

论著·临床研究

血清 25(OH)D₃ 和 IgE 在呼吸道合胞病毒毛细支气管炎患儿中的表达及其临床意义*

张蓉芳, 梁 譔[#], 陈 德, 郭 丽, 杨 辉, 徐 燕, 李桂荣, 刘东海[△]

(甘肃省妇幼保健院儿童哮喘中心, 甘肃兰州 730050)

摘要:目的 探讨呼吸道合胞病毒(RSV)毛细支气管炎患儿的血清 25(OH)D₃ 和 IgE 水平变化及其临床意义。方法 选择 2015 年 1 月至 2016 年 7 月于该院儿童哮喘中心收治的 96 例 RSV 毛细支气管炎患儿作为观察组, 同时收集同期在该院儿童保健门诊体检的 96 例健康儿童作为对照组。根据《毛细支气管炎诊断、治疗与预防专家共识(2014 年版)》分级方案将 RSV 毛细支气管炎患儿分为轻度、中度、重度 3 个亚组。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测 RSV 毛细支气管炎患儿入院 24 h 内及健康儿童在体检当日血清 25(OH)D₃ 水平, 并进行 IgE 水平测定。比较各组患儿 25(OH)D₃ 及 IgE 水平变化情况。结果 RSV 毛细支气管炎患儿血清 25(OH)D₃ 水平[(55.2±10.3)nmol/L]显著低于对照组[(70.9±17.5)nmol/L], 而血清 IgE 水平[(169.6±50.8)pg/mL]显著高于对照组[(66.8±26.3)ng/mL], 差异均有统计学意义($P<0.05$)。RSV 毛细支气管炎患儿血清 25(OH)D₃ 水平与病情严重程度分级呈负相关($r=-0.75, P<0.01$), 随着病情严重程度分级增加血清 25(OH)D₃ 水平呈降低趋势; 血清 IgE 水平与病情严重程度分级呈正相关($r=0.71, P<0.01$), 随着病情严重程度分级增加 IgE 浓度呈升高趋势。结论 25(OH)D₃ 和 IgE 可能在 RSV 毛细支气管炎的发生发展中发挥重要作用。

关键词:呼吸道合胞病毒; 毛细支气管炎; 25(OH)D₃; IgE

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.02.009

中图法分类号:R446.5;R725.6

文章编号:1673-4130(2019)02-0162-04

文献标识码:A

Expression levels and clinical significance of serum 25(OH)D₃ and immunoglobulin E in children with respiratory syncytial virus bronchiolitis*

ZHANG Rongfang, LIANG Xuan[#], CHEN De, GUO Li, YANG Hui, XU Yan, LI Guirong, LIU Donghai[△]

(Department of Pediatrics, Gansu Provincial Maternal and Child Health Hospital, Lanzhou, Gansu 730050, China)

Abstract: Objective To analyze the expression levels and clinical significance of serum 25(OH)D₃ and immunoglobulin E (IgE) in children with bronchiolitis injected by respiratory syncytial virus (RSV). **Methods** Ninety-six patients with RSV bronchiolitis were collected in our hospital from January 2015 to July 2016. During the same period, ninety-six healthy children were collected as control group. Ninety-six patients with RSV bronchiolitis were divided into three groups according to the classification scheme of *Expert Consensus on Diagnosis, Treatment and Prevention of Bronchiolitis* (2014). Serum levels of 25(OH)D₃ were recorded by using ELISA at 24 hours after enrollment. At the same time, serum levels of IgE were tested. **Results** The serum 25(OH)D₃ level was significantly lower in the observation group than that in the control group[(55.2±10.3)nmol/L vs. (70.9±17.5)nmol/L, $P<0.05$]. The serum IgE level was significantly higher in the observation group than that in the control group[(169.6±50.8)pg/mL vs. (66.8±26.3)ng/mL, $P<0.05$]. The serum 25(OH)D₃ level decreased gradually with more severe symptoms and it was negatively correlated with the severity of illness ($r=-0.75, P<0.01$). The serum IgE level increased gradually with more severe symptoms and it was positively correlated with the severity of illness ($r=0.71, P<0.01$). **Conclusion** Serum 25(OH)D₃ and IgE may play important roles in the development and progression of respiratory syncytial virus

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81260001)。

作者简介:张蓉芳,女,主任医师,主要从事儿童呼吸系统疾病研究。 [#] 共同第一作者:梁譔,女,硕士研究生,主要从事儿童呼吸系统疾病研究。 [△] 通信作者, E-mail:gsfy99@163.com。

本文引用格式:张蓉芳,梁譔,陈德,等.血清 25(OH)D₃ 和 IgE 在呼吸道合胞病毒毛细支气管炎患儿中的表达及其临床意义[J]. 国际检验医学杂志,2019,40(2):162-165.

bronchiolitis.

Key words: respiratory syncytial virus; bronchiolitis; 25(OH)D₃; immunoglobulin E

毛细支气管炎是婴幼儿常见的以细支气管受累为主的下呼吸道感染性疾病,发病率高,常发生于 2 岁以下小儿,尤以 6 个月以内多见,咳嗽和喘憋是其主要临床表现,部分患儿可出现反复喘息发作,最终可发展为哮喘^[1]。毛细支气管炎最常见的病因是病毒感染,呼吸道合胞病毒(RSV)是最常见的病原体。近年来,维生素 D 对人体免疫功能的调节作用日益受到国内外学者的广泛关注,其在小儿毛细支气管炎等喘息性疾病的发生、发展及防治中发挥着重要作用。25(OH)D₃ 是维生素 D₃ 在血液中的主要存在形式,在血液循环中较稳定,可反映体内维生素 D 的真实水平。本研究通过对 2015 年 1 月至 2016 年 7 月本院儿童哮喘中心收治的 96 例 RSV 毛细支气管炎患儿 25(OH)D₃ 及 IgE 水平进行临床分析,探讨二者在该类疾病中的表达及临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院儿童哮喘中心 2015 年 1 月至 2016 年 7 月收治的 RSV 毛细支气管炎患儿 96 例作为观察组,其中男 54 例,女 42 例,年龄 45 d 至 3 岁,平均(5.53±1.97)个月。另选取同期于本院儿童保健门诊体检的 96 例健康儿童作为对照组,其中男 51 例,女 45 例,年龄 29 d 至 3 岁,平均(6.01±2.27)个月。根据《毛细支气管炎诊断、治疗与预防专家共识(2014 年版)》^[2] 分级方案将观察组患儿分为轻度、中度、重度 3 个亚组。观察组和对照组、观察组各亚组患儿在性别、年龄等方面比较,差异无统计学意义($P>0.05$),均具有可比性。本研究经甘肃省妇幼保健院伦理委员会批准,所有入选研究患者家属均签署临床治疗知情同意书。

1.2 纳入与排除标准 纳入标准:所选观察组患儿诊断均符合《诸福棠实用儿科学》(第 7 版)^[3] 制定的毛细支气管炎诊断标准,所有患儿均有咳嗽、喘息症状,双肺可闻及广泛喘鸣音或伴湿啰音,X 线胸部正位片呈支气管周围炎征象或伴斑片状阴影,患儿自发病至纳入研究的时间均在 3 d 以内,鼻咽分泌物标本 RSV 采用 PCR 检测呈阳性。对照组既往无特殊病史。排除标准:(1)存在合并其他病原体感染或多种病原体混合感染;(2)存在先天性心脏病、先天性喉软骨发育不全、肺部畸形、急性原发性中枢神经系统疾病、原发性免疫缺陷病;(3)有家族过敏史,近 1 个月内有呼吸道感染病史,近 1 个月内接受免疫抑制剂及免疫增强剂治疗;(4)中途放弃治疗或临床资料不完整者。

1.3 方法

1.3.1 研究方法 采集观察组患儿住院当日呼吸道分泌物标本,-70℃干冰冷冻保存并冷藏运送至中国

疾病预防控制中心病毒预防控制所病毒基因工程国家重点实验室进行标本 RSV PCR 检测检测。其他病原学检测:(1)细菌及真菌:采用负压吸痰法收集深部呼吸道分泌物 2~4 mL 送检,采用培养法培养需氧菌,厌氧菌及真菌。(2)病毒:采集痰标本后送检,采用 RT-PCR 检测方法,检测腺病毒,流感病毒 A、B,副流感病毒 I、II、III 等。(3)肺炎支原体及肺炎衣原体特异性抗体检测:采集血液标本后送检,采用联免疫吸附试验(ELISA)对肺炎支原体及肺炎衣原体特异性抗体进行检测。

1.3.2 血清 25(OH)D₃、IgE 水平检测 采集健康儿童体检当日及 RSV 毛细支气管炎患儿入院当日空腹外周静脉血 2 管各 2 mL,室温下放置 2~4 h,3 000 r/min 离心 15 min,分离血清并置于-20℃保存。25(OH)D₃ 检测采用 ELISA 定量检测(检测试剂盒购自英国 IDS 公司,批号 26135),同时采用 ELISA 法测定入选患者的血清 IgE 水平(检测试剂盒购自上海信裕生物工程有限公司,批号 XY-E11536)。实验操作步骤严格按照试剂盒使用说明书进行,检测方法的各项质量指标及质控参数均在允许范围内。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用两独立样本 t 检验,计数资料以率或构成比表示,组间比较采用 χ^2 检验,相关分析采用 Pearson 相关性分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对照组与观察组患者血清 25(OH)D₃ 及 IgE 水平比较 RSV 毛细支气管炎患儿血清 25(OH)D₃ 水平显著低于对照组,而血清 IgE 显著高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 对照组与观察组患者血清 25(OH)D₃ 及 IgE 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	25(OH)D ₃ (nmol/L)	IgE(ng/mL)
对照组	96	70.92±17.57	66.86±26.33
观察组	96	55.23±10.33	169.62±50.84
<i>t</i>		7.58	-17.61
<i>P</i>		<0.05	<0.05

2.2 观察组患儿不同危重程度亚组血清 25(OH)D₃ 及 IgE 水平比较 RSV 毛细支气管炎患儿血清 25(OH)D₃ 水平与病情严重程度分级呈负相关($r=-0.75, P<0.01$),随着病情严重程度分级增加血清 25(OH)D₃ 水平呈降低趋势;血清 IgE 水平与病情严重程度分级呈正相关($r=0.71, P<0.01$),随着病情严重程度分级增加 IgE 水平呈升高趋势,见表 2。

表 2 不同危重程度亚组间血清 25(OH)D₃ 及 IgE 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	25(OH)D ₃ (nmol/L)	IgE (ng/mL)
轻度亚组	22	68.53 ± 15.35	89.72 ± 29.41
中度亚组	44	53.74 ± 16.62 ^a	159.53 ± 44.75 ^a
重度亚组	20	45.35 ± 10.24 ^{ab}	180.73 ± 51.42 ^{ab}

注:与轻度组比较,^a $P < 0.05$;与中度组比较,^b $P < 0.05$

2.3 血清 25(OH)D₃ 及 IgE 水平相关性分析 RSV 毛细支气管炎患儿血清 25(OH)D₃ 与 IgE 水平呈显著负相关($r = -0.72, P < 0.05$),而对照组血清 25(OH)D₃ 与 IgE 水平无明显相关性($r = -0.03, P > 0.05$)。RSV 毛细支气管炎轻度亚组、中度亚组、重度亚组患儿血清 25(OH)D₃ 均与 IgE 水平呈负相关($r = -0.76, -0.81, -0.80, P < 0.05$)。

3 讨 论

毛细支气管炎的病原菌多为 RSV,其临床症状为呼气相出现呼气困难、喘憋,易引起心力衰竭及呼吸衰竭。流行病学资料证实,部分毛细支气管炎患儿在以后会发展为哮喘^[4],严重威胁婴幼儿的身心健康和生命安全。

维生素 D 被证实除了具有调控钙、磷代谢和骨骼稳定状态等作用,同时通过与机体维生素 D 受体结合后发挥生物学效应,参与防御、炎症、免疫调节和修复等一系列病理生理过程^[5]。维生素 D 有多种活性形式,其中以 1,25(OH)₂D₃ 为主要活性形式,而 25(OH)D₃ 水平较为稳定,是衡量体内维生素 D 水平的最佳检测指标^[6]。目前研究发现,维生素 D 水平与许多呼吸系统疾病包括毛细支气管炎、支气管哮喘、儿童反复呼吸道感染、肺结核的发生发展关系密切^[7-10]。MCNALLY 等^[7]报道儿科重症监护室急性下呼吸道感染患儿的病情严重程度与维生素 D 缺乏明显相关,维生素 D 缺乏还可增加上呼吸道感染和病毒感染的风险。BELDERBOS 等^[8]的研究支持上述结果,其研究显示,50% 以上的新生儿脐带血 1,25(OH)₂D₃ 水平低于平均值,其维生素 D 缺乏极有可能是直接导致出生后第 1 年发生 RSV 呼吸道疾病的危险因素之一。有研究认为,维生素 D 作为重要的免疫调节物质在婴幼儿毛细支气管炎中起着重要作用,补充维生素 D 能降低各种病毒感染的机会并加速诱导机体对病毒感染的免疫应答,同时还能帮助减少炎症^[11]。我国学者丁玲等^[12]证实,婴幼儿毛细支气管炎辅以维生素 D 治疗,可以有效缩短病程、改善疗效。

IgE 介导 I 型变态反应的免疫球蛋白,在过敏性疾病的发病中有明显作用,且与病情严重程度有关^[13]。有研究表明,毛细支气管炎发作期患儿血清 IgE 水平及外周血嗜酸性粒细胞计数高于对照组,提示毛细支气管炎也存在着 IgE 产生过多^[14]。本项研究同样显示,RSV 毛细支气管炎患儿血清 IgE 显著高

于对照组,推测 RSV 感染后,RSV 作为抗原通过多种免疫学机制促进 B 淋巴细胞的激活和成熟,刺激机体产生特异性抗体,致使 IgE 增高,结合相应病毒抗原后引发生物学效应,引起气道炎症和气道高反应性,导致临床症状的出现。

本研究表明,观察组患者血清 25(OH)D₃ 水平明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),与 MANSBACH 等^[15]研究报道一致,提示血清 25(OH)D₃ 的缺乏可能与本病发生和发展有关。由于维生素 D 作用机制的特异性和复杂性,目前对于低水平 25(OH)D₃ 具体致病机制尚未完全清晰,可能与低维生素 D 水平导致宿主对病原的防御反应下降相关。结合目前国内外研究现状,笔者分析原因如下:(1)呼吸道屏障作用和抵抗力受损。维生素 D 缺乏可导致呼吸道黏膜上皮变性、角化和增生,血管内皮生长因子(VEGF)、纤连蛋白等合成增加,削弱呼吸道清除能力及诱发气道高反应性^[16-17]。维生素 D 缺乏还可降低 Toll 样受体介导的抗菌肽 LL-37、防御素等的表达,减弱机体抗感染的第一道防线^[18]。(2)单核-巨噬细胞系统免疫功能减弱:活性维生素 D 即 1,25(OH)₂D₃ 可促进单核细胞分化成熟为巨噬细胞,刺激巨噬细胞释放前列腺素 E₂,以及预防炎症细胞的过度表达^[19],维生素 D 的缺乏可抑制单核-巨噬细胞系统的免疫功能。(3)体液免疫功能降低:维生素 D 缺乏致使 B 细胞增殖、分化、成熟障碍并诱导其凋亡^[20],抑制 B 淋巴细胞对抗原刺激的敏感性,减少免疫球蛋白分泌。(4)细胞免疫功能紊乱:活性维生素 D 缺乏时外周血 T 淋巴细胞总数及辅助 T 细胞百分比明显下降,T 淋巴细胞合成 IL-2、干扰素 γ (IFN- γ)、肿瘤坏死因子 β (TNF- β) 等细胞因子受抑制^[21]。婴幼儿维生素 D 缺乏,体内免疫功能紊乱以及支气管纤毛运动减弱,是婴幼儿毛细支气管炎的易感因素^[22]。由此推断,对患儿进行维生素 D 补充治疗以纠正其低水平状态,可能会调节机体的免疫功能,防止婴幼儿毛细支气管炎的发作。

本研究结果还显示,RSV 毛细支气管炎患儿血清 25(OH)D₃ 水平与病情严重程度分级呈负相关($r = -0.75, P < 0.01$),随着病情严重程度分级增加呈降低趋势,而血清 IgE 水平与病情严重程度分级呈正相关($r = 0.71, P < 0.01$),随着病情严重程度分级增加呈升高趋势。提示血清 25(OH)D₃ 及 IgE 水平与 RSV 毛细支气管炎患儿病情严重程度相关,维生素 D 可能在疾病进展中起一定作用,说明可以通过测定血清 25(OH)D₃ 水平预测疾病的发展趋势,为判断 RSV 毛细支气管炎患儿病情评估提供分子学依据,血清 25(OH)D₃ 越缺乏,IgE 水平表达越高,病情越重。

HYPPNEN 等^[23]报道,25(OH)D₃ 可直接抑制 Th2 类细胞增殖及细胞因子分泌,从而间接抑制 B 淋巴细胞 IgE 的产生。本研究发现,RSV 毛细支气管炎

患儿及轻度、中度、重度 3 个亚组血清 25(OH)D₃ 与 IgE 均呈负相关($r=-0.72$ 、 -0.76 、 -0.81 、 -0.80 , $P<0.05$), 而对照组血清 25(OH)D₃ 与 IgE 水平无明显相关性($r=-0.03$, $P>0.05$), 故推测机体处于低水平 25(OH)D₃ 状态下在病毒感染后促进 Th2 细胞激活及炎性介质及细胞因子产生, 从而进一步激活 B 淋巴细胞合成 IgE, 与变应原结合后发生变态反应。

4 结 论

作为婴幼儿时期常见的感染性疾病, 随着病情的进展, RSV 毛细支气管炎患儿中血清 25(OH)D₃ 水平降低, 而血清 IgE 水平升高, 二者与病情分级相关, 提示血清 25(OH)D₃ 及 IgE 在 RSV 毛细支气管炎发生和发展过程中发挥着重要作用。维生素 D 缺乏可能是该病的潜在病因, 亦可作为患儿病情评估的客观指标。加强 RSV 毛细支气管炎患儿维生素 D 补充及纠正不足, 可能会有效改善病情状况和进展, 这给临床上该病的治疗提供了一条新途径。本研究局限在于单中心临床调查, 研究样本量相对偏少, 进一步阐明维生素 D 水平在 RSV 毛细支气管炎病情进展中的动态变化及病理生理学机制, 对指导临床上调整相关的预防及治疗策略有重要意义, 值得进一步深入研究。

参考文献

- [1] RALSTON S L, LIEBERTHAL A S, MEISSNER H C, et al. Clinical practice guideline: the diagnosis, management, and prevention of bronchiolitis[J]. *Pediatrics*, 2014, 134(5): e1474-1502.
- [2] 《中华儿科杂志》编辑委员会, 中华医学会儿科学分会呼吸学组. 毛细支气管炎诊断、治疗与预防专家共识(2014年版)[J]. *中华儿科杂志*, 2015, 53(3): 168-171.
- [3] 胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1197-1201.
- [4] SIGURS N, ALJASSIM F, KJELLMAN B, et al. Asthma and allergy patterns over 18 years after severe RSV bronchiolitis in the first year of Life[J]. *Thorax*, 2010, 65(12): 1045-1052.
- [5] HANSDOTTIR S, MONICK M M, HINDE S L, et al. Respiratory epithelial cells convert inactive vitamin D to its active form: potential effects on host defense[J]. *J Immunol*, 2008, 181(10): 7090-7099.
- [6] MARY M. Functional genomics: vitamin D and disease[J]. *Nat Rev Genet*, 2010, 11(10): 670.
- [7] MCNALLY J D, LEIS K, MATHESON L A, et al. Vitamin D deficiency in young children with severe acute lower respiratory infection[J]. *Pediatr Pulmonol*, 2009, 44(10): 981-988.
- [8] BELDERBOS M E, HOUBEN M L, WILBRINK B A, et al. Cord blood vitamin D deficiency is associated with respiratory syncytial virus bronchiolitis[J]. *Pediatrics*, 2011, 127(6): E1513-1520.
- [9] RALPH A P, LUCAS R M, NORVAL M. Vitamin D and solar ultraviolet radiation in the risk and treatment of tuberculosis[J]. *Lancet Infect Dis*, 2013, 13: 77-88.
- [10] GUPTA A, SJOUKES A, RICHARDS D, et al. Relationship between serum vitamin D, disease severity, and airway remodeling in children with asthma[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 184(12): 1342-1349.
- [11] ROTH D E, JONES A B, PROSSER C, et al. Vitamin D status is not associated with the risk of hospitalization for acute bronchiolitis in early childhood[J]. *Eur J Clin Nutr*, 2009, 63(2): 297-299.
- [12] 丁玲, 张宇. 维生素 D 佐治婴幼儿毛细支气管炎的临床研究[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2016, 21(2): 214-217.
- [13] 支玉香, 王子熹, 尹佳. 中华医学会变态反应学分会 2012 年学术会议纪要[J]. *中华临床免疫和变态反应杂志*, 2013, 7(2): 209-214.
- [14] 钱强, 马名方, 朱焰. 哮喘和毛细支气管炎患儿血清 IgE 和外周血嗜酸性粒细胞计数检测[J]. *现代实用医学*, 2009, 21(4): 379.
- [15] MANSBACH J M, CAMARGO J. Respiratory viruses in bronchiolitis and their Link to recurrent wheezing and asthma[J]. *Clin Lab Med*, 2009, 29(4): 741-755.
- [16] SEARING D A, ZHANG YONG, MURPHY J R, et al. Decreased serum vitamin D levels in children with asthma are associated with increased corticosteroid use[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2010, 125(5): 995-1000.
- [17] 徐祝菲, 刘恩梅, 邓昱. 血清维生素 D 水平与儿童支气管哮喘的相关性及其可能机制[J]. *实用儿科临床杂志*, 2012, 27(9): 715-717.
- [18] LIU M C, XIAO H Q, BROWN A J, et al. Association of vitamin D and antimicrobial peptide production during late-phase allergic responses in the lung[J]. *Clin Exp Allergy*, 2012, 42(3): 383-391.
- [19] GUILLOT X, SEMERANO L, SAIDENBERG-KERMANAC' H N, et al. Vitamin D and inflammation[J]. *Joint Bone Spine*, 2010, 77(6): 552-557.
- [20] BAEKE F, TAKIISHI T, KORF H, et al. Vitamin D: modulator of the immune system[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2010, 10(4): 482-496.
- [21] HEWISON M. An update on vitamin D and human immunity[J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2012, 76(3): 315-325.
- [22] HEWISON M. Vitamin D and the immune system: new perspectives on an old theme[J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2010, 39(2): 365-379.
- [23] HYPNEN E, BERRY D J, WJST M, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D and IgE: a significant but nonlinear relationship[J]. *Allergy*, 2009, 64(4): 613-620.