 <sup>†</sup>
MPP3 组	16.4 $\pm$ 3.1 <sup>†</sup>	9.3 $\pm$ 1.7 <sup>†</sup>	10.8 $\pm$ 1.7 <sup>†</sup>
对照组	8.3 $\pm$ 0.8	5.2 $\pm$ 1.1	7.5 $\pm$ 2.6
F 值	17.641	19.459	27.846
P 值	0.003	0.001	0.000

注: <sup>†</sup> 与对照组比较,  $P < 0.05$

IFN- $\gamma$  水平最高 ( $P < 0.05$ ); MPP2 组 IL-4 水平最高 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

### 2.3 血清与 BALF 中细胞因子的相关性分析

直线相关分析结果显示, 血清与 BALF 中 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-4 表达水平有相关性 ( $r = 0.939$ 、 $0.958$  和  $0.912$ , 均  $P = 0.000$ ), 且 BALF 中的表达水平高于血清。

表 2 各组 BALF 中炎症因子表达水平比较

( $n = 30$ , ng/L,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	TNF- $\alpha$	IFN- $\gamma$	IL-4
MPP1 组	86.5 $\pm$ 26.1 <sup>†</sup>	74.3 $\pm$ 10.9 <sup>†</sup>	62 $\pm$ 11.3 <sup>†</sup>
MPP2 组	40.6 $\pm$ 11.3 <sup>†</sup>	51.5 $\pm$ 3.2 <sup>†</sup>	96.3 $\pm$ 15.1 <sup>†</sup>
MPP3 组	36.5 $\pm$ 4.6 <sup>†</sup>	30.1 $\pm$ 5.8 <sup>†</sup>	71.5 $\pm$ 8.4 <sup>†</sup>
对照组	17.1 $\pm$ 3.8	15.2 $\pm$ 4.3	37.5 $\pm$ 4.7
F 值	26.358	31.792	32.627
P 值	0.000	0.000	0.000

注: <sup>†</sup> 与对照组比较,  $P < 0.05$

## 3 讨论

MPP 感染可促使淋巴细胞、中性粒细胞及上皮细胞等产生一系列的细胞因子和炎症介质, 从而调节人体免疫<sup>[2]</sup>。有研究证实, MPP 患儿血清中 TNF- $\alpha$  较健康患儿升高<sup>[6]</sup>, 并且在难治性 MPP 中血清 TNF- $\alpha$  水平较普通 MPP 升高<sup>[7]</sup>。研究发现, 应用纤维支气管镜局部灌洗治疗难治性 MPP, 血清 TNF- $\alpha$  比普通治疗组下降<sup>[8]</sup>。亦有研究发现, TNF- $\alpha$  在喘息 MPP 患儿较非喘息 MPP 患儿升高<sup>[9]</sup>, 提示该细胞因子与 MPP 患儿的喘息关系密切。在 BALF 中亦有研究证实, 在 MPP 急性期, TNF- $\alpha$  较对照组升高, 在恢复期降低至正常水平<sup>[10]</sup>。但急性期中具体何时达高峰尚缺乏相关研究。本研究中 MPP 患儿均为急性期, 并且细分为 3 组病程, 首次动态研究 MPP 患儿 TNF- $\alpha$  的变化。急性期患儿血清及 BALF 中 TNF- $\alpha$  较对照组升高, 与上述研究一致。TNF- $\alpha$  在 1 周内达高峰, 后逐渐下降, 至 15 ~ 30 d 仍高于对照组。有研究发现, MPP 患儿 BALF 中 TNF- $\alpha$  水平高于血清, 并且有相关性, 提示患儿血清水平能间接反映肺部炎症情况<sup>[11]</sup>。但最能直接反映肺部炎症情况的是 BALF 中的细胞因子水平。本研究中, BALF 中 TNF- $\alpha$  水平高于血清, 且高度相关, 与上述研究结论一致。

细胞因子 TNF- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$  主要由 Th1 分泌, 能增强 T 细胞、NK 细胞及 B 细胞等的免疫活性。FAN 等<sup>[6]</sup>发现, 急性 MPP 患儿血清 IFN- $\gamma$  水平较健康患儿升高, MPP 与普通肺炎相比, 急性期血清 IFN- $\gamma$  升高<sup>[12]</sup>。难治性 MPP 与普通 MPP 相比, 血清 IFN- $\gamma$  升高, 提示 IFN- $\gamma$  在 MPP 的发病机制中起重要作用, 并且与疾病严重程度相关<sup>[1, 7]</sup>。在难治性 MPP 中, 患儿 BALF 中 IFN- $\gamma$  较对照组升高<sup>[13]</sup>。研究发现, 难治性 MPP 急性期组血清和 BALF 中 IFN- $\gamma$  水平高于非 MP 肺炎组和难治性 MPP 恢复期组, 血清 IFN- $\gamma$  与 BALF 水平呈正相关<sup>[14]</sup>。ROC 分析结果提示, BALF 中 IFN- $\gamma$  水平诊断重症肺炎的准确性高于血清, 提示 BALF 中 IFN- $\gamma$  水平较血清更能反映患者的病情严重程度<sup>[14]</sup>。本研究中, 血清及 BALF 中 IFN- $\gamma$  水平较对照组升高, 并且 BALF 中 IFN- $\gamma$  水平高于血清, 有相关性, 与上述研究结果相符。本研究对 MPP 患儿进一步分组, 动态阐述血清及 BALF 中 IFN- $\gamma$  水平随病程的变化, 发现在 1 周时血清和 BALF 水平达高峰, 后逐渐下降, 与 TNF- $\alpha$  变化相似, 提示 MPP 患儿在 1 周内以 Th1 免疫反应为主。

IL-4 主要由 Th2 分泌, 参与体液免疫反应。研究发现, 在急性 MPP 患儿中血清 IL-4 水平高于恢复期, 并且与疾病严重性及血清 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T 细胞比例有关<sup>[15]</sup>。难治性 MPP 患儿 BALF 中 IL-4 水平较对照组升高<sup>[13]</sup>, 难治性 MPP 急性期患儿 BALF 中 IL-4 水平高于对照组和恢复期组, 而恢复期组与对照组比较无明显异常, 并且血清与 BALF 中 IL-4 水平呈正相关, 提示 BALF 中 IL-4 水平较血清更能反映患者的病情严重程度<sup>[14]</sup>。本研究中细胞因子 IL-4 有类似发现, 血清和 BALF 中 IL-4 水平较对照组升高, 并且有相关性。本实验进一步研究细胞因子随病程变化的规律, 证实 IL-4 在 7 ~ 14 d 达高峰, 而 IL-4 分泌高峰在 7 ~ 14 d, 间接反映该时期 Th2 介导的免疫反应可能在 MPP 的发病机制中起重要作用。MPP 的发病机制与免疫学有关, 患儿血清及 BALF 中细胞因子发生变化, 所以 MPP 的治疗不仅仅是抗微生物治疗, 还需要根据不同的临床表现, 辅以不同的免疫治疗。

总之, 本研究证实细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-4 参与 MPP 的发病, 并且动态阐述其表达水平随病程变化的规律, 为进一步治疗 MPP 提供了理论依据。

## 参 考 文 献:

- [1] ZHANG Y, ZHOU Y, LI S, et al. The clinical characteristics and predictors of refractory mycoplasma pneumoniae pneumonia in children[J]. PLoS One, 2016, 11(5): DOI: org/10.1371/journal.pone.0156465.
- [2] LEE K Y. Pediatric respiratory infections by Mycoplasma pneumoniae[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2008, 6(4): 509-521.
- [3] GUO L, LIU F, LU M P, et al. Increased T cell activation in BALF from children with Mycoplasma pneumoniae pneumonia[J]. Pediatr Pulmonol, 2015, 50(8): 814-819.
- [4] DING S, WANG X, CHEN W, et al. Decreased Interleukin-10 Responses in children with severe Mycoplasma pneumoniae Pneumonia[J]. PLoS One, 2016, 11(1): DOI: 10.1371/journal.pone.0146397.
- [5] ATKINSON T P, BALISH M F, WAITES K B. Epidemiology, clinical manifestations, pathogenesis and laboratory detection of Mycoplasma pneumoniae infections[J]. FEMS Microbiol Rev, 2008, 32(6): 956-973.
- [6] FAN Q, MENG J, LI P, et al. Pathogenesis and association of Mycoplasma pneumoniae infection with cardiac and hepatic damage[J]. Microbiol Immunol, 2015, 59(7): 375-380.
- [7] WANG M, WANG Y, YAN Y, et al. Clinical and laboratory profiles of refractory Mycoplasma pneumoniae pneumonia in children[J]. Int J Infect Dis, 2014, 29: 18-23.
- [8] 苏宇飞, 常文毅, 王列, 等. 纤维支气管镜下支气管肺泡灌洗治疗儿童重症支原体肺炎的疗效探讨 [J]. 中国妇幼健康研究, 2016(01): 58-61.
- [9] FAN Q, GU T, LI P, et al. Roles of T-cell immunoglobulin and mucin domain genes and toll-like receptors in wheezy children with mycoplasma pneumoniae pneumonia[J]. Heart Lung Circ, 2016, 25(12): 1226-1231.
- [10] 庞焕香, 乔红梅, 成焕吉, 等. 支原体肺炎患儿肺泡灌洗液中 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10 水平检测及意义 [J]. 中国当代儿科杂志, 2011, 13(10): 808-810.
- [11] 乔红梅, 庞焕香, 张云峰, 等. 肺炎支原体肺炎患儿 IL-6、IL-10、TNF- $\alpha$  的变化 [J]. 临床儿科杂志, 2012, 30(1): 59-61.
- [12] 陈丹, 孙晓敏, 郭青. 肺炎支原体肺炎患儿血清 IL-6、IFN- $\gamma$  的变化及意义 [J]. 中国现代药物应用, 2016, 10(2): 16-17.
- [13] 蓝引乐, 杨德华, 陈志敏, 等. 甲泼尼龙治疗儿童难治性肺炎支原体肺炎的效果及患儿肺泡灌洗液细胞因子改变 [J]. 中华儿科杂志, 2015, 53(10): 779-783.
- [14] 孜维地古丽·买买提, 拜尔娜·那扎瓦尔, 艾力克木·阿不都玩克, 等. 难治性肺炎支原体肺炎患儿支气管肺泡灌洗液和血清 IFN- $\gamma$ 、IL-4、IL-6 水平及其临床意义 [J]. 疑难病杂志, 2015(9): 950-952.
- [15] YE Q, XU X J, SHAO W X, et al. Mycoplasma pneumoniae infection in children is a risk factor for developing allergic diseases[J]. Scientific World Journal, 2014, DOI: org/10.1155/2014/986527.

(童颖丹 编辑)