

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.13.008

人类白细胞抗原-G 对儿童喘息性疾病的影响及其作用机制*

杨帆¹,王智惠¹,杨曦²,陈昕³,王成秀¹,余春梅^{1△}

1. 重庆市第五人民医院儿科,重庆 400062;重庆医科大学附属儿童医院;2. 免疫科;
3. 特需病房,重庆 400014

摘要:目的 探讨人类白细胞抗原-G 对儿童喘息性疾病的影响及作用机制。方法 选取 2018 年 6 月至 2019 年 7 月收治的喘息性疾病患者 90 例,根据患儿是否具有喘息症状和哮喘预测指数(API)是否为阳性分为 3 组,其中喘息+API(+)为 A 组,喘息+API(-)为 B 组,非喘息的下呼吸道感染为 C 组,再根据呼吸道病毒是否为阳性分为阳性组和阴性组,选取同时期就诊且呼吸系统正常者 30 例作为对照组,检查所有研究对象可溶性人类白细胞抗原 G(sHLA-G)、白细胞介素(IL)-4、IL-10 和 γ -干扰素(IFN- γ)水平,使用 SPSS25.0 统计软件进行分析。结果 A 组血清 sHLA-G、IFN- γ 和 IL-10 水平最低,其次是 B 组,4 组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),且相邻两组间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。A 组 IL-4 水平最高,其次是 B 组,4 组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),且相邻两组间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。呼吸道病毒结果显示,阳性患者有 25 例,阴性 35 例,阳性组血清 sHLA-G、IL-4、IL-10、IFN- γ 水平与阴性组和对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),3 组比较差异有统计学意义($P<0.05$);阳性组血清 sHLA-G、IFN- γ 和 IL-10 水平最低,IL-4 水平最高。结论 呼吸道病毒感染和喘息性疾病的患者血清 sHLA-G、IFN- γ 和 IL-10 水平降低,IL-4 水平升高,四者可能共同参与儿童喘息性疾病的气道炎症反应,对临床诊治和预后具有重要意义。

关键词:人类白细胞抗原 G; 喘息; 病毒; 儿童

中图分类号:R725.6 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2021)13-1853-04

The effect of HLA-G on asthmatic diseases in children and its mechanism*

YANG Fan¹,WANG Zhihui¹,YANG Xi²,CHNE Xin³,WANG Chengxiu¹,YU Chunmei^{1△}

1. Department of Pediatrics, the Fifth People's Hospital of Chongqing, Chongqing 400062, China;
2. Department of Immunology; 3. Department of Special Word, Children's
Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China

Abstract: Objective To investigate the effect of human leukocyte antigen G (HLA-G) on asthmatic diseases in children and its mechanism. **Methods** A total of 90 asthmatic patients who were admitted from June 2018 to July 2019 were divided into three groups according to whether they had asthmatic symptoms and whether they had positive asthmatic predictive index (API), wheezing + API (+) was group A, wheezing + API (-) was group B, and non wheezing lower respiratory tract infection was group C, and were divided into positive group and negative group according to whether the respiratory virus was positive or not. A total of 30 patients with normal respiratory system were selected as the control group. The levels of soluble human leukocyte antigen G (sHLA-G), interleukin (IL)-4, IL-10 and γ -Interferon (IFN- γ) in all subjects were examined, and were analyzed by SPSS25.0 statistical software. **Results** The serum levels of sHLA-G, IFN- γ and IL-10 in group A were the lowest, followed by group B. There was significant difference among the four groups ($P<0.05$). The difference between the two adjacent groups was statistically significant ($P<0.05$). The level of IL-4 in group A was the highest, followed by group B. the difference was statistically significant ($P<0.05$). The difference between the two adjacent groups was statistically significant ($P<0.05$). The results of respiratory virus test showed that 25 patients were positive and 35 were negative. The expression levels of serum sHLA-G, IL-4, IL-10 and IFN- γ in the positive group were significantly different from those in the negative group and the control group ($P<0.05$). The difference among three groups was statistically sig-

* 基金项目:重庆市卫生健康委员会 2017 年医学科研计划项目(2017MSXM153)。

作者简介:杨帆,女,主治医师,主要从事新生儿与儿童生长发育方向的研究。△ 通信作者,E-mail:846296464@qq.com。

本文引用格式:杨帆,王智惠,杨曦,等.人类白细胞抗原-G 对儿童喘息性疾病的影响及其作用机制[J].检验医学与临床,2021,18(13):

nificant ($P < 0.05$). The levels of serum sHLA-G, IFN- γ and IL-10 in the positive group were the lowest and IL-4 level was the highest. **Conclusion** The levels of serum sHLA-G, IFN- γ and IL-10 in patients with respiratory virus infection and asthmatic diseases decrease, while the level of IL-4 increases. The four indexes might participate in the airway inflammatory response of children with asthmatic diseases, which is of great significance for clinical diagnosis, treatment and prognosis.

Key words: human leukocyte antigen G; wheezing; virus; children

因儿童呼吸系统具有儿童早期呼吸系统发育不完善、气道管腔狭小、肺泡数量少、整个肺脏含血多而含气少、黏膜纤毛清除能力差、呼吸代偿能力不足等特点,年幼儿童容易发生气道阻塞和出现喘息^[1]。临床表现为呼吸过程中发出的持续、粗糙、高调的声音,是由气体通过狭窄气道形成湍流产生^[2]。引起儿童喘息的原因包括哮喘、呼吸系统感染性疾病、气管及支气管发育异常和异物、呼吸系统一些少见疾病,也包括呼吸系统外疾病,如心血管疾病,特别是血管环畸形和胃肠道疾病等^[3]。人类白细胞抗原-G(HLA-G)是一种非经典的主要组织相容性复合体的 I 类分子,相关研究表明,HLA-G 作为一个调节免疫耐受的分子,在儿童喘息性疾病的发生、发展中发挥着重要作用^[4]。因此,本文拟探讨人类白细胞抗原-G 对儿童喘息性疾病的影响及作用机制,以期为临床提供可参考的理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 7 月至 2019 年 6 月重庆市第五人民医院收治的呼吸道感染患儿 90 例,根据患儿是否具有喘息症状和哮喘预测指数(API)是否为阳性分为 3 组,其中 A 组为喘息+API(+) 27 例,男 15 例,女 12 例,年龄 4 个月至 5 岁,平均(2.8±1.8)岁;B 组为喘息+API(-) 30 例,男 16 例,女 14 例,年龄 8 个月至 5 岁,平均(3.2±1.6)岁;C 组为非喘息的下呼吸道感染 33 例,男 15 例,女 18 例,年龄 6 个月至 6 岁,平均(3.4±2.1)岁;选取同期到重庆市第五人民医院就诊且呼吸系统正常者作为 D 组 30 例,男 14 例,女 16 例,年龄 6 个月至 5 岁,平均(3.1±1.5)岁,4 组年龄、性别等基本资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。另外,再根据患儿在入院时收集的气道深分泌物标本,检查呼吸道病毒,根据检查结果分为阳性组、阴性组和对照组,其中阳性组 25 例,男 15 例,女 10 例;年龄 4 个月至 5 岁,平均(2.7±1.5)岁;阴性组 35 例,男 18 例,女 17 例;年龄 7 个月至 5 岁,平均(3.1±1.9)岁;对照组 30 例,男 13 例,女 17 例;年龄 9 个月至 6 岁,平均(3.3±2.2)岁。3 组年龄、性别等基本资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。纳入标准:根据临床症状及体征,结合胸部 X 线片检查等,均符合急性下呼吸道感染诊断的患儿。排除标准:(1)患有先天性喉软骨发育不良、支气管肺发育不良、先天性心脏等基础疾病导致喘息的患儿;(2)合并有其他系统疾病

的患儿。所有研究对象或其家属已签署知情同意书,本实验已经重庆市第五人民医院医学伦理委员会审核并通过。

1.2 诊断标准 API 包括两项主要指标(父母有哮喘史和医生诊断的湿疹)和 3 项次要指标(医生诊断的变应性鼻炎、非感染性喘息或外周血中嗜酸性粒细胞 $\geq 4\%$)。如果儿童在出生后 3 年内发生反复喘息,同时出现两项主要指标中的 1 项,或 3 项次要指标中的两项,则为 API 阳性。

1.3 临床标本的采集 (1)血清标本的采集:患儿入院当天收集外周血 5.0 mL,离心取上清,-20℃ 存储,用于细胞因子的检查;(2)呼吸道分泌物标本的采集:患儿入院当天收集气道深分泌物标本,离心取下层细胞,-20℃ 存储,用于病毒 RNA 和 DNA 的提取。

1.4 观察指标 在患儿入院时收集外周血血清标本,检查所有研究对象可溶性人类白细胞抗原 G(sHLA-G)、白细胞介素(IL)-4、IL-10 和 γ -干扰素(IFN- γ)水平;采用双抗夹心 ELISA 法(比色仪为上海科华 ST-360)测定这 4 种细胞因子在外周血血清中的水平,采用试剂盒(sHLA-G、IL-4、IL-10 和 IFN- γ 均为 Saimike)标准化步骤进行,每批间设立空白对照、阳性对照及阴性对照。

1.5 PCR 检测 采用反转录 PCR 检测 RSV、hMPV、ADV、IF-A、IF-B、PIV-1、PIV-2、和 PIV-3 这 8 种呼吸道病毒,本部分实验在合作单位重庆医科大学附属儿童医院的感染免疫中心病原微生物实验室完成,病毒引物的序列及其所在基因见表 1。

1.6 统计学处理 研究资料使用 EPidata3.1 软件录入,并用 SPSS25.0 统计软件进行分析,符合正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析多组间中的两两比较采用 SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组血清 sHLA-G、IL-4、IL-10、IFN- γ 水平比较 A 组血清 sHLA-G、IFN- γ 和 IL-10 水平最低,其次是 B 组,4 组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),且相邻两组间比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。A 组 IL-4 水平最高,其次是 B 组,4 组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),且相邻两组间比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.2 3 组血清 sHLA-G、IL-4、IL-10、IFN- γ 水平比

较 呼吸道病毒结果显示,阳性患者有 25 例,阴性 35 例。阳性组的血清 sHLA-G、IL-10、IFN- γ 水平低于 阴性组 and 对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 病毒引物的序列及所在基因

病毒	基因	序列(5'→3')	目的带(bp)	温度(℃)
RSV	F	TGTTATAGGCATATCATTGA TTA ACCAGCAAAGTGTTAGA	239	55
hMPV	F	TTTGGA CTTAATGACAGATG TCTTCCTGTGCTAACTTTG	450	55
ADV	H	GCCGAGAAGGGCGTGCGCAGGTA ATGACTTTTGAGGTGGATCCCATGGA	134	58
IV-A	NS1	CTAAGGGCTTTTCACCGAAGA CCCATTCTCATTACTGCTTC	192	54
IV-B	NS1	ATGGCCATCGGATCCTCAAC TGTCAGCTATTATGGAGCTG	241	59
PIV-1	HN	CCGGTAATTTCTCATACCTATG CCTTGAGAGCGAGTTGTTAAG	317	60
PIV-2	HN	CCATTTACCTAAGTGATGGAAT GCCCTGTTGTATTTGGAAGAGA	204	60
PIV-3	HN	ACTCCCAAAGTTGATGAAAGAT TAAATCTTGTTGTTGAGATTGA	103	60

表 2 4 组血清 sHLA-G、IL-4、IL-10、IFN- γ 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	血清 sHLA-G(units/mL)	IL-4(pg/mL)	IL-10(pg/mL)	IFN- γ (pg/mL)
A 组	27	31.3 $\pm$ 10.4 ^{abc}	113.25 $\pm$ 45.89 ^{abc}	20.77 $\pm$ 12.13 ^{abc}	7.99 $\pm$ 3.31 ^{abc}
B 组	30	45.6 $\pm$ 11.8 ^{bc}	96.34 $\pm$ 36.71 ^{bc}	24.26 $\pm$ 10.79 ^{bc}	13.45 $\pm$ 5.52 ^{bc}
C 组	33	67.8 $\pm$ 13.2 ^c	83.11 $\pm$ 26.94 ^c	32.81 $\pm$ 16.83 ^c	18.53 $\pm$ 7.73 ^c
D 组	30	105.6 $\pm$ 12.6	8.36 $\pm$ 3.18	43.22 $\pm$ 12.13	25.08 $\pm$ 7.06
<i>F</i>		358.600	180.800	5.764	58.580
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 B 组比较,^a $P<0.05$;与 C 组比较,^b $P<0.05$,与 D 组比较,^c $P<0.05$ 。

表 3 3 组血清 sHLA-G、IL-4、IL-10、IFN- γ 表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	sHLA-G(units/mL)	IL-4(pg/mL)	IL-10(pg/mL)	IFN- γ (pg/mL)
阳性组	25	30.4 $\pm$ 11.2 ^{ab}	107.27 $\pm$ 27.28 ^{ab}	21.34 $\pm$ 8.71 ^{ab}	15.57 $\pm$ 7.67 ^{ab}
阴性组	35	64.2 $\pm$ 12.9 ^b	86.33 $\pm$ 24.15 ^b	30.15 $\pm$ 16.57 ^b	23.31 $\pm$ 9.27 ^b
对照组	30	104.4 $\pm$ 11.8	9.27 $\pm$ 4.25	42.24 $\pm$ 19.51	24.56 $\pm$ 6.77
<i>F</i>		428.352	232.583	8.731	4.619
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	0.011

注:与阴性组比较,^a $P<0.05$,与对照组比较,^b $P<0.05$ 。

3 讨 论

儿童喘息性疾病是儿童最常见的呼吸道疾病,其中哮喘的患病率呈明显上升趋势,2000—2010 年,我国儿童哮喘患病率和累计发病率分别增加了 50.6%和 52.8%^[5]。喘息性疾病因易反复发作,严重影响儿

童的健康、学习和生活,给家庭带来了很大的经济负担和精神压力,亦消耗着巨大的医疗卫生资源^[6]。HLA-G 属于人类一种非经典的主要组织相容性复合体的 I 类分子^[7]。相关研究结果显示,HLA-G 可以抑制外周血中 NK 细胞的激活、CD8⁺ T 细胞诱导的

细胞凋亡、CD4⁺ T 细胞的增殖反应,下调 CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺ T 调节淋巴细胞(Treg)诱导的免疫耐受,触发抑制细胞中 CD4⁺ T 细胞的分化^[8-9]。

目前研究者认为,儿童喘息性疾病的发病机制主要是各种原因导致的 Th1/Th2 细胞功能失衡,Th2 细胞功能亢进^[10]。Th2 细胞促进 B 淋巴细胞产生大量 IgE 和分泌炎症性细胞因子刺激其他细胞产生一系列炎症介质,最终诱发速发型变态反应和慢性气道炎症反应^[11]。本研究结果显示,血清 sHLA-G、IFN- γ 和 IL-10 水平在 A 组中最低,其次是 B 组,血清 IL-4 水平在 A 组中最高,其次是 B 组,这与相关研究结果一致^[12-13]。研究者发现,外周血单个核细胞培养中高水平 sHLA-G 增加 Th2 类细胞因子的分泌,而低水平 sHLA-G 增加 Th1 类细胞因子的分泌,提示 sHLA-G 在过敏反应中起保护作用^[14]。本研究结果显示,血清 sHLA-G、IFN- γ 和 IL-10 水平的高低随过敏因素的增加而降低,IL-4 水平的高低随过敏因素的增加而升高,IL-4、IL-10 和 IFN- γ 等细胞因子已被证实与呼吸道炎症反应的发生、发展具有密切的关系,本研究结果提示 sHLA-G 与呼吸道炎症反应的发生、发展也具有密切关系^[15]。

有研究结果显示,在“压力”情况下细胞内 HLA-G 水平会升高,是病毒逃避宿主免疫监视的重要机制之一^[16]。有学者发现,流感病毒感染可促发 HLA-G 分子在肺泡上皮细胞中的转录,产生相应 HLA-G 蛋白,使病毒逃避宿主免疫监视,导致病毒感染扩散^[17-18]。本研究还显示,阳性组血清 sHLA-G、IL-10、IFN- γ 水平最低,与阴性组和对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);阳性组血清 IL-4 水平最高,与阴性组和对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),这与以上学者研究结果一致,提示 sHLA-G 在病毒感染宿主的过程中发挥着一定的作用。

综上所述,HLA-G 作为一个调节免疫耐受的分子,在儿童喘息性疾病的发生、发展中发挥着重要作用。呼吸道感染和喘息性疾病的患儿血清 sHLA-G、IFN- γ 和 IL-10 水平降低,IL-4 水平升高,三者可能共同参与儿童喘息性疾病的气道炎症反应,对临床诊治和预后具有重要意义。

参考文献

- [1] 张静. 调节性 T 细胞、活化 NK 细胞、IL-17 与婴幼儿喘息辨证分型的关系[D]. 广州:广州中医药大学,2015.
- [2] WANG C J, WANG L J, ZHAO D. effect of PKA gene on acute lymphoblastic leukemia in children and its mechanism[J]. Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi, 2018, 26 (1): 126-131.
- [3] 赵莹, 高英, 陆彪. 儿童喘息性疾病血清特异性 IgE 检测结果分析[J]. 宁夏医科大学学报, 2016, 38(6): 679-681.
- [4] SUYU Q, CHAO R, SHANSHAN W, et al. Effect of low-molecular-weight soybean peptide on the secretion of gastric acid in weaning piglets and its mechanism[J]. Food Science, 2015, 4(21): 249-252.
- [5] LIU G W, LIU Y H, JIANG G S, et al. The reversal effect of Ginsenoside Rh2 on drug resistance in human colorectal carcinoma cells and its mechanism[J]. Hum Cell, 2018, 31(3): 189-198.
- [6] 朱晓华, 陈强. 儿童巨细胞病毒感染致喘息发生的免疫学机制[J]. 中国当代儿科杂志, 2016, 18(9): 831-834.
- [7] CHEN F, LIN Z J, CHEN R J, et al. The effects of PM (2.5) on asthmatic and allergic diseases or symptoms in preschool children of six Chinese cities, based on China, Children, Homes and Health (CCHH) project[J]. Environ Pollut, 2018, 232(3): 329-337.
- [8] 莫丽亚, 邓永超, 黄彩芝, 等. 维生素 D 与 IL-4 及 IL-12 因子在儿童喘息性疾病中的表达及意义[J]. 实用预防医学, 2015, 22(9): 1053-1054.
- [9] MOORE M R, LINK-GELLES R, SCHAFFNER W A, et al. Effect of use of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in children on invasive pneumococcal disease in children and adults in the USA: analysis of multisite, population-based surveillance[J]. Lancet Infect Dis, 2015, 15(3): 301-309.
- [10] WANG L, WANG R. Effect of rapamycin (RAPA) on the growth of lung cancer and its mechanism in mice with A549[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(8): 9208-9213.
- [11] 刘玲珍, 王永清, 徐斌, 等. 外周血 CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞及血清 25-(OH)D₃ 水平在学龄前儿童喘息疾病中的临床意义[J]. 现代免疫学, 2015, 35(5): 362-366.
- [12] CHENG X B, SHENG Q S, LIN J J, et al. Effect of 5-Aza-CdR on human colonic cancer xenografts in nude mice and its mechanism[J]. Chinese J Cancer Prevent Treatment, 2015, 22(5): 344-348.
- [13] ZHENG X Q, LI C C, XU D P, et al. Analysis of the plasma soluble human leukocyte antigen-G and interleukin-1 levels in childhood atopic asthma[J]. Human Immunol, 2010, 71: 982-987.
- [14] 刘玲珍. 外周血 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞及血清 25-(OH)D₃ 水平在学龄前儿童喘息性疾病中的临床意义[D]. 苏州: 苏州大学, 2015.
- [15] MAPP C E, FERRAZZONI S, RIZZO R, et al. Soluble human leukocyte antigen-G and interleukin-10 levels in isocyanate-induced asthma[J]. Clin Exp Allergy, 2009, 39: 812-819.
- [16] YU A Z. Exploration of the preventive effect of ursolic acid on retinopathy in diabetic mice and its mechanism[J]. J Hainan Med Uni, 2016, 3(14): 1479-1485.
- [17] FANNY L, KHALED K, CATHERINE M, et al. Immunosuppressive HLA-G molecule is upregulated in alveolar epithelial cells after influenza A virus infection[J]. Human Immunol, 2009, 70: 1016-1019.
- [18] 赵冰. 学龄前儿童反复喘息及学龄儿童支气管哮喘相关因素分析[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2015.