

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2017.04.013

论著·临床研究

反复肺炎患儿血清 YKL-40 与 体液免疫功能的变化及意义

马卫银 彭韶 张婷

(郑州大学第一附属医院儿科, 河南 郑州 450000)

[摘要] **目的** 研究反复肺炎患儿血清 YKL-40 与体液免疫功能的变化及意义。**方法** 收集 30 例反复肺炎患儿(反复肺炎组)、30 例急性肺炎患儿(急性肺炎组)、30 例健康体检儿童(对照组)的血标本,采用酶联免疫吸附法检测各组血清 YKL-40 浓度。并进行血清 YKL-40 与体液免疫相关实验室指标的相关性分析。利用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 YKL-40 对反复肺炎的诊断价值。**结果** 反复肺炎组血清 YKL-40 浓度高于急性肺炎组及对照组($P<0.05$),急性肺炎组血清 YKL-40 浓度高于对照组($P<0.05$)。反复肺炎组血清 IgG 和补体 C4 水平均低于急性肺炎组($P<0.05$)。血清 YKL-40 浓度与 IgG 水平呈负相关($r_s=-0.309, P=0.047$),与补体 C4 水平亦呈负相关($r=-0.324, P=0.039$)。血清 YKL-40 诊断反复肺炎的 ROC 曲线下面积为 0.958(95%CI: 0.921-0.994)。**结论** 反复肺炎患儿体液免疫功能降低;血清 YKL-40 可能参与了反复肺炎的发生,并可作为反复肺炎诊断的参考指标。

[中国当代儿科杂志, 2017, 19(4): 425-429]

[关键词] 反复肺炎; YKL-40; 体液免疫功能; 儿童

Changes in serum YKL-40 level and humoral immune function and their significance in children with recurrent pneumonia

MA Wei-Yin, PENG Shao, ZHANG Ting. Department of Pediatrics, First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China (Peng S, Email: pengshaodh630@126.com)

Abstract: Objective To investigate the changes in serum YKL-40 level and humoral immune function and their significance in children with recurrent pneumonia. **Methods** Blood samples were collected from 30 children with recurrent pneumonia (recurrent pneumonia group), 30 children with acute pneumonia (acute pneumonia group), and 30 healthy children (control group). Serum YKL-40 levels were measured by enzyme-linked immunosorbent assay. The correlation between serum YKL-40 level and laboratory indices related to humoral immune function was analyzed. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the diagnostic value of serum YKL-40 level for recurrent pneumonia. **Results** The recurrent pneumonia group had a significantly higher serum YKL-40 level than the acute pneumonia and control groups ($P<0.05$). The acute pneumonia group had a significantly higher serum YKL-40 level than the control group ($P<0.05$). Serum levels of IgG and complement 4 in the recurrent pneumonia group were significantly lower than in the acute pneumonia group ($P<0.05$). Serum YKL-40 level was negatively correlated with serum IgG level ($r_s=-0.309, P=0.047$) and serum complement 4 level ($r=-0.324, P=0.039$). The area under the ROC curve of serum YKL-40 level for diagnosing recurrent pneumonia was 0.958 (95%CI: 0.921-0.994). **Conclusions** Humoral immune function is low in children with recurrent pneumonia. Serum YKL-40 may be involved in the occurrence of recurrent pneumonia and can be used as a reference index for diagnosing recurrent pneumonia.

[Chin J Contemp Pediatr, 2017, 19(4): 425-429]

Key words: Recurrent pneumonia; YKL-40; Humoral immune function; Child

[收稿日期] 2016-11-06; [接受日期] 2017-01-19

[作者简介] 马卫银, 女, 硕士研究生。

[通信作者] 彭韶, 女, 主任医师。

肺炎是小儿常见病，是住院患儿死亡的主要原因之一，部分患儿可反复多次发生肺炎^[1]。反复肺炎是指1年内反复患肺炎 ≥ 2 次，肺炎由肺部体征和影像学证实，两次肺炎诊断期间肺炎体征和影像学改变应完全消失^[2]。反复肺炎对某些群体的小儿有着重要的临床现实意义，及时检出高危患儿并给予相应的处理十分必要。反复肺炎的病因复杂，其常见病因为先天性或获得性呼吸系统解剖结构异常、呼吸道吸入、先天性心脏病、哮喘、免疫缺陷等，仍有部分患儿病因不明^[1,3]。部分研究表明反复肺炎患儿存在体液及细胞免疫功能紊乱^[4-5]。YKL-40，又称人软骨糖蛋白39（human cartilage glycoprotein-39）、几丁质酶3样蛋白1（human chitinase-3-like protein 1），是人类几丁质酶蛋白家族成员之一，因其氨基末端分别为酪氨酸（Y）、赖氨酸（K）、亮氨酸（L），分子量为40 kD，因而命名为YKL-40^[6]。研究表明，YKL-40是一种急性时相蛋白，在炎症反应及多种肿瘤疾病患者中水平增高^[7-8]，并与肺炎病情及预后相关^[9]。YKL-40是目前的研究热点，其在肺炎方面研究的主要对象为社区获得性肺炎，尚无关于反复肺炎YKL-40水平变化的研究，且无YKL-40与免疫功能相关性的研究报道。为此，本研究通过探讨反复肺炎患儿的血清YKL-40及体液免疫功能的变化，并进行YKL-40与体液免疫的相关性分析及YKL-40对反复肺炎诊断价值的分析，为反复肺炎的发生机制提供理论依据，并为反复肺炎的临床诊断寻找新的实验室参考指标。

1 资料与方法

1.1 研究对象

反复肺炎组：2014年10月至2016年6月于郑州大学第一附属医院住院并首次确诊的反复肺炎患儿30例，其中男20例，女10例，中位年龄4.0岁，中位体重18.0 kg。反复肺炎诊断标准：1年内反复患肺炎 ≥ 2 次，肺炎须由肺部体征和影像学证实，两次肺炎诊断期间肺炎体征和影像学改变应完全消失^[2]。

急性肺炎组：不满足反复肺炎的诊断标准，经肺部体征和影像学证实的同期于我院住院的急性肺炎患儿30例，其中男16例，女14例，中位年龄6.0岁，中位体重19.5 kg。

对照组：同期于我院门诊体检的健康儿童30例，其中男19例，女11例，中位年龄5.0岁，中位体重18.5 kg。3组儿童的性别、年龄、体重比较差异无统计学意义（ $P>0.05$ ）。

以上3组儿童均无先天性免疫缺陷病、先天性气管支气管肺发育畸形、先天性心脏病、支气管异物、支气管哮喘、肿瘤性疾病、结缔组织病、高血压、糖尿病等疾病；本次病程不超过3 d，且院外未应用抗生素。本研究通过我院医学伦理委员会批准，并获得患儿家长书面知情同意。

1.2 血清YKL-40及体液免疫相关指标的检测

收集反复肺炎组、急性肺炎组（入院次日）及对照组空腹静脉血2 mL，离心后取上清液至EP管，分别编号并保存于 -80°C 冰箱待测。

血清YKL-40：应用酶联免疫吸附法测定并计算YKL-40浓度。YKL-40试剂盒由美国Quidel公司生产。血清IgG、IgA、IgE、IgM、补体C3、补体C4含量由郑州大学第一附属医院免疫室测定。

1.3 统计学分析

采用SPSS 21.0统计软件进行数据处理与分析。计量资料以均数 \pm 标准差（ $\bar{x}\pm s$ ）或中位数（四分位数间距） $[M(P_{25}, P_{75})]$ 表示。3组间比较采用Kruskal-Wallis检验，两个独立样本组间比较采用Wilcoxon检验或 t 检验。相关性分析采用Pearson或Spearman相关分析。采用受试者工作特征（ROC）曲线分析血清YKL-40对反复肺炎的诊断价值。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清YKL-40浓度的比较

反复肺炎组血清YKL-40浓度高于急性肺炎组及对照组（ Z 值分别为 -5.53 ， -6.65 ， $P<0.05$ ）；急性肺炎组血清YKL-40浓度高于对照组（ $Z=-5.64$ ， $P<0.05$ ），见表1。

表1 各组血清 YKL-40 浓度的比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)

组别	例数	YKL-40 浓度
对照组	30	29 ± 5
急性肺炎组	30	39 ± 4 ^a
反复肺炎组	30	50 ± 8 ^{a,b}
H 值		66.87
P 值		<0.001

注: 3组间 YKL-40 浓度方差不齐, 故3组间比较采用 Kruskal-Wallis 检验。a 示与对照组比较, $P < 0.05$; b 示与急性肺炎组比较, $P < 0.05$ 。

表2 反复肺炎组和急性肺炎组体液免疫功能的比较 [$M (P_{25}, P_{75})$ 或 $\bar{x} \pm s$]

组别	例数	IgG (g/L)	IgA (g/L)	IgM (g/L)	IgE (U/L)	补体 C3 (g/L)	补体 C4 (g/L)
急性肺炎组	18	9.0(6.9,9.7)	1.1(0.9,1.6)	1.3(0.8,1.6)	147.9(71.1,586.3)	1.13(0.93,1.24)	0.34 ± 0.10
反复肺炎组	24	6.9(5.8,7.7)	1.1(0.7,1.6)	1.2(0.8,1.6)	141.0(18.2,335.8)	1.15(1.00,1.27)	0.27 ± 0.09
Z(t) 值		-2.33	-0.45	-0.61	-0.86	0.40	(-2.09)
P 值		0.020	0.653	0.543	0.392	0.689	0.04

2.3 血清 YKL-40 与体液免疫的相关性

Spearman 相关分析显示, 反复肺炎组及急性肺炎组患儿血清 YKL-40 浓度与 IgG 水平呈负相关 ($r_s = -0.309$, $P = 0.047$), 见图 1。血清 YKL-40 浓度与 IgA、IgE、IgM、补体 C3 水平均无明显相关性 ($P > 0.05$)。

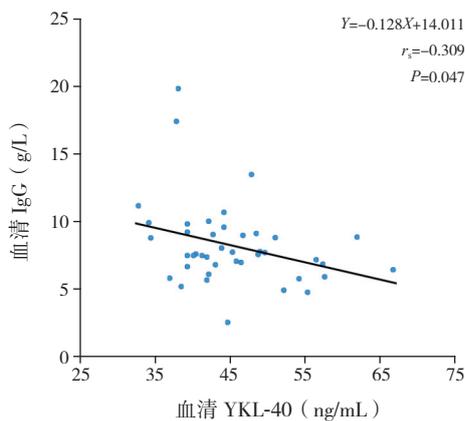


图1 患儿血清 YKL-40 与 IgG 的相关性

Pearson 相关分析显示, 反复肺炎组及急性肺炎组患儿血清 YKL-40 浓度与补体 C4 水平呈负相关 ($r = -0.324$, $P = 0.039$), 见图 2。

2.2 反复肺炎组和急性肺炎组体液免疫功能的比较

反复肺炎组血清 IgG、补体 C4 水平均低于急性肺炎组 (分别 $Z = -2.33$, $t = -2.09$, 均 $P < 0.05$), 而两组血清 IgA、IgM、IgE、补体 C3 水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。

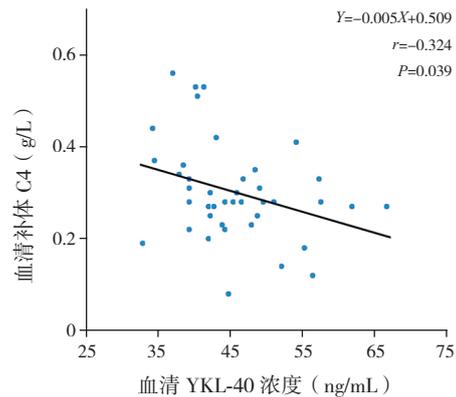


图2 患儿血清 YKL-40 与补体 C4 的相关性

2.4 血清 YKL-40 对反复肺炎诊断价值的 ROC 曲线分析

血清 YKL-40 对反复肺炎诊断价值的 ROC 曲线分析显示, YKL-40 诊断反复肺炎的 ROC 曲线下面积为 0.958 (95%CI: 0.921~0.994), 见图 3。

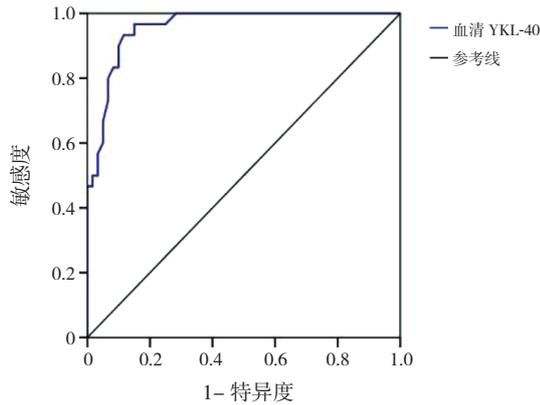


图3 血清 YKL-40 对反复肺炎诊断价值的 ROC 曲线

3 讨论

世界卫生组织 (WHO) 和联合国儿童基金会 (UNICEF) 的儿童流行病学专家组 (CHERG) 发布的“全球儿童死亡原因”分析显示, 肺炎病死率为 14.9%, 是 5 岁以下儿童死亡的第一位原因^[10], 且部分患儿可反复多次发生肺炎, 即反复肺炎, 给患儿、家庭和社会带来沉重的负担。

反复肺炎的发生率高, 据既往流行病学统计, 反复肺炎占肺炎的 8% 左右^[11], 且反复肺炎病因复杂, 其常见病因为先天性或获得性呼吸系统解剖结构异常、呼吸道吸入、先天性心脏病、哮喘、免疫缺陷等, 仍有部分患儿病因不明^[13]。部分研究表明, 反复肺炎患儿存在体液及细胞免疫功能低下, 尤其是辅助性 T 淋巴细胞功能异常、免疫球蛋白 IgG 等减少及炎性因子 IL-8、IL-17 增高^[4,5,12]。本研究结果也显示反复肺炎存在体液免疫功能低下, 尤其是免疫球蛋白 IgG 及补体 C4 的减低。

YKL-40 是几丁质酶蛋白家族成员之一, 是由中性粒细胞、巨噬细胞、血管平滑肌细胞、软骨细胞、滑膜细胞及多种肿瘤细胞 (如大肠癌、肾癌、肺癌、卵巢癌等) 分泌的促炎细胞因子, 参与多种急慢性炎症反应^[13-17]。国内外研究表明社区获得性肺炎患儿的血清 YKL-40 水平升高, 且与疾病的严重程度及预后相关^[9,18]。本研究发现反复肺炎患儿的血清 YKL-40 水平较急性肺炎患儿及正常儿童明显升高, 且 ROC 曲线提示 YKL-40 可作为反复肺炎诊断的指标, 可见 YKL-40 参与反复肺炎的发生, 但 YKL-40 在反复肺炎中的作用机制目前尚不明确。Lee 等^[19] 发现 YKL-40 在抗原致敏、免疫球

蛋白 E 的诱导、树突状细胞及巨噬细胞的激活中发挥重要作用, 且可以通过抑制 Fas 的表达、激活蛋白激酶 B (PKB/AKT)、诱导 Faim 3, 抑制炎症细胞的凋亡, 在 Th2 型炎症反应起始及效应过程中发挥重要的调节作用, 而无 YKL-40 时, IL-13 诱导组织炎症和纤维化的能力也显著降低。Letuve 等^[20] 认为 TNF- α 可促进慢性阻塞性肺疾病患者肺泡巨噬细胞合成 YKL-40, 而巨噬细胞在 YKL-40 的作用下促进 IL-8、MCP-1、MIP-1 α 和金属蛋白酶-9 的释放, 有助于组织炎症和重塑。Ober 等^[21] 认为 CHI3L1 启动子 (编码 YKL-40 的基因) 中的单核苷酸多态性与循环 YKL-40 水平及哮喘患病率有关, 其中 rs12141494 和 rs4950928 的 G 等位基因与较低的 YKL-40 水平及较高的 FEV1% 预计值相关联, rs12141494 的风险等位基因 A 与哮喘严重性及气道高水平 YKL-40 有关。另有研究发现用 YKL-40 处理的支气管上皮细胞通过 MAPK 和 NF- κ B 途径的激活, 导致 IL-8 的产生显著增加, YKL-40 诱导的 IL-8 进一步刺激支气管平滑肌细胞的增殖和迁移, 并在去除 IL-8 后这一作用被抑制^[22]。本研究发现血清 YKL-40 水平与免疫球蛋白 IgG 及补体 C4 呈负相关, 但 YKL-40 与 IgG 及补体 C4 的具体相互作用过程仍需进一步研究。

综上所述, 反复肺炎患儿存在体液免疫功能低下, 表现为免疫球蛋白 IgG 及补体 C4 水平减低。YKL-40 可能参与了反复肺炎的发生, 但其具体作用机制尚需进一步研究。YKL-40 可作为反复肺炎诊断的参考指标, 但反复肺炎诊断的 YKL-40 浓度参考值仍需大样本研究确定。

[参 考 文 献]

- [1] Saad K, Mohamed SA, Metwally KA. Recurrent/Persistent pneumonia among children in Upper Egypt[J]. *Mediterr J Hematol Infect Dis*, 2013, 5(1): e2013028.
- [2] 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. 反复呼吸道感染的临床概念和处理原则[J]. *中华儿科杂志*, 2008, 46(2): 108-110.
- [3] 李惠民, 江载芳, 江沁波, 等. 小儿反复肺炎的基础疾病和诊断分析[J]. *中国实用儿科杂志*, 2004, 19(3): 153-155.
- [4] 张立梅. 儿童反复肺炎与机体免疫功能和炎性相关因子的关系研究[J]. *河北医药*, 2016, 38(9): 1333-1335.
- [5] Owayed AF, Campbell DM, Wang EE. Underlying causes of recurrent pneumonia in children[J]. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 2000, 154(2): 190-194.

- [6] Johansen JS, Williamson MK, Rice JS, et al. Identification of proteins secreted by human osteoblastic cells in culture[J]. *J Bone Miner Res*, 1992, 7(5): 501-512.
- [7] Libreros S, Iragavarapu-Charyulu V. YKL-40/CHI3L1 drives inflammation on the road of tumor progression[J]. *J Leukoc Biol*, 2015, 98(6): 931-936.
- [8] Roslind A, Johansen JS. YKL-40: a novel marker shared by chronic inflammation and oncogenic transformation[J]. *Methods Mol Biol*, 2009, 511(7): 159-184.
- [9] Wang HL, Hsiao PC, Tsai HT, et al. Usefulness of plasma YKL-40 in management of community-acquired pneumonia severity in patients[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(11): 22817-22825.
- [10] Liu L, Oza S, Hogan D, et al. Global, regional, and national causes of child mortality in 2000-13, with projections to inform post-2015 priorities: an updated systematic analysis[J]. *Lancet*, 2015, 385(9966): 430-440.
- [11] Patria F, Longhi B, Tagliabue C, et al. Clinical profile of recurrent community-acquired pneumonia in children[J]. *BMC Pulm Med*, 2013, 13: 60.
- [12] 王萍, 周戎, 何永涛, 等. 反复呼吸道感染患儿血清免疫指标的观察分析 [J]. *中国医院感染学杂志*, 2016, 26(15): 3554-3556.
- [13] Volck B, Price PA, Johansen JS, et al. YKL-40, a mammalian member of the chitinase family, is a matrix protein of specific granules in human neutrophils[J]. *Proc Assoc Am Physicians*, 1998, 110(4): 351-360.
- [14] Hakala BE, White C, Recklies AD. Human cartilage gp-39, a major secretory product of articular chondrocytes and synovial cells, is a mammalian member of a chitinase protein family[J]. *J Biol Chem*, 1993, 268(34): 25803-25810.
- [15] Malinda KM, Ponce L, Kleinman HK, et al. Gp38k, a protein synthesized by vascular smooth muscle cells, stimulates directional migration of human umbilical vein endothelial cells[J]. *Exp Cell Res*, 1999, 250(1): 168-173.
- [16] Salvatore V, Focaroli S, Teti G, et al. Changes in the gene expression of co-cultured human fibroblast cells and osteosarcoma cells: the role of microenvironment[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(30): 28988-28998.
- [17] Senetta R, Duregon E, Sonetto C, et al. YKL-40/c-Met expression in rectal cancer biopsies predicts tumor regression following neoadjuvant chemoradiotherapy: a multi-institutional study[J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0123759.
- [18] 孙海斌, 王晓雷, 李征瀛, 等. ROC 曲线评价血清人软骨糖蛋白 39 在儿童社区获得性肺炎诊断和预测并发症中的应用 [J]. *东南大学学报 (医学版)*, 2014, 33(6): 768-771.
- [19] Lee CG, Hartl D, Lee GR, et al. Role of breast regression protein 39 (BRP-39)/chitinase 3-like-1 in Th2 and IL-13-induced tissue responses and apoptosis[J]. *J Exp Med*, 2009, 206(5): 1149-1166.
- [20] Letuve S, Kozhich A, Arouche N, et al. YKL-40 is elevated in patients with chronic obstructive pulmonary disease and activates alveolar macrophages[J]. *J Immunol*, 2008, 181(7): 5167-5173.
- [21] Ober C, Tan Z, Sun Y, et al. Effect of variation in CHI3L1 on serum YKL-40 level, risk of asthma, and lung function[J]. *N Engl J Med*, 2008, 358(16): 1682-1691.
- [22] Tang H, Sun Y, Shi Z, et al. YKL-40 induces IL-8 expression from bronchial epithelium via MAPK (JNK and ERK) and NF- κ B pathways, causing bronchial smooth muscle proliferation and migration[J]. *J Immunol*, 2013, 190(1): 438-446.

(本文编辑: 邓芳明)