

# 肺炎支原体肺炎患儿血清中白细胞介素水平与伴发喘息的相关研究

李梅<sup>1</sup>, 陈正立<sup>2</sup>, 李贵霞<sup>1</sup>, 徐茜茹<sup>1</sup>, 赵小洁<sup>2△</sup> (1. 河北省儿童医院检验科, 石家庄 050031; 2. 河北医科大学第一医院检验科, 石家庄 050031)

**【摘要】** 目的 探讨肺炎支原体肺炎患儿血清中白细胞介素 4(IL-4)、白细胞介素 5(IL-5)、白细胞介素 13(IL-13)水平及其与喘息发生的关系。方法 收集 2013 年 1~10 月 123 例肺炎支原体肺炎患儿, 根据临床表现分为喘息组 53 例和无喘息组 70 例, 喘息组根据临床病情分为急性期喘息组 23 例和缓解期喘息组 30 例, 同时收集同期 50 例无喘息健康儿童血清作对照, 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血清中 IL-4、IL-5、IL-13 水平。结果 肺炎支原体肺炎患儿血清中 IL-4、IL-5、IL-13 水平高于健康对照组, 喘息组患儿血清中 IL-4、IL-5、IL-13 水平高于无喘息组患儿, 血清 IL-4、IL-5、IL-13 在急性期喘息组、缓解期喘息组中水平差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。患儿血清中 IL-4、IL-5 水平呈正相关( $r = 0.613, P < 0.05$ ), 其余指标无相关性。结论 血清 IL-4、IL-5、IL-13 在肺炎支原体肺炎伴喘息患儿中水平升高, 且伴随着喘息症状的加重水平上升, 对肺炎支原体肺炎的治疗有指导意义。

**【关键词】** 肺炎支原体肺炎; 白细胞介素 4; 白细胞介素 5; 白细胞介素 13; 儿童

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.01.016 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)01-0043-02

**Study on correlation between serum IL-4, IL-5, IL-13 and complicating wheezing in children patients with Mycoplasma pneumoniae pneumonia** LI Mei<sup>1</sup>, CHEN Zheng-li<sup>2</sup>, LI Gui-xia<sup>1</sup>, XU Qian-ru<sup>1</sup>, ZHAO Xiao-jie<sup>2△</sup> (1. Department of Clinical Laboratory, Hebei Provincial Children's Hospital, Shijiazhuang, Hebei 050031, China; 2. Department of Clinical Laboratory, First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei 050031, China)

**【Abstract】** **Objective** To investigate the relationship between serum interleukin-4 (IL-4), interleukin-5 (IL-5) and interleukin-13 (IL-13) with complicating wheezing occurrence in children patients with Mycoplasma pneumoniae pneumonia. **Methods** 123 children cases of Mycoplasma pneumoniae pneumonia in our hospital from January 2013 to October 2013 were collected and divided into the wheezing group (53 cases) and the non-wheezing group (70 cases) according to the clinical manifestations. The wheezing group were re-divided into the acute stage group (23 cases) and the remission stage group (30 cases) according to the clinical condition. Contemporaneous 50 healthy children without wheezing were collected as the control group. The serum IL-4, IL-5 and IL-13 levels were measured by ELISA. **Results** The serum levels of IL-4, IL-5 and IL-13 in the Mycoplasma pneumoniae pneumonia were higher than those in the control group, which in the wheezing group were higher than those in the non-wheezing group. The levels of IL-4, IL-5 and IL-13 had statistical differences between the acute stage wheezing group and the remission stage wheezing group ( $P < 0.05$ ). There was a positively correlation between serum IL-4 and IL-5 ( $r = 0.613, P < 0.05$ ), and the other indexes had no correlation. **Conclusion** The serum levels of IL-4, IL-5 and IL-13 are increased in children patients with Mycoplasma pneumoniae pneumonia complicating wheezing and increased along with the wheezing symptoms aggravation, which has the guidance significance for the treatment of Mycoplasma pneumoniae pneumonia.

**【Key words】** Mycoplasma pneumoniae pneumonia; IL-4; IL-5; IL-13; children

肺炎支原体肺炎多发于儿童呼吸道感染, 约占儿童肺炎的 20%, 可以累及多个器官的损害, 严重威胁儿童的身体健康。肺炎支原体(MP)导致儿童哮喘较为常见, 但是其致病机制还不是很清楚, 本文旨在探讨肺炎支原体肺炎患儿血清中白细胞介素 4(IL-4)、白细胞介素 5(IL-5)、白细胞介素 13(IL-13)水平及其与喘息发生的关系, 为儿童肺炎支原体感染的治疗提供理论依据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集河北省儿童医院 2013 年 1~10 月 123 例肺炎支原体肺炎患儿, 均未经大环内酯类抗生素、糖皮质激

素及免疫添加剂治疗, 诊断均符合《实用儿科学》第 7 版肺炎支原体肺炎的临床诊断标准。其中男 67 例, 女 56 例, 年龄 1~14 岁, 平均(7.42±2.03)岁。根据临床表现分为喘息组(53 例)和无喘息组(70 例), 喘息组根据临床病情分为急性期喘息组(23 例)和缓解期喘息组(30 例)。喘息组患者诊断及分组根据 1997 年全国哮喘学术会议制定的诊断标准、排除其他肺部疾病、内分泌疾病、免疫系统疾病、心脑血管疾病、无吸烟史、抽血前 2 周停用糖皮质激素。急性期组标准: 反复发作喘息、呼吸困难、胸闷或咳嗽病史, 支气管舒张实验阳性[一秒用力呼气容积(FEV1%)增加 15%以上, 且 FEV1 增加绝对值 200 mL],

符合哮喘急性期的诊断标准;缓解期组标准:经过治疗或未经治疗症状、体征消失,肺功能恢复到急性发作前水平并维持 2 周以上。同时收集同期 50 例无喘息健康儿童血清作健康对照组,其中男 27 例,女 23 例,年龄 1~14 岁,平均(6.38±2.42)岁。患儿组和健康对照组在年龄、性别方面差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

**1.2 方法** 健康组和患儿组均于清晨空腹采集静脉血 2~3 mL,于 3 000 r/min 离心速度条件下离心 10 min 取血清,置于 -20℃ 温度条件下保存。血清中 IL-4、IL-5、IL-13 均采用双抗夹心 ELISA 测定。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS17.0 统计学软件进行数据分析,计量资料数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用  $t$  检验,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 肺炎支原体肺炎患儿血清中 IL-4、IL-5、IL-13 水平与健康对照组比较** 肺炎支原体肺炎无喘息患儿组和喘息患儿组血清中 IL-4、IL-5、IL-13 水平高于健康对照组,喘息组患儿血清中 IL-4、IL-5、IL-13 水平高于无喘息组患儿,见表 1。

**表 1 支原体肺炎组和对照组血清中 IL-4、IL-5、IL-13 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	n	IL-4(pg/mL)	IL-5(ng/L)	IL-13(ng/L)
健康对照组	50	3.93±1.58	74.23±19.97	89.03±29.08
无喘息患儿组	70	5.24±2.43*	203.45±71.74*	183.52±71.24*
伴喘息患儿组	53	8.27±2.34 <sup>△</sup> #	343.68±91.36 <sup>△</sup> #	271.28±72.31 <sup>△</sup> #

注:与健康对照组比较,\* $P<0.05$ , $^{\Delta}P<0.01$ ;与无喘息组比较,# $P<0.05$ 。

**2.2 喘息组患儿血清中 IL-4、IL-5、IL-13 水平比较** 急性期喘息组患儿血清中 IL-4、IL-5、IL-13 水平高于缓解期喘息组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 2。

**表 2 喘息组患儿血清中 IL-4、IL-5、IL-13 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	n	IL-4(pg/mL)	IL-5(ng/L)	IL-13(ng/L)
急性期喘息组	23	310.93±23.58	424.23±19.97	589.03±29.08
缓解期喘息组	30	118.24±45.33 $^{\Delta}$	250.45±88.24 $^{\Delta}$	383.52±71.24 $^{\Delta}$

注:与急性期喘息组比较, $^{\Delta}P<0.05$ 。

**2.3 肺炎支原体患儿血清 IL-4、IL-5、IL-13 之间的相关性** 各组肺炎支原体患儿血清 IL-4、IL-5 水平呈正相关( $r=0.613$ , $P<0.05$ ),IL-4 与 IL-13 水平、IL-5 与 IL-13 水平间无相关( $r=0.213$ , $r=0.321$ , $P>0.05$ )。

**3 讨 论**

近年来肺炎支原体感染小儿发病率有上升趋势<sup>[1]</sup>,肺炎支原体不仅可以作为感染源,还可以作为过敏原诱发小儿哮喘发作。目前逐渐增多的依据提示,MP 感染不仅与哮喘急性发作和控制不良相关,而且可能参与了哮喘发病的启动过程<sup>[2-3]</sup>。以往研究认为 MP 可能通过以下机制参与哮喘发作:(1)MP 可直接侵犯上皮细胞,导致细胞肿胀、微绒毛形态结构发生改变、促进黏液分泌等,间接破坏呼吸道上皮细胞完整性,诱发气道炎症反应最终导致气道高反应性引起支气管哮喘发作;(2)MP 感染引起机体释放炎症因子和细胞因子,破坏辅助性

Th1/Th2 之间的细胞免疫平衡,Th2 类细胞因子分泌增多,导致 IgE 及嗜酸性粒细胞合成分泌增加,机体长期处于高敏状态,最终导致气道炎症反应<sup>[4-5]</sup>。

IL-4 在气道炎症的调解中起重要作用,被认为是一种重要的免疫调节因子,主要由嗜酸性粒细胞和 Th2 辅助性 T 细胞分泌,可以促进 B 细胞分化增殖,分泌特异性 IgE 抗体,产生循环免疫复合物沉积于血管壁引起炎症反应。有研究表明 IL-4 与支气管哮喘有关<sup>[6]</sup>,但目前少有关于 MP 感染对 IL-4 水平影响的相关报道。

IL-5 是由 Th2 辅助性 T 细胞经刺激后生成的由 112~113 个氨基酸组成的相对分子质量为 12 300 的多肽链,主要参与促进 B 细胞的分化与生长,诱导嗜酸性粒细胞分化,促进 IgA 合成等生理功能。以往研究认为,其在气道炎症发生中的作用与嗜酸性粒细胞的释放调节有关<sup>[7-8]</sup>。

IL-13 是由活化的 CD4<sup>+</sup> Th2 细胞产生的能广泛参与抗原提呈和炎症反应的细胞因子,IL-13 释放后可间接引起多种黏附因子、趋化因子表达增多,支气管杯状细胞分泌黏液增多以及诱发多种方式变态反应,如气道高反应性、炎症浸润及免疫球蛋白(如 IgE)增高等。万云鹏等<sup>[9]</sup>报道经熏香烟法造模的大鼠肺组织内 IL-13 有高度表达,提示 IL-13 是引起黏液分泌的重要因子。王鑫等<sup>[10]</sup>研究表明哮喘急性发作期患儿外周血 IL-13 明显升高,随病情缓解有所降低。

本研究结果显示肺炎支原体肺炎无喘息患儿组和喘息患儿组血清中 IL-4、IL-5、IL-13 水平高于健康对照组,喘息组患儿血清中 IL-4、IL-5、IL-13 水平高于无喘息组患儿,而且在喘息急性期血清中 IL-4、IL-5、IL-13 水平高于喘息缓解期,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),提示 IL-4、IL-5、IL-13 均参与了哮喘的发作,可能是肺炎支原体肺炎患儿在哮喘发作期间由于感染所致炎症因子、细胞因子释放,导致机体 Th1/Th2 之间的细胞免疫平衡被打破,Th2 类细胞因子分泌增加,导致机体处于高敏状态,诱发哮喘发作。本研究结果显示 IL-4 和 IL-5 在肺炎支原体感染伴发喘息发病机制中变化趋势一致,但是两者与 IL-13 之间无相关关系,可能是 IL-13 作为独立因素参与了发病过程。

综上所述,IL-4、IL-5 和 IL-13 均参与了肺炎支原体肺炎患儿哮喘的发生与发展。哮喘的发作可能是多因素共同作用的结果,各种细胞因子如何参与其中,并如何发挥生物学功能尚需进一步探讨。

**参考文献**

[1] 马庆庆,宋芳,陈林利,等.肺炎支原体感染婴幼儿血清免疫球蛋白、补体及促炎/抗炎细胞因子水平的动态变化[J].临床儿科杂志,2013,31(1):26-29.  
 [2] Biscardi S, Lorrot M, Marc E, et al. Mycoplasma pneumoniae and asthma in children[J]. Clin Infect Dis, 2004, 38(10):1341-1346.  
 [3] Wongtim S, Mogmued S. Methacholine inhalation challenge in patients with post-mycoplasma pneumoniae pneumonia[J]. Asian Pac J Allergy Immunol, 1995, 13(1):5-10.  
 [4] Min JW, Park SM, Rhim TY, et al. Effect(下转第 47 页)

# 两种核酸提取方法对丙型肝炎病毒 RNA 检测效果的比较及应用评价

范公忍, 陈天宝, 李 冰, 胡学玲, 曹建彪(北京军区总医院肝病治疗中心, 北京 100700)

**【摘要】 目的** 比较两种核酸提取方法对实时荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)检测丙型肝炎病毒(HCV) RNA 病毒载量的影响。**方法** 选择 89 例 2012 年 10 月至 2013 年 6 月在肝病中心住院的慢性丙型肝炎抗-HCV 阳性患者, 分别用磁珠法和 TRIZOL 法提取血清标本中 HCV RNA, 用 FQ-PCR 技术检测 HCV RNA, 并对结果进行对比分析, 统计学处理采用  $\chi^2$  检验和  $t$  检验。**结果** 89 例抗 HCV 阳性标本中以磁珠法提取核酸进行 HCV RNA 定量检测的阳性率为 73.0%(65/89), 以 TRIZOL 法提取核酸进行 HCV RNA 定量检测的阳性率为 65.1%(58/89), 两法提取方法检测阳性率比较有统计学意义( $\chi^2=3.76, P<0.05$ )。两法所测浓度结果换算成对数值, 经  $t$  检验两者差异无统计学意义( $t=0.32, P>0.05$ )。**结论** 两种方法均可获得较高的回收率、有较高的敏感度和特异度, 磁珠法提取 HCV RNA 可用于 HCV 感染者的临床诊断和疗效观察。

**【关键词】** 丙型肝炎; 核酸提取; 荧光定量聚合酶链反应; 灵敏度

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.01.018 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)01-0048-03

**Comparison of effects between two kinds of nucleic acid extraction method for detecting HCV RNA and their application evaluation** FAN Gong-ren, CHEN Tian-bao, LI Bing, HU Xue-ling, CAO Jian-biao (Therapy Center for Liver Diseases, General Hospital of Beijing Military Region, Beijing, 100700, China)

**【Abstract】 Objective** To compare the influences of two kinds of nucleic acid extraction method for detecting hepatitis C virus(HCV) RNA viral load by the real-time fluorescent quantitative(FQ) PCR. **Methods** 89 inpatients with chronic hepatitis C(CHC) and anti-HCV positive in the Therapy Center for Liver Diseases of our hospital from October 2012 to June 2013 were selected and HCVRNA was extracted from the serum specimens by using the magnetic beads and Trizol methods. FQ-PCR was adopted for detecting serum HCV RNA. The detected results were performed the comparative analysis. The statistic processing adopted the  $\chi^2$  test and  $t$  test. **Results** The positive rate of serum HCV RNA extracted by the magnetic beads and Trizol methods were 73.0%(65/89) and 65.1%(58/89) respectively, and the difference between the two methods showed the statistical significance( $\chi^2=3.76, P<0.05$ ). By converting the concentration results detected by these two methods into the log values, there was no statistically significant difference between the two methods( $t=0.32, P>0.05$ ). **Conclusion** The two kinds of method can obtain the higher recovery rate with higher sensitivity and higher specificity. The magnetic beads method for extracting HCV RNA could be used in the clinical diagnosis and therapeutic observation in the HCV infected persons.

**【Key words】** hepatitis, C; nucleic acid extraction; fluorescent quantitative PCR; sensitivity

丙型肝炎是由丙型肝炎病毒(HCV)引起的一种隐匿性、持续性、进展性疾病。在我国每年新发丙型肝炎病例约为 3.5 万例, 部分患者晚期可发展为肝硬化或肝癌<sup>[1]</sup>。因此, 及早发现并给于有效的抗病毒治疗是丙型肝炎现症患者治疗的关键措施。血清 HCV RNA 实时荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)检测可以反映 HCV 感染者病毒复制情况, 对于 HCV 患者临床用药、疗效监测及预后判断均具有重要的意义<sup>[2]</sup>。定量 PCR 检测结果的准确性与核酸的提取方法不同而有较大差别, 不同的核酸提取方法会直接影响 PCR 扩增效果和检测准确性<sup>[3]</sup>。因此, 迫切需要一种快速、可靠的核酸提取方法以满足临床诊断与治疗的需求。本研究分别采用磁珠法和 TRIZOL 法提取 89 例抗-HCV 阳性的临床患者血清中 HCV RNA, FQ-PCR 法测定标本中 HCV RNA 载量, 比较两种提取方法检测结果的一致性、灵敏度和相关性, 观察其临床应用效果, 现将结果报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2012 年 10 月至 2013 年 6 月本院肝病中心住院诊断确诊为慢性丙型肝炎患者血清共 89 例, 其中男 33 例, 女 56 例, 年龄 25~78 岁, 中位年龄 42 岁。所有患者均符合中华医学会修订的《丙型肝炎防治指南》诊断标准<sup>[4]</sup>。治疗前采用化学发光法检测抗 HCV 均阳性, 并排除甲、乙、丁、戊型肝炎病毒感染者。所有观察病例均清晨空腹抽取静脉血 3 mL, 离心后分离血清转移至无菌冻存管, -80℃ 冰箱保存, 统一检测。

**1.2 试剂与仪器** 磁珠法提取试剂由上海之江生物科技有限公司提供(批号 20121001); TRIZOL 法提取试剂由天根生化(北京)科技有限公司提供(批号 20130505); HCV RNA 定量试剂由上海之江生物科技有限公司提供(批号 20121001), 试剂盒最低检测限为 HCV RNA  $\geq 5.00 \times 10^2$  copy/mL 为阳性; 质控品为卫生部临床检验中心提供的 HCV 定量标准品(批号