

论著 · 临床研究

支原体肺炎患儿肺泡灌洗液中 TNF-α、IL-6、IL-10 水平检测及意义

庞焕香 乔红梅 成焕吉 张云峰 刘肖君 李君召

(吉林大学第一医院儿科, 吉林 长春 130021)

[摘要] **目的** 探讨肺炎支原体肺炎(MPP)患儿支气管肺泡灌洗液(BALF)中细胞因子 TNF-α、IL-6、IL-10 的水平及其临床意义。**方法** 采用双抗体夹心 ELISA 法对 45 例 MPP 急性期患儿、30 例 MPP 恢复期患儿和 20 例无肺部病变的对照组患儿 BALF 中 TNF-α、IL-6、IL-10 的水平进行测定。**结果** MPP 患儿急性期 BALF 中 TNF-α、IL-6、IL-10 水平高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);恢复期 TNF-α、IL-6 水平较急性期明显下降,与对照组相比无统计学意义($P > 0.05$),恢复期 IL-10 水平仍持续升高,与急性期相比其水平无明显改变($P > 0.05$)。**结论** 急性期 MPP 患儿 BALF 中 TNF-α、IL-6、IL-10 等细胞因子水平增高,这些细胞因子可能参与了 MPP 的发病。

[中国当代儿科杂志,2011,13(10):808-810]

[关键词] 肺炎支原体肺炎;支气管肺泡灌洗液;TNF-α;IL-6;IL-10;儿童

[中图分类号] R563.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2011)10-0808-03

Levels of TNF-α, IL-6 and IL-10 in bronchoalveolar lavage fluid in children with Mycoplasma pneumoniae pneumonia

PANG Huan-Xiang, QIAO Hong-Mei, CHENG Huan-Ji, ZHANG Yun-Feng, LIU Xiao-Jun, LI Jun-Zhao. Department of Pediatrics, First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, China (Qiao H-M, Email: qhmei1999@sina.com)

Abstract: Objective To study the levels and roles of cytokines TNF-α, IL-6 and IL-10 in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) in children with Mycoplasma pneumoniae pneumonia (MPP). **Methods** The levels of TNF-α, IL-6 and IL-10 in BALF were measured using ELISA in children with MPP at acute stage ($n = 45$) and at remission stage ($n = 30$). Twenty children without lung lesions served as the control group. **Results** The TNF-α, IL-6 and IL-10 levels in BALF were higher in children with MPP at acute stage than those in the control group ($P < 0.05$). The levels of TNF-α and IL-6 in BALF at remission stage were reduced to the levels similar to the control group and were significantly lower than those at the acute stage in children with MPP. However, the levels of IL-10 in BALF remained at higher levels at remission stage in children with MPP. **Conclusions** The levels of TNF-α, IL-6 and IL-10 in BALF increase in children with MPP at acute stage, suggesting that the cytokines may be involved in the pathogenesis of MPP.

[Chin J Contemp Pediatr, 2011, 13 (10):808-810]

Key words: Mycoplasma pneumoniae pneumonia; Bronchoalveolar lavage fluid; TNF-α; IL-6; IL-10; Child

肺炎支原体肺炎(Mycoplasma pneumoniae pneumonia, MPP)是儿童常见的呼吸道感染性疾病,近年来 MPP 的发病率明显增加^[1],部分患儿病程长,病情重,可出现严重的全身炎症反应综合征及多器官功能障碍,甚至死亡。目前已经证实体液免疫和细胞免疫共同参与了 MPP 的发病过程,细胞因子在这一过程中起了非常重要的作用。为深入研究 MPP 的发病机制以及和免疫系统的相互关系,进一步从免疫学分子水平阐明 MPP 的发病机制,探讨炎性细

胞因子在其发病中的作用与意义,本研究检测了 45 例 MPP 急性期患儿和 30 例 MPP 恢复期患儿支气管肺泡灌洗液(BALF)中 TNF-α、IL-6、IL-10 的水平,并与同期对照患儿进行了比较,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

病例选自 2009 年 1 月至 2010 年 6 月在吉林大

[收稿日期]2011-04-16;[修回日期]2011-06-09
[作者简介]庞焕香,女,硕士,医师。现工作单位:长春市儿童医院,邮编 130051。
[通信作者]乔红梅,副教授。

学第一医院儿科病房住院并确诊为 MPP 的患儿 45 例,其中男 21 例,女 24 例,年龄 2~14 岁,平均年龄 6.0 ± 2.9 岁,诊断符合第 7 版《诸福棠实用儿科学》MPP 的诊断标准^[2]。本研究纳入 45 例急性期,30 例恢复期患儿。MPP 急性期患儿指病程 10 d 以内,住院前经抗生素治疗,但病情未见好转,且发病后未应用糖皮质激素及免疫调节剂治疗的患儿;恢复期患儿指热退 2 周以上,临床症状消失,体征及胸部 X 线表现消失或明显减轻的患儿。入选病例除符合 MPP 的诊断标准外,且不伴有肺结核、支气管哮喘等其他呼吸系统疾病,留取标本前未使用糖皮质激素、免疫抑制剂及免疫调节剂。

对照组:共 20 例,男 12 例,女 8 例,年龄 1~9 岁,平均年龄 4.26 岁,均为同期于本院儿科病房住院的支气管异物(14 例)或气道发育畸形(6 例)的患儿,近期无感染和慢性疾病史,且排除过敏性和免疫相关性疾病。对照组儿童与 MPP 急性期和恢复期儿童年龄、性别比较差异均无统计学意义。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 所有患儿均在局麻下行纤维支气管镜(纤支镜)检查。在患儿经纤支镜行肺泡灌洗术时,MPP 组根据胸片或胸部 CT,选择浸润影最大区域;对照组选择右肺中叶或左肺舌叶,其中急性支气管异物患儿选择非异物侧肺作为灌洗部位。当纤支镜到达预定部位时,用 10 mL 的无菌注射器经纤支镜吸引孔注入 37℃ 无菌生理盐水灌洗并回收 BALF,将回收液体立即用双层无菌纱布过滤除去黏液及痰液,装入硅塑瓶,置于含有冰块保温瓶中,立即送往实验室,在 4℃ 以下以 1800 r/min 离心 10 min,留取上清液储存在 -70℃ 冰箱,等待测定。

1.2.2 细胞因子测定 采用双抗体夹心 ELISA 法测定 BALF 中 TNF-α、IL-6、IL-10 的水平,试剂盒由深圳达科为生物技术有限公司提供。操作步骤严格按照说明书进行。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 16.0 统计软件进行数据处理,数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间均数比较采用方差分析,多组均数的多重比较采用 *LSD-t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

MPP 患儿急性期 BALF 中 TNF-α、IL-6、IL-10 水平均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);恢复期 TNF-α、IL-6 水平较急性期明显下降($P < 0.01$),与对照

组相比差异无统计学意义($P > 0.05$),IL-10 水平仍持续升高,与急性期相比其水平无明显改变($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 各组患儿 BALF 中 TNF-α、IL-6、IL-10 水平比较
($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	例数	TNF-α	IL-6	IL-10
对照组	20	13 ± 3	12 ± 3	11.9 ± 2.7
MPP 急性期组	45	33 ± 10 ^a	77 ± 22 ^a	21.7 ± 9.1 ^a
MPP 恢复期组	30	13 ± 4 ^b	19 ± 10 ^b	19.2 ± 8.0 ^a
F 值		86.7	173.4	12.0
P 值		<0.01	<0.01	<0.01

a:与对照组比较, $P < 0.01$;b:与 MPP 急性期组比较, $P < 0.01$

3 讨论

MPP 是儿童的常见病和多发病。关于肺炎支原体(MP)感染的发病机制,现在普遍认为与 MP 呼吸道上皮细胞吸附作用、MP 的直接侵入机制及 MP 感染后引起人体免疫功能损伤有关,且免疫学机制在 MP 感染的发生、发展中起重要作用^[3]。有研究表明,MP 感染能诱导各种细胞因子,并认为这些细胞因子可能是 MP 感染的发病机制,对疾病的发生发展及预后有着重大影响^[4]。自 1978 年小儿纤支镜的应用至今,操作方法不断改进,现行的儿科纤支镜术安全可靠,并发症轻微、短暂^[5]。本研究在患儿行纤支镜术进行支气管肺泡灌洗治疗的同时收集 BALF,以探讨 MPP 患儿免疫学方面的变化,阐明 MPP 的免疫损伤机制,较以往的研究方法更加具有客观性和直观性的优点。

TNF-α 是由单核巨噬细胞产生的具有重要生物活性的炎症介质,正常情况下,它在机体内活性较低,具有调节免疫应答、促进细胞生长分化等生理功能。研究表明 MPP 患儿血清 TNF-α 水平急性期高于恢复期及正常对照组,且临床病情的轻重与血中 TNF-α 水平呈正相关^[6-7],提示 TNF-α 是参与 MPP 发病机制的一种重要细胞因子。本研究发现,MPP 急性期组 BALF 中 TNF-α 水平高于 MPP 恢复期组和对照组,MPP 恢复期组与对照组相比 BALF 内 TNF-α 水平差异无统计学意义,这表明 TNF-α 可能参与了 MP 感染的发病,它作为一种强有力的炎症介质能刺激 B 细胞的增殖和 IgG 分泌,增加微血管壁的通透性,可激活中性粒细胞及内皮细胞表面黏附受体,趋化中性粒细胞等炎症细胞,启动炎症反应,介导了 MP 感染的炎症损害,甚至导致多器官受损,参与 MPP 所致的肺损伤^[8],并随着病情好转

TNF- α 水平也逐渐下降至正常水平,肺组织内的炎症反应逐渐消失。

IL-6是一种具有广泛生物活性的细胞因子,对体液免疫和细胞免疫均有调节作用,在机体的炎症反应、抗感染、自身免疫方面均起重要作用^[9]。研究表明IL-6水平增高是最早出现的感染指标,是比CRP更重要的感染性指标^[10]。正常人外周血清中IL-6的浓度很低,在感染或其他因素刺激下,IL-6合成和释放增加,并且其增高的程度与感染发生发展关系密切。有体外实验表明,MP感染后能够产生IL-6等细胞因子^[11]。本研究发现MPP急性期组患儿BALF内IL-6水平与对照组相比明显升高,说明MPP急性期组患儿肺组织内存在明显的炎症反应,MPP患儿体内免疫状态改变更明显。高水平的IL-6可以多克隆地激活B淋巴细胞,使B淋巴细胞功能亢进,产生自身抗体,参与自身免疫,引起广泛的免疫炎性损伤,可能是MPP患儿常伴有肺外表现的原因之一^[9]。同时IL-6可促进活化T细胞增殖,增强自然杀伤细胞的活性,并能诱导IL-2受体(IL-2R)的过度表达,导致T细胞功能紊乱^[12],IL-6可能通过上述机制参与MPP的发生发展。与此同时,本研究还发现MPP恢复期组BALF内IL-6水平比急性期组明显降低,与对照组相比无显著差异,提示随着病情好转,肺组织内的炎症反应逐渐消失。

IL-10是近年来发现的一种具有广泛免疫学效应的细胞因子,可广泛抑制活性单核巨噬细胞的功能,有效抑制Th1/Th2细胞产生干扰素- γ 、肿瘤坏死因子等细胞因子,限制炎症反应^[13]。在机体免疫应答中IL-10有对机体保护的一面,也有不利于机体的一面。有研究表明,IL-10的分泌缺乏将导致各种炎症过程,某些情况下其缺乏还将导致炎症持续和不可逆组织损伤^[14]。国外研究发现IL-10基因敲除的小鼠可导致慢性肠炎,以此模拟人类的炎症性肠病,提示内源性的IL-10对抑制炎症反应有重要作用^[15]。本研究结果显示,MPP急性期组及恢复期组患儿BALF中IL-10水平均高于对照组,差异有统计学意义,提示IL-10作为一种重要的免疫调节因子,可能参与了MPP的发病。MPP恢复期组与急性期组相比,BALF内IL-10的水平无明显改变,说明MPP时,机体的抗炎水平恢复慢,抑制机体免疫功能,这可以解释为什么部分MPP患儿病程长、甚至迁延不愈。由上可见IL-10在炎症性疾病中具有双

重作用。

总之,本研究证实免疫学机制参与了MPP的发病过程,细胞因子TNF- α 、IL-6、IL-10可能参与了MPP的发病,它们通过免疫调节机制,参与MPP的发生和发展及恢复,因此深入探讨MPP的免疫病理学反应可为今后MP感染的治疗提供新的手段和依据。

[参 考 文 献]

- [1] 孔祥新,孙长永,郝洁. 阿奇霉素治疗社区获得性肺炎疗效观察[J]. 中国现代药物应用,2009,3(1):126-127.
- [2] 申昆玲,江载芳. 支原体肺炎[M]//胡亚美,江载芳. 诸福棠实用儿科学上册. 第7版. 北京:人民卫生出版社,2002:1204-1205.
- [3] 韩晓华,刘立云,敬宏,刘铁英,赵永强,尚云晓. 小儿肺炎支原体肺炎合并全身炎症反应综合征时炎性相关因素的变化及临床意义[J]. 中国当代儿科杂志,2007,9(4):347-350.
- [4] Yang J, Hooper WC, Phillips DJ, Talkington DF. Cytokines in *Mycoplasma pneumoniae* infections[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2004, 15(2-3):157-168.
- [5] 陈志敏,刘金玲,王财富. 小儿纤维支气管镜检查与治疗的安全性探讨[J]. 临床儿科杂志,2006,24(1):31-33.
- [6] 曹岩,刘红,卢晟晔,杨春荣. 儿童肺炎支原体肺炎血清中TNF- α 、IL-6、IL-8和IL-10浓度测定及其临床意义的研究[J]. 中国妇幼保健,2008,23(18):2575-2578.
- [7] 赵少岚,张德雄,邱木桐. 肺炎支原体肺炎血清TNF- α 水平测定及临床意义[J]. 现代医院,2006,6(7):70-71.
- [8] Yang J, Hooper WC, Phillips DJ, Talkington DF. Regulation of proinflammatory cytokines in human lung epithelial cells infected with *Mycoplasma pneumoniae*[J]. Infect Immun, 2002,70(7):3649-3655.
- [9] 金婧,赵淑琴,高云霞,张正侯. 肺炎支原体肺炎患儿血清白细胞介素-6及可溶性白细胞介素-6受体活性变化及意义[J]. 中国当代儿科杂志,2004,6(4):297-299.
- [10] 肖政辉,易著文,胥志跃,罗海燕,祝益民. 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.
- [11] Borkhsenius SN, Chernova OA, Chernor VM. Interaction of *Mycoplasma* with immune system of animals and humans[J]. Tsitolgia, 2001, 43(3):219-243.
- [12] 田秀红. 肺炎支原体肺炎感染血清细胞因子水平的研究[J]. 中国现代医学杂志,2002,12(18):28-33.
- [13] 蔡建敏,陈同辛,王振海,周泓烈. 肺炎支原体肺炎患儿血清白细胞介素-10、转化生长因子- β 1检测的意义[J]. 实用儿科临床杂志,2007,22(4):256-257.
- [14] 施焕中,林江. 肺脏免疫学及免疫相关性疾病[M]. 北京:人民卫生出版社,2006:236-277.
- [15] Glehen O, Mithieux F, Traverse-Glehen A, Isaac S, Bienvenu J, Francois Y, et al. Enteral immunotherapy in the treatment of chronic enterocolitis in interleukin-10-deficient mice[J]. Hepatogastroenterology, 2003,50(51):670-675.

(本文编辑:邓芳明)