

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2210005

论著 · 临床研究

2 型固有淋巴细胞及其相关因子在支气管肺发育不良中的变化及意义

王倩文 朱玥 王秋霞 卢红艳

(江苏大学附属医院儿科, 江苏镇江 212000)

[摘要] **目的** 探讨支气管肺发育不良 (bronchopulmonary dysplasia, BPD) 早产儿外周血 2 型固有淋巴细胞 (group 2 innate lymphoid cell, ILC2) 及白细胞介素 (interleukin, IL) -33、IL-25、胸腺基质淋巴生成素 (thymic stromal lymphopoietin, TSLP)、IL-5、IL-13 的变化及意义。**方法** 选择 2020 年 9 月—2021 年 12 月江苏大学附属医院儿科收治的胎龄 <32 周且住院时间 ≥14 d 的 76 例早产儿为研究对象, 根据 BPD 诊断标准分为 BPD 组 ($n=30$) 和非 BPD 组 ($n=46$), 比较两组早产儿生后 1 d、7 d 及 14 d 外周血 ILC2 占淋巴细胞百分率, 以及 IL-33、IL-25、TSLP、IL-5、IL-13 水平差异及意义。**结果** BPD 组早产儿出生体重及胎龄低于非 BPD 组 ($P<0.05$)。生后 7 d 和 14 d, BPD 组 ILC2、IL-33、TSLP 及 IL-5 水平均高于非 BPD 组 ($P<0.05$), 其预测 BPD 发生的曲线下面积均 >0.7 ($P<0.05$)。多因素 logistic 回归分析显示, 校正胎龄和出生体重后, 生后 7 d 和 14 d 外周血 IL-33、TSLP 及 IL-5 与 BPD 发生密切相关 ($P<0.05$)。**结论** BPD 早产儿生后早期固有免疫活化伴随相关因子表达上调, 其中 ILC2、IL-33、TSLP 及 IL-5 是具有早期诊断价值的生物学指标。 [中国当代儿科杂志, 2023, 25 (2): 179-185]

[关键词] 支气管肺发育不良; 2 型固有淋巴细胞; 细胞因子; 早产儿

Changes and significance of type 2 innate lymphoid cells and their related factors in bronchopulmonary dysplasia

WANG Qian-Wen, ZHU Yue, WANG Qiu-Xia, LU Hong-Yan. Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212000, China (Lu H-Y, Email: lhy5154@163.com)

Abstract: Objective To investigate the changes and significance of type 2 innate lymphoid cells (ILC2), interleukin-33 (IL-33), interleukin-25 (IL-25), thymic stromal lymphopoietin (TSLP), interleukin-5 (IL-5), and interleukin-13 (IL-13) in peripheral blood of preterm infants with bronchopulmonary dysplasia (BPD). **Methods** A total of 76 preterm infants with a gestational age of <32 weeks and a length of hospital stay of ≥14 days who were admitted to the Department of Pediatrics of the Affiliated Hospital of Jiangsu University from September 2020 to December 2021 were enrolled. According to the diagnostic criteria for BPD, they were divided into a BPD group with 30 infants and a non-BPD group with 46 infants. The two groups were compared in terms of the percentage of ILC2 and the levels of IL-33, IL-25, TSLP, IL-5, and IL-13 in peripheral blood on days 1, 7, and 14 after birth. **Results** The BPD group had significantly lower birth weight and gestational age than the non-BPD group ($P<0.05$). On days 7 and 14 after birth, the BPD group had significantly higher levels of ILC2, IL-33, TSLP, and IL-5 than the non-BPD group ($P<0.05$), and these indices had an area under the curve of >0.7 in predicting the development of BPD ($P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that after adjusting for gestational age and birth weight, peripheral blood IL-33, TSLP and IL-5 on days 7 and 14 after birth were closely related to the development of BPD ($P<0.05$). **Conclusions** Early innate immune activation and upregulated expression of related factors may be observed in preterm infants with BPD. ILC2, IL-33, TSLP, and IL-5 may be used as biological indicators for early diagnosis of BPD. [Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2023, 25(2): 179-185]

Key words: Bronchopulmonary dysplasia; Type 2 innate lymphoid cell; Cytokine; Preterm infant

[收稿日期] 2022-10-04; [接受日期] 2022-12-08

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (82171702); 江苏省自然科学基金资助项目 (BK20201226)。

[作者简介] 王倩文, 女, 硕士, 住院医师。

[通信作者] 卢红艳, 女, 主任医师。Email: lhy5154@163.com。

支气管肺发育不良 (bronchopulmonary dysplasia, BPD) 是胎龄 <32 周早产儿常见的慢性肺疾病, 治疗难度大, 死亡风险高, 部分甚至影响儿童肺功能^[1-3]。随着新生儿重症监护技术不断提高, 极低、超低出生体重儿存活率上升, BPD 发生率呈上升趋势。因此, 对 BPD 的早期预警及防治刻不容缓。

肺泡-毛细血管屏障的完整性对维持正常血氧至关重要, 出生后肺的免疫环境及先天免疫信号如何影响早期肺泡发育尚不明确。研究发现, 出生后肺的膨胀与肺泡 II 型上皮细胞 (type II alveolar epithelial cell, AEC II) 上调白细胞介素 (interleukin, IL) -33 有关^[4]。AEC II 在出生后分泌 IL-33, 肺内 IL-33 迅速增加, 导致 2 型固有淋巴细胞 (group 2 innate lymphoid cell, ILC2) 活化和增殖, 在生后早期塑造肺内 2 型免疫环境^[5]。ILC2 作为固有淋巴细胞的一种, 主要聚居于肺黏膜等组织。出生后早期产生的 ILC2 构成了成年小鼠肺组织中总 ILC2 的大部分^[6], 这提示新生儿期是 ILC2 发育的关键时期。病理情况下, 气道受到外界因素刺激, 过度活化的 ILC2 分泌大量 IL-5 和 IL-13, 增强 Th2 免疫反应, 导致肺损伤^[7]。目前发现, IL-33、IL-25 及胸腺基质淋巴生成素 (thymic stromal lymphopoietin, TSLP) 均可作为 ILC2 上游激活因子^[8]。IL-33 作为一种膜相关的促炎细胞因子, 在内皮和上皮损伤、细胞凋亡和坏死方面起警报作用^[9]。IL-25 通过增强气道平滑肌细胞的增殖活性引起气道重塑^[10]。TSLP 可引起呼吸道 Th2 免疫反应, 导致气道炎症和气道重塑^[11]。动物实验发现, 脂多糖诱导的 BPD 小鼠肺组织 ILC2 及 IL-33 明显增加^[12]; 临床研究发现, 生后 1 d、14 d 及 28 d 血清 IL-33 升高与 BPD 发生及严重程度密切相关^[13], 脐血 IL-33 不能预测 BPD 发生^[9], 然而 7 d IL-33 水平与 BPD 的关系、ILC2 和其他相关细胞因子在 BPD 患儿中的变化及意义尚未有研究。本研究通过检测 BPD 与非 BPD 早产儿生后 1 d、7 d 及 14 d 外周血 ILC2 及其相关细胞因子 IL-33、IL-25、TSLP、IL-5 及 IL-13 水平, 初步探讨 ILC2 及其相关细胞因子在 BPD 中的变化及意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象及分组

选择 2020 年 9 月—2021 年 12 月在江苏大学附

属医院儿科住院, 胎龄 <32 周且住院时间 ≥14 d 的 76 例早产儿为研究对象。排除标准: (1) 合并严重的先天发育畸形; (2) 合并遗传代谢性疾病和/或染色体病; (3) 住院期间放弃治疗或死亡; (4) 病例资料缺失; (5) 未获得知情同意。按照 BPD 诊断标准分为 BPD 组 ($n=30$) 及非 BPD 组 ($n=46$)。BPD 诊断参考 2018 年 BPD 诊断标准^[14]: 胎龄 <32 周的早产儿在校正胎龄 36 周时仍依赖不同程度的吸入气氧浓度和呼吸支持 ≥3 d, 并且有影像学资料证实存在肺间质病变, 即可诊断为 BPD。本研究已获得江苏大学附属医院医学委员会批准 (SWYXLL20200121-17)。

1.2 临床资料收集

收集研究对象的临床资料, 包括: 胎龄、出生体重、性别、肺泡表面活性物质的使用、出生方式、产前类固醇激素使用等情况。

1.3 样本量估算

以 ILC2 占淋巴细胞百分率为主要指标, 基于文献 [15] 和本课题组预试验结果发现 2 个随机化组之间的 ILC2 占比差值为 0.1%, 并将检验效能定为 80%, I 型错误率定为 0.05, 得出的样本量为每组 25 例。预估约 20% 早产儿由于各种原因, 其数据不能进行统计分析, 为保证样本量充足, 故每组纳入至少 30 例早产儿。样本量计算公式按照文

献 [16], 即 $N = \frac{(U_{\alpha} + U_{\beta})^2 \left(1 + \frac{1}{\kappa}\right) \sigma^2}{\delta^2}$ 。公式中 N 为每组所需的最小样本量; U_{α} 规定为单侧 $\alpha=0.05$ 所对应的 U 界值 (1.6449); U_{β} 取 $\beta=0.1$ 所对应的 U 界值 (1.6449); δ 为容许误差, 即随机化组之间的 ILC2 占淋巴细胞百分率的差值 (0.1%); σ 为总体标准差。由于查找文献没有得到总体标准差, 由预试验样本标准差 (0.12%) 代替。 $k=1$ 时两组样本量相等。

1.4 流式细胞术检测外周血 ILC2 比例

于患儿生后 1 d、7 d 及 14 d, 收集外周静脉血 1.5 mL, 肝素钠抗凝, 其中 0.5 mL 用于患儿住院过程中血常规、C 反应蛋白 (C reactive protein, CRP) 监测。另外 1 mL 室温放置 30 min 后 3 000 r/min 离心 30 min, 离心后的血细胞沉淀采用 Ficoll (天津灏洋 TBD) 密度梯度离心法提取外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC), 细胞总量 $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$ 个。分离出的 PBMC 中分别加入 PerCP/Cy5-CD45 抗体、FITC-Lin 抗体、PE-CRTH2 抗体、PE/Cy7-CD161 抗体和

APC-CD127 抗体, 充分混匀, 4℃ 条件下避光孵育 30 min, PBS 重悬, 4℃ 下 2 000 r/min 离心 5 min 洗掉多余抗体, 再次加入 300 μL PBS 重悬, 转移入流式管内于 FACSCanto (美国 BD 公司) 流式机内检测, 以出现 CD45⁺Lin⁻CRTH2⁺CD161⁺CD127⁺ 的细胞^[17-18] 定义为 ILC2, 结果采用 FlowJo V10 软件进行分析。

1.5 外周血 IL-33、IL-25、TSLP、IL-5 和 IL-13 水平的检测

上述早产儿生后 1 d、7 d 及 14 d 外周静脉血离心后的血清置入 -80℃ 冰箱保存统一检测。采用酶联免疫吸附双抗体夹心法检测外周血 IL-33、IL-25、TSLP、IL-5 和 IL-13 水平, 按说明书 (武汉艾莱特生物技术有限公司, 中国) 在 450 nm 处测量光密度值。横坐标为光密度值, 纵坐标为标准品浓度。构建标准曲线, 计算每孔细胞因子浓度。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 24.0 软件进行统计学分析。正态分布计量资料采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间

比较采用两样本 *t* 检验。计数资料采用例数和百分率 (%) 表示, 组间比较采用卡方检验。以是否为 BPD 作为因变量, 控制对 BPD 发生影响较大的一般临床资料, 以两组比较差异有统计学意义的细胞因子作为自变量行多因素 logistic 回归分析。采用受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线计算外周血 ILC2、IL-33、TSLP 及 IL-5 预测 BPD 的曲线下面积 (area under the curve, AUC)、灵敏度和特异度等。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况比较

共收集符合标准的早产儿 76 例, 其中 BPD 组 30 例 (39%), 非 BPD 组患儿 46 例 (61%)。BPD 组胎龄及出生体重低于非 BPD 组 (P < 0.001), 两组性别、出生方式、肺表面活性物质使用、产前类固醇激素使用方面比较差异均无统计学意义 (P > 0.05), 见表 1。

表 1 BPD 组和非 BPD 组患儿一般情况比较

组别	例数	出生体重 ($\bar{x} \pm s, g$)	胎龄 ($\bar{x} \pm s, 周$)	男性 [例(%)]	剖宫产 [例(%)]	肺表面活性物质 使用 [例(%)]	产前类固醇激素 使用 [例(%)]
非 BPD 组	46	1 664 ± 168	30.8 ± 1.0	22(48)	19(41)	28(61)	35(76)
BPD 组	30	1 249 ± 185	29.1 ± 1.0	17(57)	11(37)	23(77)	19(63)
<i>t</i> / χ^2 值		-0.842	-6.418	0.568	0.163	2.602	1.436
P 值		<0.001	<0.001	0.489	0.811	0.140	0.302

注: [BPD] 支气管肺发育不良。

2.2 两组外周血 PBMC 中 ILC2 百分率比较

BPD 组生后 7 d、14 d ILC2 百分率均高于非 BPD 组 (均 P < 0.001), 两组生后 1 d ILC2 百分率比较差异无统计学意义 (P > 0.05), 见表 2、图 1。

2.3 两组外周血 IL-33、TSLP、IL-25、IL-5 和 IL-13 水平比较

BPD 组外周血 IL-33、TSLP 和 IL-5 水平在生后 7 d 和 14 d 时均高于非 BPD 组 (均 P < 0.05), 在生后 1 d 时与非 BPD 组比较差异无统计学意义 (P

> 0.05)。出生后各时间点两组 IL-25 和 IL-13 水平比较差异均无统计学意义 (均 P > 0.05)。见表 3。

表 2 两组外周血 PBMC 中 ILC2 百分率比较 ($\bar{x} \pm s, %$)

组别	例数	生后 1 d	生后 7 d	生后 14 d
非 BPD 组	30	0.401 ± 0.398	0.641 ± 0.414	0.819 ± 0.478
BPD 组	46	0.401 ± 0.384	0.741 ± 0.455	0.935 ± 0.421
<i>t</i> 值		-0.002	-9.918	-10.770
P 值		0.999	<0.001	<0.001

注: [BPD] 支气管肺发育不良。

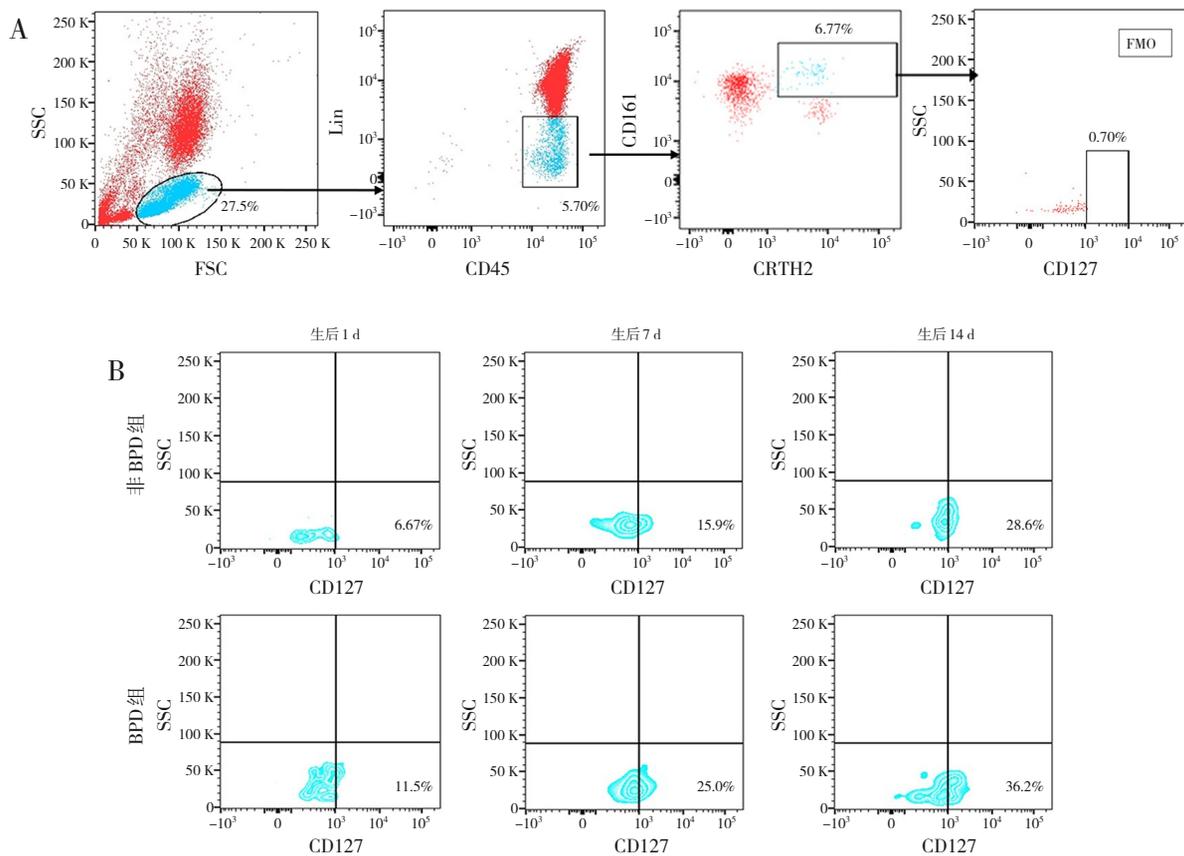


图 1 两组患儿外周血 ILC2 (CD45⁺Lin⁻CRTH2⁺CD161⁺CD127⁺) 流式细胞仪分析图 A 为流式细胞术检测出生后不同时间 ILC2 的设门图; B 为出生后不同时间外周血中 ILC2 百分率。右下象限区域即为 ILC2 所在区域, BPD 组生后 7 d、14 d ILC2 百分率均高于非 BPD 组。

表 3 两组患儿生后不同时间外周血 IL-33、IL-25、TSLP、IL-5 及 IL-13 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

项目	非 BPD 组 (n=46)	BPD 组 (n=30)	t 值	P 值
IL-33				
生后 1 d	2.63 ± 0.39	2.69 ± 0.46	0.574	0.568
生后 7 d	3.54 ± 0.22	3.89 ± 0.32	-5.582	<0.001
生后 14 d	4.09 ± 0.17	4.66 ± 0.31	-10.290	<0.001
TSLP				
生后 1 d	7.52 ± 0.51	7.63 ± 0.51	0.914	0.346
生后 7 d	9.97 ± 0.63	11.09 ± 1.15	-5.508	<0.001
生后 14 d	12.90 ± 1.14	14.99 ± 1.39	-7.159	<0.001
IL-25				
生后 1 d	20.74 ± 1.77	21.28 ± 2.17	-1.185	0.240
生后 7 d	23.47 ± 1.02	24.00 ± 0.77	-1.863	0.070
生后 14 d	20.41 ± 0.99	20.71 ± 1.50	-0.702	0.476
IL-5				
生后 1 d	3.23 ± 0.69	3.17 ± 0.54	0.352	0.726
生后 7 d	4.05 ± 0.75	4.50 ± 0.58	-2.766	0.007
生后 14 d	5.24 ± 0.50	5.48 ± 0.43	-2.136	0.036

表 3 (续)

项目	非 BPD 组 (n=46)	BPD 组 (n=30)	t 值	P 值
IL-13				
生后 1 d	22.86 ± 1.55	22.49 ± 2.12	0.627	0.534
生后 7 d	23.22 ± 1.39	22.56 ± 1.73	1.324	0.193
生后 14 d	22.35 ± 1.25	22.72 ± 1.34	-0.909	0.369

注: [BPD] 支气管肺发育不良; [IL] 白细胞介素; [TSLP] 胸腺基质淋巴生成素。

2.4 外周血 IL-33、TSLP 和 IL-5 与 BPD 发生的多因素 logistic 回归分析

以 BPD 是否发生 (发生 BPD 为 1, 不发生为 0) 为因变量, 以胎龄、出生体重、IL-33、TSLP 和 IL-5 为自变量, 进行多因素 logistic 回归分析。结果显示, 校正胎龄和出生体重后, 生后 7 d 和 14 d 升高的 IL-33、TSLP 和 IL-5 与 BPD 发生密切相关 (均 $P < 0.05$)。见表 4。

表 4 生后 7 d 及 14 d 早产儿发生 BPD 的多因素 logistic 回归分析结果

因素	B	SE	Wald χ^2	OR	95%CI	P
生后 7 d						
IL-33	4.034	1.369	8.681	56.513	3.860~827.365	0.003
TSLP	1.967	0.625	9.915	7.152	2.102~24.338	0.002
IL-5	0.935	0.375	6.200	2.547	1.220~5.315	0.013
胎龄	0.171	0.342	0.249	1.186	0.607~2.318	0.618
出生体重	0.001	0.002	0.619	0.999	0.996~1.002	0.432
常量	-41.285	15.635	6.973	0.001		0.008
生后 14 d						
IL-33	18.056	5.302	11.597	69.471	2.130~226.537	0.001
TSLP	1.586	0.392	16.333	4.883	2.263~10.536	<0.001
IL-5	1.134	0.534	4.507	3.109	1.091~8.859	0.034
胎龄	2.324	1.222	3.621	10.221	0.933~112.026	0.057
出生体重	0.002	0.004	0.309	1.002	0.994~1.010	0.578
常量	-252.27	145.86	2.991	0.001		0.084

注：[IL] 白细胞介素；[TSLP] 胸腺基质淋巴生成素。

2.5 外周血 ILC2、IL-33、TSLP 和 IL-5 的 ROC 曲线分析

分别以生后 7 d 和 14 d 外周血 IL-33、TSLP、ILC2 和 IL-5 水平为检验变量，以患儿是否患有

BPD 为分类变量绘制 ROC 曲线，结果显示 IL-33、TSLP、IL-5 和 ILC2 的 AUC 均大于 0.7（均 $P < 0.05$ ），见表 5。

表 5 外周血 ILC2、IL-33、TSLP 和 IL-5 对 BPD 的诊断价值

指标	Youden 指数	最佳截断值	灵敏度	特异度	AUC	P 值
IL-33						
生后 7 d	0.525	3.855 pg/mL	0.633	0.891	0.803	<0.001
生后 14 d	0.835	4.275 pg/mL	0.900	0.935	0.949	<0.001
TSLP						
生后 7 d	0.633	10.875 pg/mL	0.633	1.000	0.825	<0.001
生后 14 d	0.667	15.050 pg/mL	0.667	1.000	0.850	<0.001
IL-5						
生后 7 d	0.429	4.465 pg/mL	0.733	0.696	0.706	0.002
生后 14 d	0.416	5.435 pg/mL	0.633	0.783	0.708	0.002
ILC2						
生后 7 d	0.726	0.685%	0.900	0.826	0.944	<0.001
生后 14 d	0.801	0.885%	0.867	0.935	0.961	<0.001

注：[BPD] 支气管肺发育不良；[IL] 白细胞介素；[TSLP] 胸腺基质淋巴生成素；[AUC] 曲线下面积。

3 讨论

BPD 的高危因素包括早产儿、低出生体重、长时间氧疗等，住院期间并发的肺部感染、肺水肿等也是导致 BPD 发生、发展的重要原因^[2]。本研究观察了 76 例胎龄 < 32 周且住院时间 ≥ 14 d 的早产儿，其中 30 例发生 BPD，BPD 发生率为 39%，

发生率与既往研究^[3]相符。与非 BPD 组相比，BPD 组患儿出生体重和胎龄较非 BPD 组明显降低，而性别、出生方式、生后使用肺表面活性物质、母亲产前使用类固醇激素差异均无统计学意义，与既往研究^[19]结果一致，进一步说明胎龄和出生体重是 BPD 发生的重要因素。

新生儿特别是早产儿，适应性免疫尚未发育

成熟，先天性免疫在这一时期发挥重要作用。ILC2 是近年发现的重要先天免疫细胞，广泛分布于机体各组织器官中，其中肺黏膜组织中数量最多。研究发现，ILC2 在早期肺发育过程中可能是必需的^[20]。本研究显示，外周血 ILC2 百分率在两组均呈现为生后 1 d 时很低，以后逐渐增加的趋势，适量增加的 ILC2 可能有助于肺泡化建立；与非 BPD 组相比，BPD 组 ILC2 在生后 7 d 和 14 d 明显升高。研究发现，BPD 小鼠 ILC2 较正常对照组明显增加，减少 BPD 小鼠 ILC2 数量，其肺损伤和肺部炎症改善^[13]，提示 ILC2 促进了 BPD 病理过程。

ILC2 上游细胞因子 IL-25、TSLP、IL-33 可促进 ILC2 扩增并产生 Th2 细胞因子发挥免疫调控作用^[21]。与非 BPD 组相比，BPD 组 IL-25 水平在各时间点差异均无统计学意义，而 TSLP 和 IL-33 在生后 7 d 和 14 d 明显高于非 BPD 组，与 ILC2 的升高趋势一致，推测在 BPD 形成过程中，ILC2 的活化可能主要与 TSLP 和 IL-33 升高有关，IL-25 对 ILC2 的活化作用可能不大。

IL-33 是 AEC II 分泌的一种警报素，属于 IL-1 细胞因子家族，可驱动 2 型免疫反应^[22]。新生小鼠高氧暴露后，肺 IL-33 和 ILC2 增加，诱发气道炎症反应^[23]，升高的 IL-33 还可导致异常肺泡化和持续的肺重塑，使新生儿肺部发育受阻，导致 BPD 发生。这一点在小鼠 BPD 模型中也得到了相应证实^[24-25]，发现 BPD 组肺组织中 IL-33 水平明显升高；而抑制 IL-33 可以通过减少炎症介质的释放从而减轻肺损伤。本研究 BPD 组 IL-33 较非 BPD 组明显升高，结合以上研究，推测 IL-33 与 BPD 的发生发展密切相关。

TSLP 在呼吸道疾病如支气管哮喘和慢性阻塞性肺疾病中异常表达^[26-27]，促进 ILC2 分化，驱动呼吸道 Th2 免疫反应，导致气道炎症和气道重塑。TSLP 受体缺陷小鼠气道炎症显著减少^[28]。本研究显示，与非 BPD 组相比，BPD 组患儿外周血 TSLP 升高，推测 TSLP 也可能参与了 BPD 气道炎症的发生发展。

研究表明，ILC2 也可以分泌 IL-5 和 IL-13^[4]。与非 BPD 组相比，BPD 组 IL-13 水平在各时间点差异无统计学意义，而 IL-5 在生后 7 d 和 14 d 明显高于非 BPD 组，与 ILC2 的升高趋势一致，推测在 BPD 形成过程中，ILC2 主要产生 IL-5，而对 IL-13 的激活作用可能不大。研究表明，IL-5 可影响肺局部微环境，导致炎症性免疫反应发生^[29]。阻断 IL-

5 可显著改善新生小鼠肺部炎症，同时保护了肺泡的完整性^[30]。推测 IL-5 可能参与了 BPD 气道炎症反应。

本研究多因素 logistic 回归分析显示，在校正胎龄和出生体重后，IL-33、TSLP 和 IL-5 与 BPD 发生密切相关，且 ROC 曲线结果提示，ILC2、IL-33、TSLP 和 IL-5 对 BPD 有较高预测价值，提示 ILC2、IL-33、TSLP 及 IL-5 水平升高可预警 BPD 的发生。已有研究探讨早产儿 BPD 早期风险预测模型，发现生后 7 d、14 d 预测模型可有效预测 BPD 的发生^[1]，与本研究时间点选择一致。

综上所述，ILC2、IL-33、TSLP 及 IL-5 可能参与了 BPD 的发生发展，且其水平升高可预警 BPD 的发生。本研究局限性包括：由于样本量少，未分析不同严重程度 BPD 早产儿基线资料和外周血 ILC2 及相关因子水平的差异，研究结果可能存在偏倚；检测肺泡灌洗液中相关指标可更直接反映肺部炎症改变，但由于伦理问题，肺泡灌洗液获取困难。未来可进一步扩大样本量，同时结合动物实验对 ILC2 及相关因子的作用进行深入研究。

利益冲突声明：所有作者均声明无利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] 张茹, 徐发林, 李文丽, 等. 早产儿支气管肺发育不良早期风险预测模型的构建[J]. 中国当代儿科杂志, 2021, 23(10): 994-1001. PMID: 34719413. PMID: 34719413. PMID: 34719413. PMID: 34719413. DOI: 10.7499/j.issn.1008-8830.2107035.
- [2] Lapcharoensap W, Gage SC, Kan P, et al. Hospital variation and risk factors for bronchopulmonary dysplasia in a population-based cohort[J]. JAMA Pediatr, 2015, 169(2): e143676. PMID: 25642906. DOI: 10.1001/jamapediatrics.2014.3676.
- [3] Jensen EA, Dysart K, Gantz MG, et al. The diagnosis of bronchopulmonary dysplasia in very preterm infants. An evidence-based approach[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2019, 200(6): 751-759. PMID: 30995069. PMID: 30995069. PMID: 30995069. DOI: 10.1164/rccm.201812-2348OC.
- [4] Saluzzo S, Gorki AD, Rana BMJ, et al. First-breath-induced type 2 pathways shape the lung immune environment[J]. Cell Rep, 2017, 18(8): 1893-1905. PMID: 28228256. PMID: 28228256. PMID: 28228256. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.01.071.
- [5] Loering S, Cameron GJM, Starkey MR, et al. Lung development and emerging roles for type 2 immunity[J]. J Pathol, 2019, 247(5): 686-696. PMID: 30506724. DOI: 10.1002/path.5211.
- [6] Schneider C, Lee J, Koga S, et al. Tissue-resident group 2 innate lymphoid cells differentiate by layered ontogeny and *in situ* perinatal priming[J]. Immunity, 2019, 50(6): 1425-1438. e5. PMID: 31128962. PMID: 31128962. PMID: 31128962. PMID: 31128962.

- DOI: 10.1016/j.immuni.2019.04.019.
- [7] Martínez-Gonzalez I, Mathä L, Steer CA, et al. Allergen-experienced group 2 innate lymphoid cells acquire memory-like properties and enhance allergic lung inflammation[J]. *Immunity*, 2016, 45(1): 198-208. PMID: 27421705. DOI: 10.1016/j.immuni.2016.06.017.
- [8] Bartemes KR, Iijima K, Kobayashi T, et al. IL-33-responsive lineage^{CD25⁺CD44^{hi}} lymphoid cells mediate innate type 2 immunity and allergic inflammation in the lungs[J]. *J Immunol*, 2012, 188(3): 1503-1513. PMID: 22198948. PMID: PMC3262877. DOI: 10.4049/jimmunol.1102832.
- [9] Cakir U, Tayman C, Yucel C. A novel diagnostic marker for the severity of bronchopulmonary dysplasia in very low birth weight infants: interleukin-33[J]. *Pediatr Allergy Immunol Pulmonol*, 2019, 32(1): 12-17. PMID: 31508250. PMID: PMC6733051. DOI: 10.1089/ped.2019.0994.
- [10] Petersen BC, Lukacs NW. IL-17A and IL-25: therapeutic targets for allergic and exacerbated asthmatic disease[J]. *Future Med Chem*, 2012, 4(7): 833-836. PMID: 22571608. DOI: 10.4155/fmc.12.39.
- [11] Soumelis V, Reche PA, Kanzler H, et al. Human epithelial cells trigger dendritic cell-mediated allergic inflammation by producing TSLP[J]. *Nat Immunol*, 2002, 3(7): 673-680. PMID: 12055625. DOI: 10.1038/ni805.
- [12] Mi L, Zhu S, Cai J, et al. Tissue-resident type 2 innate lymphoid cells arrest alveolarization in bronchopulmonary dysplasia[J]. *J Immunol Res*, 2020, 2020: 8050186. PMID: 33178840. PMID: PMC7648679. DOI: 10.1155/2020/8050186.
- [13] 陈俊龙, 张春丽. 支气管肺发育不良患儿血清白介素 33 的水平变化及临床意义[J]. *中国当代儿科杂志*, 2020, 22(7): 716-720. PMID: 32669167. PMID: PMC7389611. DOI: 10.7499/j.issn.1008-8830.2001063.
- [14] Higgins RD, Jobe AH, Koso-Thomas M, et al. Bronchopulmonary dysplasia: executive summary of a workshop[J]. *J Pediatr*, 2018, 197: 300-308. PMID: 29551318. PMID: PMC5970962. DOI: 10.1016/j.jpeds.2018.01.043.
- [15] Ghaedi M, Shen ZY, Orangi M, et al. Single-cell analysis of ROR α tracer mouse lung reveals ILC progenitors and effector ILC2 subsets[J]. *J Exp Med*, 2020, 217(3): 20182293. PMID: 31816636. PMID: PMC7062532. DOI: 10.1084/jem.20182293.
- [16] 王家良. 临床流行病学——临床科研设计、测量与评价[M]. 3 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2009: 156-178.
- [17] Vivier E, Artis D, Colonna M, et al. Innate lymphoid cells: 10 years on[J]. *Cell*, 2018, 174(5): 1054-1066. PMID: 30142344. DOI: 10.1016/j.cell.2018.07.017.
- [18] Mjösberg JM, Trifari S, Crellin NK, et al. Human IL-25- and IL-33-responsive type 2 innate lymphoid cells are defined by expression of CRTH2 and CD161[J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(11): 1055-1062. PMID: 21909091. DOI: 10.1038/ni.2104.
- [19] 徐儒政, 姜旭, 孙斌. 胎龄<32周早产儿支气管肺发育不良临床特点[J]. *临床儿科杂志*, 2022, 40(6): 420-424. DOI: 10.12372/jcp.2022.21e0945.
- [20] Kabata H, Moro K, Koyasu S. The group 2 innate lymphoid cell (ILC2) regulatory network and its underlying mechanisms[J]. *Immunol Rev*, 2018, 286(1): 37-52. PMID: 30294963. DOI: 10.1111/imr.12706.
- [21] Cai T, Qiu J, Ji Y, et al. IL-17-producing ST2⁺ group 2 innate lymphoid cells play a pathogenic role in lung inflammation[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2019, 143(1): 229-244. e9. PMID: 29625134. PMID: PMC6170730. DOI: 10.1016/j.jaci.2018.03.007.
- [22] Christianson CA, Goplen NP, Zafar I, et al. Persistence of asthma requires multiple feedback circuits involving type 2 innate lymphoid cells and IL-33[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2015, 136(1): 59-68. e14. PMID: 25617223. PMID: PMC4494983. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.11.037.
- [23] Cheon IS, Son YM, Jiang L, et al. Neonatal hyperoxia promotes asthma-like features through IL-33-dependent ILC2 responses[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 142(4): 1100-1112. PMID: 29253513. PMID: PMC6003836. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.11.025.
- [24] Drake LY, Kita H. IL-33: biological properties, functions, and roles in airway disease[J]. *Immunol Rev*, 2017, 278(1): 173-184. PMID: 28658560. PMID: PMC5492954. DOI: 10.1111/imr.12552.
- [25] Tang X. Interleukin-33 (IL-33) increases hyperoxia-induced bronchopulmonary dysplasia in newborn mice by regulation of inflammatory mediators[J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 6717-6728. PMID: 30244258. PMID: PMC6266634. DOI: 10.12659/MSM.910851.
- [26] Ying S, O'Connor B, Ratoff J, et al. Expression and cellular provenance of thymic stromal lymphopoietin and chemokines in patients with severe asthma and chronic obstructive pulmonary disease[J]. *J Immunol*, 2008, 181(4): 2790-2798. PMID: 18684970. DOI: 10.4049/jimmunol.181.4.2790.
- [27] Zhou B, Comeau MR, De Smedt T, et al. Thymic stromal lymphopoietin as a key initiator of allergic airway inflammation in mice[J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(10): 1047-1053. PMID: 16142237. DOI: 10.1038/ni1247.
- [28] Al-Shami A, Spolski R, Kelly J, et al. A role for TSLP in the development of inflammation in an asthma model[J]. *J Exp Med*, 2005, 202(6): 829-839. PMID: 16172260. PMID: PMC2212950. DOI: 10.1084/jem.20050199.
- [29] Takatsu K. Interleukin-5 and IL-5 receptor in health and diseases[J]. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 2011, 87(8): 463-485. PMID: 21986312. PMID: PMC3313690. DOI: 10.2183/pjab.87.463.
- [30] Lao JC, Bui CB, Pang MA, et al. Type 2 immune polarization is associated with cardiopulmonary disease in preterm infants[J]. *Sci Transl Med*, 2022, 14(639): eaaz8454. PMID: 35385341. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaz8454.

(本文编辑: 王颖)