

• 短篇论著 •

## TREM-1、TLR4 与百日咳患儿肠道微生态的相关性\*

宋艳红, 李春梅<sup>△</sup>, 刘振奎, 石蔚, 卢艳辉

河北北方学院附属第一医院小儿内科, 河北张家口 075000

**摘要:**目的 探讨血清髓系细胞触发受体 1(TREM-1)、Toll 样受体 4(TLR4)水平与百日咳患儿肠道微生态的相关性。方法 纳入 2018 年 1 月至 2023 年 1 月该院治疗的 99 例百日咳患儿作为观察组, 同期选取该院健康儿童 94 例作为对照组。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 TREM-1、TLR4、白细胞介素(IL)-4、IL-10 水平; 采用快速免疫透射比浊法检测免疫指标免疫球蛋白(Ig)A、IgG、IgM 水平; 采用 Pearson 相关性分析检验百日咳患儿血清 TREM-1、TLR4 水平与肠道菌群数量、免疫指标的相关性。结果 观察组双歧杆菌、乳酸杆菌、IgA、IgG、IgM 低于对照组, TREM-1、TLR4、大肠埃希菌、葡萄球菌、IL-4、IL-10 高于对照组( $P < 0.05$ )。百日咳患儿血清 TREM-1、TLR4 水平与大肠埃希菌、葡萄球菌、IL-4、IL-10 均呈正相关( $P < 0.05$ ), 与双歧杆菌、乳酸杆菌、IgA、IgG、IgM 均呈负相关( $P < 0.05$ )。结论 百日咳患儿血清 TREM-1、TLR4 水平显著升高, 肠道微生态菌群失调, 二者存在相关性。

**关键词:**百日咳; 髓系细胞触发受体 1; Toll 样受体 4; 肠道微生态

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2024.01.022

**中图法分类号:**R516.6

**文章编号:**1673-4130(2024)01-0113-04

**文献标志码:**A

百日咳是一种由百日咳杆菌引起的呼吸道传染性疾病, 其传染性极强, 严重威胁人类健康<sup>[1]</sup>。百日咳依靠飞沫传播, 任何年龄段人群均普遍易感, 但常见于婴幼儿, 接种疫苗和自然感染后无法获得终生免疫<sup>[2]</sup>。既往研究显示, 百日咳杆菌附着于呼吸道上皮层纤毛间并进行繁殖, 引起细支气管及支气管黏膜损害<sup>[3]</sup>。因此, 临床中需加强对百日咳的重视和监测。髓系细胞触发受体 1(TREM-1)是免疫球蛋白超家族受体成员之一, 在炎症反应过程中发挥增强作用<sup>[4-5]</sup>。Toll 样受体 4(TLR4)在气道炎症反应的调控过程中发挥重要作用, 可参与支气管哮喘的发生发展<sup>[6]</sup>。而研究显示, 人体肠道菌群失调是支气管炎常见并发症, 该情况发生可导致患儿病情加重, 治疗难度进一步增大<sup>[7]</sup>。因此, 探讨与百日咳患儿肠道菌群失调相关因子的表达变化, 可能对控制疾病进展、提高治疗效果有重要意义。基于此, 本研究总结了 99 例百日咳患儿的临床资料, 分析患儿血清 TREM-1、TLR4 水平与临床特征及肠道微生态的关系, 旨在提高对儿童百日咳的认知, 以便及早预防和规范治疗。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 纳入 2018 年 1 月至 2023 年 1 月本院治疗的 99 例百日咳患儿作为观察组, 年龄 3 个月至 6 岁, 平均(2.02±0.68)岁; 男 52 例, 女 47 例; 患儿病程 12 h 内。同期选取本院健康儿童 94 例作为对照组, 年龄 4 个月至 5 岁, 平均(1.94±0.75)岁; 男 49 例, 女 45 例。本研究获得本院临床伦理委员会批准,

且已取得儿童监护人同意。纳入标准:(1)患儿符合《中国儿童百日咳诊断及治疗建议》中诊断标准<sup>[8]</sup>, 诊断要点包括符合诊断标准, 且实验室检查有以下任意一种, ①PCR 结果检出百日咳鲍特菌核酸, ②免疫接种 >1 年后酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 PT-IgG 滴度显著升高, ③培养检出百日咳鲍特菌, ④发病初期和恢复期血清 PT-IgG 滴度均出现显著升高;(2)均为首次确诊, 且均未使用过抗菌药物等药物治疗;(3)儿童临床资料及实验室资料完善;(4)患儿及监护人可配合诊疗。排除标准:(1)有脏器功能不全或其他肺部病变者;(2)有严重传染性疾病、自身免疫性疾病、先天性疾病、恶性肿瘤者;(3)2 周内接种无细胞百日破联合疫苗者;(4)2 周内有关腹泻史或相关药物服用史者。

## 1.2 方法

**1.2.1 临床资料收集** 收集入组研究对象年龄、性别、体质量、哮喘家族史、患儿病程等资料。

**1.2.2 血清 TREM-1、TLR4 水平及免疫指标检测** 采集研究对象入组后晨起空腹外周静脉血样 3 mL, 室温静置后 3 000 r/min 离心 15 min(离心半径 18 cm), 取上层血清转移至干燥 EP 管中, -80 °C 冰箱保存待用。采用 ELISA 法检测血清 TREM-1(温州科森生物科技有限公司, 货号: KMEHu010831)、TLR4(上海威奥生物科技有限公司, 货号: EH6636M)、白细胞介素(IL)-4(江西艾博因生物科技有限公司, 货号: IB-E10051)、IL-10(杭州联

\* 基金项目:河北省卫生健康委员会青年科技课题(20211012)。

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail:mimouxfb830@163.com。

科生物技术股份有限公司,货号:70-EK110/2-48)水平,采用快速免疫透射比浊法检测免疫指标 IgA(上海羽喙生物科技有限公司,货号:YDLC-8047)、IgG(上海羽喙生物科技有限公司,货号:D059R)、IgM(上海羽喙生物科技有限公司,货号:D058R)水平,操作步骤均严格按照试剂盒说明书进行。

**1.2.3 肠道微生态指标检测** 收集研究对象入组后清晨新鲜粪便 0.5 g 进行肠道微生态指标检测,在粪便样本中加入无菌氯化钠溶液溶解,振荡器充分混匀后采用 10 倍连续法使用生理盐水将样本稀释为  $10^{-8} \sim 10^{-1}$  的梯度浓度,取不同稀释度下的标本置于选择性培养基平板中,厌氧菌培养 48 h(37 °C 厌氧箱),需氧菌培养 24 h(37 °C 一般恒温箱),培养结束后将选定的各细菌采用北京威泽森生物技术有限公司生产的 ATB 半自动微生物鉴定系统进行细菌鉴定,同时采用讯数科技公司生产的 icount20 型菌落计数器进行定量检测,结果采用 lgCFU/g 表示。

**1.3 统计学处理** 采用软件 SPSS25.0 进行数据收集及统计分析。计量资料经 K-S 法检验均符合正态分布,以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验;计数资料采用频数或百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验;采用 Pearson 相关分析检验百日咳患儿血清 TREM-1、TLR4 水平与肠道菌群数量、免疫指标的相关性。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 对照组与观察组患儿临床资料及免疫指标比较** 对照组与观察组年龄、性别、体质量、哮喘家族史比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。观察组 IgA、IgG、IgM 低于对照组,IL-4、IL-10 高于对照组( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 对照组与观察组患儿临床资料及免疫指标比较[ $(\bar{x} \pm s)$ 或  $n(\%)$ ]

项目	对照组( $n=94$ )	观察组( $n=99$ )	$t/\chi^2$	$P$
年龄(岁)	1.94±0.75	2.02±0.68	0.777	0.438
男[ $n(\%)$ ]	49(52.13)	52(52.53)	0.003	0.956
体质量(kg)	15.49±1.75	15.51±1.49	0.086	0.932
哮喘家族史[ $n(\%)$ ]	3(3.19)	5(5.05)	0.419	0.517
病程(d)	—	3.98±0.92	—	—
IgA(g/L)	2.95±0.72	0.43±0.13	34.246	<0.001
IgG(g/L)	12.52±1.48	5.76±0.80	39.744	<0.001
IgM(g/L)	1.52±0.55	0.78±0.25	12.133	<0.001
IL-4(ng/L)	28.49±2.71	60.81±4.92	56.114	<0.001
IL-10(ng/L)	5.54±0.98	14.39±1.26	54.271	<0.001

注:—表示无数据。

**2.2 对照组与观察组患儿血清 TREM-1、TLR4 水平比较** 观察组血清 TREM-1、TLR4 水平高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 对照组与观察组患儿血清 TREM-1、TLR4 水平比较( $\bar{x} \pm s$ , ng/mL)

组别	$n$	TREM-1	TLR4
对照组	94	54.09±6.71	11.86±3.19
观察组	99	64.78±7.02	17.35±4.76
$t$		10.804	9.362
$P$		<0.001	<0.001

**2.3 对照组与观察组患儿肠道菌群数量比较** 观察组双歧杆菌、乳酸杆菌数量低于对照组,大肠埃希菌、葡萄球菌数量高于对照组( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 对照组与观察组患儿肠道菌群数量比较( $\bar{x} \pm s$ , lgCFU/g)

组别	$n$	双歧杆菌	大肠埃希菌	乳酸杆菌	葡萄球菌
对照组	94	9.46±1.21	4.86±0.72	9.59±1.16	1.79±0.45
观察组	99	4.35±0.91	7.17±1.03	5.01±0.67	4.23±0.81
$t$		33.266	17.970	33.796	25.682
$P$		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

**2.4 百日咳患儿血清 TREM-1、TLR4 水平与肠道菌群数量、免疫指标的相关性** Pearson 相关分析结果显示,百日咳患儿血清 TREM-1 水平与大肠埃希菌、葡萄球菌、IL-4、IL-10 均呈正相关( $r = 0.492, 0.484, 0.502, 0.510, P < 0.05$ ),与双歧杆菌、乳酸杆菌、IgA、IgG、IgM 均呈负相关( $r = -0.509, -0.511, -0.481, -0.482, -0.493, P < 0.05$ );TLR4 水平与大肠埃希菌、葡萄球菌、IL-4、IL-10 均呈正相关( $r = 0.509, 0.496, 0.493, 0.502, P < 0.05$ ),与双歧杆菌、乳酸杆菌、IgA、IgG、IgM 均呈负相关( $r = -0.515, -0.513, -0.491, -0.487, -0.504, P < 0.05$ )。

## 3 讨论

随着百日咳流行趋势发生变化,其临床症状及体征亦开始不典型,且目前世界范围内百日咳的标准均不同<sup>[9]</sup>。此外,不同年龄段百日咳的临床表现差异较大,单纯依靠临床症状仅能诊断为可疑病例,临床确诊仍需实验室检查<sup>[10]</sup>。百日咳的实验室诊断“金标准”为细菌培养,但百日咳杆菌培养条件严格、培养时间较长、培养结果易受标本采集方法影响,因此细菌培养无法完全满足临床需要<sup>[11]</sup>。

儿童感染百日咳杆菌后,机体的应激状态造成肠道菌群紊乱,进而受到多种病原微生物的进一步侵害,免疫功能在此时可能发挥重要作用<sup>[12]</sup>。肠道中双歧杆菌和乳酸杆菌属于益生菌,可抑制肠道中肠杆菌等细菌的大量繁殖,同时可增加有益菌的吸收,调整肠道菌群平衡、促进胃肠道消化,使肠道功能表现良好,排便正常<sup>[13-14]</sup>。大肠埃希菌、葡萄球菌属于有害菌,此类菌群若在肠道中占比增多,会引发腹痛、腹

泻、恶心、发热等症状<sup>[15]</sup>。TREM 家族蛋白与相关接头蛋白结合后,将触发调节感染相关炎症反应的信号通路,其中 TREM-1 具有增强 TLR4 或 TLR2 信号传导的协同能力,而 TLR4 及 TLR2 可识别包括细菌、真菌、病毒在内的多种微生物成分<sup>[16]</sup>。本研究结果显示,百日咳患儿血清 TREM-1、TLR4、大肠埃希菌、葡萄球菌高于健康儿童,双歧杆菌和乳酸杆菌低于健康儿童,其中本研究肠道生态指标趋势与任华等<sup>[17]</sup>研究结果相似。柳萍飞<sup>[18]</sup>研究结果同样显示,哮喘患儿肠道杆菌数量多于健康儿童,而双歧杆菌、乳杆菌数量少于健康儿童。基于既往研究分析其可能是由于儿童肺部感染百日咳杆菌后炎症反应加剧,导致血清 TREM-1、TLR4 水平升高,肠道微生物菌群制衡状态及相互作用被打破,患儿机体免疫功能发生损害,而血清 TREM-1、TLR4 水平升高的同时又进一步增加气道炎症反应,使肺功能异常。且既往研究认为,乳杆菌和双歧杆菌数量降低,肠杆菌和肠球菌数量升高会造成肠源性内毒素水平增加,肠道黏膜通透性增加,进而诱发炎症反应,加重患者病情<sup>[19]</sup>。因此进一步推测肠道微生物菌群制衡状态被打破后,炎症级联反应发生,增加百日咳杆菌感染风险。

进一步相关性分析结果显示血清 TREM-1、TLR4 水平与肠道微生态指标大肠埃希菌、葡萄球菌呈正相关,与双歧杆菌和乳酸杆菌呈负相关。分析认为血清 TREM-1、TLR4 过表达可能间接造成肠道微生态系统失衡,机体免疫调节功能被削弱,进而激活并释放炎症因子,TREM-1、TLR4 被机体炎症反应诱发而进一步升高。陈云龙等<sup>[20]</sup>研究结果显示,百日咳患儿免疫指标 IgA、IgG、IgM 水平均低于健康儿童,本研究结果与该文献一致。此外,本研究结果中血清 TREM-1、TLR4 水平与上述免疫指标均呈负相关。进一步表明血清 TREM-1、TLR4 水平变化可能与患儿机体免疫功能异常有关,其具体作用机制有待今后基础研究证实。

综上所述,百日咳患儿血清 TREM-1、TLR4 水平与肠道微生态变化存在显著相关性,推测血清 TREM-1、TLR4 水平变化可能会对肠道中有益菌及有害菌造成影响,进而造成免疫功能紊乱。临床在治疗百日咳患儿的过程中可首先对血清指标 TREM-1、TLR4 的变化及肠道菌群的紊乱进行监测,以防 TREM-1、TLR4 过度表达造成患儿体内有害菌过度繁殖,损害其免疫功能。然而本研究仍存在不足之处:未能探究 TREM-1、TLR4 在百日咳患儿呼吸道细胞中的表达情况,需今后基础实验验证和探讨;此外,未能动态观察血清 TREM-1、TLR4 水平变化趋势,进而探讨二者在治疗疗效中的评估价值。

## 参考文献

[1] KLINE J M, SMITH E A, ZAVALA A. Pertussis: com-

mon questions and answers[J]. *Am Fam Physician*, 2021, 104(2):186-192.

- [2] JENKINS V A, SAVIC M, KANDEIL W. Pertussis in high-risk groups: an overview of the past quarter-century [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2020, 16(11):2609-2617.
- [3] IVASKA L, BARKOFF A M, MERTSOLA J, et al. Macrolide resistance in bordetella pertussis: current situation and future challenges [J]. *Antibiotics (Basel)*, 2022, 11(11):1570-1582.
- [4] DE OLIVEIRA Y L M, DE SÁ RESENDE A, MARTINS-FILHO P R, et al. Role of triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (TREM-1) in COVID-19 and other viral pneumonias: a systematic review and meta-analysis of clinical studies [J]. *Inflammopharmacology*, 2022, 30(3):1037-1045.
- [5] 梅凯, 王国祥. 髓系细胞触发受体-1, 降钙素原分别联合临床肺部感染评分对呼吸机相关性肺炎的诊断价值[J]. *临床肺科杂志*, 2021, 26(5):672-676.
- [6] ZHAI C, WANG D. Baicalin regulates the development of pediatric asthma via upregulating microRNA-103 and mediating the TLR4/NF- $\kappa$ B pathway [J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2022, 42(3):230-240.
- [7] 陈梦凡, 张传新, 倪霞红, 等. 喘息急性发作期儿童肠道微生态学改变及其与血浆 Th1/Th2 的相关性[J]. *中国现代医生*, 2022, 60(18):7-10.
- [8] 中华医学会儿科学分会感染学组. 《中华儿科杂志》编辑委员会. 中国儿童百日咳诊断及治疗建议[J]. *中华儿科杂志*, 2017, 55(8):568-572.
- [9] 赵薛飞, 叶硕, 马瑞, 等. 宁波市 2019 年健康人群百日咳血清流行病学调查[J]. *中华流行病学杂志*, 2021, 42(4):638-642.
- [10] JOG P, MEMON I A, THISYAKORN U, et al. Pertussis in Asia: Recent country-specific data and recommendations [J]. *Vaccine*, 2022, 40(8):1170-1179.
- [11] RODRÍGUEZ A C, ALBAÑIL B M R, GARCÍA V C, et al. Diagnostic study of pertussis using PCR in primary care clinics [J]. *An Pediatr (Engl Ed)*, 2022, 97(4):262-269.
- [12] MOHAMED T J, FONG S M, NADARAJAW T, et al. Burden of pertussis among young infants in Malaysia: A hospital-based surveillance study [J]. *Vaccine*, 2022, 40(35):5241-5247.
- [13] YE S, WANG L, LI S, et al. The correlation between dysfunctional intestinal flora and pathology feature of patients with pulmonary tuberculosis [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12(1):1-13.
- [14] LIU M, LIU T, WANG X, et al. Cangma Huadu granules attenuate H1N1 virus-induced severe lung injury correlated with repressed apoptosis and altered gut microbiome [J]. *Front Microbiol*, 2022, 13(1):1-13.
- [15] LIU Z, DONG W T, WEI W F, et al. Exploring the mechanism of Qinbaiqingfei-concentrate pills in the treatment of *Mycoplasma pneumoniae pneumonia* from the perspec-

tive of intestinal microbiota and mucosal immunity[J]. J Ethnopharmacol, 2022, 293(1): 1-10.

[16] FENG J Y, SU W J, PAN S W, et al. Role of TREM-1 in pulmonary tuberculosis patients- analysis of serum soluble TREM-1 levels[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 8223-8233.

[17] 任华, 钟红平, 李保存, 等. 喘息性支气管炎患儿免疫功能及微生态变化及其关联性分析[J]. 河北医学, 2020, 26(1): 122-126.

[18] 柳萍飞. 咳嗽变异性哮喘患儿肠道菌群及血清干扰素- $\gamma$ 和白介素-4水平的变化[J]. 中国微生态学杂志, 2020, 32

(4): 444-446.

[19] 赵娟, 王晓蓉. 肠道菌群与肠易激综合征分型及患者血清细胞间黏附分子-1表达的关系[J]. 中国微生态学杂志, 2021, 33(11): 1326-1329.

[20] 陈云龙, 吴素玲. 百日咳患儿血清白细胞介素-17 白细胞介素-6 及肿瘤坏死因子- $\alpha$  与体液免疫指标水平分析[J]. 中国妇幼保健, 2022, 37(12): 2183-2186.

(收稿日期: 2023-03-10 修回日期: 2023-10-10)

• 短篇论著 •

## 血清 PTX3、vWF 联合对儿童过敏性紫癜性肾炎的早期诊断价值\*

吴丽敏, 张海燕<sup>△</sup>

武汉科技大学附属孝感医院儿科, 湖北孝感 432000

**摘要:**目的 探讨血清正五聚蛋白-3(PTX3)、血管性血友病因子(vWF)联合对儿童过敏性紫癜性肾炎(HSPN)的早期诊断价值。方法 选取 2021 年 11 月至 2022 年 11 月在该院就诊的单纯过敏性紫癜患儿 62 例作为过敏性紫癜组, HSPN 患儿 71 例作为 HSPN 组, 另选取同期体检健康儿童 50 例作为对照组。采用酶联免疫吸附试验检测血清 PTX3、vWF 水平, 比较 3 组血清 PTX3、vWF、血清免疫球蛋白及补体水平; 比较 HSPN 患儿、过敏性紫癜患儿的临床资料。采用 Pearson 法分析 HSPN 患儿血清 PTX3、vWF 水平与 24 h 尿蛋白、胱抑素 C、免疫球蛋白 A(IgA)的相关性; 采用多因素 Logistic 回归分析影响过敏性紫癜患儿发生 HSPN 的因素; 采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 PTX3、vWF 水平对过敏性紫癜患儿发生 HSPN 的诊断价值。**结果** HSPN 组血清 PTX3、vWF、IgA 水平高于过敏性紫癜组和对照组, 过敏性紫癜组血清 PTX3、vWF、IgA 水平高于对照组( $P < 0.05$ ); HSPN 组 24 h 尿蛋白和胱抑素 C 水平高于过敏性紫癜组( $P < 0.05$ )。Pearson 法分析结果表明, 血清 PTX3 与 vWF 水平呈正相关( $P < 0.05$ ); 血清 PTX3、vWF 水平与 24 h 尿蛋白、胱抑素 C、IgA 均呈正相关( $P < 0.05$ )。多因素 Logistic 回归分析结果表明, 血清 PTX3、vWF、24 h 尿蛋白、胱抑素 C 水平是过敏性紫癜患儿发生 HSPN 的影响因素( $P < 0.05$ )。ROC 曲线分析结果表明, 血清 PTX3、vWF 水平联合诊断过敏性紫癜患儿发生 HSPN 的曲线下面积明显高于二者单独检测( $Z_{\text{PTX3-联合}} = 2.382, P = 0.017$ ,  $Z_{\text{vWF-联合}} = 4.296, P < 0.05$ )。**结论** HSPN 患儿血清 PTX3、vWF 水平明显升高, 二者与 HSPN 发生密切相关, 对诊断过敏性紫癜患儿发生 HSPN 具有较好参考价值。

**关键词:** 正五聚蛋白-3; 血管性血友病因子; 紫癜性肾炎

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2024.01.023

**中图法分类号:** R446.1

**文章编号:** 1673-4130(2024)01-0116-05

**文献标志码:** A

过敏性紫癜是一种由免疫球蛋白 A(IgA)介导的全身性小血管炎, 易累积于皮肤、胃肠道、关节和肾脏, 是儿童系统性血管炎最常见的形式<sup>[1]</sup>。在疾病过程中, 30%~50%的儿童可观察到肾脏症状, 虽然过敏性紫癜患儿的其他器官表现大多是良性和自限性的, 但肾炎可能导致慢性肾脏病和终末期肾病, 需尽早进行治疗以阻止疾病进展<sup>[2]</sup>。过敏性紫癜性肾炎(HSPN)是过敏性紫癜最重要且唯一的慢性表现, 肾活检是诊断 HSPN 的“金标准”, 目前临床没有诊断

HSPN 的生物标志物<sup>[3]</sup>。正五聚蛋白-3(PTX3)属于 Pentraxine 家族, 是参与癌症血管生成、增殖和免疫逃逸的先天免疫调节剂, 能够识别微生物组分和细胞碎片, 促进吞噬作用, 激活补体系统并调节炎症过程, 在肾癌患者血清中水平较高, 与癌症特异性生存率有关, 可作为肾癌诊断和预后的生物标志物<sup>[4]</sup>。血管性血友病因子(vWF)是一种存在于血浆中的多聚糖蛋白, 在止血中起重要作用, 其能刺激血小板黏附和聚集, 从而产生可能增强动脉粥样硬化的促炎作用<sup>[5]</sup>,

\* 基金项目: 孝感市自然科学基金计划项目(XGKJ2021010098)。

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: tirccsa46@163.com。