

0.05)。The serum CCSP level of premature infants on the 3rd day after birth was significantly higher than that at 2 hours and 7,14 days after birth in the control group ($t=3.834, 2.627, 2.818; P<0.05$)。There was no significant difference in serum CCSP levels of premature infants at 2 hours and 7,14 days after birth in the control group ($t=-1.207, 1.016, 0.191; P>0.05$)。The serum CCSP level of premature infants in the observation group was significantly lower than that in the control group at 2 hours and three days after birth ($t=2.878, 2.658; P<0.05$)。There was no significant difference in serum CCSP level of premature infants between the two groups on the 7th and 14th day after birth ($t=0.776, 1.146; P>0.05$)。 **Conclusion** The level of serum CCSP in RDS preterm infants is decreased. The level of serum CCSP has a certain value in predicting the occurrence, development and outcome of RDS in preterm infants, it can be used as a biomarker of RDS in preterm infants.

Key words: preterm infant; respiratory distress syndrome; Clara cell secretory protein

新生儿呼吸窘迫综合征(respiratory distress syndrome, RDS)是因肺表面活性物质缺乏或伴随支气管肺发育不良引起的一种呼吸系统疾病,常导致患儿进行性呼吸功能障碍及衰竭,该病主要发生于早产儿,胎龄越小,RDS 发病率越高^[1-2]。Clara 细胞分泌蛋白(Clara cell secretory protein, CCSP)是反映肺泡上皮及血管内皮完整性的一种敏感指标,血清中 CCSP 水平与肺泡毛细血管网完整度存在一定的相关性^[3]。本研究动态观察 RDS 和非 RDS 早产儿出生后不同时间血清 CCSP 水平变化,探讨其变化特点及作为 RDS 早期预警生物学标志物的可行性。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选择 2013 年 6 月至 2015 年 6 月在珠海市人民医院出生的早产儿为研究对象,病例纳入标准:(1)符合新生儿 RDS 诊断标准^[4];(2)胎龄<37 周,且体质量<2.5 kg 的存活新生儿。排除标准:(1)出生时合并严重感染如败血症、脓毒症等;(2)先天性畸形如肺腺瘤样畸形等。本研究共纳入早产儿 63 例,其中有 RDS 的 30 例早产儿纳入观察组,无 RDS 的 33 例早产儿纳入对照组。观察组:男 20 例,女 10 例;出生时孕周 28~33(31.1 ± 1.6)周,出生体质量 1.4~2.1(1.81 ± 0.21)kg,母亲年龄 26~38(32.6 ± 5.0)岁。对照组:男 20 例,女 13 例;出生时孕周 28~35(31.3 ± 1.8)周,出生体质量 1.5~2.0(1.85 ± 0.14)kg,母亲年龄 25~38(31.9 ± 3.1)岁。2 组早产儿的性别、出生时孕周、出生体质量及母亲年龄比较差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究通过医院伦理委员会审批,所有受试者父母签署知情同意书。

1.2 血清 CCSP 水平检测 分别于出生 2 h 及第 3、7、14 天抽取 2 组早产儿静脉血 2 mL,1 500 r·min⁻¹

离心 10 min,取上层血清,-70 ℃ 保存备检。采用双抗体夹心酶联免疫吸附法检测血清 CCSP 水平,试剂购自上海西唐生物科技有限公司,严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 22.0 软件进行数据统计与分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间血清 CCSP 水平比较采用 t 检验,组内血清 CCSP 水平比较采用单因素方差分析,方差齐性时采用最小显著性差异法进行两两比较,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 2 组早产儿血清 CCSP 水平变化特征 观察组早产儿出生 2 h 至第 7 天血清 CCSP 水平逐渐升高,第 7 天达峰值,第 7~14 天维持在相对稳定水平;对照组早产儿出生 2 h 至第 3 天血清 CCSP 水平逐渐升高,第 3 天达高峰,然后开始下降,第 7~14 天维持在相对稳定水平。

2.2 2 组早产儿血清 CCSP 水平比较 结果见表 1。观察组早产儿出生 2 h 时血清 CCSP 水平显著低于出生第 3、7、14 天,差异有统计学意义($t=-2.805、-3.898、-3.580, P<0.05$)；观察组早产儿出生第 3、7、14 天时血清 CCSP 水平比较差异均无统计学意义($t=-1.092、-0.775、0.318, P>0.05$)。对照组早产儿出生第 3 天时血清 CCSP 水平显著高于出生 2 h 及第 7、14 天,差异有统计学意义($t=3.834、2.627、2.818, P<0.05$)；对照组早产儿出生 2 h 及第 7、14 天时血清 CCSP 水平比较差异均无统计学意义($t=-1.207、1.016、0.191, P>0.05$)。观察组早产儿出生 2 h 和第 3 天时血清 CCSP 水平显著低于对照组,差异有统计学意义($t=2.878、2.658, P<0.05$)；2 组早产儿出生第 7、14 天时血清 CCSP 水平比较差异无统计学意义($t=0.776、1.146, P>0.05$)。

表 1 2 组早产儿血清 CCSP 水平比较

Tab.1 Comparison of serum CCSP level of preterm infants between the two groups (x̄ ± s)

组别	n	CCSP/(μg · L ⁻¹)			
		出生 2 h	出生第 3 天	出生第 7 天	出生第 14 天
对照组	33	643.24 ± 225.99 ^a	890.23 ± 259.52	721.01 ± 280.23 ^a	708.69 ± 164.89 ^a
观察组	30	419.82 ± 218.47 ^c	660.32 ± 223.39 ^{bc}	800.26 ± 325.86 ^b	769.30 ± 117.31 ^b

注:与出生第 3 天比较^a*P* < 0.05;与出生 2 h 比较^b*P* < 0.05;与对照组比较^c*P* < 0.05。

3 讨论

Clara 细胞是一种无纤毛上皮细胞,主要分布于肺部终末细支气管和呼吸性细支气管上皮。CCSP 由 Clara 细胞合成和分泌,其相对分子质量为 15 840,可经气-血屏障被动弥散至血清中,任何影响 Clara 细胞发育成熟及造成其损伤的因素均会导致血清中 CCSP 水平变化,因此,检测血清 CCSP 水平可以反映肺泡上皮结构、功能及肺血管内皮完整性。胚胎学研究发现,相对于其他细胞,Clara 细胞的分化形成相对稍晚,在胚胎期 15 周左右,呼吸道上皮最早出现 Clara 细胞,随着胎龄增长,Clara 细胞数量逐渐增加直至分娩,其分泌的 CCSP 可促进胚胎发育成熟,并维持肺的正常生理功能^[5-6]。CCSP 具有抗炎、抗氧化、抗纤维化、抗肿瘤及免疫调节等多种生物功能^[7-9],其中抗炎、抗氧化及抗纤维化作用与新生儿肺部疾病息息相关。新生儿及胎儿的血清 CCSP 水平明显高于成年人,出生后血清 CCSP 水平不受母体影响^[10-11]。有研究显示,不同胎龄新生儿,出生第 1 天血清 CCSP 水平以足月新生儿最高,晚期早产儿(胎龄 30 ~ 36 周)次之,早期早产儿(23 ~ 29 周)水平最低^[12]。新生儿 RDS 主要见于早产儿,胎龄越小死亡率越高,提示新生儿 CCSP 血清水平与早产儿易患疾病 RDS 密切相关。

新生儿 RDS 的病理特点包括失控性炎症反应、肺泡上皮细胞损伤和肺毛细血管通透性增高,表现为出生后不久(1 ~ 2 h)即发生呼吸急促,继而出现呼吸困难、呻吟、三凹征,生存期超过 3 d 后上述症状逐渐缓解,生存率明显提高。肺表面活性物质缺乏和功能性缺陷是导致 RDS 的主要原因,肺表面活性物质具有降低肺泡表面张力、维持肺泡扩张、防止肺泡塌陷和肺水肿、保证气血交换的作用^[13-14]。肺表面活性物质的主要活性成分是二棕榈酰磷脂酰胆碱,其成分磷脂是血清磷脂酶 A2(phospholipase A2,

PLA2)的底物,CCSP 可通过与磷脂的竞争性结合来抑制 PLA2 的功能,进而减少肺表面活性物质的降解^[7,15-17];同时,Clara 细胞还能分泌表面活性物质相关蛋白,即表面活性蛋白 A,表面活性蛋白 B 和表面活性蛋白 P^[18-19],促进肺表面活性物质的合成,因此推测,CCSP 亦可以通过影响肺表面活性物质的生成参与 RDS 的发生。

本研究结果显示,出生 2 h 时 2 组早产儿血清 CCSP 水平均较低,且观察组早产儿血清 CCSP 水平显著低于对照组,说明 CCSP 水平与早产儿肺发育及肺功能有明显的相关性,出生早期 CCSP 水平越低,肺发育越不完善、功能越差,不足以维持肺的正常生理功能,容易发生 RDS。2 组早产儿出生后血清 CCSP 水平均快速升高,对照组早产儿血清 CCSP 水平在出生第 3 天达到高峰,观察组早产儿血清 CCSP 水平在出生第 7 天达到高峰;出生第 7 天观察组早产儿血清 CCSP 水平高峰达不到对照组早产儿第 3 天的峰值水平,虽然出生第 7、14 天观察组早产儿血清 CCSP 水平超过了对照组早产儿,但差异无统计学意义;该结果与早产儿 RDS 临床所见相吻合,发生 RDS 的早产儿出生 24 ~ 48 h 病情最重,病死率较高,能生存 3 d 以上者肺成熟度增加,病情可逐渐恢复,在出生第 3 ~ 7 天 RDS 早产儿血清 CCSP 水平逐渐接近峰值并维持稳定水平,说明其肺发育逐渐成熟,肺功能接近完善,而为继续快速适应外界的变化,出生第 7 ~ 14 天血清 CCSP 水平仍维持在较高水平。本研究结果显示,观察组早产儿出生 2 h 时血清 CCSP 水平显著低于出生第 3、7、14 天,出生第 3、7、14 天时血清 CCSP 水平比较差异均无统计学意义。对照组早产儿出生第 3 天时血清 CCSP 水平显著高于出生 2 h 及第 7、14 天,出生 2 h 及第 7、14 天时血清 CCSP 水平比较差异均无统计学意义;说明早产儿在出生后早期(2 h)血清 CCSP 水平最低,这也是出生后早期容易发生 RDS 的主要原因,因此,出生后早期(2 h)检测血清 CCSP 水平评估早产儿肺的发育及成熟度,不仅可以预测早产儿 RDS 的发生,做到早期干预,还可以通过动态监测 CCSP 水平的变化,预测早产儿 RDS 的发展和转归。已有研究显示,血清 CCSP 可作为发生新生儿 RDS 和支气管肺发育不良的生物标志物^[20-21]。

综上所述,早产儿是新生儿 RDS 发病率及病死率升高的高危因素,其发生 RDS 与血清 CCSP 水平密切相关,血清 CCSP 对预测新生儿 RDS 的发生、发展和预后评估有一定的价值,可作为早产儿发生 RDS

的生物标志物。本研究的不足在于病例数相对较少,有待大样本、长时间及多中心研究进一步证实。

参考文献:

[1] 茹喜芳,冯琪. 新生儿呼吸窘迫综合征的防治:欧洲共识指南 2019 年版[J]. 中华新生儿科杂志,2019,34(3):239-240.

[2] 中国医师协会新生儿科医师分会. 早产儿呼吸窘迫综合征早期防治专家共识[J]. 中华实用儿科临床杂志,2018,33(6):438-440.

[3] GUZM N-B RCENAS J,CALDER N-MOORE A,BAPTISTA-GONZ-LEZ H,*et al.* Clara cell protein expression in mechanically ventila- ted term and preterm infants with respiratory distress syndrome and at risk of bronchopulmonary dysplasia;a pilot study[J]. *Can Respir J*,2017,2017:8074678.

[4] 陈龙,史源. 新生儿急性呼吸窘迫综合征:从概念到实践[J]. 中华实用儿科临床杂志,2019,34(18):1364-1367.

[5] BARTH P J,J,WOLF M,RAMASWAMY A,*et al.* Distribution and number of Clara cells in the normal and disturbed development of the human fetal lung[J]. *Pediatr Pathol*,1994,14(4):637-651.

[6] BERNARD A,THIELEMANS N,LAUWERYS R,*et al.* Clara cell protein in human amniotic fluid;a potential marker of fetal lung growth[J]. *Pediatr Res*,1994,36(6):771-775.

[7] DE LUCA D,MINUCCI A,COGO P,*et al.* Secretory phospholipase A2 pathway during pediatric acute respiratory distress syndrome;a preliminary study[J]. *Pediatr Crit Care Med*,2011,12(1):e20- e24.

[8] PANG M,WANG H,BAI J Z,*et al.* Recombinant rat CC16 protein inhibits LPS-induced MMP-9 expression via NF-kB pathway in rat tracheal epithelial cells[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*,2015,240 (10):1266-1278.

[9] PLOPPER C G,MANGO G W,HATCH G E,*et al.* Elevation of susceptibility to ozone-induced acute tracheobronchial injury in transgenic mice deficient in Clara cell secretory protein[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*,2006,213(1):74-85.

[10] BERNARD A,THIELEMANS N,LAUWERYS R,*et al.* The renal handling of protein 1 (Clara cell protein):effect of age,sex and renal dysfunction[J]. *Contrib Nephrol*,1993,101(10):66-70.

[11] BRIANA D D,GOURGIOTIS D,BOUTSIKOU M,*et al.* Clara cell protein in full-term pregnancies; the in uence of intrauterine growth restriction[J]. *Pediatr Pulmonol*,2010,45(12):1186- 1191 .

[12] SARAFIDIS K,STATHOPOULOU T,DIAMANTI E,*et al.* Clara cell secretory protein (CC16) as a peripheral blood biomarker of lung injury in ventilated preterm neonates[J]. *Eur J Pediatr*, 2008,167(11):1297-1303.

[13] 林玲,彭好. 肺泡表面活性物质在新生儿呼吸窘迫综合征中的微创应用[J]. 中华实用儿科临床杂志,2019,34(23): 1834-1837.

[14] 康乐. 不同通气方式对肺表面活性物质治疗的呼吸窘迫综合 征早产儿脑氧代谢的影响[J]. 新乡医学院学报,2018,35 (12):1115-1117,1121.

[15] DE LUCA D,CAPOLUONGO E,RIGO V,*et al.* Secretory phos- pholipase A₂ pathway in various types of lung injury in neonates and infants;a multicentre translational study[J]. *BMC Pediatr*, 2011,11(1):101-110.

[16] SCHRAMA A J,BERNARD A,POORTHUIS B J,*et al.* Cord blood Clara cell protein CC16 predicts the development of bron- chopulmonary dysplasia[J]. *Eur J Pediatr*,2008,167(11): 1305-1312.

[17] TRIGGIANI M,GRANATA F,FRATTINI A,*et al.* Activation of human inflammatory cells by secreted phospholipases A₂[J]. *Bio- chim Biophys Acta*,2006,1761(11):1289-1300.

[18] SINGH G,KATYAL S L. Clara cell proteins[J]. *Ann NY Acad Sci*,2000,923:43-58.

[19] SINGH G,KATYAL S L. Clara cells and Clara cell 10 kD pro- teins(CC10)[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*,1997,17(2):141- 143.

[20] ORWOLL B E,SAPRU A. Biomarkers in pediatric ARDS;future directions[J]. *Front Pediatr*,2016,4:55.

[21] 周丹,石芳,刘瀚旻. “新型”支气管肺发育不良生物标记物的 研究现状[J]. 中华妇幼临床医学杂志,2019,15(4):357- 362.

(本文编辑:徐自超)