

重症肺炎患儿支气管肺泡灌洗液中 IL-6、IL-10、IL-17 及 HMGB1 水平*

陈 敏, 靳 蓉**, 孙永烽, 王 琦, 程 星, 徐 慧, 李亭颖, 吴 炜
(贵阳市妇幼保健院 贵阳市儿童医院, 贵州 贵阳 550003)

[摘 要] 目的: 探讨重症肺炎患儿支气管肺泡灌洗液(BALF)中 IL-6、IL-10、IL-17 及高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1)水平与病情严重程度及病程的关系。方法: 选取住院治疗并行支气管肺泡灌洗术的重症肺炎患儿 100 例,将胸部 CT 提示受累肺叶 $\geq 2/3$ 设定为 A 组、肺叶受累 $< 2/3$ 设定为 B 组,根据病程再将 A、B 两组分别分为 A1 组和 B1 组(急性期患儿,病程 ≤ 7 d)、A2 组和 B2 组(恢复期患儿,病程 > 7 d);ELISA 法检测 BALF 中 IL-6、IL-10、IL-17 及 HMGB1 水平,比较各组上述炎症因子水平。结果: A 组 IL-17 水平高于 B 组,差异有统计学意义($P < 0.05$);A1 和 B1 组 IL-6、IL-17 水平高于 A2 和 B2 组,差异有统计学意义($P < 0.05$);A1 组 IL-6 水平高于 B1 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论: BALF 中 IL-6、IL-17 可作为反映急性期重症肺炎患儿病情严重程度的有用指标。
[关键词] 重症肺炎; 儿童; 支气管肺泡灌洗液; 白细胞介素 6; 白细胞介素 10; 白细胞介素 17; 高迁移率族蛋白 B1
[中图分类号] R725.6 [文献标识码] A [文章编号] 1000-2707(2018)06-0670-04
DOI:10.19367/j.cnki.1000-2707.2018.06.010

Study on Levels of IL-6, IL-10, IL-17 and HMGB1 in the Bronchoalveolar Lavage Fluid of Children with Severe Pneumonia

CHEN Min, JIN Rong, SUN Yongfeng, WANG Qi, CHENG Xing, XV Hui, LI Tingying, WU Wei
(Guiyang Maternal and Child Health Hospital & Guiyang Children's Hospital, Guiyang 550003, Guizhou, China)

[Abstract] Objective: To explore the relationship between the level of IL-6, IL-10, IL-17 and HMGB1 in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and severity and course of the disease. Methods: A total of 100 cases of severe pneumonia children treated with bronchoalveolar lavage were divided into group A (pulmonary lobe involvement no less than 2/3) and group B (pulmonary lobe involvement less than 2/3) according to chest CT. Then according to the course, group A and group B were further divided into two groups: group A1 and group B1 (children with acute phase, course ≤ 7 d), group A2 and B2 (children with recovery period, course > 7 d). The levels of IL-6, IL-10, IL-17 and HMGB1 in BALF were detected by Elisa, and the levels of the above mentioned inflammatory factors in each group were compared. Results: The IL-17 level of group A was higher than that of group B, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The levels of IL-6 and IL-17 of group A1 and B1 were higher than those of group A2 and B2, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The IL-6 level of group A1 was higher than that of group B1, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Conclusion: IL-6 and IL-17 in BALF can be used as useful indexes to reflect the severity of severe pneumonia in children with acute pneumonia.
[Key words] severe pneumonia; children; bronchoalveolar lavage fluid; interleukin 6; interleukin 10; interleukin 17; high mobility group protein 1

*[基金项目] 贵州省科技厅基金[黔科合 LH(2015)7029 号]
** 通信作者 E-mail: Jinrong2614@sina.com
网络出版时间: 2018-06-18 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20180618.1502.007.html>

重症肺炎是引起儿童死亡的首要原因,位居儿童危重症首位,尽管新的强有力的抗生素不断出现,但重症肺炎的发病率并未因此降低,重症肺炎患儿的死亡率一直居高不下^[1-3]。有研究表明,重症肺炎的发病与炎症反应密切相关,持续存在的炎性因子是重症肺炎病情进展的重要驱动因子,是患儿预后转归的重要影响因素^[4-5]。本研究观察在儿童重症肺炎进展过程中炎性因子 IL-6、IL-10、IL-17 及高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1) 在支气管肺泡灌洗液(BALF)中的变化特征,为探讨炎性因子在疾病中的作用机制及判断疾病严重程度提供理论依据。

1 方法

1.1 研究对象

选取2015年1月~2017年3月贵阳市儿童医院诊治的重症肺炎100例,1月~12岁,男53人,女47人。纳入标准:患者临床症状符合《儿童社区获得性肺炎管理指南(2013)》^[6]中的相关标准,且患儿住院前未接受过系统抗生素治疗;未合并肺结核、支气管哮喘等其他呼吸系统疾病,近2月内无异常发热症状,无关节疼痛不适症状;免疫机制无异常,未使用过糖皮质激素、丙种球蛋白等影响免疫功能的药物;患儿家长知晓本次研究内容并表示理解,同意患儿参加研究。本研究已报备贵阳市儿童医院伦理委员会,确定符合医学伦理学规范。

1.2 分组

患儿入院第1天行胸部CT,胸部CT提示受累肺叶≥2/3设定为A组(28例),肺叶受累<2/3设定为B组(72例)。根据病程(病程≤7d属于急性发作期,病程>7d属于缓解恢复期)对两组患儿进行二次分组,其中A1组(13例)病程≤7d,A2组(15例)病程>7d;B1组(19例)病程≤7d,B2

组(53例)病程>7d。各组病例的性别、年龄差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.3 支气管肺泡灌洗术

入院第2天行支气管肺泡灌洗术,患儿取合适体位,用2%利多卡因行局部鼻腔、咽喉表面浸润麻醉,随后由鼻腔导入支气管镜行支气管肺泡灌洗术。支气管镜探查的顺序是先健侧,后患侧,即根据肺CT影像结果决定探查顺序;确定患侧位置后再行灌洗治疗,灌洗液用量为每次1~2 mL/kg,然后用负压吸引回收灌洗液,回收率要求达到40%~60%。取3 mL灌洗液标本并用无菌纱布初步过滤,去除表面黏液,随后转入硅胶瓶中,置保温瓶中送检。实验室将样品置于离心机中1 800 r/min。离心10 min后,取上清液,并转入-80℃冰箱中备用。

1.4 炎症因子检测

采用ELISA法检测BALF中炎性因子IL-6、IL-10、IL-17及HMGB1水平,使用赛默飞世尔 Multi-skan 酶标仪及IL-6、IL-10、IL-17及HMGB1试剂盒,检测操作严格遵循说明书步骤。

1.5 统计学方法

所有研究数据均经SPSS 20.0统计软件处理,其中符合正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间数据符合正态分布、方差齐的资料采用 t 检验,不符合正态分布的资料则采用非参数检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 按病变累及肺叶分组患儿的BALF中炎症因子水平

IL-17水平A组高于B组,差异有统计学意义($P<0.05$);IL-6、IL-10、HMGB1水平在A、B两组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 A、B两组患儿IL-6、IL-10、IL-17及HMGB1水平比较($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Comparison of levels of IL-6, IL-10, IL-17 and HMGB1 between group A and group B

组别	<i>n</i>	IL-6 (ng/L)	IL-10 (ng/L)	IL-17 (ng/L)	HMGB1 (μg/L)
A	28	53.21 ± 30.07	10.87 ± 3.93	159.74 ± 120.78	146.47 ± 15.90
B	72	58.09 ± 59.04	11.58 ± 5.39	96.9 ± 76.49	126.35 ± 10.75
<i>t</i>			-0.597	2.686	
<i>P</i>		0.362	0.552	0.009	0.565

注:两组间IL-6及HMGB1水平比较采用非参数检验

2.2 按病程分组重症肺炎患儿的 BALF 中炎症因子水平

(A1 + B1) 组的 IL-6、IL-17 水平高于 (A2 +

B2) 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); (A1 + B1) 组、(A2 + B2) 组 IL-10、HMGB1 水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 两组患儿 BALF 中 IL-6、IL-10、IL-17 及 HMGB1 水平 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of levels of IL-6, IL-10, IL-17 and HMGB1 between group (A1 + B1) and group (A2 + B2)

组别	<i>n</i>	IL-6 (ng/L)	IL-10 (ng/L)	IL-17 (ng/L)	HMGB1 (μg/L)
A1 + B1	32	60.77 ± 32.10	11.17 ± 4.27	148.07 ± 87.86	124.21 ± 11.24
A2 + B2	68	56.65 ± 60.35	11.25 ± 5.53	100.02 ± 96.33	134.31 ± 10.51
<i>P</i>		0.012	0.841	0.014	0.146

注: 两组间 IL-6、IL-10、IL-17 及 HMGB1 水平比较采用非参数检验

2.3 两种方式分组重症肺炎患儿的 BALF 中的炎症因子水平

A1 组的 IL-6 水平明显高于 B1 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 两组间 IL-10、IL-17、HMGB1

水平在 A1、B1 比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 3。在 A2、B2 两组间 IL-6、IL-10、IL-17、HMGB1 水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 4。

表 3 A1、B1 两组患儿 BALF 中 IL-6、IL-10、IL-17 及 HMGB1 水平 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of levels of IL-6, IL-10, IL-17 and HMGB1 between group A1 and group B1

组别	<i>n</i>	IL-6 (ng/L)	IL-10 (ng/L)	IL-17 (ng/L)	HMGB1 (μg/L)
A1	13	75.73 ± 39.80	10.26 ± 3.86	177.64 ± 75.50	134.21 ± 16.58
B1	19	50.82 ± 21.68	11.77 ± 4.55	126.96 ± 92.51	120.33 ± 21.14
<i>t</i>			-0.863	1.424	
<i>P</i>		0.026	0.397	0.168	0.403

注: 两组间 IL-6 及 HMGB1 水平的比较采用非参数检验

表 4 A2、B2 两组患儿的 BALF 中 IL-6、IL-10、IL-17 及 HMGB1 水平 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Comparison of levels of IL-6, IL-10, IL-17 and HMGB1 between group A2 and group B2

组别	<i>n</i>	IL-6 (ng/L)	IL-10 (ng/L)	IL-17 (ng/L)	HMGB1 (μg/L)
A2	15	39.22 ± 8.43	11.29 ± 3.54	144.83 ± 150.64	137.96 ± 16.34
B2	53	61.33 ± 67.23	11.51 ± 5.82	85.86 ± 68.45	129.61 ± 15.11
<i>t</i>				1.314	
<i>P</i>		0.347	0.405	0.212	0.228

注: 两组间 IL-6、IL-10 及 HMGB1 水平的比较采用非参数检验

3 讨论

本研究结果表明, 重症肺炎患儿 BALF 中可检测到多种炎症因子的异常表达, 其中包括 IL-6、IL-10 以及 IL-17、HMGB1, 这些因子均是重症肺炎发病的重要影响因子, 亦是病情进展过程中的重要驱动因子。本研究结果显示 IL-6 在发病不同时期患儿 BALF 中的表达存在明显差异, 且 IL-6 的表达与患儿病情严重程度有关, 即当患儿处于重症肺炎急性期时可检测到 IL-6 的异常升高, 且患儿病情越重, IL-6 的升高越明显。IL-6 是体内重要的炎症因子, 常于炎症急性期合成, 并参与诸多炎症反应或

与炎症相关的病理过程^[7]。肖政辉等^[8]研究指出, CPR 和 IL-6 均是反映有无感染的生物学指标, 且 IL-6 在感染发生早期便已经出现了异常变化, 而 CPR 的异常改变相对滞后。肺部感染性疾病发病早期, 细菌病毒会释放大量内毒素, 并刺激肺泡巨噬细胞分泌并大量释放 IL-6 和 TNF-α, 但随着病程的进展, 肺泡巨噬细胞的分泌能力将逐步降低。IL-6 本身并不会对机体造成损伤, 但其可以通过促进局部炎症反应, 诱导急性反应蛋白的合成加速病情进展, 故从某种程度上讲, IL-6 水平是反映重症肺炎急性期感染严重程度的重要指标。Fernandez-Serrano 等^[9]发现重症肺炎患者常伴有 IL-10 的异常升高, 这提示 IL-10 与肺炎的病程进展和

预后转归密切相关,其表达水平愈高,则患者预后越差,二者可能呈负相关关系。IL-10 是体内重要的抗炎、抑炎因子,可抑制局部炎症反应,调节机体的免疫反应^[10],但这种抗炎作用是相对的,如果抗炎过度亦会引起体内免疫失衡,影响患者预后。本研究通过设计对照试验分别探究了不同病程、不同病情患儿体内的 IL-10 表达情况,结果提示各组患儿 BALF 中 IL-10 水平差异无统计学意义,这可能与患儿预后较为理想,多数患儿病情好转,顺利出院,未出现明显病情加重有关。IL-17 是一种促炎因子,主要由 T 细胞诱导合成,其作用靶点较多,一方面可以作用于中性粒细胞,促使其尽快成熟;另一方面可以作用于上皮细胞、内皮细胞,促使其合成分泌 IL-6、IL-8 等刺激因子以及急性反应蛋白,加重局部炎症反应;IL-17 在炎症早期可介导中性粒细胞发挥清除细胞外致病菌的作用^[11]。本研究对不同病程、不同病情的重症肺炎患儿进行了分析,结果发现急性期患儿以及病情较重的患儿伴有 IL-17 的异常升高,这支持上述结论,但在继续分组、深入研究过程中未发现组间数据存在统计学差异,这可能与纳入样本量过少,系统误差较大有关。一般情况下, HMGB1 存在于细胞核内,当细胞发生损伤或坏死时, HMGB1 便会被释放至细胞外形成炎性刺激因子,促进巨噬细胞等促炎因子的分泌,而这些促炎因子又会作用于 HMGB1,导致 HMGB1 合成量进一步增加,由此形成正反馈调节,促使炎症反应不断加重。有研究表明, BALF 中的 HMGB1 水平升高时可加重局部急性肺损伤的程度^[12-13]。

本研究结果表明不同病程及病情的重症肺炎患儿 BALF 中的 HMGB1 水平差异无统计学意义,需要扩大样本量进一步研究 HMGB1 水平与病情严重程度关系。儿童重症肺炎起病急、病程长,易发生并发症,一直以来受到临床医生的重视,急性期重症肺炎患儿 BALF 中炎性因子 IL-6、IL-17 升高,为肺炎的炎症干预提供理论基础。

4 参考文献

[1] RUDAN I, BOSCHI-PINTO C, BILOGLAV Z, et al. Epidemiology and etiology of childhood pneumonia[J]. Bull World Health Organ, 2008, 86(5):408-416.
[2] DEHOUS M S, BOUTTEN A, OSTINELLI J, et al. Compartmentalized cytokine production within the human

lung in unilateral pneumonia[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1994,150(3):710-716.
[3] NIEDERMAN M S, MANDELL L A, ANZUETO A, et al. Guidelines for the management of adults with community-acquired pneumonia. Diagnosis, assessment of severity, antimicrobial therapy, and prevention[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2001, 163(7):1730-1754.
[4] PAATS M S, BERGEN I M, HANSELAAR W E, et al. Local and systemic cytokine profiles in nonsevere and severe community-acquired pneumonia[J]. Eur Respir J, 2013, 41(6):1378-1385.
[5] LEBOWITZ D. Cryptogenic organizing pneumonia[J]. Rev Med Suisse, 2013, 9(407):2164-2169.
[6] 中华医学会儿科学分会呼吸学组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童社区获得性肺炎管理指南(2013 修订)[J]. 中华儿科杂志, 2013,51(8):745-752.
[7] 姚娜,李树德,王文林. IL-6,IL-10 在实验性肺部炎症中的研究进展[J]. 昆明医科大学学报, 2014,35(3):161-163.
[8] 肖政辉,易著文,胥志跃,等. 重症肺炎患儿血浆 IL-1、IL-6、IL-8、TNF- α 变化及临床意义[J]. 医学临床研究, 2007,24(8):1345-1346.
[9] FERNANDEZ-SERRANO S, DORCA J, COROMINES M, et al. Molecular inflammatory responses measured in blood of patients with severe community-acquired pneumonia[J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2003, 10(5):813-820.
[10] KOSAKA S, TAMAUCHI H, TERASHIMA M, et al. IL-10 controls Th2-type cytokine production and eosinophil infiltration in a mouse model of allergic airway inflammation[J]. Immunobiology, 2011, 216(7):811-820.
[11] MC CARTHY M K, ZHU L, PROCARIO M C, et al. IL-17 contributes to neutrophil recruitment but not to control of viral replication during acute mouse adenovirus type 1 respiratory infection[J]. Virology, 2014,60(456-457):259-267.
[12] UENO H, MATSUDA T, HASHIMOTO S, et al. Contributions of high mobility group box protein in experimental and clinical acute lung injury[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2004, 170(12):1310-1316.
[13] KIM J Y, PARK J S, STRASSHEIM D, et al. HMGB1 contributes to the development of acute lung injury after hemorrhage[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2005,288(5):L958-L965.

(2018-02-19 收稿,2018-05-12 修回)
中文编辑:周 凌;英文编辑:雷 妍