

·论著·

急性发作期哮喘患儿诱导痰中白细胞介素-5 水平变化及其临床意义

鲁正荣¹, 王晓蕾¹, 王次林¹, 罗荣华¹, 艾涛¹, 周开宇¹, 冉丛兰²

(成都市儿童医院 1. 儿科; 2. 检验科, 四川 成都 610017)

[摘要] 目的 观察急性发作期哮喘患儿诱导痰中白细胞介素-5(IL-5)水平变化及其与哮喘发作期病情程度的关系,探讨其在哮喘发病机制中的作用和在临床诊治中的意义。方法 按随机分层设计,65例急性发作期哮喘患儿被分为轻、中、重度发作组,34例健康儿童作为对照组。采用超声雾化高渗盐水诱导痰液,以酶联免疫法(ELISA)测定诱导痰中IL-5水平,同时进行诱导痰中嗜酸性细胞(EOS)计数,测定用力呼气比值(FEV₁)。结果 哮喘急性发作期患儿诱导痰中EOS计数、IL-5水平均高于健康儿童组,FEV₁则低于健康儿童组,差异均具有显著性($P < 0.01$)。急性发作期哮喘患儿轻、中、重度各组间诱导痰中EOS逐渐增高,但差异无显著性($P > 0.05$);而IL-5水平随发作程度的加重而明显升高,轻、中、重度发作各组间两两比较差异均有显著性($P < 0.05$);重度哮喘患儿FEV₁低于轻、中度哮喘($P < 0.05$)。痰液中IL-5水平与EOS计数之间呈显著正相关($r = 0.482$, $P < 0.05$),与FEV₁值之间呈显著负相关($r = -0.647$, $P < 0.01$)。结论 诱导痰中IL-5水平可能较EOS计数更能准确反映哮喘患儿气道炎症和哮喘发作时的病情程度,可以作为临床评价哮喘病情和药物疗效的准确灵敏的指标。
[中国当代儿科杂志,2003,5(4):322-324]

[关键词] 白细胞介素-5;嗜酸性细胞;哮喘;诱导痰;儿童

[中图分类号] R562.2⁺5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2003)04-0322-03

Change of the Interleukin-5 Level in Induced Sputum of Children with Acute Attack of Asthma

Zheng-Rong LU, Xiao-Lei WANG, Ci-Lin WANG, Rong-Hua LUO, Tao AI, Kai-Yu ZHOU, et al. Department of Pediatrics, Children's Hospital of Chengdu, Chengdu 610017, China (Email: lurz@mail.sc.cninfo.net)

Abstract: **Objective** To study the relationship between the change of interleukin-5 (IL-5) level in induced sputum and degrees of asthma attack in children with acute asthma, and to study the role of IL-5 in pathogenesis of asthma. **Methods** Sixty-five cases of acute asthma were divided into 3 groups according to the degrees of asthma attack: mild, moderate and severe groups. Thirty-four healthy children were served as the control group. Ultrasonically nebulized hypertonic saline was used to induce sputum. The IL-5 level in induced sputum was determined using ELISA. The forced expiratory ratio (FEV₁) and the eosinophils (EOS) counting in the sputum were measured. **Results** The EOS counting and IL-5 level in the induced sputum of children with acute asthma attack increased compared with those in the control group, whereas the FEV₁ decreased in the former ($P < 0.01$). As asthma state became worse, EOS counting in induced sputum increased, but no significant difference was noted among different degrees of asthma attack. The IL-5 level in the induced sputum was obviously different among the mild, moderate and severe cases [(8.8 ± 4.9), (82.7 ± 173.5) and (225.1 ± 228.9) pg/ml, respectively] ($P < 0.05$). The FEV₁ in the severe group was significantly lower than those in the mild and moderate groups ($P < 0.05$). The IL-5 level in induced sputum was significantly positively correlated with EOS counting ($r = 0.482$, $P < 0.05$) and significantly negatively correlated with FEV₁ ($r = -0.647$, $P < 0.01$). **Conclusions** Compared with EOS counting, the IL-5 level in induced sputum can more accurately reflect the degrees of asthma attack, indicating that it may be used as a sensitive index for evaluating the asthmatic state of children and the

[收稿日期] 2002-09-28; [修回日期] 2003-02-07

[基金项目] 成都市卫生局青年基金立项课题。

[作者简介] 鲁正荣(1957-),男,大学,副主任医师。主攻方向:小儿呼吸系统疾病。

[通讯作者] 鲁正荣,成都市儿童医院儿童哮喘之家,邮编:610017。

therapeutic effectiveness of drugs.

[Chin J Contemp Pediatr , 2003 , 5 (4) : 322 - 324]

Key words : Interleukin-5; Eosinophils; Asthma; Induced sputum; Child

哮喘具有活化的 T 细胞和嗜酸细胞 (eosinophils, EOS) 在气道内聚集的特征。EOS 起源于骨髓祖细胞 CD34⁺ 细胞, IL-5 是调控 EOS 的细胞因子之一, 且对 EOS 有选择性作用, 是最重要的 EOS 生成素, IL-5 在成熟的 EOS 动员、转运分化和存活中起着重要作用^[1]。Th2 细胞是细胞因子 IL-5 的主要来源。本文研究哮喘急性发作期不同病情分度患儿的诱导痰液中 IL-5 水平与 EOS 计数、肺通气功能指标用力呼气比值 (forced expiratory ratio, FEV₁) 之间的关系, 以探讨诱导痰中 IL-5 在哮喘发病机制中的作用以及对儿童哮喘的临床诊治意义。

1 对象与方法

1.1 研究对象

儿童哮喘组: 诊断标准按照儿童哮喘防治常规 (试行)^[2], 选择 2000 年 3 月至 2002 年 3 月本院住院或门诊哮喘急性发作患儿 65 例, 年龄 4~6 岁, 男 46 例, 女 19 例。以病情分度标准分为轻、中、重度 3 组。受检者于试验前 12 h 未用过糖皮质激素, 各组以就诊顺序按随机数字表纳入测试。

健康儿童组: 在幼儿园采用 2000 年全国哮喘流行病学调查问卷筛出健康儿童 34 例作为正常对照组, 年龄 4~6 岁, 男 13 例, 女 21 例。哮喘急性发作各组与正常对照组年龄、身高、体重差异无显著性 (*P* > 0.05)。见表 1。

1.2 研究方法

1.2.1 痰液采集及处理 参照 Pin 等^[3]报道的方法并加以改进。诱导前先进行肺功能测试。病情较重的部分患儿于试验前 15 min 吸入沙丁胺醇 200 μg, 以预防吸入高张盐水可能引起的病情加重。超声雾化吸入 5 %高张盐水 15~20 min, 每 5 min 嘱患儿清洁口腔和咽部, 然后用力深咳, 将咳出的痰液由专职护师用无菌痰液收集器经口咽部吸取, 直至

痰量达到约 1 ml。同时观测小儿呼吸频率、喘息情况。为防止混入唾液, 采用肉眼和倒置显微镜观察的方法去除唾液。加等量生理盐水于合格痰样中, 漩涡振荡 5 min, 4 °C以 3 000 r/min 离心 10 min, 留取上清液于 - 30 °C冻存待测 IL-5。

1.2.2 细胞计数及分类 用双盲法对诱导痰进行细胞计数、分类。新鲜痰标本取痰栓压涂片 2 张, 如痰样镜检中见鳞状上皮细胞/有核细胞 < 20 %, 则认为样本合格。分别经 HE 染色和 White-Giemsa 染色, 计数 200 个非上皮细胞并进行细胞分类, 结果以 ×10⁶/ml 表示, 分类计算嗜中性粒细胞、嗜酸性细胞、单核细胞、淋巴细胞、肥大细胞和上皮细胞的百分比。

1.2.3 IL-5 的检测 取处理后的诱导痰上清液, 采用 ELISA 法测定。试剂盒购自深圳 Jingmei Boitech 公司。

1.2.4 肺功能测定 在诱导痰液之前, 用美国 Micro Medical Ltd 生产的 MicroLab ML3500 型肺功能仪测定肺功能指标, 记录 FEV₁, 以 FEV₁ > 80 %为正常值。

1.3 统计学处理

所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 11.0 软件进行处理。两组间比较采用 *t* 检验, 进行多组结果比较时采用单因素方差分析、秩变换分析, 组间两两比较用 Student-Newman-Keuls 检验。相关分析采用直线相关分析。

2 结果

2.1 哮喘发作期儿童与健康儿童的诱导痰中 EOS, FEV₁ 和 IL-5 的比较

急性发作期哮喘患儿诱导痰中 EOS 和 IL-5 明显高于健康儿童 (*P* < 0.01), FEV₁ 明显低于健康儿童 (*P* < 0.01)。见表 2。

表 1 各组儿童的一般资料

Table 1 General materials of each group

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

组别	男	女	年龄(岁)	身高(cm)	体重(kg)
健康儿童组	13	21	5.26 ±0.51	109.65 ±3.77	18.09 ±2.23
哮喘轻度发作组	16	8	4.87 ±2.09	108.75 ±13.95	18.50 ±4.87
哮喘中度发作组	23	6	5.86 ±2.82	115.52 ±15.03	22.26 ±8.57
哮喘重度发作组	7	5	6.83 ±2.98	118.67 ±17.15	22.42 ±9.22

表2 哮喘急性发作组与健康儿童组 EOS,FEV₁ 和 IL-5 比较

Table 2 Comparisons of EOS, FEV₁ and IL-5 in healthy children and asthmatic children of acute attack ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	EOS(%)	FEV ₁ (%)	IL-5(pg/ml)
健康儿童组	34	7.1±5.5	118.4±14.6	5.4±2.5
哮喘急性发作组	65	29.8±17.3 ^a	49.8±22.3 ^a	81.7±167.4 ^a

注:a与健康组比较 P<0.01

2.2 不同病情分度的哮喘患儿与健康儿童诱导痰中 EOS,FEV₁ 和 IL-5 比较

哮喘急性发作期各组 EOS 均高于健康儿童组 (P<0.05)。轻、中、重度哮喘患儿 EOS 逐渐增高,但各组间差异无显著性 (P>0.05);而 FEV₁ 均低于健康儿童组 (P<0.05),轻、中、重度哮喘患儿 FEV₁ 逐渐降低,重度哮喘患儿 FEV₁ 低于轻、中度组 (P<0.05)。哮喘急性发作期各组 IL-5 均高于健康儿童组 (P<0.05)。轻、中、重度哮喘患儿 IL-5 逐渐增高,各组间差异有显著性 (P<0.05)。见表 3。

表3 不同病情分度的哮喘患儿与健康儿童 EOS,FEV₁ 和 IL-5 比较

Table 3 Comparisons of EOS, FEV₁ and IL-5 in 4 groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	EOS(%)	FEV ₁ (%)	IL-5(pg/ml)
健康儿童组	34	7.1±5.5	118.4±14.6	5.4±2.5
哮喘轻度发作	24	26.8±17.9 ^a	58.2±26.1 ^a	8.8±4.9 ^a
哮喘中度发作	29	31.2±16.3 ^a	50.2±16.5 ^a	82.7±173.5 ^{a,b}
哮喘重度发作	12	32.6±18.9 ^a	31.8±16.6 ^{a,b,c}	225.1±228.9 ^{a,b,c}

注:a与健康儿童比较 P<0.05; b与轻度发作比较 P<0.05; c与中度发作比较 P<0.05。

2.3 诱导痰中 IL-5 水平与 EOS 及 FEV₁ 的关系

哮喘急性发作期患儿诱导痰中 IL-5 水平与 EOS 呈显著正相关 (r=0.482, P<0.05),与 FEV₁ 呈显著负相关 (r=-0.647, P<0.01)。

3 讨论

随着对支气管哮喘发病机制研究的不断深入,在如何评价气道炎症程度以指导哮喘的临床防治方面,人们已经作了大量的研究工作。其中研究较为深入的是某些细胞因子、粘附分子和嗜酸细胞颗粒相关蛋白等,但迄今尚未找到一种较为可靠的指标^[4]。哮喘的气道炎症是各型各期哮喘的共同病理学特征,主要表现为 EOS 为主的炎性细胞浸润和

上皮损伤。EOS 是强效炎前细胞,活化 T 淋巴细胞源性的细胞因子 IL-5 可使之增殖和活化,并释放多种毒性蛋白和炎性介质,从而导致气道上皮损伤和支气管高反应性。有研究结果表明:哮喘患儿支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 在过敏原激发后,其中 EOS 及上皮细胞的明显增多可视为儿童哮喘时气道炎症的特征性改变^[5]。资料显示哮喘患儿诱导痰中 EOS 增高可以反映气道炎症的程度。我们的观察结果也证实哮喘儿童发作期的诱导痰中 EOS 计数较正常儿童组显著增高,但在急性发作的轻、中、重度各组间未见统计学差异;而哮喘急性发作期诱导痰中 IL-5 水平较健康儿童对照组显著增高,轻、中、重各组间 IL-5 逐渐增高,且与 EOS 和 FEV₁ 有较好的相关性。

资料显示,当气道内注射重组的 IL-5 后, BALF 中 EOS 与 ECP 水平显著升高^[6]。过敏原激发的炎症反应遵循一定的顺序,在激发后 24 h, BALF 中 IL-4 和 IL-5 水平升至高峰,48 h BALF 中 EOS 计数不增加,其计数高峰出现在激发后 96 h,持续升高 8 d^[7]。对 9 名轻度哮喘受检者静注 IL-5 以后,外周血 EOS 显示出双相变化。注入后 0.5 h EOS 计数先明显减少,血清中的 IL-5 高峰下降后,在 3 h EOS 计数显著增加并持续到 72 h 以后^[1]。以上研究结果提示气道内 IL-5 浓度的增加先于 EOS 增高,从而诱导 EOS 活性增强,最终导致包括 ECP 在内的炎性介质释放而发挥上调气道反应性和气道阻力作用。本研究也证实了 IL-5 在哮喘患儿诱导痰中随病情发作程度增高而增高,而不同程度哮喘患儿间的 EOS 差异无显著性。提示 IL-5 水平在不同程度哮喘发作中的变化较 EOS 更为敏感。检测诱导痰中 IL-5 浓度的变化不仅可以直接评估气道炎症状态,而且能反映哮喘发作程度。Fuhlbrigge 等报道,可以通过 FEV₁ 来定义哮喘不同水平风险^[8],但肺功能测试在 5 岁以下儿童的应用受到限制。

诱导痰中 IL-5 水平可能较 EOS 计数更能准确反映哮喘患儿气道炎症和哮喘发作时的病情程度,且可以应用于肺功能检查受限的儿童,可以作为临床评价哮喘病情和药物疗效的准确灵敏的指标。

[参 考 文 献]

[1] Robert GS, Elizabeth LJ, Peter JB, et al. Interleukin-5 induces CD34+ eosinophil progenitor mobilization and eosinophil CCR3 expression in asthma [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2001, 164(8): 1403-1409.

(下转第 327 页)

2.3 卡痕与 PPD 的关系

有卡痕组 PPD 阳性率为 89.9 % (6 695/7 450), 无卡痕组 PPD 阳性率为 13.2 % (285/2 158), $\chi^2 = 4695.72$, $P < 0.01$ 。同时对卡痕的大小与 PPD 的关系进行研究,发现卡痕大小与 PPD 是否阳性无统计学意义, $\chi^2 = 0.92$, $P > 0.05$ 。城市和乡村儿童卡痕进行比较,城市组卡痕阳性率为 90.3 % (5 435/6 018), 乡村为 56.1 % (2 015/3 590), $\chi^2 = 1508.77$, $P < 0.01$,说明城市儿童卡痕阳性率明显高于乡村儿童,与 PPD 阳性率一致。

3 讨论

卡介苗接种是一种切实可行的预防儿童结核病的有效措施之一^[5],对机体有保护作用,并且 PPD 是反映卡介苗接种效果的一项可靠指标^[6]。本普查结果,3 个月至 1 岁组小儿 PPD 阳性率最高,为 91.5 %,其中城市为 96.7 %,乡村为 78.2 %;1~3 岁组次之,PPD 阳性率为 81.6 %,其中城市为 89.6 %,乡村为 65.2 %;3~7 岁组小儿 PPD 阳性率最低,为 57.1 %,其中城市为 66.7 %,乡村为 31.7 %,与孙胜伟等^[7]报道基本一致。提示 7 岁以内的小儿,无论是乡村,还是城市,随年龄的增长,PPD 阳性率渐降低。<3 岁小儿结核的自然感染率最低,城市为 0.3 %,乡村为 0.9 %;7~14 岁小儿最高,城市高达 2.8 %,乡村达 4.5 %,与王成章报道^[8]基本一致。以上两项结果均表明,小儿越小,卡介苗对机体的保护作用越强,并且随着年龄增长,卡介苗对机体的保护作用渐减弱,对结核的易感性增加^[4]。即卡介苗接种后 PPD 阳性反应一般于 3~5 年内消失。另外,城市与乡村比较,各年龄组城

市儿童 PPD 阳性率明显高于乡村组,并且乡村儿童的结核自然感染率明显高于城市儿童,说明卡介苗接种工作应强调质量,不能流于形式。影响卡介苗接种质量的因素很多,如卡介苗保存、运输、接种技术等,接种质量应严格把关、专人操作,并且对接种失败者应及时补种,以确保卡介苗对机体的保护作用。

另外,有卡痕者 PPD 阳性率明显高于无卡痕者,说明接种成功与否可以大致根据卡痕的有无来判断,并且卡痕的大小不影响 PPD 的阳性率,即无论卡痕大小在某种程度上都可以反映卡介苗接种成功。而城市儿童卡痕阳性率明显高于乡村儿童,进一步证实城市接种成功率高,说明种卡质量的重要性。

[参 考 文 献]

[1] 严碧涯. 世界肺部健康大会简介 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 1995, 18(1): 57 - 59.
[2] 钱元福. 从第三次流调结果探讨我国目前卡介苗接种工作 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 1994, 17(5): 281 - 285.
[3] 张玉兰, 梅志勇, 岑丹阳. 小儿肺结核误诊临床分析 [J]. 中国当代儿科杂志, 2001, 3(4): 417 - 418.
[4] 王慕逖. 儿科学 [M]. 第 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2000, 220.
[5] 王德理. 实用结核病防治学 [M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1992, 303.
[6] 钱元福. 关于结核病防治工作的评价问题 [J]. 中华结核与呼吸疾病杂志, 1984, 7(2): 117 - 122.
[7] 孙胜伟, 王莲雨. 3 060 名小儿卡介苗接种者结素阳转率观察分析 [J]. 中国公共卫生, 1995, 11(6): 268 - 270.
[8] 王成章, 何芸. 28 878 名小学生结核自然感染监测 [J]. 中国公共卫生, 1995, 11(7): 298.

(本文编辑: 吉耕中)

(上接第 324 页)

[2] 全国儿科哮喘防治协作组. 儿童哮喘防治常规(试行) [J]. 中华儿科杂志, 1998, 36(12): 747 - 751.
[3] Pin I, Gibson PG, Kolendowicz R, et al. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma [J]. Thorax, 1992, 47(1): 9 - 25.
[4] 施焕中, 柳广南, 陈一强, 等. 支气管哮喘患者痰白细胞介素 16 的测定及其意义 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 1999, 22(4): 224 - 227.
[5] 焦安夏, 刘玺诚, 江沁波, 等. 慢性咳嗽和喘息性疾病支气管肺泡灌洗液成分分析 [J]. 中华儿科杂志, 2002, 40(2): 92 - 95.
[6] 魏庆余, 李刚, 刘春, 等. 哮喘大鼠 BALF 中 IL - 5、GM - CSF、

TNF - α 和 SiI - 2R 的变化及其相关性研究 [J]. 中华微生物和免疫学杂志, 2001, 21(1): 108 - 110.
[7] Adrian T, Grzegorz C, Catherine D, et al. Temporal association between airway hyperresponsiveness and airway eosinophilia in ovalbumin - sensitized mice [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2001, 163(3): 721 - 730.
[8] Fuhlbrigge AL, Kitch BT, Paltiel AD, et al. FEV1 is associated with risk of asthma attacks in a pediatric population [J]. J Allergy Clin Immunol, 2001, 107(1): 61 - 67.

(本文编辑: 俞燕)