

• 论 著 •

FOXP3、MUC5AC 在支气管炎患儿中的表达及与 Th9 细胞因子的相关性研究*

段巧玲¹, 张洪岩¹, 赵悦¹, 孙亚娟¹, 李莹¹, 成佳文¹, 周兴棉^{1△}, 崔功颢², 曹晨玮²

河北中医学院第二附属医院; 1. 儿科; 2. 检验科, 河北定州 073000

摘要:目的 探讨叉状头/翼状螺旋转录因子(FOXP3)、黏蛋白 5AC(MUC5AC)在支气管炎患儿中的表达及与辅助性 T 细胞 9(Th9)细胞因子的相关性。方法 选取 2018 年 2 月至 2021 年 2 月该院支气管炎患儿 94 例作为观察组,选取同期健康体检儿童 45 例作为对照组。采用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)测定 FOXP3 mRNA、MUC5AC mRNA 水平,采用流式细胞学检测 Th9 细胞,采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测白细胞介素-9(IL-9)水平,比较两组 FOXP3 mRNA、MUC5AC mRNA、IL-9 水平及 Th9 细胞比例,分析支气管炎患儿 FOXP3 mRNA、MUC5AC mRNA 及 Th9 细胞比例与病情严重程度相关性,FOXP3 mRNA、MUC5AC mRNA 与 Th9 细胞因子的相关性,Logistic 回归分析支气管炎患儿预后的影响因素。结果 观察组 FOXP3 mRNA 水平低于对照组, MUC5AC mRNA、IL-9 水平及 Th9 细胞比例高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);支气管炎患儿 FOXP3 mRNA 与病情严重程度呈负相关, MUC5AC mRNA、Th9 细胞比例、IL-9 与病情严重程度呈正相关($P < 0.05$);支气管炎患儿 FOXP3 mRNA 与 Th9 细胞比例、IL-9 呈负相关, MUC5AC mRNA 与 Th9 细胞比例、IL-9 呈正相关($P < 0.05$);Logistic 回归模型分析显示,将体质、病情程度控制后, FOXP3 mRNA 低表达及 FOXP3 mRNA、IL-9 高表达及 Th9 细胞比例升高为喘息发作危险因素($P < 0.05$)。结论 支气管炎患儿 FOXP3 mRNA、MUC5AC mRNA 均异常表达,可能是 Th9 细胞因子高表达的重要因素,共同参与小儿支气管炎发病及病情进展,且各指标异常表达均为喘息发作危险因素。

关键词: 支气管炎; 叉状头/翼状螺旋转录因子; 黏蛋白 5AC; 辅助性 T 细胞 9; 喘息发作**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2022.17.018 **中图法分类号:** R725.6**文章编号:** 1673-4130(2022)17-2135-06**文献标志码:** A**Expression of FOXP3 and MUC5AC in children with bronchitis and their correlation with Th9 cytokines***DUAN Qiaoling¹, ZHANG Hongyan¹, ZHAO Yue¹, SUN Yajuan¹, LI Ying¹, CHENG Jiawen¹,
ZHOU Xingmian^{△1}, CUI Gonghao², CAO Chenwei²

1. Department of Pediatrics; 2. Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Hebei University of Traditional Chinese Medicine, Dingzhou, Hebei 073000, China

Abstract: **Objective** To investigate the expression of fork head/wing spiral transcription factor(FOXP3) and Mucin 5AC(MUC5AC) in children with bronchitis and their correlation with helper T cell 9(Th9) cytokines. **Methods** From February 2018 to February 2021, a total of 94 children with bronchitis in the hospital were selected as the observation group, and 45 healthy children who underwent the healthy physical examination were selected as the control group. Reverse transcription polymerase chain reaction(RT-PCR) was used to detect the levels of FOXP3 mRNA and MUC5AC mRNA, flow cytometry was used to detect Th9 cells, and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the level of interleukin-9 (IL-9). FOXP3 mRNA, MUC5AC mRNA, IL-9 levels and the Th9 cell ratio were compared between the two groups. The correlation between FOXP3 mRNA, MUC5AC mRNA and Th9 cyto cell ratio in children with bronchitis and the severity of disease, and the correlation between FOXP3 mRNA, MUC5AC mRNA and Th9 cyto cell ratio were analyzed. Logistic regression was used to analyze the factors affecting the prognosis of children with bronchitis. **Results** FOXP3 mRNA level in the observation group was lower than that in the control group, and MUC5AC mRNA and IL-9 levels and Th9 cell ratio were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant($P < 0.05$). FOXP3 mRNA in children with bronchitis was negatively correlated with the severity of the disease, and MUC5AC mRNA, Th9 cell ratio, and IL-9 were positively correlated with the severity of the disease($P < 0.05$). In children with bronchitis, FOXP3 mRNA was negatively

* 基金项目: 河北省医学科学研究课题(20210993)。

作者简介: 段巧玲, 女, 主治医师, 主要从事儿科学方面的研究。 △ 通信作者, E-mail: wp0blqntz0@21cn.com。

correlated with Th9 cell ratio and IL-9, and MUC5AC mRNA was positively correlated with Th9 cell ratio and IL-9 ($P < 0.05$). Logistic regression model analysis showed that after controlling the physique and disease severity, low expression of FOXP3 mRNA, high expression of FOXP3 mRNA and of IL-9 and increase of Th9 cell ratio were risk factors for wheezing onset ($P < 0.05$). **Conclusion** Both FOXP3 mRNA and MUC5AC mRNA are abnormally expressed in children with bronchitis, which may be important factors in the high expression of Th9 cyto cell. They are jointly involved in the onset and progression of bronchitis in children, and the abnormal expression of each index is a risk factor for wheezing onset.

Key words: bronchitis; forked head/winged spiral transcription factor; Mucin 5AC; helper T cell 9; wheezing onset

支气管炎是婴幼儿常见的下呼吸道感染性疾病, 最常见病因为病毒感染, 主要为呼吸道合胞病毒(RSV), 是世界范围内婴幼儿住院的最常见原因, 也是儿童发生哮喘的主要独立危险因素^[1]。免疫功能失调是小儿支气管炎发病的重要机制^[2]。近年来研究发现, 辅助性 T 细胞 9(Th9) 细胞作为一种新型 Th 细胞亚群, 其主要免疫学机制是活化炎症细胞, 分泌趋化及炎性因子, 导致炎性损伤^[3]。已有研究报道, 支气管炎患儿急性期外周血中 Th9 细胞因子表达明显升高^[4]。叉状头/翼状螺旋转录因子(FOXP3) 是叉状头/翼状螺旋转录调节因子家族成员, 可作为 CD25⁺ T 细胞的特异性标志, 与机体免疫调节功能密切相关^[5]。气道黏液高分泌是小儿支气管炎的病理生理特征, 而黏蛋白是维持黏液黏弹性的主要成分^[6]。黏蛋白 5AC(MUC5AC) 是气道黏液中最重要黏蛋白, 常作为衡量气道上皮黏液分泌的指标^[7]。目前, 关于 FOXP3、MUC5AC 在支气管炎患儿中表达的研究较少, 且 FOXP3、MUC5AC 表达与 Th9 细胞因子关系及是否与哮喘发生有关联, 也少见报道。基于此, 本研究对此展开探讨, 旨在为小儿支气管炎发病机制完善、临床治疗及哮喘早期防治提供依据。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 2 月至 2021 年 2 月本院收治的支气管炎患儿 94 例作为观察组, 选取同期健康体检儿童 45 例作为对照组。观察组男 56 例, 女 38 例; 月龄 2~19 个月, 平均 (7.26 ± 2.24) 月; 病程 1~5 d, 平均 (2.71 ± 0.75) d; 体质: 特应性体质 41 例, 非特应性体质 53 例; 病情严重程度: 轻度 30 例, 中度 41 例, 重度 23 例; 呼吸疾病史: 有 73 例, 无 21 例; 食物过敏史: 有 12 例, 无 82 例; 居住环境: 城镇 52 例, 农村 42 例; 父亲吸烟 54 例; 分娩方式: 自然分娩 59 例, 剖宫产 35 例; 出生时母亲年龄 21~34 岁, 平均 (27.16 ± 2.61) 岁。纳入标准: 观察组均符合《诸福棠实用儿科学》^[8] 中支气管炎诊断标准, 入院前未接受任何免疫抑制剂或免疫增强剂治疗; 家属均知情, 并签署承诺书。排除标准: 呼吸道先天畸形; 先天性心脏病、免疫缺陷病; 合并哮喘等其他呼吸系统疾病; 合并慢性消耗性疾病。对照组男 26 例, 女 19 例; 月龄 2~21 个月, 平均 (7.51 ± 2.19) 月; 呼吸疾病史: 有 35

例, 无 10 例; 食物过敏史: 有 6 例, 无 39 例; 居住环境: 城镇 24 例, 农村 21 例; 父亲吸烟 26 例; 分娩方式: 自然分娩 28 例, 剖宫产 17 例; 出生时母亲年龄 22~32 岁, 平均 (26.98 ± 2.33) 岁。两组年龄、性别、呼吸疾病史、食物过敏史、居住环境、父亲吸烟情况、分娩方式、出生时母亲年龄基础资料比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。

1.2 方法 (1) FOXP3 mRNA 检测。采用反转录聚合酶链反应(RT-PCR)测定, 治疗前取外周静脉血 3 mL, 采用 Ficoll 密度梯度离心法分离单个核细胞(PBMC), 以 Trizol 提取总 RNA, 反转录合成 cDNA, 后进行 PCR 扩增, 以 β -actin 为内参, FOXP3 引物: 上游(5'-3')为 CTG ACC AAG GCT TCA TCT GTG, 下游(5'-3')为 ACT CTG GGA ATG TGC TGT ITC; β -actin: 上游(5'-3')为 TGA CGT GGA CAT CCG CAA AG, 下游(5'-3')为 CTG GAA GGT GGA CAG CGA GG。PCR 产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳, 分析各条带平均灰度值, 结果以 FOXP3/ β -actin 的 Ct 比值表示。(2) MUC5AC mRNA 检测。采用 RT-PCR 测定, 治疗前, 晨起空腹 2 h, 3% 高渗盐水 10 mL 氧泵吸入 10~15 min, 雾化后拍背 1~2 min, 吸痰 3~5 mL, 以 Trizol 提取总 RNA, 反转录合成 cDNA, 后进行 PCR 扩增, 以 β -actin 为内参, MUC5AC 引物: 上游(5'-3')为 TGC CAG GAG CTG CGG ACC TC, 下游(5'-3')为 CCG AGC TCA GAG GAC ATA TGG G; β -actin: 上游(5'-3')为 TGA CGT GGA CAT CCG CAA AG, 下游(5'-3')为 CTG GAA GGT GGA CAG CGA GG。PCR 产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳, 分析各条带平均灰度值, 结果以 MUC5AC/ β -actin 的 Ct 比值表示。(3) Th9 细胞、白细胞介素-9(IL-9): 采用流式细胞学检测 PBMC 中 Th9 细胞比例; 另取外周静脉血 3 mL, 3 500 r/min, 半径 8 cm, 离心 9 min, 取血清, 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 IL-9, 采用北京朗顿公司试剂盒。

1.3 观察指标 (1) 观察组与对照组 FOXP3 mRNA、MUC5AC mRNA、IL-9 水平及 Th9 细胞比例。(2) 不同病情支气管炎患儿 FOXP3 mRNA、MUC5AC mRNA、IL-9 水平及 Th9 细胞比例。根据 Bearman 和 Pierson^[9] 修订的临床评分标准, 评分 4~6 分、7~9 分、10~12 分, 分别为轻度、中度、重度。

(3) 支气管炎患儿 FOXP3 mRNA、MUC5AC mRNA、IL-9 及 Th9 细胞比例与病情严重程度的相关性。(4) 支气管炎患儿 FOXP3 mRNA、MUC5AC mRNA 与 Th9 细胞比例的相关性。(5) 患儿治疗后随访 6 个月, 观察患儿预后(是否有喘息发作)情况。支气管炎患儿预后的影响因素。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件处理数据, 计量资料采取 Bartlett 方差齐性检验与夏皮罗-威尔克正态性检验, 均确认具备方差齐性且近似服从正态分布, 故以 $\bar{x} \pm s$ 描述, 组间比较采用独立样本 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两组间比较采用 LSD- t 检验; 计数资料用例数或百分率表示, 采用 χ^2 检验; 采用 Spearman、Pearson 相关分析相关性; 影响因素采用 Logistic 回归分析。均采用双侧检验, $\alpha=0.05$, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 观察组与对照组 FOXP3 mRNA、MUC5AC mRNA、IL-9 水平及 Th9 细胞比例比较 观察组 FOXP3 mRNA、IL-9 水平低于对照组, MUC5AC mRNA、IL-9 水平及 Th9 细胞比例高于对照组, 差异均有统计学意义($P<0.05$), 见表 1。

表 1 观察组与对照组 FOXP3 mRNA、MUC5AC mRNA、IL-9 水平及 Th9 细胞比例比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	FOXP3 mRNA	MUC5AC mRNA	Th9 细胞比例 (%)	IL-9 (ng/L)
观察组	94	0.12 $\pm$ 0.05	2.15 $\pm$ 0.29	0.55 $\pm$ 0.13	112.38 $\pm$ 18.42
对照组	45	0.25 $\pm$ 0.08	0.71 $\pm$ 0.14	0.28 $\pm$ 0.07	31.57 $\pm$ 9.24
<i>t</i>		11.707	31.553	13.040	27.767
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同病情严重程度支气管炎患儿 FOXP3 mRNA、MUC5AC mRNA、IL-9 水平及 Th9 细胞比例比较 不同病情支气管炎患儿 FOXP3 mRNA、MUC5AC mRNA、IL-9 水平及 Th9 细胞比例比较, 差异均有统计学意义($P<0.05$); 随病情严重程度加重, FOXP3 mRNA 逐渐降低, MUC5AC mRNA、IL-9 水平及 Th9 细胞比例逐渐升高, 差异均有统计学意义($P<0.05$), 见表 2。

表 2 不同病情严重程度支气管炎患儿 FOXP3 mRNA、MUC5AC mRNA、IL-9 水平及 Th9 细胞比例比较($\bar{x} \pm s$)

病情分度	<i>n</i>	FOXP3 mRNA	MUC5AC mRNA	Th9 细胞比例 (%)	IL-9 (ng/L)
轻度	30	0.18 $\pm$ 0.07	1.49 $\pm$ 0.27	0.39 $\pm$ 0.12	86.45 $\pm$ 16.37
中度	41	0.11 $\pm$ 0.05	2.18 $\pm$ 0.35	0.56 $\pm$ 0.14	115.39 $\pm$ 19.85
重度	23	0.06 $\pm$ 0.03	2.96 $\pm$ 0.42	0.74 $\pm$ 0.15	140.84 $\pm$ 25.73
<i>F</i>		33.860	117.751	42.974	46.784
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 支气管炎患儿 FOXP3 mRNA、MUC5AC mRNA、Th9 细胞比例及 IL-9 与病情严重程度的相关性 Spearman 相关性分析可知, 支气管炎患儿 FOXP3

mRNA 与病情严重程度呈负相关($r=-0.657$, 95% $CI:-0.762 \sim -0.520$, $P<0.001$), MUC5AC mRNA($r=0.842$, 95% $CI:0.797 \sim 0.907$, $P<0.001$)、Th9 细胞比例($r=0.691$, 95% $CI:0.564 \sim 0.786$, $P<0.001$)、IL-9($r=0.750$, 95% $CI:0.642 \sim 0.829$, $P<0.001$)与病情严重程度均呈正相关。见图 1~4。

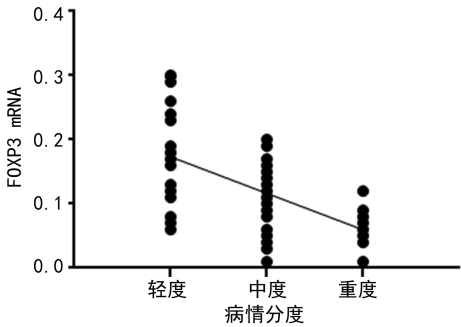


图 1 FOXP3 mRNA 与病情严重程度相关性

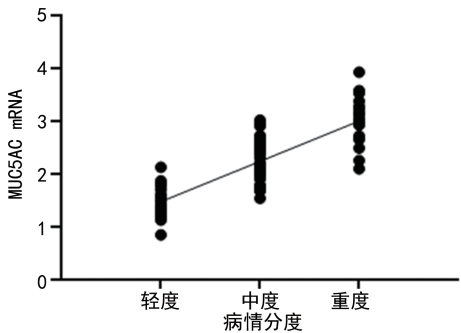


图 2 MUC5AC mRNA 与病情严重程度相关性

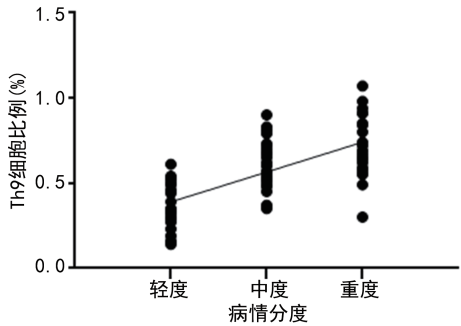


图 3 Th9 细胞比例与病情严重程度相关性

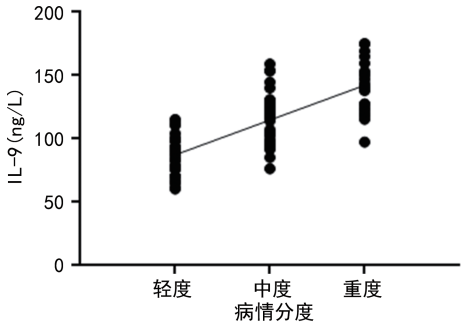


图 4 IL-9 与病情严重程度相关性

2.4 支气管炎患儿 FOXP3 mRNA、MUC5AC mRNA 与 Th9 细胞比例及 IL-9 的相关性 Pearson 相关性分析可知, 支气管炎患儿 FOXP3 mRNA 与 Th9 细胞比例($r=-0.834$, 95% $CI:-0.855 \sim -0.801$,

$P < 0.001$), IL-9 ($r = -0.831$, 95% CI: $-0.854 \sim -0.798$, $P < 0.001$) 均呈负相关; MUC5AC mRNA 与 Th9 细胞比例 ($r = 0.837$, 95% CI: $0.807 \sim 0.858$, $P < 0.001$), IL-9 ($r = 0.872$, 95% CI: $0.858 \sim 0.881$, $P < 0.001$) 均呈正相关。见图 5~8。

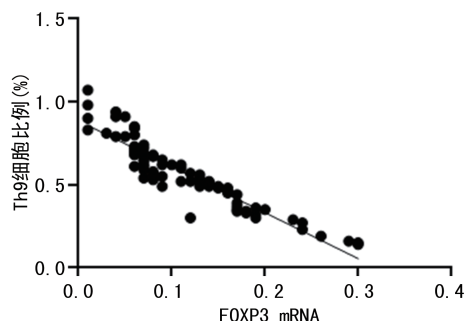


图 5 FOXP3 mRNA 与 Th9 细胞比例相关性

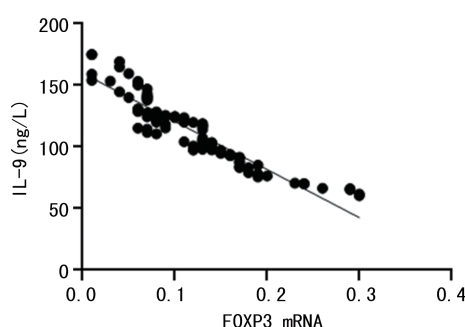


图 6 FOXP3 mRNA 与 IL-9 相关性

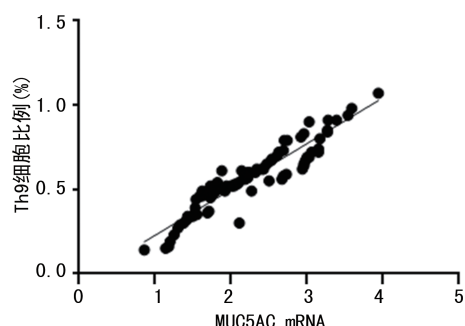


图 7 MUC5AC mRNA 与 Th9 细胞比例相关性

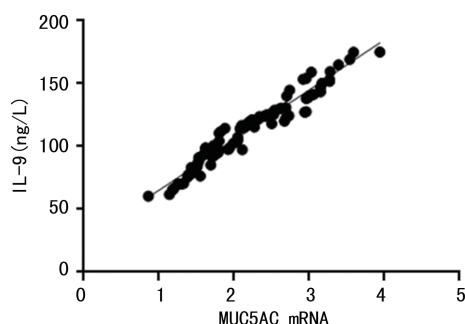


图 8 MUC5AC mRNA 与 IL-9 相关性

2.5 支气管炎患儿预后影响因素的单因素分析 94 例支气管炎患儿治疗后随访 6 个月, 21 例发生喘息, 发生率为 22.34% (21/94)。体质、病情分度、FOXP3 mRNA、MUC5AC mRNA、Th9 细胞比例、IL-9 均为支气管炎患儿喘息发作的影响因素 ($P < 0.05$), 见表 3。

2.6 支气管炎患儿预后影响因素的多因素分析 以支气管炎患儿治疗后 6 个月喘息发作情况为因变量 (无喘息发作=0, 喘息发作=1), 将表 3 中差异有统计学意义的因素作为自变量 (体质: 特异性体质=1, 非特异性体质=2; 病情程度: 轻度=1, 中度=2, 重度=3; FOXP3 mRNA: 低表达=1, 高表达=2; MUC5AC mRNA: 低表达=1, 高表达=2; Th9 细胞比例: 低比例=1, 高比例=2; IL-9: 低表达=1, 高表达=2), 应用 Logistic 回归模型分析, 结果显示, 将体质、病情程度控制后, FOXP3 mRNA 低表达, FOXP3 mRNA、IL-9 高表达及 Th9 细胞比例升高为喘息发作的独立危险因素 ($P < 0.05$), 见表 4。

表 3 支气管炎患儿预后影响因素的单因素分析 [$n(\%)$]

因素	<i>n</i>	喘息发作 (<i>n</i> =21)	无喘息发作 (<i>n</i> =73)	χ^2	<i>P</i>
性别					
男	56	11(19.64)	45(80.36)	0.581	0.446
女	38	10(26.32)	28(73.68)		
体质					
特异性体质	41	14(34.15)	27(65.85)	5.842	0.016
非特异性体质	53	7(13.21)	46(86.79)		
病情分度					
轻度	30	2(6.67)	28(93.33)	8.958	0.011
中度	41	7(17.07)	34(82.93)		
重度	23	12(52.17)	11(47.83)		
FOXP3 mRNA					
高表达	52	7(13.46)	45(86.54)	5.288	0.022
低表达	42	14(33.33)	28(66.67)		
MUC5AC mRNA					
高表达	45	15(33.33)	30(66.67)	6.013	0.014
低表达	49	6(12.24)	43(87.76)		
Th9 细胞比例					
高比例	44	16(36.36)	28(63.64)	9.376	0.002
低比例	50	5(10.00)	45(90.00)		
IL-9					
高表达	46	15(32.61)	31(67.39)	5.475	0.019
低表达	48	6(12.50)	42(87.50)		

注: FOXP3 mRNA、MUC5AC mRNA、IL-9 均以均值为界限, FOXP3 mRNA、MUC5AC mRNA、IL-9 > 均值为高表达, ≤ 均值为低表达; Th9 细胞比例 > 均值为高比例, ≤ 均值低比例。

表 4 支气管炎患儿预后影响因素的多因素分析

因素	β	SE	Wald χ^2	<i>P</i>	OR	95% CI
FOXP3 mRNA	-0.884	0.408	4.696	0.012	0.413	0.241~0.708
MUC5AC mRNA	1.402	0.557	6.336	<0.001	4.063	2.263~7.296
Th9 细胞比例	4.386	0.458	10.420	<0.001	4.386	2.754~6.985
IL-9	4.355	0.641	5.269	0.004	4.355	2.559~7.413

3 讨 论

小儿支气管炎特点是炎性因子和黏液分泌增加,导致呼吸急促、鼻炎、呼吸做功增加等一系列呼吸道症状,且与患儿后期复发性喘息和哮喘发病存在密切关系^[10]。研究证实,Th 细胞通过识别病毒抗原并触发细胞、体液免疫,在小儿支气管炎发病中发挥关键作用^[11]。Th9 细胞是近年来发现的一类 CD4⁺ T 细胞亚群,其主要通过分泌 IL-9 参与自身免疫性疾病、支气管哮喘等病理过程^[12]。目前,Th9 细胞及 IL-9 在小儿支气管炎发病机制中的作用尚少见报道,本研究显示,相较于健康体检儿童,支气管炎患儿 Th9 细胞比例、IL-9 水平升高,且与病情严重程度呈正相关。Th9 细胞由转化生长因子和 IL-4 联合刺激下分化而来,以大量分泌 IL-9 为特征,IL-9 可促进 T 淋巴细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、肥大细胞增殖,增加 IL-17、IL-8、转化生长因子- β 、组胺、血管内皮生长因子等因子释放,促进气道重塑,参与机体炎症反应^[13]。因此,Th9 细胞可能通过上述机制参与了小儿支气管炎的发生发展。

CD4⁺ CD25⁺ Treg 是主要表达 CD25 分子的 CD4⁺ T 细胞亚群,可强烈抑制 Th2 产生及 Th2 所诱导的嗜酸粒性细胞在气道聚集,研究证实,支气管炎患儿 CD4⁺ CD25⁺ Treg 表达下调^[14]。FOXP3 是 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞分化发育的关键基因^[15]。研究显示,FOXP3 突变小鼠存在多器官炎症应答反应,出现嗜酸性粒细胞增高、过敏性气道炎症、Th1/Th2 型细胞因子失衡^[16]。本研究通过 RT-PCR 检测发现,支气管炎患儿 FOXP3 mRNA 表达水平明显低于健康体检儿童,且与病情严重程度呈显著负相关,同时,其表达水平与 Th9 细胞比例、IL-9 存在依赖关系。说明支气管炎患儿体内 FOXP3 mRNA 水平降低,可能引起 Th9 细胞比例、IL-9 升高,造成免疫调节功能受损。FOXP3 mRNA 低表达可引起外周血 CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞数量不足,免疫抑制功能降低,进而引起效应性 CD4⁺ T 细胞尤其是 Th2 细胞大量增殖活化,Th9 细胞比例及 IL-9 升高,产生大量致炎因子,促进支气管炎患儿病情进展^[17]。

黏蛋白是呼吸道黏液的主要成分,而 MUC5AC 作为气道黏液中最为重要的黏蛋白,在肺部疾病中受到了广泛关注^[18]。MUC5AC 产生调控有 3 条重要信号通路,叉头转录因子 A2(FoxA2)是 MUC5AC 表达抑制剂;IL-13 诱发黏液化生和 MUC5AC 表达;表皮生长因子受体诱导 MUC5AC 表达^[19]。支气管炎患儿 IL-13 异常高表达,上调信号转导与转录活化因子 6 磷酸化,并抑制 FoxA2,进而促进 MUC5AC 表达,导致黏液高分泌。因此,MUC5AC 参与小儿支气管炎发生及病情发展。进一步分析发现,支气管炎患儿 MUC5AC mRNA 与 Th9 细胞比例、IL-9 呈正相关。研究表明,IL-9 可能通过钙激活氯离子通道调控黏蛋白表达,促进呼吸道上皮细胞分泌黏液,促使炎症细

胞在气管、支气管及肺部聚集,加重局部炎症反应^[20]。因此,推测 MUC5AC 与 Th9 细胞因子协同参与小儿支气管炎病情进展。

婴幼儿时期反复呼吸道感染,尤其是支气管炎对婴幼儿哮喘发病有很大影响。研究显示,50%以上毛细支气管炎患儿在 2~3 岁有复发性喘息,随时间推移,喘息症状趋于好转,但仍有 15%~30%在学龄前期发生哮喘^[21]。目前,临床尚缺乏有效的客观指标预测小儿支气管炎的转归。本研究采用 Logistic 回归模型分析显示,将体质、病情程度控制后,FOXP3 mRNA 低表达,FOXP3 mRNA、IL-9 高表达、Th9 细胞比例为喘息发作的独立危险因素。RSV 支气管炎患儿易转变为儿童哮喘,Th2 源性细胞因子在其中发挥主要作用已得到公认^[22]。IL-9 是 Th2 细胞源性细胞因子,通过诱导嗜酸性粒细胞聚集、黏膜分泌黏液增加等参与过敏性慢性气道炎症反应,在哮喘发病过程中发挥重要作用^[23]。支气管炎患儿存在表达 FOXP3 mRNA 的调节性 T 细胞减少,该群调节性 T 细胞异常可能是支气管炎演变为哮喘的重要原因之一^[24]。气道黏液高分泌是哮喘的一个特征性病理生理改变,MUC5AC 在哮喘中的作用已得到公认^[25]。另外,FOXP3 mRNA、FOXP3 mRNA 表达水平与 Th9 细胞比例、IL-9 水平存在明显相关性,可能协同参与喘息发作,但相关生物途径需进一步研究加以证实。因此,早期测定 FOXP3 mRNA、FOXP3 mRNA、IL-9 水平及 Th9 细胞比例,预测喘息发作风险,可为哮喘早期防治提供依据。

支气管炎患儿 FOXP3 mRNA、MUC5AC mRNA 与 Th9 细胞因子存在明显相关性,各指标异常表达可能是免疫功能失调的机制之一,并增加治疗后喘息发作风险。但 FOXP3 mRNA、MUC5AC mRNA 影响 Th9 细胞因子的具体通路仍有待进一步探讨。

参考文献

- [1] 王白. 维生素 D 缺乏与小儿毛细支气管炎[J]. 国际儿科学杂志, 2018, 45(3): 228-230.
- [2] 李振奎, 王爱静, 耿慧, 等. 干扰素联合布地奈德雾化吸入治疗对小儿 RSV 毛细支气管炎的免疫调节作用[J]. 标记免疫分析与临床, 2018, 25(1): 87-90.
- [3] 程秀芳, 陈俊松. 肺炎支原体感染对支气管哮喘患儿外周血 1、9、17 型辅助性 T 细胞及相关细胞因子水平的影响[J]. 安徽医药, 2019, 23(6): 1210-1214.
- [4] 张雪静, 何潇, 李营营, 等. 辅助性 T 细胞 9 在毛细支气管炎患儿外周血中的表达及意义[J]. 中国医药, 2019, 14(3): 353-356.
- [5] GOOL F V, NGUYEN M, MUMBACH M R, et al. A mutation in the transcription factor Foxp3 drives t helper 2 effector function in regulatory T cells[J]. Immunity, 2019, 50(2): 362-377.
- [6] 张平英, 姜勇超. γ -干扰素对哮喘儿童血清炎症因子及 MUC5ac 指标的影响[J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38(9): 4182-4186.

- [7] SOYOUNG K, SEOK CY, NA HG, et al. Benzisothiazolone upregulates the MUC5AC expression via ERK1/2, p38, and NF- κ B pathways in airway epithelial cells[J]. *Toxicol Res(Camb)*, 2019, 8(5):704-710.
- [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, 2002:1199.
- [9] GIUGNO K M, MACHADO D C, AMANTEA S L, et al. Concentrations of interleukin-2 in the nasopharyngeal secretion of children with acute respiratory syncytial virus bronchiolitis[J]. *J Pediatr*, 2004, 80(4):315-320.
- [10] 付劲蓉, 孙立成, 夏莉, 等. PM_{2.5} 促进 Th9 细胞分化及在哮喘发病中作用的初步研究[J]. *中国循证儿科杂志*, 2018, 13(3):205-209.
- [11] 武莉芳, 李风峰, 李芳, 等. 支气管哮喘患儿外周血 T 细胞亚群和血清趋化因子及酶类多肽水平[J]. *贵州医科大学学报*, 2019, 44(1):86-89.
- [12] 李志, 冷峰, 杨婷婷, 等. Th9 和 Th22 细胞及其细胞因子在儿童支气管哮喘发病中的作用[J]. *中国实验诊断学*, 2018, 22(11):1906-1910.
- [13] 张小娜, 江训烁. Th9 和其他产生 IL-9 的细胞在过敏性哮喘中的作用[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2018, 32(21):1679-1683.
- [14] 张浩, 杨凯, 丁萌, 等. 喘息性支气管炎患儿外周血 CD4⁺CD25⁺CD127^{low} 调节性 T 细胞及淋巴细胞亚群的变化与临床意义[J]. *中国微生态学杂志*, 2020, 32(4):432-434.
- [15] ZHAO X, LI Y, WANG X, et al. Synergistic association of Foxp3⁺ tumor infiltrating lymphocytes with CCL20 expressions with poor prognosis of primary breast cancer: a retrospective cohort study[J]. *Medicine(Baltimore)*, 2019, 98(50):e18403.
- [16] 韩凌, 颜克香, 钱辉, 等. CD39 和 CD73 在 CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺ 调节性 T 细胞发挥免疫抑制功能中的作用研究[J]. *现代免疫学*, 2017, 37(2):101-106.
- [17] ONO M. Control of regulatory T-cell differentiation and function by T-cell receptor signalling and Foxp3 transcription factor complexes[J]. *Immunology*, 2020, 160(1):24-37.
- [18] MATSUYAMA N, SHIBATA S, MATOBA A, et al. The dopamine D1 receptor is expressed and induces CREB phosphorylation and MUC5AC expression in human airway epithelium[J]. *Respir Res*, 2018, 19(1):53.
- [19] 蔡霜, 邹文静, 王婷, 等. Brg1 通过 STAT6 促进哮喘气道黏液高分泌[J]. *南方医科大学学报*, 2018, 38(1):42-47.
- [20] 蔡旭龙, 林娜. 白介素-9 基因多态性及其血清水平与黑毛壮儿童哮喘发病的关系[J]. *广西医学*, 2017, 39(1):15-17.
- [21] 康平, 孙晓敏, 赵少聪, 等. 基质金属蛋白酶-9 及金属蛋白酶组织抑制剂 1 在呼吸道合胞病毒毛细支气管炎进展为哮喘中的意义[J]. *实用医学杂志*, 2020, 36(22):3135-3139.
- [22] 付宗强, 牛小斌, 张汇征, 等. 小鼠过敏性哮喘模型肺组织中 Th9 细胞相关因子的变化及意义[J]. *实验与检验医学*, 2020, 38(4):626-629.
- [23] KIM V, OROS M, DURRA H, et al. Chronic bronchitis and current smoking are associated with more goblet cells in moderate to severe COPD and smokers without airflow obstruction[J]. *Plos One*, 2015, 10(2):108-112.
- [24] 刘超. CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ 调节性 T 细胞在儿童哮喘中的作用研究[J]. *中国妇幼保健*, 2019, 34(5):1054-1056.
- [25] 贺智英, 汪丽丽, 郝琴. γ -干扰素对哮喘血清炎症因子及 MUC5ac 表达的影响分析[J]. *基因组学与应用生物学*, 2019, 38(3):1267-1272.

(收稿日期:2022-01-08 修回日期:2022-04-11)

(上接第 2134 页)

- [13] ZHU X. MiR-125b but not miR-125a is upregulated and exhibits a trend to correlate with enhanced disease severity, inflammation, and increased mortality in sepsis patients[J]. *J Clin Lab Anal*, 2020, 34(3):e23094.
- [14] WANG J F, YU M L, YU G, et al. Serum miR-146a and miR-223 as potential new biomarkers for sepsis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 394(1):184-188.
- [15] SINGH R P, MASSACHI I, MANICKAVEL S, et al. The role of miRNA in inflammation and autoimmunity[J]. *Autoimmun Rev*, 2013, 12:1160-1165.
- [16] LU S, WU H, XU J, et al. SIK1/miR-96/FOXA1 axis regulates sepsis-induced kidney injury through induction of apoptosis[J]. *Inflamm Res*, 2020, 69(7):645-656.
- [17] 陈健德. 新生儿脓毒症 miRNAs 表达谱及其免疫调节作用研究[D]. 复旦大学, 2014.
- [18] 王丽娟, 朱兵兵, 徐浩. 降钙素原、C-反应蛋白及白细胞参数联合测定对新生儿败血症的早期诊断[J]. *基因组学与应用生物学*, 2020, 39(8):383-389.
- [19] 方瑞, 都鹏飞. 血清高敏 C-反应蛋白联合降钙素原对足月新生儿败血症并发化脓性脑膜炎的预测价值[J]. *重庆医学*, 2019, 48(23):66-69.
- [20] 黄林枫, 熊岚, 吴奎, 等. 脓毒症患儿血浆 miR-146a、miR-223 表达与 IL-6、IL-10、TNF- α 水平变化的临床意义分析[J]. *现代生物医学进展*, 2017, 17(32):6324-6327.

(收稿日期:2021-12-22 修回日期:2022-04-15)