

论著 • 临床研究

外周血 TIM4 和 sIgE 联合检测预测儿童过敏性哮喘病情严重程度的价值研究

赵 静¹, 车治萍², 金 晶², 顾 猛², 李 林^{1△}

(江苏省常州儿童医院: 1. 儿科; 2. 检验科, 江苏常州 213003)

摘要: **目的** 探讨过敏性哮喘患儿外周血 T 细胞免疫球蛋白及黏蛋白域 4 (TIM4) 及过敏原特异性 IgE (sIgE) 水平检测对预测病情严重程度的临床价值。 **方法** 将 45 例过敏性哮喘患儿分为轻、中、重度哮喘组 3 组, 随机选取 30 例同期健康儿童体检者作为对照组, 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 检测治疗前后外周血 TIM4 阳性细胞占单核细胞百分率及 sIgE 水平; 采用受试者操作特征曲线 (ROC 曲线) 评价 TIM4 阳性细胞百分率及 sIgE 对过敏性哮喘严重程度的预测效能。 **结果** 重度哮喘组外周血 TIM4 阳性细胞百分率和血清 sIgE 水平均明显高于其他 3 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 中度哮喘组患儿外周血 TIM4 阳性细胞百分率和血清 sIgE 水平均较轻度哮喘组和对照组明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。经治疗 1 个月后, 中、重度哮喘组患儿外周血 TIM4 阳性细胞百分率和血清 sIgE 水平均有明显的下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。当外周血 TIM4 阳性细胞百分率在 1.935 时, 其约登指数最大, 为 0.777 8, 其对中、重度过敏性哮喘诊断的灵敏度为 77.78%, 特异度为 84.78%, 对中、重度过敏性哮喘的阳性预测值为 0.750 0, 阴性预测值为 0.866 7; 血清 sIgE 水平在 158.5 U/L 时, 其约登指数最大, 为 0.781 5, 其对中、重度过敏性哮喘诊断的灵敏度为 81.48%, 特异度为 82.61%, 对中、重度过敏性哮喘的阳性预测值为 0.733 3, 阴性预测值为 0.883 7。两个指标联合检测对中、重度过敏性哮喘诊断的灵敏度为 92.59%, 特异度为 95.65%, 对中、重度过敏性哮喘的阳性预测值为 0.925 9, 阴性预测值为 0.956 5, 提示二者联合检测对预测中、重度过敏性哮喘的价值最高。 **结论** 动态监测过敏性哮喘患儿外周血中 TIM4 阳性细胞百分率及 sIgE 水平有助于判断过敏性哮喘病情严重程度及治疗效果; 二者联合检测对中、重度过敏性哮喘的预测价值更高。

关键词: 过敏性哮喘; T 细胞免疫球蛋白及黏蛋白域 4; 过敏原特异性 IgE; 儿童

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.14.022 **中图法分类号:** R446.6

文章编号: 1673-4130(2018)14-1740-04 **文献标识码:** A

Value of peripheral blood TIM4 and sIgE levels in severity prediction on children's allergic asthma

ZHAO Jing¹, CHE Zhiping², JIN Jing², GU Meng², LI Lin^{1△}

(1. Department of Pediatrics; 2. Department of Clinical Laboratory, Changzhou Children's Hospital of Nantong Medical University, Jiangsu 213003, China)

Abstract: **Objective** To investigate the clinical value of peripheral blood TIM4 and sIgE levels in children with allergic asthma. **Methods** 45 cases of allergic asthma patients were divided into mild allergic asthma group, moderate allergic asthma group and severe allergic asthma group, randomly selected 30 healthy children of the same period as control group. Percentage of TIM4 positive cells per mononuclear cells in peripheral blood and serum sIgE level before and after treatment were detected by ELISA method; Receiver operating characteristic curve (ROC curve) was used to predict the evaluation of the percentage of TIM4 positive cell and sIgE on the severity of allergic asthma. **Results** The percentage of TIM4 positive cells and the levels of sIgE in peripheral blood of patients with severe asthma were significantly higher than those in the other 3 groups ($P < 0.05$); The percentage of TIM4 positive cells and the level of serum sIgE in children with moderate asthma were significantly higher than those in mild asthma group and control group ($P < 0.05$). After one months of treatment, the percentage of TIM4 positive cells and the level of serum sIgE in children with moderate and severe asthma were significantly decreased ($P < 0.05$). When the percentage of TIM4 positive cells in peripheral blood was 1.935, the Youden value was 0.777 8, the diagnostic sensitivity of moderate and severe allergic asthma was 77.78%, the diagnostic specificity was 84.78%, positive prediction value of moderate and

作者简介: 顾猛, 男, 主任技师, 主要从事小儿免疫方向研究。 **通信作者,** E-mail: 1270738482@qq.com。

本文引用格式: 赵静, 车治萍, 金晶, 等. 外周血 TIM4 和 sIgE 联合检测预测儿童过敏性哮喘病情严重程度的价值研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(14): 1740-1743.

severe allergic asthma was 0.750 0, the negative prediction value was 0.8667; When the level of serum sIgE was 158.5 U/L, the Youden value was 0.781 5, the diagnostic sensitivity of moderate and severe allergic asthma diagnosis was 81.48%, the diagnostic specificity was 82.61%, positive prediction value of moderate and severe allergic asthma was 0.733 3, the negative prediction value was 0.883 7. The diagnostic sensitivity of combined detection of two indicators to moderate and severe allergic asthma was 92.59%, the diagnostic specificity was 95.65%, positive prediction value of moderate and severe allergic asthma was 0.925 9, the negative prediction value was 0.956 5, which indicating that the combined detection of two indicators has the highest value in predicting severe allergic asthma. **Conclusion** Dynamic monitoring the percentage of peripheral blood TIM4 positive cells and serum sIgE levels in children with allergic asthma is helpful to judge the severity and therapeutic effect in patients with allergic asthma. Combined detection of two indicators has higher predictive value in moderate and severe allergic asthma.

Key words: allergic asthma; TIM4; sIgE; children

过敏性哮喘是由肥大细胞、嗜酸性粒细胞等参与, IgE 介导的一种以气道高反应为主要临床症状的可逆的气道慢性炎性变态反应性疾病^[1]。随着国家城市化进程的不断推进, 基础设施建设的提速, 空气污染越来越严重。吸入性变应原对气道长期反复刺激, 引起机体免疫调节功能失衡, 从而导致过敏性哮喘^[2]。而小儿免疫系统尚未健全, 更是深受其害。过敏性哮喘, 特别是中、重度过敏性哮喘严重影响了患儿的生活质量。其早期识别及严重程度早期判断目前主要是通过临床表现及过敏原检测等进行诊断, 临床缺乏特异性及可操作性强的检测指标。近年来, 反映由 IgE 介导的 I 型变态反应疾病致敏物质的过敏原特异性 IgE (sIgE) 和可反映 Th1/Th2 淋巴细胞失衡的 T 细胞免疫球蛋白及黏蛋白域 4 (TIM4) 在过敏性哮喘病理过程中的作用引起了人们极大的关注, 与过敏性哮喘的关系也有许多报道^[3-4]。本研究对过敏性哮喘患儿进行外周血 TIM4 阳性细胞百分率和血清 sIgE 水平进行了测定, 旨在评价其对预测过敏性哮喘严重程度的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 3—10 月在常州儿童医院小儿呼吸科门诊或住院就诊并治疗的 45 例过敏性哮喘患儿为研究对象。其临床诊断及分型均符合中华医学会儿科学分会呼吸学组修订的《儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016 年版)》中诊断标准^[5]。根据其临床症状, 所用药物及呼气峰流速将哮喘分为轻、中、重度哮喘组, 其中轻度哮喘组 18 例, 男 10 例, 女 6 例, 平均(6.69±4.22)岁; 中度哮喘组 14 例, 男 9 例, 女 5 例, 平均(6.41±4.02)岁; 重度哮喘组 13 例, 男 6 例, 女 7 例, 平均(6.05±4.18)岁。所有患者均为初发病例, 均未进行脱敏治疗, 1 个月内未使用激素, 1 周内未使用抗组胺及扩张支气管药物。同期选择本院健康体检儿童 30 例作对照组, 男 18 例, 女 12 例, 平均(6.42±4.33)岁, 均无过敏性疾病或近期无呼吸道感染, 无喘息史及家族过敏史, 粪便虫卵试验阴性, 近 1 个月内未使用糖皮质激素、抗组胺及扩张

支气管药物, 肺功能正常等。4 组性别构成及年龄比较差异无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性。本研究经常州儿童医院医学伦理委员会批准, 且所有受试者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 外周血采集 所有患儿均于诊断第 1 天及治疗后 1 个月, 采集外周静脉血 3 mL, 自然凝固后分离血清, 分装后-80℃冻存用于血清 sIgE 水平的检测; 同时采集患儿 EDTA 抗凝全血 2 mL 用于 TIM4 阳性细胞百分率的检测。

1.2.2 血清 sIgE 水平的检测 采用 ELISA 法(试剂由英国伯明翰公司提供)测定空腹血清 sIgE 水平, 严格按试剂说明书进行操作。

1.2.3 全血 TIM4 阳性细胞百分率检测 100 μ L 人外周血加入 5 μ L TIM4 抗体, 震荡混匀后避光孵育 30 min, 加 500 μ L 红细胞裂解液, 震荡混匀避光裂解 5 min, 待试管内液体变为红色透明后, 1 500 r/min 离心 5 min, 弃上清后加入 500 μ L PBS 缓冲液洗涤 1 次, 振荡混匀后采用 BD FACS auto II 流式细胞仪进行检测, 记录 TIM4 阳性细胞百分率, 严格按仪器操作规程进行操作。

1.2.4 小儿过敏性哮喘治疗方案 视小儿病情采用止喘药物和(或)加服转移因子口服液等免疫增强剂来对患儿进行正规治疗。

1.3 统计学处理 采用 SPSS21.0 软件进行统计学分析。本实验中计量资料均以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 其中两两样本的比较经方差齐性分析后, 进一步选择 t 检验或 t' 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 治疗前后 TIM4 阳性细胞百分率及 sIgE 水平的比较采用配对 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。依据 TIM4 及 sIgE 检测结果进行分析, 并绘制 ROC 曲线图。应用 ROC 曲线下面积(AUC)来衡量检测指标对过敏性哮喘的预测情况。

2 结果

2.1 治疗前 4 组间外周血 TIM4 阳性细胞百分率和血清 sIgE 水平的比较 治疗前 4 组外周血 TIM4 阳

性细胞百分率和血清 sIgE 水平见表 1。重度哮喘组患儿外周血 TIM4 阳性细胞百分率和血清 sIgE 水平均较其他 3 组明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$);中度哮喘组患儿外周血 TIM4 阳性细胞百分率和血清 sIgE 水平均较轻度哮喘组和对照组明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$);轻度哮喘组患儿外周血 TIM4 阳性细胞百分率和血清 sIgE 水平均较对照组明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 治疗前 4 组间外周血 TIM4 和血清 sIgE 水平的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	TIM4(%)	sIgE(U/L)
重度哮喘组	13	3.84±1.59 ^{abc}	325.92±132.68 ^{abc}
中度哮喘组	14	2.17±1.02 ^{ab}	217.36±106.59 ^{ab}
轻度哮喘组	18	1.89±0.70	168.33±89.53
对照组	30	0.68±0.45	73.87±42.49

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与轻度哮喘组比较,^b $P<0.05$;与中度哮喘组比较,^c $P<0.05$

2.2 治疗后好转的中、重度哮喘患儿治疗前后外周血 TIM4 阳性细胞百分率和血清 sIgE 水平的比较
与治疗前相比,治疗后好转进入恢复期的中、重度哮喘患儿外周血 TIM4 阳性细胞百分率和血清 sIgE 水平均有明显下降,见表 2。

表 2 中、重度哮喘患儿治疗前后外周血 TIM4 阳性细胞百分率和血清 sIgE 水平的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	TIM4(%)	sIgE(U/L)
重度哮喘组			
治疗前	14	3.84±1.59	325.92±132.68
治疗后	12	2.23±0.78	222.00±83.63
<i>t</i>		3.06	2.24
<i>P</i>		0.006	0.035
中度哮喘组			
治疗前	14	2.17±1.02	217.36±106.59
治疗后	13	1.37±0.73	146.38±57.06
<i>t</i>		2.33	2.13
<i>P</i>		0.028	0.043

表 3 中、重度过敏性哮喘患儿治疗后外周血 TIM4 阳性细胞百分率和血清 sIgE 水平与对照组的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	TIM4(%)	sIgE(U/L)
对照组	30	0.68±0.45	73.87±42.49
治疗后中度哮喘组	13	1.37±0.73	146.38±57.06
治疗后重度哮喘组	12	2.23±0.78 ^{ab}	222.00±83.63 ^{ab}

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与治疗后中度哮喘组比较,^b $P<0.05$

2.3 治疗后好转的中、重度过敏性哮喘患儿外周血 TIM4 阳性细胞百分率和血清 sIgE 水平与对照组的比较
治疗后中、重度过敏性哮喘患儿外周血 TIM4

阳性细胞百分率和血清 sIgE 水平均有明显下降;治疗后好转的中、重度过敏性哮喘患儿外周血 TIM4 阳性细胞百分率和血清 sIgE 水平与对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),结果见表 3。

2.4 外周血 TIM4 阳性细胞百分率和血清 sIgE 水平预测中、重度过敏性哮喘的最佳诊断截点
中、重度过敏性哮喘患儿外周血 TIM4 阳性细胞百分率和血清 sIgE 水平均有明显的升高,分别以外周血 TIM4 阳性细胞百分率和血清 sIgE 水平作为预测指标来判断研究对象是否可诊断为重度过敏性哮喘。ROC 曲线图结果显示,外周血 TIM4 阳性细胞百分率的 AUC 为 0.958 6,血清 sIgE 的 AUC 为 0.963 6,两者作为预测指标对判断重度过敏性哮喘的效果相当,见图 1。入选患者外周血 TIM4 阳性细胞百分率在 1.935 时其约登指数最大,为 0.777 8,对中、重度过敏性哮喘诊断的灵敏度为 77.78%,特异度为 84.78%。血清 sIgE 在 158.5 U/L 时,其约登指数最大,为 0.781 5,对中、重度过敏性哮喘诊断的灵敏度为 81.48%,特异度为 82.61%。

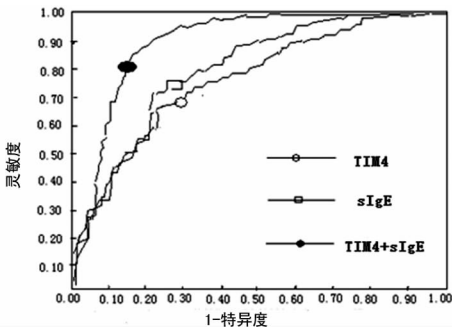


图 1 外周血 TIM4 阳性细胞百分率和血清 sIgE 水平联合检测诊断中、重度过敏性哮喘的 ROC 曲线

2.5 外周血 TIM4 阳性细胞百分率及血清 sIgE 单独和联合检测预测中、重度过敏性哮喘的价值比较
根据上述得出的外周血 TIM4 阳性细胞百分率及血清 sIgE 的最佳诊断截点,计算其对预测中、重度过敏性哮喘的价值,发现二者联合检测可提高诊断价值,见表 4。

表 4 外周血 TIM4 阳性细胞百分率及血清 sIgE 单独和联合检测预测中、重度过敏性哮喘的价值

指标	灵敏度(%)	特异度(%)	阳性预测值	阴性预测值
外周血 TIM4 阳性细胞百分率	77.78	84.78	0.750 0	0.866 7
血清 sIgE	81.48	82.61	0.733 3	0.883 7
联合检测	92.59	95.65	0.925 9	0.956 5

3 讨论

过敏性哮喘是一种慢性炎性变态反应性疾病,以气道高反应而受阻为特征,多种组织细胞及其分泌的细胞因子网络调控过敏性哮喘的发生和发展。病毒感染、冷空气刺激或剧烈运动等均可通过上调气道

皮细胞的炎症反应来诱发哮喘的发生,上皮细胞分泌大量炎症因子,引起黏液的大量分泌,气道阻塞和支气管痉挛,从而导致哮喘发作^[6]。过敏性哮喘临床分型为轻度、中度和重度过敏性哮喘,其中中、重度过敏性哮喘对患儿的危害极大,而目前能及时预测中、重度过敏性哮喘的特异性指标极其有限,目前仍以血常规中的嗜酸性粒细胞百分率、过敏原检测为主,严重制约其及时诊断和治疗。近年来,一些能快速反映过敏性哮喘的非创伤性指标如 sIgE、细胞因子和 TIM4 淋巴细胞阳性率等越来越受到临床的关注^[7]。

目前对于过敏性哮喘常见的检测指标为 sIgE,它主要反映由 IgE 介导的 I 型变态反应性疾病,虽然其诊断过敏性哮喘的灵敏度很高,但由于不同过敏性疾病的阳性率差异过大,且许多阳性结果与临床症状不符,所以该指标对于明确诊断和指导临床治疗价值有限。

MCINTIRE 在 2001 年发现了一个参与对 T 细胞免疫功能调节的基因家族,即 TIM 基因家族,其哮喘的遗传易感区域为 5q31-33^[8]。人类 TIM 基因家族包含 TIM1、TIM3 和 TIM4 3 个分子,主要调节 Th1 细胞向 Th1/Th2 淋巴细胞分化发育,调节 Th1/Th2 淋巴细胞免疫平衡。过敏性哮喘发病机制中的最重要的环节为 Th1/Th2 淋巴细胞失衡。TIM4 表达于巨噬细胞和树突状细胞表面,当细胞表面的抗原递呈细胞与 TIM4 结合后可刺激 Th2 细胞的活化,使 Th1/Th2 淋巴细胞平衡偏向 Th2 淋巴细胞^[9],从而影响过敏性哮喘的进展^[8]。文献报道 TIM4 表达增高可能是胃肠道过敏性疾病、过敏性关节炎的发病因素之一^[10-11]。本研究结果表明,过敏性哮喘患儿外周血 TIM4 淋巴细胞阳性率明显高于健康儿童对照组,且经治疗后 TIM4 阳性细胞百分率明显下降,提示 TIM4 高表达可能与过敏性哮喘的发病有关。可能原因是,其阳性细胞百分率增高表明抗原递呈能力增强,可促进 Th2 淋巴细胞的激活,导致哮喘发生^[12];而阻断树突状细胞或巨噬细胞上 TIM4 与 TIM1 的结合,则可抑制 Th2 淋巴细胞的活化,从而避免过敏性哮喘的发生。

本研究发现,两个指标联合检测对中、重度过敏性哮喘诊断的灵敏度为 92.59%,特异度为 95.65%,对中、重度过敏性哮喘的阳性预测值为 0.925 9,阴性预测值为 0.956 5,提示两者联合检测对预测中、重度过敏性哮喘的价值最高。中、重度过敏性哮喘组外周血 TIM4 阳性细胞百分率及 sIgE 水平经治疗后虽有明显下降,但仍高于轻度过敏性哮喘组和对照组,提示中、重度过敏性哮喘患儿炎症较重,对呼吸道的损伤程度更严重的慢性过程,恢复较为缓慢、费时,与临床相符。

4 结 论

动态监测过敏性哮喘患儿外周血中 TIM4 阳性细胞百分率及 sIgE 水平有助于判断过敏性哮喘病情严重程度及治疗效果;二者联合检测对中、重度过敏性哮喘的预测价值更高。

参考文献

- [1] JANSEN D F, TIMENS W, KRAAN J, et al. (A) symptomatic bronchial hyper-responsiveness and asthma[J]. *Respir Med*, 1997, 91(3): 121-134.
- [2] WANG Y, MCCUSKER C. Effect of neonatal antigen exposure on airways hyperresponsiveness in a murine model of allergic rhinitis and asthma[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2004, 113(2): S207-S207.
- [3] OLIVERIA J P, SALTER B M, PHAN S, et al. Allergic asthmatic subjects have elevated levels of IgE+B-cells in the airways[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2017, 140(2): 590-593.
- [4] LI Z, JU Z, FRIERI M. The T-cell immunoglobulin and mucin domain (Tim) gene family in asthma, allergy, and autoimmunity[J]. *Allergy Asthma Proc*, 2013, 34(1): e21-e26.
- [5] 中华医学会儿科学分会呼吸学组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016 年版)[J]. *中华儿科杂志*, 2016, 54(3): 167-181.
- [6] CARROLL N, CARELLO S, COOKE C, et al. Airway structure and inflammatory cells in fatal attacks of asthma[J]. *Eur Respir J*, 1996, 9(4): 709-715.
- [7] AKIKI Z, RAVA M, DIAZ GIL O, et al. Serum cytokine profiles as predictors of asthma control in adults from the EGEA study[J]. *Respir Med*, 2017, 125(2017): 57-64.
- [8] MCLNTIRE J J, UMETSU S E, AKBARI O, et al. Identification of Tapr (an airway hyperreactivity regulatory locus) and the linked Time gene family[J]. *Nat Immunol*, 2001, 12(12): 1109-1116.
- [9] FREEMAN G J, CASASNOVAS J M, UMETSU D T, et al. TIM genes: a family of cell surface phosphatidylserine receptors that regulate innate and adaptive immunity[J]. *Immunol Rev*, 2010, 235(1): 172-189.
- [10] SHI H N, WALKER W A. The role of TIM-4 in food allergy[J]. *Gastroenterology*, 2007, 133(5): 1723-1726.
- [11] XU J, YANG Y, LIU X, et al. Genetic variation and significant association of polymorphism rs7700944G>A of TIM-4 gene with rheumatoid arthritis susceptibility in Chinese Han and Hui populations[J]. *Int J Immunogenet*, 2012, 39(5): 409-413.
- [12] ALBACKER L A, YU S, BEDORET D, et al. TIM-4, expressed by medullary macrophages, regulates respiratory tolerance by mediating phagocytosis of antigen-specific T cells[J]. *Mucosal Immunol*, 2013, 6(3): 580-590.