

血清 14-3-3 β 蛋白联合呼出气一氧化氮及常规通气肺功能参数对儿童支气管哮喘的诊断效能

李舒芳 郭广恩 杨月琴 熊晓曼 郑世威 谢雪丽 张艳丽

(郑州大学第三附属医院儿科, 河南郑州 450052)

【摘要】目的 探讨血清 14-3-3 β 蛋白联合呼出气一氧化氮 (fractional exhaled nitric oxide, FeNO) 及常规通气肺功能参数对儿童支气管哮喘 (简称“哮喘”) 的诊断效能。**方法** 前瞻性纳入 136 例初次诊断为哮喘且处于急性发作期的儿童为哮喘组, 选择同期 85 例健康体检儿童为健康对照组, 比较两组血清 14-3-3 β 蛋白浓度的差异, 分析血清 14-3-3 β 蛋白与临床指标的相关性, 评估 14-3-3 β 蛋白联合 FeNO 及常规通气肺功能参数对儿童哮喘的诊断效能。**结果** 哮喘组血清 14-3-3 β 蛋白浓度高于健康对照组 ($P<0.001$)。血清 14-3-3 β 蛋白与中性粒细胞百分比、血清总免疫球蛋白 E 呈正相关, 与常规通气肺功能参数呈负相关 ($P<0.05$)。联合指标交叉验证显示 14-3-3 β 蛋白+FeNO+用力呼出 75% 肺活量的呼气流量占预测值百分比预测哮喘的曲线下面积为 0.948, 灵敏度和特异度分别为 88.9% 和 93.7%, 具有较好的诊断效能 ($P<0.001$), 模型的外推性最好。**结论** 血清 14-3-3 β 蛋白联合 FeNO、用力呼出 75% 肺活量的呼气流量占预测值百分比可以显著提高儿童哮喘的诊断效能。

[中国当代儿科杂志, 2024, 26 (7): 723-729]

【关键词】 支气管哮喘; 14-3-3 β 蛋白; 联合诊断; 肺通气功能; 呼出气一氧化氮; 儿童

Diagnostic efficacy of serum 14-3-3 β protein combined with fractional exhaled nitric oxide and conventional ventilatory lung function parameters for bronchial asthma in children

LI Shu-Fang, GUO Guang-En, YANG Yue-Qin, XIONG Xiao-Man, ZHENG Shi-Wei, XIE Xue-Li, ZHANG Yan-Li.
Department of Pediatrics, Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China (Zhang Y-L, Email: zylandzyy@126.com)

Abstract: Objective To explore the diagnostic efficacy of serum 14-3-3 β protein combined with fractional exhaled nitric oxide (FeNO) and conventional ventilatory lung function parameters in diagnosing bronchial asthma (referred to as "asthma") in children. **Methods** A prospective study included 136 children initially diagnosed with asthma during an acute episode as the asthma group, and 85 healthy children undergoing routine health checks as the control group. The study compared the differences in serum 14-3-3 β protein concentrations between the two groups, analyzed the correlation of serum 14-3-3 β protein with clinical indices, and evaluated the diagnostic efficacy of combining 14-3-3 β protein, FeNO, and conventional ventilatory lung function parameters for asthma in children. **Results** The concentration of serum 14-3-3 β protein was higher in the asthma group than in the control group ($P<0.001$). Serum 14-3-3 β protein showed a positive correlation with the percentage of neutrophils and total serum immunoglobulin E, and a negative correlation with conventional ventilatory lung function parameters ($P<0.05$). Cross-validation of combined indices showed that the combination of 14-3-3 β protein, FeNO, and the percentage of predicted value of forced expiratory flow at 75% of lung volume had an area under the curve of 0.948 for predicting asthma, with a sensitivity and specificity of 88.9% and 93.7%, respectively, demonstrating good diagnostic efficacy ($P<0.001$). The model had the best extrapolation. **Conclusions** The combination of serum 14-3-3 β protein, FeNO, and the percentage

[收稿日期] 2023-12-26; [接受日期] 2024-05-20

[基金项目] 河南省重点研发与推广专项 (科技攻关) 项目 (222102310689)。

[作者简介] 李舒芳, 女, 硕士研究生, 医师。

[通信作者] 张艳丽, 女, 主任医师。Email: zylandzyy@126.com。

of predicted value of forced expiratory flow at 75% of lung volume can significantly improve the diagnostic efficacy for asthma in children.
[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2024, 26(7): 723-729]

Key words: Bronchial asthma; 14-3-3 β protein; Combined diagnosis; Lung ventilatory function; Exhaled nitric oxide; Child

支气管哮喘（简称“哮喘”）是儿童常见的慢性气道疾病，以气道炎症和可逆性气道重塑为特征^[1]。儿童哮喘的患病率逐年增长^[2-3]。目前哮喘的诊断往往基于症状、体征和肺功能检查结果^[4]，但部分儿童由于配合能力有限，难以规范进行常规通气肺功能检查，易误诊漏诊。外周血嗜酸性粒细胞计数反映体内嗜酸性炎症，其诊断哮喘的灵敏度和特异性较低^[5]。呼出气一氧化氮（fractional exhaled nitric oxide, FeNO）反映气道炎症水平，但易受除哮喘之外的各种因素（如年龄、运动等）影响^[6-7]。生物标志物作为可被测量的客观指标，可以提高疾病预测、诊断和预后判断的准确性^[8]。因此，寻找哮喘诊断相关的生物标志物具有重要临床意义。

14-3-3 蛋白是一类调节蛋白家族，由 7 种亚型（ α/β 、 ϵ 、 γ 、 η 、 σ 、 τ 和 ζ ）组成，在调节炎症、蛋白质运输和信号转导等方面发挥重要作用^[9]。研究表明，14-3-3 β 蛋白可促进哮喘患者的气道重塑过程^[10]。哮喘大鼠肺组织中 14-3-3 β mRNA 表达增加，可能发挥促炎作用^[11]。成人哮喘患者血清 14-3-3 β 蛋白含量增加，且是哮喘急性加重的指标^[12]。但目前尚未有 14-3-3 β 蛋白在儿童哮喘中的相关研究。本研究以此为切入点，探究血清 14-3-3 β 蛋白联合 FeNO 及常规通气肺功能参数对儿童哮喘的诊断效能。

1 资料与方法

1.1 研究对象

前瞻性选择 2021 年 10 月—2023 年 3 月就诊于郑州大学第三附属医院的 136 例初次诊断为哮喘且处于急性发作期的 136 例儿童为哮喘组，其中男性 86 例，女性 50 例，中位年龄 7.0（5.6，9.2）岁。纳入标准：（1）哮喘符合《儿童支气管哮喘规范化诊治建议（2020 年版）》^[13] 中的诊断标准；（2）完成 FeNO 及常规通气肺功能检查；（3）对于患有合并症（如过敏性鼻炎、鼻窦炎等）的哮喘患儿，合并症在 4 周内已得到良好控制。排除标准：（1）患有除哮喘以外的其他影响肺通气功能的疾病；（2）患有严重心、肝、肾等脏器功能异

常疾病；（3）就诊前 4 周内接受过皮质类固醇药物治疗。

纳入同期于我院行常规体检的 85 例健康儿童为健康对照组，其中男性 49 例，女性 36 例，中位年龄 8.0（5.3，9.9）岁。纳入标准：（1）就诊前 4 周内无咳嗽、喘息、气短、胸闷等呼吸道感染相关症状；（2）患有哮喘、过敏性疾病及体检前 4 周内接受过皮质类固醇药物治疗的儿童。

本研究经郑州大学第三附属医院伦理委员会审查通过（2023-126-01），所有受试者父母均签署书面知情同意书。

1.2 资料收集

收集所有研究对象的临床资料，包括：（1）人口统计学资料如性别、年龄、体重指数（body mass index, BMI）等；（2）实验室检查结果，如外周血白细胞计数（white blood cell count, WBC）、中性粒细胞百分比、嗜酸性粒细胞百分比、血清总免疫球蛋白 E（immunoglobulin E, IgE）水平等。

1.3 血标本检测

将受试者的血标本离心后分离出血清，储存在 -80°C 直至检测。使用全自动分析仪（美国贝克曼库尔特有限公司）测量血清总 IgE。使用血细胞分析仪（深圳迈瑞医疗国际股份有限公司）计数中性粒细胞和嗜酸性粒细胞。采用酶联免疫吸附试验（enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA）严格按照试剂盒（上海酶联生物技术有限公司，ml060293V）说明书测定血清 14-3-3 β 蛋白浓度。

1.4 肺功能和 FeNO 检测

根据美国胸科学会—欧洲呼吸学会（American Thoracic Society/European Respiratory Society, ATS/ERS）指南^[14-15]进行常规通气肺功能和 FeNO 的测定。肺功能测定使用德国 JAEGER 公司生产的肺功能分析仪。检测指标主要包括：第 1 秒用力呼气量（forced expiratory volume in one second, FEV₁）、用力肺活量（forced vital capacity, FVC）、一秒率（FEV₁/FVC）、用力呼出 25% 肺活量的呼气流量（forced expiratory flow at 25% of forced vital capacity exhaled, FEF₂₅）占预测值百分比（FEF₂₅%pred）、用力呼出 50% 肺活量的呼气流量（forced expiratory flow at 50% of forced vital capacity exhaled,

FEF₅₀) 占预测值百分比 (FEF₅₀%pred)、用力呼出 75% 肺活量的呼气流量 (forced expiratory flow at 75% of forced vital capacity exhaled, FEF₇₅) 占预测值百分比 (FEF₇₅%pred)。通过 Zapletal 预测方程计算肺通气功能参数的预测值。肺通气功能参数使用实际值占预测值百分比 (%pred) 表示。FeNO 测量使用带有电化学传感器的 NO 分析仪 (无锡尚沃医疗电子股份有限公司), 结果以 ppb 为单位 (1 ppb=1 × 10⁻⁹ mol/L)。

为保证哮喘急性发作患儿的安全, 临床医师评估患儿病情, 对于不能耐受肺功能及 FeNO 检查的哮喘患儿, 给予雾化 (吸入用布地奈德混悬液: 1 mg/次; 特布他林: 体重 ≥ 20 kg, 5 mg/次, 体重 < 20 kg, 2.5 mg/次; 均给予 2 次/d) 治疗 3 d。要求受试者在末次雾化治疗 8 h 后进行肺功能检查和 FeNO 测量, 以避免药物对检测结果的影响。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析。计数资料以例数和百分率 (%) 表示, 组间比较采用卡方检验。符合正态分布的计量资料以均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用两样本 *t* 检验; 非正态分布的计量资料以中位数 (四分位数间距) [*M* (*P*₂₅, *P*₇₅)] 表示, 组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。相关性分析采用 Spearman 秩相关或 Pearson

检验。采用受试者操作特征曲线 (receiver operating characteristic curve, ROC 曲线) 评估血清 14-3-3β 蛋白、FeNO 及常规通气肺功能参数对哮喘的诊断价值, 曲线下面积 (area under the curve, AUC) < 0.7 表示诊断效能较低, 在 0.7~0.9 之间表示诊断效能中等, > 0.9 表示诊断效能较高^[16], AUC 间的比较采用 DeLong's 检验。采用 Hold-out 交叉验证法避免 logistic 回归模型过度拟合, 在训练集中建立回归模型评估联合指标的诊断性能, 在测试集中计算 14-3-3β 各组合诊断哮喘的 AUC、灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和准确性进行验证。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 14-3-3β 蛋白浓度及临床指标对比

哮喘组和健康对照组儿童在年龄、性别、身高、体重及 BMI 方面比较差异均无统计学意义 (*P* > 0.05)。哮喘组血清 14-3-3β 蛋白、FeNO、WBC、中性粒细胞百分比、嗜酸性粒细胞百分比和总 IgE 水平均高于健康对照组 (*P* < 0.05)。常规肺通气功能参数方面, 哮喘组 FVC%pred、FEV₁%pred、FEV₁/FVC%pred、FEF₂₅%pred、FEF₅₀%pred 和 FEF₇₅%pred 均低于健康对照组 (*P* < 0.001)。见表 1。

表 1 两组血清 14-3-3β 蛋白浓度及临床指标比较

项目	健康对照组 (n=85)	哮喘组 (n=136)	<i>t</i> / <i>Z</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值
男性 [例(%)]	49(57.6)	86(63.2)	0.687	0.407
年龄 [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅), 岁]	8.0(5.3, 9.9)	7.0(5.6, 9.2)	-0.656	0.512
身高 [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅), cm]	127.1(116.9, 140.1)	126.3(117.4, 142.4)	-0.271	0.786
体重 [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅), kg]	27.0(20.9, 38.9)	26.3(21.0, 36.0)	-0.235	0.814
BMI [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅), kg/m ²]	17.1(15.4, 19.4)	16.4(14.9, 19.3)	-1.612	0.107
FeNO [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅), ppb]	13(10, 17)	18(10, 29)	-3.287	0.001
WBC [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅), × 10 ⁹ /L]	7.8(6.5, 9.1)	8.5(7.0, 11.0)	-2.758	0.006
嗜酸性粒细胞百分比 [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅), %]	2.2(1.3, 3.6)	3.8 (2.2, 5.3)	-3.521	<0.001
中性粒细胞百分比 [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅), %]	52.4(40.9, 62.1)	55.7(45.5, 69.1)	-2.010	0.044
14-3-3β 蛋白 ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)	27 ± 10	45 ± 18	-9.556	<0.001
FVC%pred [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	101.7(94.9, 108.7)	94.7(87.1, 103.5)	-4.352	<0.001
FEV ₁ %pred [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	107.3(101.0, 115.2)	94.0(84.6, 104.0)	-7.778	<0.001
FEV ₁ /FVC%pred [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	104.6(99.4, 109.1)	97.8(91.0, 103.4)	-6.058	<0.001
FEF ₂₅ %pred ($\bar{x} \pm s$)	101 ± 17	76 ± 21	9.198	<0.001
FEF ₅₀ %pred [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	96.4(82.9, 109.6)	70.2(54.2, 83.9)	-8.509	<0.001
FEF ₇₅ %pred ($\bar{x} \pm s$)	90 ± 20	56 ± 22	11.403	<0.001
总 IgE [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅), IU/mL]	31.8(22.6, 41.6)	79.1(37.7, 181.1)	-7.363	<0.001

注: [BMI] 体重指数; [FeNO] 呼出气一氧化氮; [WBC] 白细胞计数; [FVC%pred] 用力肺活量占预测值百分比; [FEV₁%pred] 第 1 秒用力呼气量占预测值百分比; [FEV₁/FVC%pred] 一秒率占预测值百分比; [FEF₂₅%pred] 用力呼出 25% 肺活量的呼气流量占预测值百分比; [FEF₅₀%pred] 用力呼出 50% 肺活量的呼气流量占预测值百分比; [FEF₇₅%pred] 用力呼出 75% 肺活量的呼气流量占预测值百分比; [IgE] 免疫球蛋白 E。

2.2 血清 14-3-3β 蛋白与各临床指标间相关性分析

血清 14-3-3β 蛋白与中性粒细胞百分比 ($r_s=0.167$)、总 IgE 水平 ($r_s=0.175$) 呈正相关 ($P<0.05$)，与 FVC%pred ($r_s=-0.249$)、FEV₁%pred ($r_s=-0.327$)、FEV₁/FVC%pred ($r_s=-0.179$)、FEF₂₅%pred ($r_s=-0.258$)、FEF₅₀%pred ($r_s=-0.309$)、FEF₇₅%pred ($r_s=-0.316$) 均呈负相关 ($P<0.01$)，见表 2。

2.3 血清 14-3-3β 蛋白、肺通气功能参数和 FeNO 对儿童哮喘的诊断效能

血清 14-3-3β 蛋白诊断儿童哮喘的 AUC 为 0.823，高于 FVC%pred ($Z=3.493$, $P<0.001$) 和 FeNO ($Z=4.068$, $P<0.001$)。血清 14-3-3β 蛋白的 AUC 相较于 FEV₁%pred ($Z=0.304$, $P=0.762$)、FEV₁/FVC%pred ($Z=1.774$, $P=0.081$)、FEF₂₅%pred ($Z=0.040$, $P=0.968$)、FEF₅₀%pred ($Z=-0.445$, $P=0.658$) 和 FEF₇₅%pred ($Z=-1.497$, $P=0.134$)，差异无统计学意义。血清 14-3-3β 蛋白具有中等诊断效能，诊断儿童哮喘的最佳截断值为 38.4 ng/mL，灵敏度和特异度分别为 61.0%、88.2%。见表 3。

2.4 血清 14-3-3β 蛋白联合诊断交叉验证的结果

联合指标交叉验证结果显示，训练集中血清 14-3-3β 蛋白+FEF₇₅%pred+FeNO 三者组合的 AUC 为 0.948，高于血清 14-3-3β 蛋白分别与 FeNO ($Z=3.448$, $P=0.001$)、FVC%pred ($Z=3.647$, $P<0.001$)、FEV₁%pred ($Z=3.031$, $P=0.002$)、FEV₁/FVC%pred ($Z=3.292$, $P=0.001$) 组合的 AUC，与血清 14-3-3β 蛋白分别和 FEF₂₅%pred ($Z=1.349$, $P=0.177$)、

FEF₅₀%pred ($Z=1.888$, $P=0.059$)、FEF₇₅%pred ($Z=1.343$, $P=0.179$) 组合的 AUC 比较差异无统计学意义。训练集中血清 14-3-3β 蛋白+FEF₇₅%pred+FeNO 三者组合具有较好的灵敏度 (88.9%) 和特异度 (93.7%)，比较各组合指标训练集和测试集之间的灵敏度和特异度，发现该三者组合时差异最小，建立的模型表现出更好的外推性。此外，14-3-3β 蛋白+FEF₇₅%pred+FeNO 三者组合诊断哮喘的阳性预测值、阴性预测值和准确性最高。见表 4。

表 2 血清 14-3-3β 蛋白与各临床指标间的相关性分析

指标	r/r_s 值	P 值
FeNO (ppb)	0.041	0.544
WBC ($\times 10^9/L$)	0.020	0.771
嗜酸性粒细胞百分比	0.123	0.068
中性粒细胞百分比	0.167	0.013
FVC%pred	-0.249	<0.001
FEV ₁ %pred	-0.327	<0.001
FEV ₁ /FVC%pred	-0.179	0.008
FEF ₂₅ %pred	-0.258	<0.001
FEF ₅₀ %pred	-0.309	<0.001
FEF ₇₅ %pred	-0.316	<0.001
总 IgE (IU/mL)	0.175	0.009

注：[FeNO] 呼出气一氧化氮；[WBC] 白细胞计数；[FVC%pred] 用力肺活量占预测值百分比；[FEV₁%pred] 第 1 秒用力呼气量占预测值百分比；[FEV₁/FVC%pred] 一秒率占预测值百分比；[FEF₂₅%pred] 用力呼出 25% 肺活量的呼气流量占预测值百分比；[FEF₅₀%pred] 用力呼出 50% 肺活量的呼气流量占预测值百分比；[FEF₇₅%pred] 用力呼出 75% 肺活量的呼气流量占预测值百分比；[IgE] 免疫球蛋白 E。

表 3 血清 14-3-3β 蛋白、FeNO 和常规肺通气功能指标对儿童哮喘的诊断效能

指标	AUC(95%CI)	P 值	最佳截断值	灵敏度 (%)	特异度 (%)
14-3-3β (ng/mL)	0.823(0.769~0.877)	<0.001	38.4	61.0	88.2
FVC%pred	0.674(0.604~0.744)*	<0.001	92.3	44.1	87.1
FEV ₁ %pred	0.811(0.756~0.866)	<0.001	96.7	60.3	94.1
FEV ₁ /FVC%pred	0.742(0.676~0.808)	<0.001	103.2	74.3	64.7
FEF ₂₅ %pred	0.821(0.767~0.875)	<0.001	91.4	80.1	68.2
FEF ₅₀ %pred	0.840(0.790~0.891)	<0.001	76.0	58.8	90.6
FEF ₇₅ %pred	0.878(0.834~0.922)	<0.001	64.9	70.6	96.5
FeNO (ppb)	0.631(0.559~0.703)*	0.001	21.5	40.4	95.3

注：*与 14-3-3β 的 AUC 比较， $P<0.05$ 。[FVC%pred] 用力肺活量占预测值百分比；[FEV₁%pred] 第 1 秒用力呼气量占预测值百分比；[FEV₁/FVC%pred] 一秒率占预测值百分比；[FEF₂₅%pred] 用力呼出 25% 肺活量的呼气流量占预测值百分比；[FEF₅₀%pred] 用力呼出 50% 肺活量的呼气流量占预测值百分比；[FEF₇₅%pred] 用力呼出 75% 肺活量的呼气流量占预测值百分比；[FeNO] 呼出气一氧化氮。

表 4 血清 14-3-3 β 蛋白联合指标的交叉验证结果

联合指标	训练集					测试集						
	AUC	最佳截断值	灵敏度 (%)	特异度 (%)	P 值	AUC	灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值	阴性预测值	准确性 (%)	P 值
14-3-3 β +FeNO	0.877*	0.68	72.7	87.3	<0.001	0.838	64.9	95.5	92.3	60.6	74.6	<0.001
14-3-3 β +FVC%pred	0.853*	0.65	69.7	82.5	<0.001	0.813	83.8	72.7	84.6	54.5	67.8	0.002
14-3-3 β +FEV ₁ %pred	0.884*	0.50	85.9	76.2	<0.001	0.865	67.6	90.9	83.8	72.7	79.7	<0.001
14-3-3 β +FEV ₁ /FVC%pred	0.890*	0.70	73.7	92.1	<0.001	0.850	64.9	90.9	92.0	58.8	72.9	<0.001
14-3-3 β +FEF ₂₅ %pred	0.921	0.78	70.7	96.8	<0.001	0.891	73.0	90.9	92.6	62.5	76.3	<0.001
14-3-3 β +FEF ₅₀ %pred	0.922	0.73	75.8	96.8	<0.001	0.912	83.8	86.4	89.7	63.3	76.3	<0.001
14-3-3 β +FEF ₇₅ %pred	0.937	0.70	82.8	93.7	<0.001	0.937	89.2	95.5	96.6	70.0	83.1	<0.001
14-3-3 β +FEF ₇₅ %pred+FeNO	0.948	0.63	88.9	93.7	<0.001	0.973	91.9	95.5	97.0	80.8	89.8	<0.001

注：*与 14-3-3 β 联合 FEF₇₅%pred、FeNO 的 AUC 比较， $P<0.05$ 。[FeNO] 呼出气一氧化氮；[FVC%pred] 用力肺活量占预测值百分比；[FEV₁%pred] 第 1 秒用力呼气量占预测值百分比；[FEV₁/FVC%pred] 一秒率占预测值百分比；[FEF₂₅%pred] 用力呼出 25% 肺活量的呼气流量占预测值百分比；[FEF₅₀%pred] 用力呼出 50% 肺活量的呼气流量占预测值百分比；[FEF₇₅%pred] 用力呼出 75% 肺活量的呼气流量占预测值百分比。

3 讨论

哮喘是以慢性炎症为特征的异质性疾病，其发生发展是个多因素参与的复杂过程^[17]。本研究证实哮喘儿童血清 14-3-3 β 蛋白浓度高于健康对照组，血清 14-3-3 β 蛋白在儿童哮喘中具有中等诊断效能，其与 FeNO 和 FEF₇₅%pred 联合显著提高了哮喘诊断的准确性。

既往研究证实，血清 14-3-3 β 蛋白浓度升高提示哮喘急性发作^[12]，本研究结果与之一致，表明血清 14-3-3 β 蛋白在儿童哮喘中可能发挥一定的促炎作用。丝裂原激活蛋白激酶（mitogen-activated protein kinase, MAPK）信号通路的激活与哮喘气道炎症的发生发展紧密相关^[18]，研究发现 14-3-3 蛋白对 MAPK 通路具有调节作用^[19]，小鼠肺损伤模型中 14-3-3 β 蛋白表达及 MAPK 信号通路激活增加^[20]。因此，14-3-3 β 蛋白在哮喘中可能通过激活 MAPK 通路发挥促进作用，但这仍需要进一步研究证实。

Th2 型哮喘的主要特征是嗜酸性粒细胞炎症和细胞因子的表达增加，FeNO、嗜酸性粒细胞和血清总 IgE 是 Th2 型哮喘的典型标志物^[21-22]。研究发现哮喘患者血清 14-3-3 β 蛋白浓度与 FeNO、嗜酸性粒细胞呈正相关^[12]，但本研究并未发现血清 14-3-3 β 蛋白与两者有相关性。分析原因可能有：既往研究样本量较少，且在成人哮喘患者中进行，本研究扩大了样本量，对哮喘患儿血清 14-3-3 β 蛋白的作用进行探究；为了保证哮喘急性发作患儿的安全，部分患儿在肺功能及 FeNO 检查前给予吸

入性皮质类固醇激素治疗，而激素治疗在一定程度上可以降低 FeNO 及嗜酸性粒细胞水平^[6]。血清 14-3-3 β 蛋白与 FeNO、嗜酸性粒细胞的相关性尚需要深入研究。然而，本研究发现血清 14-3-3 β 蛋白与总 IgE 呈正相关。哮喘小鼠中上调 14-3-3 σ 蛋白的表达可以增强 IgE 的分泌^[23]。14-3-3 蛋白各亚型间结构及功能具有一定的相似性^[19]，因此，14-3-3 β 蛋白对 IgE 的分泌可能存在相似的促进作用。

多数哮喘患者存在中性粒细胞介导的炎症反应，在皮质类固醇治疗无效的患者中更为突出^[24-25]。外周血中性粒细胞的测定在一定程度上反映气道中性粒细胞炎症水平^[26]。本研究中血清 14-3-3 β 蛋白浓度与中性粒细胞百分比呈正相关，这与一项观察性研究结果^[27]一致。14-3-3 β 介导的蛋白稳定性是促进中性粒细胞定向迁移和极化的基础条件^[28]。14-3-3 β 蛋白可能通过促进中性粒细胞向外周血迁移，从而诱导哮喘炎症反应。

本研究发现血清 14-3-3 β 蛋白与 FVC%pred、FEV₁%pred、FEV₁/FVC%pred、FEF₂₅%pred、FEF₅₀%pred 及 FEF₇₅%pred 均呈负相关，这与既往研究^[27]一致。肌成纤维细胞的功能失调可促进哮喘患儿的气道重塑过程^[29]。14-3-3 β 蛋白在肌成纤维细胞分化和定向迁移的过程中发挥不可或缺的作用^[30]。因此，14-3-3 β 蛋白可能通过影响肌成纤维细胞的功能从而促进哮喘患儿的气道重塑过程。

常规通气肺功能测定是哮喘诊断及管理的重要工具^[31]。单一指标诊断效能结果提示血清 14-3-3 β 蛋白具有中等诊断效能，诊断准确性高于 FeNO 和 FVC。FeNO 受各种内在及外在因素影响^[6]，单

一 FeNO 诊断哮喘的准确性差。FVC 主要评估大气道的功能，严重的气道阻塞时才可能检测出异常^[32]。FEF₂₅%pred、FEF₅₀%pred 及 FEF₇₅%pred 反映小气道功能，研究表明在哮喘患者发病早期，反映小气道阻塞的指标在评估哮喘患者的阻塞性病变方面更敏感^[33-34]。本研究发现血清 14-3-3β 蛋白与反映小气道功能的指标，对儿童哮喘的诊断效能比较差异无统计学意义，表明血清 14-3-3β 蛋白具有良好的诊断效能。

联合指标交叉验证结果提示血清 14-3-3β 蛋白、FEF₇₅%pred 及 FeNO 三者组合对儿童哮喘的诊断效能优于血清 14-3-3β 蛋白分别与 FeNO、FVC%pred、FEV₁%pred 及 FEV₁/FVC%pred 的组合。测试集中血清 14-3-3β 蛋白、FEF₇₅%pred 及 FeNO 三者组合时具有良好的灵敏度和特异度，此外，三者组合时训练集与测试集之间的灵敏度和特异度差异最小，表明三者组合建立的模型具有良好的外推性及诊断的稳定性。因此，单一 14-3-3β 蛋白及 14-3-3β 与 FeNO、FEF₇₅%pred 组合，均表现出良好的诊断效能，血清 14-3-3β 蛋白可以作为儿童哮喘诊断潜在生物标志物。

本研究具有一定的局限性。部分哮喘儿童在行肺功能检查前给予了皮质类固醇激素治疗，可能对 FeNO 值产生影响。此外，本研究仅横向对比了哮喘患儿和正常儿童血清 14-3-3β 蛋白的差异，需要进行纵向研究分析血清 14-3-3β 蛋白在儿童哮喘中的作用。总之，无论单一指标还是联合指标，血清 14-3-3β 蛋白在儿童哮喘中均有一定的诊断价值，有望成为评估儿童哮喘诊断的生物标志物。

作者贡献声明：李舒芳负责采集数据、分析及解释数据、起草文章；熊晓曼、郑世威、谢雪丽负责采集数据；郭广恩、杨月琴、张艳丽负责对文章的知识性内容作批评性审阅、指导。

利益冲突声明：所有作者均声明不存在利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] Porsbjerg C, Melén E, Lehtimäki L, et al. Asthma[J]. *Lancet*, 2023, 401(10379): 858-873. PMID: 36682372. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)02125-0.
- [2] Asher MI, García-Marcos L, Pearce NE, et al. Trends in worldwide asthma prevalence[J]. *Eur Respir J*, 2020, 56(6): 2002094. PMID: 32972987. DOI: 10.1183/13993003.02094-2020.
- [3] Asher MI, Rutter CE, Bissell K, et al. Worldwide trends in the burden of asthma symptoms in school-aged children: Global Asthma Network Phase I cross-sectional study[J]. *Lancet*, 2021, 398(10311): 1569-1580. PMID: 34755626. PMCID: PMC8573635. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)01450-1.
- [4] Martin J, Townshend J, Brodrie M. Diagnosis and management of asthma in children[J]. *BMJ Paediatr Open*, 2022, 6(1): e001277. PMID: 35648804. PMCID: PMC9045042. DOI: 10.1136/bmjpo-2021-001277.
- [5] 刘开来. 呼出气一氧化氮、总免疫球蛋白 E 及嗜酸性粒细胞在儿童哮喘诊断中的价值[J]. *中国中西医结合儿科学*, 2023, 15(3): 224-228. DOI: 10.3969/j.issn.1674-3865.2023.03.010.
- [6] Loewenthal L, Menzies-Gow A. FeNO in asthma[J]. *Semin Respir Crit Care Med*, 2022, 43(5): 635-645. PMID: 35253144. DOI: 10.1055/s-0042-1743290.
- [7] Fraser A, Simpson R, Turner S. Use of exhaled nitric oxide in the diagnosis and monitoring of childhood asthma: myth or maxim? [J]. *Breathe (Sheff)*, 2023, 19(4): 220236. PMID: 38125803. PMCID: PMC10729813. DOI: 10.1183/20734735.0236-2022.
- [8] Breiteneder H, Peng YQ, Agache I, et al. Biomarkers for diagnosis and prediction of therapy responses in allergic diseases and asthma[J]. *Allergy*, 2020, 75(12): 3039-3068. PMID: 32893900. PMCID: PMC7756301. DOI: 10.1111/all.14582.
- [9] Wang W, Shakes DC. Molecular evolution of the 14-3-3 protein family[J]. *J Mol Evol*, 1996, 43(4): 384-398. PMID: 8798343. DOI: 10.1007/BF02339012.
- [10] Asdaghi N, Kilani RT, Hosseini-Tabatabaei A, et al. Extracellular 14-3-3 from human lung epithelial cells enhances MMP-1 expression[J]. *Mol Cell Biochem*, 2012, 360(1-2): 261-270. PMID: 21948273. DOI: 10.1007/s11010-011-1065-1.
- [11] 何淑娟, 陈雅, 童夏生, 等. 布地奈德对哮喘大鼠肺组织 14-3-3 蛋白及 14-3-3 mRNA 表达的影响[J]. *儿科药杂志*, 2016, 22(6): 5-7. DOI: 10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2016.06.002.
- [12] Wang D, Rao L, Cui Y, et al. Serum 14-3-3β protein: a new biomarker in asthmatic patients with acute exacerbation in an observational study[J]. *Allergy Asthma Clin Immunol*, 2021, 17(1): 104. PMID: 34627360. PMCID: PMC8502409. DOI: 10.1186/s13223-021-00608-4.
- [13] 中华儿科杂志编辑委员会, 中华医学会儿科学分会呼吸学组, 中国医师协会儿科医师分会儿童呼吸专业委员会. 儿童支气管哮喘规范化诊治建议 (2020 年版) [J]. *中华儿科杂志*, 2020, 58(9): 708-717. PMID: 32872710. DOI: 10.3760/cma.j.cn112140-20200604-00578.
- [14] Beydon N, Davis SD, Lombardi E, et al. An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: pulmonary function testing in preschool children[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2007, 175(12): 1304-1345. PMID: 17545458. DOI: 10.1164/rccm.200605-642ST.
- [15] American Thoracic Society, European Respiratory Society. ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the

- online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005, 171(8): 912-930. PMID: 15817806. DOI: 10.1164/rccm.200406-710ST.
- [16] He X, Frey E. ROC, LROC, FROC, AFROC: an alphabet soup [J]. *J Am Coll Radiol*, 2009, 6(9): 652-655. PMID: 19720362. DOI: 10.1016/j.jacr.2009.06.001.
- [17] Jutel M, Mosnaim GS, Bernstein JA, et al. The one health approach for allergic diseases and asthma[J]. *Allergy*, 2023, 78(7): 1777-1793. PMID: 37119496. DOI: 10.1111/all.15755.
- [18] Pelaia C, Vatrella A, Crimi C, et al. Clinical relevance of understanding mitogen-activated protein kinases involved in asthma[J]. *Expert Rev Respir Med*, 2020, 14(5): 501-510. PMID: 32098546. DOI: 10.1080/17476348.2020.1735365.
- [19] Fu H, Subramanian RR, Masters SC. 14-3-3 proteins: structure, function, and regulation[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2000, 40: 617-647. PMID: 10836149. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.40.1.617.
- [20] Kataki A, Karagiannidis I, Memos N, et al. Host's endogenous caveolin-1 expression is downregulated in the lung during sepsis to promote cytoprotection[J]. *Shock*, 2018, 50(2): 199-208. PMID: 28957875. DOI: 10.1097/SHK.0000000000001005.
- [21] Fainardi V, Esposito S, Chetta A, et al. Asthma phenotypes and endotypes in childhood[J]. *Minerva Med*, 2022, 113(1): 94-105. PMID: 33576199. DOI: 10.23736/S0026-4806.21.07332-8.
- [22] Shilovskiy IP, Kovchina VI, Timotievich ED, et al. Role and molecular mechanisms of alternative splicing of Th2-cytokines IL-4 and IL-5 in atopic bronchial asthma[J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2023, 88(10): 1608-1621. PMID: 38105028. DOI: 10.1134/S0006297923100152.
- [23] Li F, Huang Y, Huang YY, et al. MicroRNA-146a promotes IgE class switch in B cells via upregulating 14-3-3 σ expression[J]. *Mol Immunol*, 2017, 92: 180-189. PMID: 29101850. DOI: 10.1016/j.molimm.2017.10.023.
- [24] Hong L, Herjan T, Bulek K, et al. Mechanisms of corticosteroid resistance in type 17 asthma[J]. *J Immunol*, 2022, 209(10): 1860-1869. PMID: 36426949. PMCID: PMC9666330. DOI: 10.4049/jimmunol.2200288.
- [25] Jo A, Kim DW. Neutrophil extracellular traps in airway diseases: pathological roles and therapeutic implications[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(5): 5034. PMID: 36902466. PMCID: PMC10003347. DOI: 10.3390/ijms24055034.
- [26] Flinkman E, Vähätalo I, Tuomisto LE, et al. Association between blood eosinophils and neutrophils with clinical features in adult-onset asthma[J]. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2023, 11(3): 811-821.e5. PMID: 36473624. DOI: 10.1016/j.jaip.2022.11.025.
- [27] Wang D, Rao L, Lei H, et al. Clinical significance of serum levels of 14-3-3 β protein in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 4861. PMID: 36964173. PMCID: PMC10039013. DOI: 10.1038/s41598-023-32096-4.
- [28] Gao K, Tang W, Li Y, et al. Front-signal-dependent accumulation of the RHOA inhibitor FAM65B at leading edges polarizes neutrophils[J]. *J Cell Sci*, 2015, 128(5): 992-1000. PMID: 25588844. PMCID: PMC4342581. DOI: 10.1242/jcs.161497.
- [29] Jendzjowsky NG, Kelly MM. The role of airway myofibroblasts in asthma[J]. *Chest*, 2019, 156(6): 1254-1267. PMID: 31472157. DOI: 10.1016/j.chest.2019.08.1917.
- [30] Li J, Gong X. 14-3-3 β is necessary in the regulation of polarization and directional migration of alveolar myofibroblasts by lipopolysaccharide[J]. *Exp Lung Res*, 2020, 46(1/2): 1-10. PMID: 31920140. DOI: 10.1080/01902148.2019.1711464.
- [31] Global Initiative for Asthma. Pocket guide for asthma management and prevention[EB/OL]. [2023-12-22]. <https://ginasthma.org/pocket-guide-for-asthma-management-and-prevention/>.
- [32] Comberiati P, McCormack K, Malka-Rais J, et al. Proportion of severe asthma patients eligible for mepolizumab therapy by age and age of onset of asthma[J]. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2019, 7(8): 2689-2696.e2. PMID: 31201938. DOI: 10.1016/j.jaip.2019.05.053.
- [33] Cottini M, Lombardi C, Berti A, et al. Small-airway dysfunction in paediatric asthma[J]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2021, 21(2): 128-134. PMID: 33620881. DOI: 10.1097/ACI.0000000000000728.
- [34] Calzetta L, Aiello M, Frizzelli A, et al. Small airways in asthma: from bench-to-bedside[J]. *Minerva Med*, 2022, 113(1): 79-93. PMID: 33496163. DOI: 10.23736/S0026-4806.21.07268-2.

(本文编辑: 王颖)

(版权所有©2024 中国当代儿科杂志)