本文引用:张华. 不同病原体感染肺炎患儿支气管肺泡灌洗液中肺表面活性物质相关蛋白的表达[J]. 新乡医学院学报,2017,34(6):510-512. DOI:10.7683/xxyxyxb.2017.06.015.

【临床研究】

不同病原体感染肺炎患儿支气管肺泡灌洗液中肺表面活性物质相关蛋白的表达

张 华

(驻马店市第一人民医院小儿内科,河南 驻马店 463000)

摘要: **目的** 探讨呼吸道合胞病毒(RSV)、流感病毒(IV)、腺病毒(AD)及肺炎支原体(MP)感染所致的肺炎患儿支气管肺泡灌洗液(BALF)中肺表面活性物质相关蛋白(SP)的表达及其临床意义。**方法** 选择2015年1月至2016年12月驻马店市第一人民医院收治的肺炎患儿39例,所有患儿入院后第2天晨起空腹状态下抽取肘静脉血4 mL,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测RSV、IV、AD和MP的IgM抗体,明确患儿罹患肺炎的病原体;患儿均行纤维支气管镜检查取BALF,采用ELISA检测BALF中SP-A、SP-B、SP-C、SP-D水平。**结果** 39例患儿中,RSV感染14例(RSV组),IV感染9例(IV组),AD感染5例(AD组),MP感染11例(MP组)。RSV组、IV组和AD组患儿BALF中SP-A、SP-B、SP-C及SP-D水平显著高于MP组($P<0.05$),但RSV组、IV组及AD组患儿BALF中SP-A、SP-B、SP-C、SP-D水平比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。**结论** RSV、IV、AD及MP感染所致的肺炎患儿的肺泡上皮均有损伤,其中MP感染所致的肺泡上皮损伤更为严重;检测肺炎患儿BALF中SP水平有助于临床医师准确判断患儿肺泡上皮损伤程度和呼吸功能。

关键词: 病原体;肺泡表面活性蛋白;支气管肺泡灌洗液;肺炎

中图分类号: R725.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2017)06-0510-03

Expression of pulmonary surfactant associated protein in bronchoalveolar lavage fluid of children with pneumonia caused by different pathogens

ZHANG Hua

(*Department of Pediatrics, the First People's Hospital of Zhumadian City, Zhumadian* 463000, *Henan Province, China*)

Abstract: **Objective** To explore the clinical significance of the expression of pulmonary surfactant associated protein (SP) in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of children with pneumonia caused by respiratory syncytial viruses (RSV), influenza viruses (IV), adenovirus (AD) and mycoplasma pneumoniae (MP). **Methods** Thirty-nine children with pneumoniawere selected from January 2015 to December 2016 in the First People's Hospital of Zhumadian City. The ulnar venous blood 4 mL of all children was collected at the morning of the second day after hospitalization; the IgM antibody of RSV, IV, AD and MP were detected by enzyme linked immunosorbent assay, so as to identify the pneumonic pathogens. All children were examined by fiberoptic bronchoscopy, and the BALFs were collected. The levels of SP-A, SP-B, SP-C and SP-D in BALF were detected by ELISA. **Results** In the 39 cases, there were 14 cases of RSV infection (RSV group), 9 cases of IV infection (IV group), 5 cases of AD infection (AD group), 11 cases of MP infection (MP group). The levels of SP-A, SP-B, SP-C and SP-D in BALF in RSV group, IV group and AD group were significantly higher than those in MP group ($P<0.05$). However, there was no significant difference in the levels of SP-A, SP-B, SP-C and SP-D in BALF among the RSV group, IV group and AD group ($P>0.05$). **Conclusions** There is alveolar epithelial injury in children with pneumonia caused by RSV, IV, AD and MP; and the alveolar epithelial injury caused by MP infection is more serious. Detecting SP level in BALF in children with pneumonia is helpful to accurately determine the degree of alveolar epithelial injury and respiratory function.

Key words: pathogen; pulmonary surfactant associated protein; bronchoalveolar lavage fluid; pneumonia

病毒和肺炎支原体(mycoplasma pneumonia, MP)是儿童肺炎的常见病原体,其中病毒主要为呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)、流感病毒(influenza virus, IV)和腺病毒(adenovirus, AD)[1-2]。目前,在儿童肺炎诊疗的实验室检查中多重视血清学检查,而支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)中生物化学指标的检查尚未普及。儿科医师从血清学检查结果获得的信息仅能反映患儿全身的炎症状态,而BALF中相关指标

DOI: 10.7683/xxyxyxb.2017.06.015
收稿日期: 2017-02-17
作者简介: 张 华(1972-),女,河南驻马店人,学士,副主任医师,研究方向:儿童重症疾病的诊断与治疗。

的检测结果更为直接,不仅可以明确病原体,还能够反映患儿肺组织炎症损伤情况,对临床治疗更具参考意义。肺表面活性物质由 90% 磷脂和 10% 蛋白质组成,具有高度表面活性,对维持肺泡表面张力和顺应性、保障肺通气量具有重要意义。肺表面活性物质相关蛋白(surfactant associated protein,SP)包括 SP-A、SP-B、SP-C 和 SP-D,具有维持肺泡顺应性、减少肺泡表面张力、调控局部免疫等生理学效应[3-7]。本研究旨在观察 4 种常见病原体感染的肺炎患儿 BALF 中 SP 水平的变化,以期为临床医师准确判断患儿肺组织损伤转归及预后提供帮助。

1　资料与方法

1.1　一般资料　选择 2015 年 1 月至 2016 年 12 月在驻马店市第一人民医院小儿内科住院治疗的肺炎患儿 39 例,男 23 例,女 16 例;年龄 2 ~ 11 岁,平均(4.27 ± 0.24)岁;所有患儿根据临床表现、胸部 X 线片、细菌培养及血清学检测结果明确肺炎类型,符合儿童肺炎的诊断标准[1];并排除肺结核、肺部真菌感染、儿童哮喘、支气管扩张、肺部占位性疾病及其他肺部疾病。本研究通过医院伦理委员会批准,所有患儿家属签订知情同意书。

1.2　试剂与仪器　人 SP-A、SP-B、SP-C 和 SP-D 酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immuno sorbent assay,ELISA)试剂盒(上海广锐生物科技有限公司);DG5031 酶联免疫检测仪(上海精密仪器仪表有限公司)。

1.3　病原体检测　所有患儿入院后第 2 天晨起空腹状态下抽取左侧肘静脉血 4 mL,采用 ELISA 检测 RSV、IV、AD 和 MP 的 IgM 抗体,明确患儿罹患肺炎的病原体。

1.4　BALF 中 SP 水平检测　患儿在全身麻醉或局部麻醉下行纤维支气管镜检查,将 37 ℃生理盐水以 1 mL · kg^{-1}的剂量注入患侧肺段,然后以 100 mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa)的负压将液体抽回,反复 3 次,回收液体总量需大于注入量的 40%,若不足 40% 可再行 1 次抽吸。抽吸获取的液体即为 BALF,立即 4 ℃下 3 000 r · min^{-1}离心 10 min,取上清液,按 ELISA 试剂盒说明书步骤进行操作。配制标准品、加样 50 μL,上清液 40 μL + 抗体 10 μL,室温下温育120 min,洗板,室温下显色 20 min,混匀 30 s,酶标仪波长 490 nm 处读取吸光度值,以吸光度值为纵坐标,以标准品浓度为横坐标,使用 Curxpt 软件(美国 Stardock 软件公司)绘制标准曲线,计算 BALF 中 SP-A、SP-B、SP-C 和 SP-D 水平。

1.5　统计学处理　应用 SPSS 19.0 软件进行数据处理,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用方差分析,两两比较采用最小显著差异法检验,$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　39 例患儿病原体感染情况　39 例患儿中,RSV 感染 14 例(RSV 组),男 9 例,女 5 例,平均年龄(4.26 ± 0.29)岁;IV 感染 9 例(IV 组),男 6 例,女 3 例,平均年龄(4.31 ± 0.26)岁;AD 感染 5 例(AD 组),男 3 例,女 2 例,平均年龄(4.29 ± 0.27)岁;MP 感染 11 例(MP 组),男 7 例,女 4 例,平均年龄(4.24 ± 0.23)岁;4 组患儿的性别、年龄比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2　4 组患儿 BALF 中 SP-A、SP-B、SP-C 及 SP-D 水平比较　结果见表 1。RSV 组、IV 组和 AD 组患儿 BALF 中 SP-A、SP-B、SP-C 及 SP-D 水平显著高于 MP 组($P < 0.05$),但 RSV 组、IV 组及 AD 组患儿 BALF 中 SP-A、SP-B、SP-C、SP-D 水平比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1　4 组肺炎患儿 BALF 中 SP-A、SP-B、SP-C 及 SP-D 水平比较

Tab.1　Comparison of the levels of SP-A, SP-B, SP-C and SP-D in BALF of pneumonia children in the four groups

($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SP-A/(mg · L^{-1})	SP-B/(mg · L^{-1})	SP-C/(mg · L^{-1})	SP-D/(mg · L^{-1})
RSV 组	14	18.19 ± 1.26[a]	11.72 ± 1.03[a]	7.22 ± 0.27[a]	3.81 ± 0.17[a]
IV 组	9	17.85 ± 1.41[a]	11.59 ± 1.24[a]	7.21 ± 0.24[a]	3.84 ± 0.15[a]
AD 组	5	18.21 ± 1.02[a]	11.63 ± 1.12[a]	7.16 ± 0.27[a]	3.85 ± 0.12[a]
MP 组	11	16.37 ± 1.54	8.52 ± 0.47	5.24 ± 0.39	3.08 ± 0.07
F		98.216	214.356	149.387	227.965
P		< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

注:与 MP 组比较[a]$P < 0.05$。

3　讨论

肺炎是儿童常见疾病之一,导致儿童肺炎的病原体主要有 MP、RSV、IV 和 AD[1-2]。本研究 39 例患儿中,RSV 感染 14 例,IV 感染 9 例,AD 感染 5 例,MP 感染 11 例。目前,儿童肺炎尚无特效的靶向治疗药物,且患儿的临床表现多样,因此,对儿童肺炎的病原体检查及肺功能判断是临床医师明确诊断和确定治疗方案的关键环节。SP 由肺泡上皮分泌

释放,具有维持肺泡表面张力和顺应性、保障肺通气量等生理作用,包含 SP-A、SP-B、SP-C 和 SP-D 4 种亚型。当病原体侵犯肺泡上皮时,肺泡上皮损伤可致 SP 的释放分泌减少,因此,BALF 中 SP 水平的变化可以反映患者肺泡上皮损伤的程度和呼吸功能损伤情况。SP-A 是 4 种 SP 中最多的一种,具有维持肺泡顺应性、免疫活性、抗氧化性、参与介导肺泡上皮凋亡等作用[4,8-9]。SP-B 一方面具有维持肺泡磷脂气-液面稳定,减少肺泡表面张力的作用;另一方面可促进 SP-C 前体蛋白向成熟 SP-C 转化,与 SP-C 在维持肺泡顺应性方面具有协同效应[6,10-11]。SP-C 只可由肺泡Ⅱ型上皮细胞(alveolar epithelial cell Ⅱ,AECⅡ)释放,被认为是 AECⅡ的标志物,SP-C 的活性水平可以反映 AECⅡ的结构与功能[12-15]。SP-D 的生物学作用为参与呼吸系统天然免疫抗感染作用,与特异性免疫有关[16-18]。

本研究结果显示,RSV 组、IV 组和 AD 组患儿 BALF 中 SP-A、SP-B、SP-C 及 SP-D 水平显著高于 MP 组,但 RSV 组、IV 组及 AD 组患儿 BALF 中 SP-A、SP-B、SP-C、SP-D 水平比较差异均无统计学意义;提示不同病毒感染所致肺炎患儿的肺泡上皮及免疫损伤程度无显著差异,而支原体肺炎患儿的肺泡上皮损伤更为严重,肺泡免疫活性更低,肺泡通气功能更差。有研究显示,支原体肺炎患儿出现急性呼吸窘迫、肺不张等临床危重症的概率高于其他类型的肺炎患儿[1,4]。因此,对于肺炎患儿,应及早明确病原体,以采取对应措施,尤其对于支原体肺炎患儿要尽量缩短病程,减轻肺泡上皮损伤,以保护肺通气功能,避免进行性低氧血症的出现。

综上所述,RSV、IV、AD 和 MP 感染所致肺炎患儿的肺泡上皮均有损伤,其中 MP 感染所致的肺泡上皮损伤更为严重;检测肺炎患儿 BALF 中 SP 水平有助于临床医师准确判断患儿肺泡上皮损伤程度和呼吸功能,以便采取积极措施改善患儿的临床症状和预后。

参考文献:

[1] 中华医学会儿科学分会呼吸学组,《中华实用儿科临床杂志》编辑委员会. 儿童肺炎支原体肺炎诊治专家共识(2015 年版)[J]. 中华实用儿科临床杂志,2015,30(17):1304-1308.

[2] 张新星,陈正荣,顾文婧. 比较鼻咽抽吸物和支气管肺泡灌洗液对不同类型及不同年龄肺炎患儿诊疗的意义[J]. 中华实用儿科临床杂志,2015,30(4):286-290.

[3] 韩洁. 毛细支气管炎血清及肺泡灌洗液肺表面活性蛋白对比研究[J]. 临床肺科杂志,2015,20(4):687-689.

[4] 柴玲彦,赵红,刘连凤,等. 肺炎支原体肺炎患儿血清及支气管肺泡灌洗液中 SP-A、SP-D 和 KL-6 含量变化及意义[J]. 陕西医学杂志,2015,44(7):806-809.

[5] 张荣媛,王旭,李守军,等. 新生儿体外循环心脏术后肺表面活性物质的变化及临床意义[J]. 中华小儿外科杂志,2015,36(6):430-434.

[6] 邓飞涛,张莉,葛凉芳,等. 妊娠期糖尿病大鼠的胎鼠肺结构和肺表面活性蛋白 B、C 及其调控因子表达[J]. 中华围产医学杂志,2015,18(8):625-631.

[7] 于令娟. 不同胎龄新生儿羊水、脐血 SP-A、SP-B 水平的测定及其影响因素的临床研究[D]. 石家庄:河北医科大学,2015.

[8] 姚琳,张俊威,王博,等. 芩百清肺浓缩丸对肺炎支原体感染大鼠肺组织中 TGF-β 和 SP-A 表达的影响[J]. 中国药理学通报,2016,32(4):564-569.

[9] 刘玉红. 表面活性蛋白 A 在固有免疫中的作用及机制分析[J]. 检验与诊断,2015,9(16):52-53.

[10] 王慧娟,冯社军,李军涛,等. 丙泊酚对 LPS 诱导的大鼠急性肺损伤状态下 SP-B 表达的调节作用[J]. 西部医学,2015,27(1):9-12.

[11] 新春,梅花. 肺表面蛋白 B、C 与新生儿呼吸窘迫综合征相关性研究进展[J]. 国际儿科学杂志,2015,42(6):622-625.

[12] 梅花,刘春枝,张亚昱,等. 肺表面活性物质蛋白-C 基因遗传多态性与内蒙古地区蒙古族新生儿呼吸窘迫综合征的相关性研究[J]. 中国小儿急救医学,2015,22(2):108-112.

[13] 彭丹晖,黄英明,老启芳,等. 二氧化碳浓度对 A549 细胞活性和肺泡表面活性蛋白 C 表达的影响[J]. 中华实验外科杂志,2015,32(11):2761-2763.

[14] 韩笑. SP-C 基因突变与新生儿呼吸窘迫综合征的关联性研究[D]. 大连:大连医科大学,2015.

[15] 宋丽君,李春艳. 肺炎支原体感染免疫学的相关问题[J]. 中华实用儿科临床杂志,2016,31(9):645-649.

[16] 韩芳,王辉,倪银,等. 急性呼吸窘迫综合征患者肺表面活性蛋白 D 的动态变化研究[J]. 中国全科医学,2016,18(13):1541-1543.

[17] 张诒勋,李兴矗,刘冰,等. 婴儿巨细胞病毒肺炎血清 SP-D 和 MBL 水平变化及意义[J]. 国际儿科学杂志,2015,42(6):688-691.

[18] 韩金芬,王文秀,王川云. 布地奈德联合阿奇霉素治疗儿童肺炎支原体肺炎疗效观察[J]. 新乡医学院学报,2016,33(8):684-686.

(本文编辑:徐自超 英文编辑:徐自超)