

doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2019.10.001

· 论 著 ·

呼吸道合胞病毒与甲型流感病毒混合感染患儿血清炎症因子表达水平及临床意义

孙海斌¹, 李雅雯¹, 胡彩莲², 吴莹莹², 周晓飞², 葛小丽² (1. 南京医科大学附属无锡市儿童医院, 江苏无锡 214023; 2. 南京医科大学附属无锡市第二人民医院, 江苏无锡 214002)

[摘要]目的:探讨呼吸道合胞病毒(RSV)、季节性流感病毒A型(Inf-A)混合感染患儿体内常见的炎症因子表达水平及其临床意义。方法:选取 Inf-A 和 RSV 检测阳性的患儿及健康儿童共 95 例纳入研究,将所有研究对象分为四组:Inf-A 感染组、RSV 感染组、混合感染组(MIX 组)及健康对照组(HC 组)。采用悬液芯片技术和酶联免疫吸附试验(ELISA)法分别检测四组患儿体内 IL-1 β 、IL-2、IL-8、TNF- α 、IFN- γ 等致炎因子及 IL-4、TGF- β 等抗炎细胞因子的表达水平,比较分析四组患儿的炎症因子水平与病情严重程度的相关性。结果:急性期,Inf-A 感染组、RSV 感染组、MIX 组患儿 IL-1 β 、IL-8、TNF- α 、IFN- γ 水平均不同程度升高, MIX 组 IL-1 β 、TNF- α 、IL-8 水平升高更明显。在疾病恢复期,IL-1 β 、TNF- α 、IL-8、IFN- γ 水平较治疗前均明显下降,但与 HC 组相比 TNF- α 、IFN- γ 水平仍明显偏高;RSV 组、Inf-A 组及 MIX 组 IL-4 与 TGF- β 较治疗前明显下降,与 HC 组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论:Inf-A、RSV 混合感染患儿体内致炎性因子占主导地位,以 IL-1 β 、IL-8、TNF- α 水平升高为主,而 IL-8 水平的变化可能是反映病情严重程度较敏感的指标。

[关键词] 儿童;呼吸道病毒;混合感染;炎症因子

[中图分类号] R725.6

[文献标识码] A

[文章编号] 1672-108X(2019)10-0001-04

Expression and Clinical Significance of Serum Inflammatory Factors in Children with Respiratory Syncytial Virus and Influenza A Virus

Sun Haibin¹, Li Yawen¹, Hu Cailian², Wu Yingying², Zhou Xiaofei², Ge Xiaoli² (1. The Affiliated Wuxi Children's Hospital of Nanjing Medical University, Jiangsu Wuxi 214023, China; 2. Wuxi the Second People's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Jiangsu Wuxi 214002, China)

[Abstract] **Objective:** To probe into the expression levels and clinical significance of serum inflammatory factors in children with respiratory syncytial virus (RSV) and influenza A virus (Inf-A). **Methods:** A total of 95 children with positive Inf-A and RSV and some healthy children were enrolled in the study. All subjects were divided into 4 groups: Inf-A infection group, RSV infection group, mixed infection group (MIX group) and healthy control (HC group). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the expression levels of inflammatory factors such as IL-1 β , IL-2, IL-8, TNF- α , IFN- γ and anti-inflammatory cytokines such as IL-4 and TGF- β in four groups. The correlation between inflammatory factor levels and severity of disease was compared and analyzed among four groups. **Results:** The levels of IL-1 β , IL-8, TNF- α and IFN- γ in the Inf-A infection group, the RSV infection group and the MIX group increased to different degrees in the acute phase, and the levels of IL-1 β , TNF- α and IL-8 in the MIX group increased more significantly. In the recovery period, the levels of IL-1 β , TNF- α , IL-8 and IFN- γ were significantly lower than those before treatment, yet the levels of TNF- α and IFN- γ were still significantly higher than those in the HC group. Expression of IL-4 and TGF- β decreased significantly in the RSV group, the Inf-A group and the MIX group compared with before treatment, and there was no statistical significance compared with the HC group. **Conclusion:** The inflammatory factors increased predominantly in children infected with Inf-A and RSV, mainly concentrated in the levels of IL-1 β , IL-8 and TNF- α , while the changes in the levels of IL-8 may be the sensitive indicators of the severity of the response.

[Keywords] children; respiratory virus; mixed infection; inflammatory factors

随着检测技术的进步,呼吸道病毒检出的种类逐渐增多,儿童混合感染的相关报道也明显增多^[1-2],但目前多种病毒混合感染导致机体内炎症反应的机制尚不清楚。本文通过探讨 IL-1 β 、IL-4、IL-2、IL-8、IFN- γ 、TNF- α 、

TGF- β 在呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)、季节性流感病毒A型(influenza virus type A, Inf-A)混合感染患儿血清中表达水平,阐述相关促炎因子及抑炎因子在混合感染患儿体内炎症反应中的作用,为进一

基金项目: 2018 年度无锡市科教强卫工程医学重点学科,编号 ZDXK12。

作者简介: 孙海斌(1978.10-),男,硕士,副主任医师,主要从事新生儿疾病研究,E-mail: shbnanjing2006@126.com。

通讯作者: 葛小丽(1979.01-),女,博士,副主任医师,副教授,主要从事儿童呼吸系统疾病研究,E-mail: amybac@126.com。

步开展分子机制研究提供参考。

1 资料和方法

1.1 一般资料

1.1.1 研究对象 选取无锡市第二人民医院 2010-2016 年收治的急性呼吸道感染患儿及部分健康儿童共 95 例,对 RSV、Inf-A 感染的患儿资料进行回顾性分析。

1.1.2 纳入标准 符合《诸福棠实用儿科学》第 7 版中急性呼吸道感染诊断标准;年龄 < 5 岁。

1.1.3 排除标准 早产儿;合并其他基础疾病,如慢性肺部疾病、先天性心脏病、免疫缺陷病等;1 个月内有细菌、病毒感染史。

1.2 标本采集及处理

1.2.1 标本采集 入院当天或次日清晨(入院 12 h 内),采集患儿鼻咽分泌物 2 份:将鼻咽拭子经鼻腔插入适当位置,取 0.5 ~ 1.0 mL 分泌物,迅速置于 15 mL 无菌离心管中并送检。根据检测结果,将患儿分为四组。(1)呼吸道合胞病毒感染组(RSV 组):鼻咽拭子经直接免疫荧光法检测呼吸道合胞病毒阳性;(2)季节性 A 型流感病毒组(Inf-A 组):鼻咽拭子检测 A 型流感病毒阳性;(3)A 型流感病毒及呼吸道合胞病毒混合感染组(MIX 组):鼻咽拭子检测 A 型流感病毒及呼吸道合胞病毒均阳性;(4)健康对照组(HC 组):15 例年龄匹配的外科手术前患儿,无感染病灶。同时,所有患儿入院后均立即采集静脉血 4 ~ 5 mL 并送检。Inf-A 感染组、RSV 感染组、MIX 组经统一对症治疗,于疾病恢复期(5 ~ 7 d)再次采集静脉血。

1.2.2 检测方法 (1)采用直接免疫荧光法检测 7 种呼吸道常见病毒,即呼吸道合胞病毒(RSV),腺病毒(ADV),流感病毒 A、B 型(Inf-A 和 Inf-B),副流感病毒 1、2、3 型(PIV I ~ III)。依据说明书要求操作,试剂盒由美国 Diagnostic Hybrids 公司提供。(2)采用悬液芯片技术检测血 IL-1β、IL-4、IL-2、IL-8 及 IFN-γ, TNF-α 水平,试剂盒 Bio-Plex Pro™ Assays 由美国 BIO RAD 公司

提供。采用 ELISA 方法检测血 TGF-β 水平,试剂盒 Human TGF-beta (2nd Generation) Ready-SET-Go 由美国 eBioscience 公司提供。

1.2.3 临床资料收集 采用回顾性分析法收集患儿临床资料,包括年龄、性别、疾病诊断等。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 17.0 软件,计数资料采用 χ² 检验,正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验,多组间比较采用方差分析,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

共 95 例患儿纳入研究,其中 RSV 组 30 例,Inf-A 组 30 例,MIX 组 20 例,HC 组 15 例,性别年龄比较见表 1。RSV 组、Inf-A 组、MIX 组患儿年龄、性别分别与 HC 组比较差异无统计学意义(*P* 均 > 0.05)。

表 1 四组患儿临床特征及人口学特征比较

项目	RSV 组	Inf-A 组	MIX 组	HC 组	<i>F</i> 或 χ^2	<i>P</i>
年龄/月	10.25±5.37	11.02±2.83	9.11±4.46	10.45±2.26	7.434	>0.05
性别(男/女)	16/14	15/15	12/8	8/7	0.059	>0.05

2.2 急性期 RSV 组、Inf-A 组、MIX 组及 HC 组细胞因子比较

RSV 组、inf-A 组及 MIX 组 IL-1β、IL-8、TNF-α、IFN-γ 水平均升高,与 HC 组比较,差异有统计学意义(*P* 均 < 0.05);RSV 组 IL-2 水平与 HC 组比较差异无统计学意义(*t* = 0.256, *P* > 0.05);MIX 组及 Inf-A 组 IL-2 水平轻度升高,与 HC 组比较差异有统计学意义(*t* 值分别为 2.891 及 2.174, *P* < 0.05)。RSV 组、Inf-A 组 TGF-β 水平与 HC 组比较差异无统计学意义(*t* 值分别为 0.862、0.040, *P* 均 > 0.05);但混合感染组 TGF-β 稍有升高,差异有统计学意义(*t* = 3.238, *P* < 0.05)。IL-4 水平在 RSV 组、Inf-A 组及混合感染组均无明显升高,与 HC 组比较差异无统计学意义(*P* 均 > 0.05)。见表 2。

表 2 急性期 RSV 组、Inf-A 组、混合感染组及健康对照组几种细胞因子检测结果

pg/mL

组别	例数	IL-1β	IL-4	IL-2	IL-8	TNF-α	TGF-β	IFN-γ
RSV 组	30	23.40 ± 1.10	1.72 ± 0.13	5.58 ± 0.47	11.71 ± 0.87	7.56 ± 0.71	1 274.00 ± 100.10	107.40 ± 13.07
Inf-A 组	30	37.04 ± 0.73	2.26 ± 0.16	8.04 ± 0.57	12.76 ± 0.87	7.97 ± 0.63	1 408.00 ± 78.64	111.10 ± 11.60
MIX 组	20	41.19 ± 7.19	1.78 ± 0.79	7.18 ± 2.43	15.21 ± 5.70	12.20 ± 5.71	2 000.39 ± 594.71	122.65 ± 74.50
HC 组	15	3.30 ± 0.56	2.10 ± 0.22	5.38 ± 0.62	7.47 ± 0.67	4.61 ± 0.58	1 413.00 ± 110.70	75.46 ± 8.91

2.3 治疗前后 MIX 组感染相关细胞因子水平比较

MIX 组治疗前(急性期)血清 IFN-γ、TNF-α、IL-1β、IL-8 水平均高于治疗后(*P* 均 < 0.05);IL-2、IL-4、TGF-β 水平治疗前后比较差异无统计学意义(*P* 均 > 0.05)。见表 3。

2.4 治疗后 MIX 组与 HC 组感染相关细胞因子水平比较

MIX 组治疗后血清 IFN-γ、TNF-α 水平仍高于对照组(*P* 均 < 0.05);MIX 治疗后血清 IL-2、IL-4、TGF-β、IL-1β、IL-8 水平与 HC 组比较差异无统计学意义(*P* 均 > 0.05)。见表 4。

表 3 治疗前后 MIX 组炎症相关细胞因子水平比较

pg/mL

时间	例数	IL-1 β	IL-4	IL-2	IL-8	TNF- α	TGF- β	IFN- γ
治疗前	20	41.19 \pm 7.19	1.78 \pm 0.79	7.18 \pm 2.43	15.21 \pm 5.70	12.20 \pm 5.71	2 000.39 \pm 594.71	122.65 \pm 74.50
治疗后	20	5.71 \pm 2.69	1.82 \pm 0.64	6.40 \pm 0.78	10.61 \pm 2.32	7.81 \pm 2.47	1 629.25 \pm 612.40	103.68 \pm 42.88
<i>t</i>		20.663	0.022	1.358	3.334	3.161	1.944	2.336
<i>P</i>		<0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05

表 4 治疗后 MIX 组与 HC 组相关细胞因子水平比较

pg/mL

组别	例数	IL-1 β	IL-4	IL-2	IL-8	TNF- α	TGF- β	IFN- γ
MIX 组	20	5.71 \pm 2.69	1.82 \pm 0.64	6.40 \pm 0.78	10.61 \pm 2.32	7.81 \pm 2.47	1 629.3 \pm 612.4	103.68 \pm 42.88
HC 组	15	3.30 \pm 0.56	2.10 \pm 0.22	5.38 \pm 0.62	7.47 \pm 0.67	4.61 \pm 0.58	1 413.0 \pm 110.7	75.46 \pm 8.91
<i>t</i>		1.681	1.533	1.785	1.711	3.940	1.165	2.089
<i>P</i>		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	>0.05	<0.05

3 讨论

细菌、病毒、真菌等病原体侵入机体后,触发患儿体内的炎症反应,激活淋巴细胞和巨噬细胞,分泌细胞因子对抗外来病原体,以减轻对机体的损伤。机体在产生大量的致炎性细胞因子消除病原微生物的同时,也产生了大量的内源性抗炎细胞因子参与炎症反应,在调节病毒感染诱导的免疫平衡方面起到至关重要的作用。目前,研究最多的致炎性细胞因子包括 IL-1、IL-2、IL-6、IL-8、IL-17、TNF- α 及 INF- γ 等,抗炎细胞因子包括 IL-4、IL-1 受体拮抗剂(IL-Ira)及 TGF- β 等。

本研究中,MIX 组患儿急性期 TNF- α 、IL-1 β 、IL-8 水平明显升高,且与 Inf-A 感染组、RSV 感染组比较升高更明显。可能与混合感染后激活和募集的炎症细胞释放了大量炎症因子,加重了人体局部乃至全身的炎症反应有关。因此,混合感染患儿较单独感染患儿更易出现高热、呼吸困难及重症肺炎等临床表现。保持混合感染患儿的免疫平衡,调节促炎性细胞因子 IL-1 β 、TNF- α 、IL-8 水平,可为混合感染患儿的治疗提供参考。通过比较 MIX 组治疗前后几种炎症因子的水平发现,在疾病恢复期,IL-1 β 、TNF- α 、IL-8、IFN- γ 水平较治疗前均明显下降,但 IL-1 β 、TNF- α 、IFN- γ 水平较 HC 组仍明显偏高,因此 IL-8 水平的变化可能是反映病情严重程度较敏感的指标。IL-8 是炎症反应中重要的趋化因子,主要由巨噬细胞、内皮细胞等分泌,可以诱导中性粒细胞、巨噬细胞等向感染部位聚集,清除病原体。IL-8 在急性肺损伤、重症肺炎及急性呼吸窘迫综合征的发展中具有十分重要的意义^[3]。IL-8 在细菌及病毒感染后患儿体内发生的炎症反应过程中,抑制抗炎性细胞因子 IL-4、TGF- β 分泌,抑制 Th1、Th2 细胞免疫反应,在维持 Th1/Th2 免疫平衡中作用显著^[4-7]。TGF- β 可有效减少病原体感染后产生的 IFN- γ 、IL-2 及 TNF- α 分泌^[7],因此 TGF- β 水平在感染过程中升高明显,本研究中 Inf-A 感染组、RSV 感染组、MIX 组较 HC 组升高均不明显,RSV 组及 Inf-A 组与 HC 组比较差异无统计学意义,推测可能与本研究患儿年龄小于 5 岁有关。但 MIX 组 TGF- β 较 HC 组稍有升高,差异有统计学意义,考虑 TGF- β 的分泌可能也与患

儿病情轻重相关。Mobbs K J 等^[8]、顾文静等^[9]、Roman M 等^[10]的研究表明,婴幼儿严重感染后体内 Th2 细胞功能明显增强,主要表现为血清 IL-4、IL-5 和 IL-13 水平升高,但本研究中 MIX 组 IL-4 水平升高并不明显,推测可能与 IL-4 水平的检测方法、病例数、病原体种类等差异有关。

综上所述,Inf-A、RSV 混合感染后,体内致炎因子表现为 IL-1 β 、TNF- α 及 IL-8 水平的高表达。抑炎因子 IL-4、TGF- β 升高不明显,其分泌可能与患儿年龄、疾病严重程度相关。IL-8 水平的变化是反映混合感染患儿病情严重程度较敏感的指标。本研究尚存在一定局限性,目前仍需要大样本量研究进一步来探讨细胞因子在小婴儿病毒感染中的表达机制,进而了解相关病毒感染诱导的免疫炎症反应机制。

参考文献:

- [1] SUNB C C, CHI HSIN, CHIU N C, et al. Viral etiology of acute lower respiratory tract infections in hospitalized young children in Northern Taiwan [J]. *Microbiol Immunol Infect*, 2011, 44(3): 184-190.
- [2] DE PAULIS M, GILIO A E, FERRARO A A, et al. Severity of viral coinfection in hospitalized infants with respiratory syncytial virus infection [J]. *Pediatr*, 2011, 87(5): 307-313.
- [3] TANAKA H, HONMA S, ABE S, et al. Effects of interleukin-2 and cyclosporine A on pathologic features in *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1996, 154(6): 1908-1912.
- [4] ZENG R, ZHANG H, HAI Y, et al. Interleukin-27 inhibits vaccine-enhanced pulmonary disease following respiratory syncytial virus infection by regulating cellular memory responses [J]. *Journal of virology*, 2012, 86(8): 4505-4517.
- [5] APARICIO-SIEGMUND S, GARBERS C. The biology of interleukin-27 reveals unique pro- and anti-inflammatory functions in immunity [J]. *Cytokine & growth factor reviews*, 2015, 26(5): 579-586.
- [6] ROBINSON K M, LEE B, SCHELLER E V, et al. The role of IL-27 in susceptibility to post-influenza *Staphylococcus aureus* pneumonia [J]. *Respiratory research*, 2015, 16: 10. doi: 10.1186/s12931-015-0168-8.
- [7] THORNBURG N J, SHEPHERD B, CROWE J E. Transforming growth inf-Actor beta is a major regulator of human neonatal

immune responses following respiratory syncytial virus infection [J]. Journal of virology, 2010, 84(24): 12895-12902.

[8] MOBBS K J, SMYTH R L, O'HEA U, et al. Cytokines in severe respiratory syncytial virus bronchiolitis [J]. Pediatric pulmonology, 2002, 33(6): 449-452.

[9] 顾文静, 季伟, 王宇清, 等. 苏州地区儿童 hMPV 流行病学特征及胸腺基质淋巴细胞生成素在 hMPV 感染喘息患儿中的作

用[J]. 儿科药理学杂志, 2016, 22(7): 1-4.

[10] ROMAN M, CALHOUN W J, HINTON K L, et al. Respiratory syncytial virus infection in infants is associated with predominant Th-2 like response [J]. American journal of respiratory and critical care medicine, 1997, 156(1): 190-195.

(编辑:邓境)

(收稿日期:2018-08-01 修回日期:2018-11-19)

doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2019.10.002

· 论著 ·

婴儿痉挛症遗传学病因研究

李宝广, 杨花芳, 郑华城, 吴文娟, 崔晓普 (河北省儿童医院, 河北石家庄 050031)

[摘要]目的:探讨婴儿痉挛症的遗传学病因。方法:回顾性分析 2016 年 10 月至 2018 年 10 月于我院就诊的 132 例婴儿痉挛症患儿的临床资料,对其中病因未明的 91 患儿采集静脉血,应用染色体核型分析和新一代高通量测序技术进行染色体检测及全外显子基因检测。结果:共收集存在明确致病性染色体或基因结构异常的患儿 37 例,其中染色体数目异常 4 例,均为 21-三体综合征;染色体微缺失 5 例,其中 15 号染色体微缺失 4 例,16 号染色体微缺失 1 例;其余为单基因病变,高频基因包括 TSC2、CDKL5、PCDH19、SCN1A、KCNQ2、MMACHC 等。结论:本研究中婴儿痉挛症遗传学病因总阳性率为 28%,对病因未明的婴儿痉挛患儿应行染色体核型、全外显子测序检查。

[关键词] 婴儿痉挛; 基因; 染色体

[中图分类号] R742.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1672-108X(2019)10-0004-04

Genetic Etiology of Infantile Spasm

Li Baoguang, Yang Huafang, Zheng Huacheng, Wu Wenjuan, Cui Xiaopu (Hebei Children's Hospital, Hebei Shijiazhuang 050031, China)

[Abstract] Objective: To explore the genetic etiology of infantile spasm. Methods: Clinical data of 132 infants with infantile spasm admitted from Oct. 2016 to Oct. 2018 were retrospectively collected. Venous blood was collected from 91 infants with unknown etiology. Chromosome karyotype analysis and next generation high-throughput sequencing were used to detect the chromosome and the whole exon genes. Results: A total of 37 children with abnormal chromosome or gene structure were collected. There were 4 cases with abnormal chromosome number, all of which were Down syndrome; 5 cases with chromosomal microdeletion; 4 cases of 15 chromosomal microdeletion and 1 case of 16 chromosomal microdeletion; the rest were single gene lesions, with high frequency genes including TSC2, CDKL5, PCDH19, SCN1A, KCNQ2 and MMACHC, etc. Conclusion: The genetic etiology of infantile spasm in this study is 28%. Children with infantile spasm whose etiology is unknown should be examined by chromosome karyotype and the whole exon genes sequencing.

[Keywords] infantile spasm; gene; chromosome

婴儿痉挛症 (infantile spasm, IS) 是婴幼儿期常见的一种癫痫综合征,其发生率为 2/10 000 ~ 3/10 000^[4],多为年龄依赖性的难治性癫痫脑病,以痉挛发作、脑电图高峰失律、精神运动发育迟滞或倒退为特征,病因多种多样,传统抗癫痫药物治疗效果差。约 64% 可明确存在结构性、代谢性、感染性及遗传性病因^[2],其中约 30% 为遗传代谢病、变性病及其他遗传综合征^[3]。近年来,随着新一代高通量测序 (next generation sequence, NGS) 的发展,IS 致病基因及染色体异常不断涌现,但目前报道较少。因此,本研究探讨了 2016-2018 年我院收集的 37 例基因

或染色体检查阳性的婴儿痉挛症患儿遗传学资料。

1 资料和方法

1.1 一般资料

本研究已通过河北省儿童医院伦理委员会审查。收集 2016 年 10 月至 2018 年 10 月河北省儿童医院门诊及住院部收治的 132 例婴儿痉挛症患儿及其家系成员资料,对其中病因未明的 91 例患儿行遗传学病因分析。对患儿及其家系成员建立家系资料库并编码,包括性别、年龄、抽搐发作形式、个人史、既往史、家族史、神经系统症

基金项目:河北省医学科学研究课题计划,编号 20190788。

作者简介:李宝广(1984.03-),男,硕士,主治医师,主要从事儿科神经系统疾病临床工作,E-mail: 317491448@qq.com。