

• 短篇论著 •

呼吸道合胞病毒感染致毛细支气管炎患儿血清 ANXA1、NGAL 水平及其临床意义*

吴海明, 陈 曦, 杨云燕, 林建成

厦门市儿童医院医学检验科, 福建厦门 361006

摘 要:目的 探讨呼吸道合胞病毒(RSV)感染致毛细支气管炎患儿血清膜联蛋白 A1(ANXA1)、中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)水平及临床意义。方法 选取 2018 年 6 月至 2020 年 6 月该院儿科接收的 RSV 感染致毛细支气管炎患儿 150 例作为 RSV 组, 根据入院时 lowell 评分, 进一步将其分为轻度组(≤ 9 分, 87 例)和重度组(≥ 10 分, 63 例)。RSV 组根据是否继发哮喘分为哮喘组(44 例)和非哮喘组(106 例)。另选择同期体检健康儿童 100 例为对照组。采用酶联免疫吸附试验检测血清 ANXA1、NGAL 的水平; 采用多因素 Logistic 回归分析 RSV 感染致毛细支气管炎患儿继发哮喘的影响因素; 采用受试者工作特征(ROC)曲线来评价血清 ANXA1、NGAL 对 RSV 感染致毛细支气管炎患儿继发哮喘的预测价值。结果 与对照组比较, RSV 组血清中的 ANXA1、NGAL 水平升高($P < 0.05$)。与轻度组比较, 重度组血清中的 ANXA1、NGAL 水平升高($P < 0.05$)。与非哮喘组比较, 哮喘组的白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、C 反应蛋白(CRP)、ANXA1、NGAL 水平上升($P < 0.05$)。多因素 Logistic 回归分析显示, IL-6、TNF- α 、IL-1 β 、CRP、ANXA1、NGAL 水平升高均是毛细支气管炎患儿继发哮喘的独立危险因素($P < 0.05$)。ROC 曲线结果显示, RSV 患儿血清中 ANXA1、NGAL 水平及二者联合预测 RSV 感染致毛细支气管炎患儿发生哮喘的曲线下面积(AUC)分别为 0.780、0.752、0.861, 其中联合预测的 AUC 高于二者单独预测($Z = 6.719, 5.271, P < 0.05$)。结论 血清中 ANXA1、NGAL 水平升高可增加 RSV 诱发毛细支气管炎的风险, 二者与 RSV 感染致毛细支气管炎继发哮喘的关系密切, 均可作为 RSV 感染致毛细支气管炎继发哮喘的预测因子。

关键词:呼吸道合胞病毒; 毛细支气管炎; 膜联蛋白 A1; 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白; 预测

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.17.025

文章编号:1673-4130(2023)17-2173-04

中图法分类号:R446.1

文献标志码:A

呼吸道合胞病毒(RSV)是全球性感染的、副黏病毒科的一种呼吸道单链 RNA 病毒, 有 RSV-A 和 RSV-B 两种不同的亚型^[1-2]。RSV 导致全球 320 万例患儿住院和 5.96 万例患儿死亡^[3]。慢性早产肺病(CLD)、先天性心脏病(CHD)及早产儿易出现 RSV 感染致毛细支气管炎, 且 RSV 可导致儿童出现长期后遗症, 如喘息和哮喘^[4]。RSV 是婴儿期毛细支气管炎最重要的病原体, 毛细支气管炎最常被描述为病毒诱导的小细支气管及其周围组织的炎症性疾病, RSV 感染致毛细支气管炎的特征是婴儿呼气困难、咳嗽、呼吸急促、过度充气、胸部回缩、广泛湿啰音和喘息^[5]。目前还没有安全有效的产品应用于 RSV 的临床治疗, 对感染 RSV 的患儿快速识别并采取有效的预防措施可降低全球 RSV 感染患儿的发病率和病死率。因此, 寻找 RSV 感染致毛细支气管炎相关生物标志物对临床中 RSV 感染的防治具有重要意义。膜联蛋白是一种钙调节和磷脂依赖性膜结合蛋白, 膜联蛋白 A1(ANXA1)是膜联蛋白家族的成员, 其参与许多重要的生物过程, 如炎症、吞噬、增殖、分化和凋

亡^[6]。中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)是来自脂质运载蛋白家族的相对分子质量为 25×10^3 的糖基化蛋白, 是反映慢性和急性病理状况, 特别是炎症、代谢、神经系统和癌症疾病中疾病状态的标志物^[7]。因此猜测, ANXA1、NGAL 可能参与 RSV 感染致毛细支气管炎的过程。本文旨在探究 RSV 感染致毛细支气管炎患儿血清中 ANXA1、NGAL 的水平, 为 RSV 感染致毛细支气管炎的临床治疗提供新的研究方向。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 6 月至 2020 年 6 月本院儿科接收的 RSV 感染致毛细支气管炎患儿 150 例作为 RSV 组, 根据入院时 lowell 评分^[8], 进一步将其分为轻度组(≤ 9 分, 87 例)和重度组(≥ 10 分, 63 例)。纳入标准: (1)临床确诊为毛细支气管炎^[9]; (2)对患儿呼吸道分泌物检测确诊为 RSV 感染; (3)患儿病发至入院时间在 3 d 内; (4)患儿年龄 ≤ 2 周岁。排除标准: (1)合并心、肝、肾等功能障碍; (2)合并其他病原体感染; (3)入院前 1 个月内经相关药物治疗;

* 基金项目: 厦门市医疗卫生指导性项目(3502Z20214ZD1242)。

(4)合并肺结核、免疫缺病。另选择同期体检健康儿童 100 例为对照组。RSV 组中,男 87 例,女 63 例;平均年龄(183.47±56.06)d;有过敏史 36 例;有父母吸烟史 74 例。对照组中,男 60 例,女 40 例;平均年龄(184.21±55.92)d;有过敏史 18 例;有父母吸烟史 42 例。RSV 组与对照组之间基本资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究通过本院伦理委员会批准,并得到所有参与者及监护人的知情许可。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集 采集研究者的年龄、性别、过敏史、父母吸烟史、呼吸频率、氧饱和度、白细胞计数(WBC)、中性粒细胞计数(NEUC)及比例、淋巴细胞计数(LMC)及比例、白细胞介素-1β(IL-1β)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、C 反应蛋白(CRP)等临床资料。

1.2.2 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 ANXA1、NGAL 的水平 在研究者入组时清晨采集其肘静脉血 5 mL,使用特定的 ELISA 试剂盒(莱尔生物技术有限公司)检测血清中 ANXA1、NGAL 水平。配制反应体系后使用酶标仪(美国 BioTek 公司)测量 450 nm 处的吸光度。

1.2.3 随访分组 对 RSV 感染致毛细支气管炎患儿进行 2 年的随访,根据是否继发哮喘分为哮喘组(44 例)和非哮喘组(106 例)^[10]。

1.3 统计学处理 采用 SPSS25.0 软件进行统计分析。计数资料采用例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验;采用多因素 Logistic 回归分析 RSV 感染致毛细支气管炎患儿发生哮喘的影响因素;采用受试者工作特征(ROC)曲线来评价血清 ANXA1、NGAL 对 RSV 感染致毛细支气管炎患儿发生哮喘的预测价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对照组、RSV 组基本资料及血清 ANXA1、NGAL 水平比较 RSV 组血清 ANXA1、NGAL 水平分别为(1.51±0.46)μg/mL、(37.87±11.52)ng/mL;对照组血清 ANXA1、NGAL 水平分别为(0.96±0.28)μg/mL、(25.58±8.41)ng/mL;RSV 组血清 ANXA1、NGAL 水平高于对照组($P<0.05$)。

2.2 轻度组、重度组血清 ANXA1、NGAL 水平比较 与轻度组比较,重度组血清 ANXA1、NGAL 水平升高($P<0.05$)。见表 1。

2.3 哮喘组和非哮喘组患儿临床特征 与非哮喘组比较,哮喘组的 IL-6、TNF-α、IL-1β、CRP、ANXA1、NGAL 水平上升($P<0.05$)。两组间的年龄、性别、过敏史、父母吸烟史、呼吸频率、氧饱和度、WBC、NEUC、NEUC 比例、LMC、LMC 比例比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

2.4 影响 RSV 感染致毛细支气管炎患儿继发哮喘的多因素 Logistic 回归分析 以毛细支气管炎患儿是否继发哮喘(否=0,是=1)为因变量,以表 4 中 $P<0.05$ 的因素 IL-6、TNF-α、IL-1β、CRP、ANXA1、NGAL 水平(具体值)为自变量,进行多因素 Logistic 回归分析。结果显示,IL-6、TNF-α、IL-1β、CRP、ANXA1、NGAL 水平升高均是毛细支气管炎患儿继发哮喘的独立危险因素($P<0.05$)。见表 3。

表 1 轻度组、重度组血清 ANXA1、NGAL 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	ANXA1(μg/mL)	NGAL(ng/mL)
轻度组	87	1.28±0.38	32.15±9.86
重度组	63	1.83±0.51	45.77±13.62
<i>t</i>		7.570	7.107
<i>P</i>		<0.001	<0.001

表 2 哮喘组和非哮喘组患儿临床特征[*n*(%)或 $\bar{x}\pm s$]

临床特征	哮喘组 (<i>n</i> =44)	非哮喘组 (<i>n</i> =106)	<i>t</i> / χ^2	<i>P</i>
年龄(d)	184.85±58.44	182.90±57.94	0.187	0.852
性别			0.305	0.581
男	24(54.55)	63(59.43)		
女	20(45.45)	43(40.57)		
过敏史	12(27.27)	24(22.64)	0.366	0.545
父母吸烟史	23(52.27)	51(48.11)	0.215	0.643
呼吸频率(次/分钟)	45.73±14.35	44.89±13.70	0.337	0.736
氧饱和度(%)	96.44±30.58	95.27±30.07	0.216	0.829
WBC(×10 ⁹ /L)	8.90±2.66	8.73±2.74	0.349	0.728
NEUC(×10 ⁹ /L)	3.18±1.05	3.43±1.11	1.276	0.204
NEUC 比例(%)	34.71±10.52	36.79±11.27	1.049	0.296
LMC(×10 ⁹ /L)	4.85±1.43	4.38±1.37	1.889	0.061
LMC 比例(%)	54.99±17.66	52.32±16.53	0.883	0.379
IL-6(pg/mL)	36.44±11.36	25.81±8.72	6.199	<0.001
TNF-α(pg/mL)	16.63±4.89	12.35±3.40	6.132	<0.001
IL-1β(pg/mL)	21.46±7.33	15.37±4.58	6.150	<0.001
CRP(mg/L)	1.98±0.63	1.72±0.55	2.524	0.013
ANXA1(μg/mL)	1.89±0.45	1.35±0.40	7.253	<0.001
NGAL(ng/mL)	52.77±16.39	31.69±9.58	9.824	<0.001

表 3 影响 RSV 感染致毛细支气管炎患儿继发哮喘的多因素 Logistic 回归分析

变量	β	<i>SE</i>	<i>Wald</i> χ^2	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>		<i>P</i>
					上限	下限	
IL-6	0.860	0.254	11.473	2.364	3.889	1.437	0.001
TNF-α	0.817	0.383	4.547	2.263	4.794	1.068	0.033
IL-1β	0.549	0.219	6.291	1.732	2.661	1.128	0.012
CRP	1.342	0.461	8.469	3.825	9.442	1.550	0.004
ANXA1	0.493	0.212	5.418	1.638	2.482	1.081	0.020
NGAL	1.226	0.319	14.767	3.407	6.367	1.823	<0.001

2.5 血清 ANXA1、NGAL 水平对 RSV 感染致毛细支气管炎患儿继发哮喘的预测价值 以 RSV 感染致毛细支气管炎患儿血清 ANXA1、NGAL 水平为检验变量,以 RSV 感染致毛细支气管炎患儿是否继发哮喘为状态变量(否=0,是=1)绘制 ROC 曲线,结果显

示,RSV 患儿血清中 ANXA1、NGAL 水平及二者联合预测 RSV 感染致毛细支气管炎患儿继发哮喘的曲线下面积(AUC)分别为 0.780、0.752、0.861,其中联合预测的 AUC 高于二者单独预测($Z=6.719$ 、 5.271 , $P<0.05$)。见表 4、图 1。

表 4 血清中 ANXA1、NGAL 水平预测 RSV 感染致毛细支气管炎患儿继发哮喘的价值

指标	AUC	95%CI	灵敏度(%)	特异度(%)	最佳截断值	P
ANXA1	0.780	0.705~0.843	72.73	70.75	1.59 $\mu\text{g/mL}$	<0.001
NGAL	0.752	0.675~0.819	65.91	82.08	51.47 ng/mL	<0.001
二者联合	0.861	0.795~0.912	75.00	83.96	—	<0.001

注:—表示无数据。

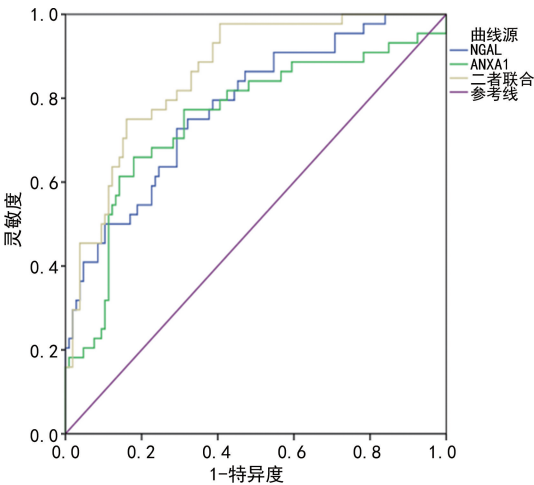


图 1 血清中 ANXA1、NGAL 水平预测 RSV 感染致毛细支气管炎患儿继发哮喘的 ROC 曲线

3 讨论

RSV 引起的急性细支气管炎是一种常见的炎症性传染病,我国 0~5 岁婴幼儿中,约有 24%肺炎及 40%~50%毛细支气管炎是由 RSV 感染所致^[11]。典型的临床表现包括咳嗽、喘息、呼吸急促、呼吸困难等,严重时可能导致呼吸衰竭,甚至危及生命,且 RSV 感染可能损害气道,并导致儿童频繁和持续地喘息,严重时会导致哮喘,其中有 30%~40%的严重毛细支气管炎患儿会发生哮喘^[12-13]。临床上对 RSV 感染致毛细支气管炎的治疗主要是支持性治疗,但治疗的相关药物因具有毒性,而在临床应用中受限^[14]。因此,寻求与 RSV 感染致毛细支气管炎关系密切的生物标志物有助于为 RSV 感染致毛细支气管炎的治疗提供新的研究方向,这在提升患儿的安全和健康方面有重大意义。

ANXA1 属于一组 Ca^{2+} 依赖性磷脂结合蛋白,参与针对病原体的免疫激活,在炎症反应、增殖、分化和细胞凋亡等功能中发挥作用^[15]。有研究发现,口蹄疫病毒感染增加了 ANXA1 的表达,进而促进了 RNA 病毒诱导的 I 型干扰素产生^[16]。LEE 等^[17]发现,与对照组小鼠相比,OVA-OVA 组小鼠肺组织和支气管

肺泡灌洗液中的 ANXA1 蛋白水平升高。本研究发现,RSV 感染致毛细支气管炎患儿血清 ANXA1 水平显著升高,且重度组中 ANXA1 水平高于轻度组,表明 ANXA1 加速 RSV 感染致毛细支气管炎的发展,与上述研究结果类似。IBRAHIM 等^[18]研究结果显示,哮喘患儿血清中 ANXA1 水平升高,其可能是哮喘潜在诊断生物标志物和未来的治疗靶点。本研究进一步发现,高水平 ANXA1 是 RSV 感染致毛细支气管炎患儿继发哮喘的独立危险因素,且其预测 RSV 感染致毛细支气管炎患儿继发哮喘的 AUC 为 0.780,提示 ANXA1 对 RSV 感染致毛细支气管炎患儿继发哮喘有一定的预测价值,进一步验证上述研究结果。

NGAL 是一种与中性粒细胞炎症相关的相对分子质量为 25×10^3 的糖蛋白,其因在各种炎症情况下升高,也被称为急性期蛋白,据报道,支气管哮喘患儿 NGAL 水平显著升高^[19]。KAWAGOE 等^[20]研究表明,哮喘伴阻塞性通气缺损患儿的血清 NGAL 水平高于无阻塞性通气缺损的哮喘患儿。本研究也发现,NGAL 水平在 RSV 感染致毛细支气管炎患儿血清中升高,在重度组中高于轻度组,提示 NGAL 与 RSV 感染致毛细支气管炎的严重程度有关。ALLAM 等^[21]发现,NGAL 区分严重支气管哮喘患儿与非严重支气管哮喘患儿的灵敏度和特异度分别为 82%和 76%,其可能是重症儿童支气管哮喘的潜在标志物。本研究中,哮喘组 NGAL 水平高于非哮喘组,其是 RSV 感染致毛细支气管炎患儿继发哮喘的独立危险因素,且预测 RSV 感染致毛细支气管炎患儿继发哮喘的 AUC 为 0.752,提示 NGAL 对 RSV 感染致毛细支气管炎患儿继发哮喘有一定的预测价值,与上述研究结果类似。进一步研究发现,ANXA1 与 RSV 联合检测预测 RSV 感染致毛细支气管炎患儿继发哮喘的 AUC 和灵敏度相较于单项检测均有提升,提示二者有望成为预测 RSV 感染致毛细支气管炎患儿继发哮喘的潜在因子。

综上所述,RSV 感染致毛细支气管炎患儿血清

NGAL、ANXA1 水平均升高,其水平升高是 RSV 感染致毛细支气管炎患儿继发哮喘独立危险因素,二者联合检测对 RSV 感染致毛细支气管炎患儿继发哮喘有一定的预测价值。但本研究对其具体机制未有涉及,后续需对其进行深入研究。

参考文献

[1] OGUNSEMOWO O, OLALEYE D O, ODAIBO G N. Human respiratory syncytial virus subtypes A and B infection among children attending primary and secondary health care facilities in Ibadan, Nigeria[J]. Arch Basic Appl Med, 2018, 6(1): 73-78.

[2] LI Y, WANG X, BLAU D M, et al. Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in children younger than 5 years in 2019: a systematic analysis [J]. Lancet, 2022, 399(10340): 2047-2064.

[3] WETZKE M, FUNKEN D, LANGE M, et al. IRIS: Infection with respIratory syncytial virus in infants-a prospective observational cohort study [J]. BMC Pulm Med, 2022, 22(1): 88.

[4] CHATTERJEE A, MAVUNDA K, KRILOV LR. Current state of respiratory syncytial virus disease and management[J]. Infect Dis Ther, 2021, 10(Suppl 1): 5-16.

[5] JARTTI T, SMITS H H, BÖNNELYKKE K, et al. Bronchiolitis needs a revisit: distinguishing between virus entities and their treatments[J]. Allergy, 2019, 74(1): 40-52.

[6] XIA W, ZHU J, WANG X, et al. ANXA1 directs schwann cells proliferation and migration to accelerate nerve regeneration through the FPR2/AMPK pathway[J]. FASEB J, 2020, 34(10): 13993-14005.

[7] BAUVOIS B, SUSIN S A. Revisiting neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in cancer: saint or sinner? [J] Cancers (Basel), 2018, 10(9): 336.

[8] 尚莹, 可秋萍, 娄莹, 等. 呼吸道合胞病毒感染患儿临床及细胞因子特点[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(18): 2839-2842.

[9] BEL HADJ I, TRABELSI I, TINSI F, et al. Acute bronchiolitis management in tunisia: impact of the national guidelines[J]. Tunis Med, 2021, 99(2): 238-242.

[10] MORAL L, VIZMANOS G, TORRES-BORREGO J, et al. Asthma diagnosis in infants and preschool children: a systematic review of clinical guidelines[J]. Allergol Immunopathol (Madr), 2019, 47(2): 107-121.

[11] 中国医师协会儿科医师分会过敏学组, 中华医学会儿科学分会呼吸学组, 中国医师协会儿科医师分会风湿免疫

学组. 儿童反复呼吸道感染临床诊疗路径(2022 版)[J]. 中国实用儿科杂志, 2022, 37(3): 161-168.

[12] TURI KN, SHANKAR J, ANDERSON LJ, et al. Infant viral respiratory infection nasal immune-response patterns and their association with subsequent childhood recurrent wheeze[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2018, 198(8): 1064-1073.

[13] BALEKIAN D S, LINNEMANN R W, HASEGAWA K, et al. Cohort study of severe bronchiolitis during infancy and risk of asthma by age 5 years[J]. J Allergy Clin Immunol Pract, 2017, 5(1): 92-96.

[14] ROCCA A, BIAGI C, SCARPINI S, et al. Passive immunoprophylaxis against respiratory syncytial virus in children: where are we now? [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(7): 3703.

[15] DE ARAÓJO S, DE MELO COSTA V R, SANTOS F M, et al. Annexin A1-FPR2/ALX signaling axis regulates acute inflammation during chikungunya virus infection [J]. Cells, 2022, 11(17): 2717.

[16] MA X, ZHANG K, LUO Z, et al. FMDV 3A antagonizes the effect of ANXA1 to positively modulate viral replication[J]. J Virol, 2022, 96(12): e0031722.

[17] LEE S H, LEE P H, KIM B G, et al. Annexin A1 in plasma from patients with bronchial asthma: its association with lung function[J]. BMC Pulm Med, 2018, 18(1): 1-16.

[18] IBRAHIM A A, RAMADAN A, WAHBY A A, et al. Evaluation of miR-196a2 expression and Annexin A1 level in children with bronchial asthma evaluation of miR-196a2 expression and Annexin A1 level in children[J]. Allergol Immunopathol (Madr), 2020, 48(5): 458-464.

[19] JO Y S, KWON S O, KIM J, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a complementary biomarker for the asthma-chronic obstructive pulmonary disease overlap [J]. J Thorac Dis, 2018, 10(8): 5047-5056.

[20] KAWAGOE J, KONO Y, TOGASHI Y, et al. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is elevated in patients with asthma and airway obstruction [J]. Curr Med Sci, 2021, 41(2): 323-328.

[21] ALLAM A A, NAGUIB M S, HEGAZY M S, et al. Assessment of the role of serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin in Egyptian childhood bronchial asthma: one centre study[J]. Egypt J Immunol, 2020, 27(2): 93-99.