

文章编号: 1005-8982(2015)M20150954-CZ

合并支原体感染的大叶性肺炎患儿肺泡灌洗液中 IL-17、IL-33 检测及意义*

陈永林¹, 王云霞², 潘金勇¹, 刘莹¹, 谷强¹

(1. 石河子大学医学院第一附属医院 儿科, 新疆 石河子 832000;

2. 石河子大学医学院, 新疆 石河子 832000)

摘要:目的 检测合并支原体感染大叶性肺炎患儿支气管肺泡灌洗液(BALF)中 IL-17、IL-33 的水平,探讨其与支原体感染疾病严重程度及 MP-DNA 的关系。**方法** 选取确诊为大叶性肺炎并行肺泡灌洗术的 74 例患儿,根据免疫荧光定量 MP-DNA 结果,其中合并支原体感染 62 例,无支原体感染 12 例,根据临床肺部感染评分法(CPIS)将合并支原体感染组分为轻症组(49 例),重症组(13 例),再根据胸腔 B 超结果将轻症组分为合并胸腔积液组(16 例)、无胸腔积液组(33 例),双抗体夹心 ELISA 法检测患儿 BALF 中 IL-17、IL-33 的水平。**结果** IL-17、IL-33 在合并 MP 感染的大叶性肺炎患儿 BALF 中不同程度表达,重症组 BALF 中 IL-17 水平高于轻症组,差异有统计学意义($P < 0.05$),且患儿 BALF 中 IL-17 与 MP-DNA 滴度呈正相关($r = 0.391, P < 0.05$);轻症组无胸腔积液组患儿 BALF 中 IL-33 水平高于合并胸腔积液组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 合并支原体感染的大叶性肺炎患儿 BALF 中 IL-17 可以反映疾病严重程度及 MP-DNA 滴度, BALF 中 IL-33 升高可能有助于减轻胸膜炎症反应。

关键词: 大叶性肺炎;支原体感染;BALF;IL-17;IL-33;儿童

中图分类号:

文献标识码:

Levels of IL-17 and IL-33 in bronchoalveolar lavage fluid of children with labor pneumonia complicated with *Mycoplasma pneumoniae* and its clinical significance*

Yong-lin CHEN¹, Yun-xia WANG¹, Jin-yong PAN², Ying LIU¹, Qiang GU¹

(1. Department of Pediatrics, Affiliated Hospital, Medical College of Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000, P.R. China; 2. Department of Medical College of Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000, P.R. China)

Abstract: [Objective] To explore the cytokines levels of IL-33 and IL-17 in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of children with labor pneumonia merged with mycoplasma pneumoniae infection and its significance. **[Methods]** A total of 74 children with labor pneumonia were divided into merged with mycoplasma pneumoniae infection group and no mycoplasma pneumoniae infection group. Then the group merged with mycoplasma pneumoniae infection were divided into CPIS ≥ 6 group and CPIS < 6 group according to the clinical pneumonia infection score (CPIS). Meanwhile, according to the B-scan presentation, the CPIS < 6 group was divided into the group merged with pleural effusion and the group not merged with pleural effusion. ELISA method was used to detect interleukins of IL-17 and IL-33 Levels in BALF. **[Results]** The IL-17 levels in BALF of children whose CPIS ≥ 6 were higher than that CPIS < 6 ($P < 0.05$). IL-17 are related with MP-DNA ($r = 0.391, P < 0.05$). IL-33 in the group merged with pleural effusion is lower than the group not merged with pleural effusion ($P < 0.05$). **[Conclusions]** IL-17 can reflect the seriousness of

收稿日期: 2015-07-17

* 基金项目: 兵团科技支疆计划项目 (No: 2013AB027)

labor pneumonia merged with pleural effusion, it also relates to MP-DNA. IL-33 low indicates that the kid may merge with pleural effusion.

Key words: labor pneumonia; mycoplasma pneumoniae infection; interleukin-17; interleukin-33; children

肺炎支原体肺炎 (mycoplasma pneumoniae pneumonia, MPP) 全年散发, 秋末和冬初为发病高峰, 世界范围内每 3~7 年可发生 1 次流行, 各地发病率差异较大, 全球感染率在 9.6%~66.7%, 5~19 岁的学龄儿童和青年好发, 有时导致家庭及学校的爆发^①。

近年来 MPP 发病率逐年上升, 不但呼吸系统受累, 还引起多系统损害, 并且重症病例逐渐增多, 严重时甚至引起死亡, 引起广泛关注^②。虽然其目前发病机制不清楚, 但国内外学者均倾向于肺炎支原体 (mycoplasma pneumoniae, MP) 的黏附、侵入, 可直接造成细胞损伤及免疫炎症反应^{③-④}。IL-17、IL-33 均为近年来发现的前炎症因子, 与免疫性疾病存在重要关系。IL-17 具有调节 T 细胞、B 细胞及 NK 细胞的活性及增强机体抗感染免疫, 在 MP 感染发病机制中扮演重要角色^⑤。IL-33 近年来备受关注的 IL-1 家族新成员, 既能作为促炎因子活化炎症, 加重组织损伤, 也可作为染色质相关核因子起转录抑制作用, 辅助抑制前炎症基因表达^⑥。其通过活化巨噬细胞、树突状细胞、肥大细胞、嗜碱性细胞、内皮细胞和上皮细胞等参与哮喘、过敏等疾病^⑦。检测合并支原体感染大叶性肺炎患儿 BALF 中 IL-17、IL-33 等炎症因子, 可进一步从免疫学分子水平阐明 MP 感染的发病机制, 有利于疾病的诊治。

1 资料与方法

1.1 研究对象

参照儿童大叶性肺炎诊断标准^⑧, 选取石河子大学第一附属医院儿科 2014 年 5 月-2015 年 6 月以大叶性肺炎收住并行纤维支气管镜灌洗术的患儿 74 例, 年龄 4~14 岁, 平均 (8.4±3.60) 岁, 男 40 例, 女 34 例, 所有患儿 BALF 均进行细菌培养、免疫荧光 MP-DNA 及细胞学等检查。留取 BALF 前, 患儿均未使用糖皮质激素或丙球蛋白等免疫调节药物。临床肺部感染评分法 (CPIS) 是综合临床、影像、微生物学标准的评分系统, 可用来评价大叶性肺炎的严重程度, 大叶性肺炎评分 ≥6 分为重度大叶性肺炎^⑨。根据免疫荧光定量 MP-DNA 结果, 合并支原体感

染组 62 例, 根据临床肺部感染评分法 (CPIS) 将合并支原体感染组分为轻症组 (CPIS<6) 49 例, 年龄 (8.45±3.20) 岁, 其中男 27 例, 女 22 例; 重症组 (CPIS≥6) 13 例, 年龄 (8.32±3.50) 岁, 其中男 6 例, 女 7 例。再根据胸腔 B 超结果将轻症组分为合并胸腔积液组 16 例、无胸腔积液组 33 例。各组间儿童性别构成、年龄分布上差异无统计学意义 (P>0.05)。

1.2 方法

1.2.1 BALF 采集 所有患儿术前均由家长签订有创操作知情同意书, 术前 6 h 禁食水, 予以静脉镇静加局部麻醉的方法, 采用 2% 利多卡因咽喉部局麻, 纤维支气管镜经鼻、咽喉、声门进入气道, 检查各段支气管无新生物和其他病变后, 结合术前胸片及肺 CT 的定位结果, 寻找病变部位的支气管开口, 37℃ 生理盐水灌洗受累的肺段, 1.0 ml/kg 至少灌洗 3 次, 总量不超过 (1~2) ml/kg, 随即负压吸引, 至少 30% 灌输液被回收, 留取肺泡灌洗液标本, 缓慢拔出纤维支气管镜。留取标本 3 ml 立即储存于 -80℃ 冰箱, 等待测定。

1.2.2 细胞因子测定 双层无菌纱布过滤 BALF, 4℃ 以下以 1 800 r/min 离心标本, (半径 17.5 cm, 10 min), 留取上清液, 双抗体夹心 ELISA 法测定患儿 BALF 中 IL-17、IL-33 水平, 试剂盒由武汉优尔生商贸有限公司提供。试剂盒步骤严格按照说明书进行操作。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 15.0 统计软件进行对数据分析, 计量资料以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间均数比较用 *t* 检验; 非正态分布计量资料以中位数 (四分位间距) 表示, 组间比较用秩和检验; 相关分析用 Pearson 相关或 Spearman 相关分析, P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 重症组、轻症组比较

重症组 IL-17 水平高于轻症组, 差异有统计学意义 (P<0.05); 两组之间 IL-33 水平差异无统计学意义, 见表 1。

2.2 轻症组中合并胸腔积液与未合并胸腔积液患儿的比较

合并胸腔积液组患儿 IL-33 水平低于无胸腔积液组 ($P < 0.05$), 差异有统计学意义; 两组患儿 IL-17 水平差异无统计学意义, 见表 2。

2.3 IL-17、IL-33 与 MP-DNA 滴度的相关性

IL-17 水平与 MP-DNA 滴度之间具有相关性 ($P < 0.05$), 而 IL-33 与 MP-DNA 滴度未发现相关性 ($P > 0.05$), 见表 3。

表 1 重症组、轻症组患儿 BALF 中 IL-17、IL-33 水平比较
[中位数(四分位间距), pg/ml]

组别	例数	IL-17	IL-33
重症组	13	129.73(75.76~199.32)	419.24(194.05~753.35)
轻症组	49	93.44(20.99~141.95)	352.51(180.80~730.17)
Z 值		-2.146	-0.445
P 值		0.032	0.656

注: 以上均用非参数检验 Mann-Whitney U 检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义

表 2 轻症组患儿 BALF 中 IL-17、IL-33 水平比较
[中位数(四分位间距), pg/ml]

组别	例数	IL-17	IL-33
合并胸腔积液	16	93.44(3.11~140.59)	237.53(104.52~316.53)
无胸腔积液	33	93.25(20.33~145.01)	381.55(180.80~851.86)
Z 值		-0.533	-2.446
P 值		0.611	0.013

注: 以上均用非参数检验 Mann-Whitney U 检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义

表 3 IL-17、IL-33 与 MP-DNA 滴度相关性分析

组别	例数	IL-17	IL-33
MP-DNA 定量	62	0.397	0.115
P 值	62	0.004	0.420

注: 以上统计方法采用 Spearman 相关性检验, 在置信度(双测)为 0.05 时, 相关性是显著的

3 讨论

目前认为, MP 感染时机体存在免疫应答及细胞因子合成释放的改变, 支原体肺炎的发生是有免疫因素参与。本研究中重症组患儿 BALF 中 IL-17 高于轻症组, 且 IL-17 水平与 MP-DNA 滴度相关。Th17 细胞的发现是对 Th1/Th2 模式的补充, IL-17 主要由 TH17 细胞分泌。IL-17 对肺炎支原体的作用

宿主的 IL-23/IL-17 轴对抗肺炎支原体感染的功能在 2007 年被首次证实。(新增)支原体感染宿主后, 巨噬细胞和树突状细胞摄取并处理抗原, 分泌产生大量 IL-23, IL-23 促进活化的 T 细胞增殖, 并使其产生 IFN- γ , 进而诱导炎症介质 IL-17 的产生, 并通过 IL-17 介导炎症反应^[10]。IL-17 发挥生物学作用主要通过两条途径: NF- κ B-DNA 途径和 MAP 激酶途径。其不但能够促进基质细胞产生大量的细胞因子, 也能够促进细胞之间的黏附分子分泌功能增强, 同时也促使支气管上皮细胞、成纤维细胞以及巨噬细胞等多种细胞产生炎症因子的功能明显增强, 造成组织细胞炎性损害。在肺部感染中 IL-17 能够刺激人支气管上皮细胞、肺纤维原细胞产生中性粒细胞, 介导炎症反应。支原体侵犯肺部细胞时, IL-17 通过强大的嗜中性粒细胞募集作用来清除病原体, 同时也刺激基质细胞产生大量前炎症因子引发一系列炎症级联反应。

IL-33 是近年来发现的一种前炎症细胞因子, 人 IL-33 组成性表达于多种组织的平滑肌细胞、成纤维细胞、肾小球膜细胞、血管内皮细胞、支气管和小气道的上皮细胞和抗原呈递细胞(APCs)等特殊类型的细胞中^[11], 它可结合 IL-1 受体家族成员 ST2, 活化核因子 κ B 和丝裂原激活的蛋白激酶信号通路, 促进 Th2 细胞因子的产生, 参与多种炎症与免疫反应过程, 主要参与到 Th2 细胞所介导的机体对抗细菌感染、病毒侵染以及过敏等一系列免疫反应当中, 在清除细菌、真菌以及寄生虫感染方面具有重要作用^[12], 也可作为染色质相关因子起转录抑制作用, 辅助抑制前炎症基因表达^[13]。但在本研究中, 各组间 IL-33 差异无统计学意义, 可能因为 IL-33 在参与炎症过程中具有双重作用^[12], 不能作为判断病情严重程度的一个指标。

胸腔积液是儿科常见临床体征, 尽早明确病因对治疗和预后具有重要意义。MP 感染后可导致多种肺外并发症, 其机制主要是抗原抗体交叉反应, 即 MP 感染后机体产生特异性抗体, 而该抗体又可与机体其他器官如胸膜的抗原发生反应, 从而导致免疫损害, 在胸腔积液的形成中起主要作用^[14]。有文献表明, IL-17 在恶性及结核性胸腔积液患者中均有较高表达^[15-16]。本研究在轻症组中未发现 IL-17 水平在合并胸腔积液与未合并胸腔积液组患儿之间比较差异有统计学意义, 但 IL-33 在无胸腔积液组的患儿高于合并胸腔积液的患儿, 考虑 IL-33 升高可以调

节胸膜炎程度,减少胸膜炎性渗出。

综上所述,BALF 中 IL-17、IL-33 对评估合并支原体感染的大叶性肺炎患儿病情及是否合并胸腔积液具有不同意义,IL-17 可以用于评估病情的严重程度,IL-33 在炎症反应调节中作用尚需进一步研究。

参 考 文 献:

- [1] BLYSTAD H, ÅNESTAD G, VESTRHEIM D F, et al. Increased incidence of *Mycoplasma pneumoniae* infection in Norway 2011 [J]. *Eurosurveillance (Online)*, 2012, 17(5): 12-14.
- [2] CAO B, REN LL, ZHAO F, et al. Viral and *Mycoplasma pneumoniae* community-acquired pneumonia and novel clinical outcome evaluation in ambulatory adult patients in China[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2010, 29(11): 1443-1448.
- [3] BETTELLI E, KORN T, OUKKA M, et al. Induction and effector functions of TH-17 cells[J]. *Nature*, 2008, 453(7198): 1051-1057.
- [4] 刘洋,李敏,徐佩茹.肺炎支原体肺炎发病机制研究进展 [J]. *临床儿科杂志*, 2011, 29(2): 196-198.
- [5] 陆敏,付汉东,张爱华,等.肺炎支原体感染患儿血清 IL-17、IL-23 表达及临床意义[J]. *中华全科医学*, 2012, 10(3): 374-376.
- [6] MILLER ASHLEY M. Role of IL-33 in inflammation and disease[J]. *Journal of Inflammation*, 2011, 8: 22.
- [7] 周虎,赵卫东. IL-33 及其与相关疾病关系的研究进展[J]. *国际免疫学杂志*, 2011, 34(4): 277-280.
- [8] 胡亚美,江载芳.诸福棠实用儿科学[M].第7版.北京:人民卫生出版社,2002: 1175-1187.
- [9] 杜春燕,卢强,李玉品,等.大叶性肺炎患儿血清肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-6、白细胞介素-8、白细胞介素-10 和高迁移率族蛋白 B1 表达意义 [J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2014, 29(16): 1224-1226.
- [10] Ivanov S, Bozinovski S, Bossios A, et al. Functional relevance of the IL-23 IL-17 axis in lungs in vivo[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2007, 36(4): 442-451.
- [11] 王娟. IL-33 在感染性疾病中的研究进展 [J]. *中国免疫学杂志*, 2011, 27(12): 1129-1131.
- [12] HUMPHREYS NE, XU D, HEPWORTH MR, et al. Grencis RK: IL-33, a potent inducer of adaptive immunity to intestinal nematodes[J]. *J Immunol* 2008, 180(4): 2443-2449.
- [13] CARRIERE V, ROUSSEL L, ORTEGA N, et al. IL-33, the IL-1 like cytokine ligand for ST2 receptor, is a chromatin-associated nuclear factor in vivo [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(1): 282-287.
- [14] 陈正荣,季伟,王宇清,等.肺炎支原体致支气管肺炎和大叶性肺炎患儿的临床及实验室检查特征分析 [J]. *临床儿科杂志*, 2012, 30(8): 744-748.
- [15] 叶志坚. CD4⁺IL-17⁺ 辅助性 T 淋巴细胞在肺腺癌胸膜转移的恶性胸腔积液中上调及其浸润机制[D]. 广西医科大学, 2010.
- [16] 官莉,杨芳,官原.恶性胸腔积液患者 Th17 细胞的表达及意义[J]. *广东医学*, 2014, 35(4): 537-539.