

# 哮喘儿童吸入糖皮质激素疗效与白三烯水平的相关性探讨

吴婕翎<sup>1</sup>, 陈爱欢<sup>2</sup>, 彭秋莹<sup>3</sup>, 陈荣昌<sup>2</sup>, 钟南山<sup>2</sup>

(1. 广州医学院附属广东省妇女儿童医院, 广东 广州 510010; 2. 广州医学院第一附属医院  
广州呼吸疾病研究所, 广东 广州 510120; 3. 广州市番禺区何贤医院, 广东 广州 511400)

**[摘要]** **目的** 探讨哮喘儿童半胱氨酰白三烯合成与分泌水平与吸入糖皮质激素(ICS)疗效个体差异的相关性。**方法** 32例5~12岁已规律使用ICS 6个月以上非急性发作期哮喘儿童,按病情控制程度分为ICS控制良好组(14例)与ICS控制不良组(18例),取10例健康儿童作为对照组,比较3组儿童外周血多形核白细胞(PMNL)白三烯C<sub>4</sub>合成酶(LTC<sub>4</sub>S)mRNA表达与尿白三烯E<sub>4</sub>(LTE<sub>4</sub>)分泌水平。LTC<sub>4</sub>S mRNA表达水平以qCt值表示,qCt值与基因表达水平呈负相关。**结果** 哮喘儿童组PMNL LTC<sub>4</sub>S mRNA表达(qCt值:1.12±0.27)明显高于对照组(qCt值:1.42±0.12),P<0.05。ICS控制不良组PMNL LTC<sub>4</sub>S mRNA表达水平最高(qCt值:1.03±0.17),与ICS控制良好组(qCt值:1.24±0.33)和健康对照组(qCt值:1.42±0.12)比较差异均有显著性意义(分别P<0.05和P<0.01)。3组间尿LTE<sub>4</sub>比较差异无显著性意义。**结论** 哮喘儿童外周血LTC<sub>4</sub>S mRNA表达水平增高,且规范使用ICS控制不良患儿显著高于ICS控制良好患儿,提示体内白三烯水平增高可能与ICS控制不良有关。  
[中国当代儿科杂志,2009,11(6):441-444]

**[关键词]** 哮喘;白三烯;吸入糖皮质激素;儿童

**[中图分类号]** R562.2<sup>+</sup>5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2009)06-0441-04

## Relationship between the efficacy of inhaled corticosteroids and the leukotriene expression in children with asthma

WU Jie-Ling, CHEN Ai-Huan, PENG Qiu-Ying, CHEN Rong-Chang, ZHONG Nan-Shan. Guangzhou Institute of Respiratory Disease, First Hospital Affiliated to Guangzhou Medical College, Guangzhou 510120, China (Chen A-H, Email: chaih163@163.com)

**Abstract: Objective** To evaluate the relationship between leukotriene expression in blood polymorphonuclear leukocytes (PMNL) and the efficacy of inhaled corticosteroids (ICS) in children with asthma. **Methods** Thirty-two children with asthma (5-12 years) and ten healthy children (control group) were enrolled. The asthmatic children were subdivided into ICS well-controlled and ICS poorly-controlled groups based on their clinical symptoms and lung function. The level of leukotriene C<sub>4</sub> synthase (LTC<sub>4</sub>S) mRNA in PMNL was detected by fluorescence quantitative polymerase chain reaction. The level of LTC<sub>4</sub>S mRNA was expressed by the value of qCt, and the value of qCt was diversely correlated with the level of LTC<sub>4</sub>S mRNA expression. The concentration of urinary leukotriene E<sub>4</sub> (LTE<sub>4</sub>) was measured using ELISA. **Results** The expression of LTC<sub>4</sub>S mRNA in PMNL was significantly higher in children with asthma (qCt: 1.12±0.27) than that in the control group (qCt: 1.42±0.12; P<0.05). The expression of LTC<sub>4</sub>S mRNA in PMNL in the ICS poorly-controlled group (qCt: 1.03±0.17) was significantly higher than that in the ICS well-controlled group (qCt: 1.24±0.33; P<0.05) and the control group (1.42±0.12; P<0.01). There was no significant difference in the level of urinary LTE<sub>4</sub> among the the ICS poorly-controlled, the ICS well-controlled and the control groups. **Conclusions** LTC<sub>4</sub>S mRNA expression in PMNL in asthmatic children increases, and the LTC<sub>4</sub>S mRNA expression in the ICS poorly-controlled group is higher than that in the ICS well-controlled group. This suggests that an increased leukotriene expression might be associated with poorly-controlled asthma.  
[Chin J Contemp Pediatr, 2009, 11 (6):441-444]

**Key words:** Asthma; leukotriene; Inhaled corticosteroid; Child

糖皮质激素(GCs)是目前最有效的抗气道炎症药物,吸入糖皮质激素(ICS)是支气管哮喘(以下简

称哮喘)长期规范治疗的首选用药,但临床发现哮喘儿童对ICS的治疗反应具有个体差异,部分患儿

[收稿日期]2008-08-08;[修回日期]2008-10-22

[基金项目]广东省自然科学基金项目(7002399);广州市科学技术局项目(2005j1-c0305);广州市教育局项目(1042)。

[作者简介]吴婕翎,女,硕士,副主任医师。主攻方向:儿童呼吸系统方向。

[通讯作者]陈爱欢,女,教授,广州医学院第一附属医院广州呼吸疾病研究所,邮编:510120。

尽管长期规律使用 ICS,但病情仍迁延反复,推测该部分患儿可能体内存在不能被 GCs 有效抑制的某种(些)炎症介质。半胱氨酰白三烯(CysLTs)是参与哮喘气道炎症与重塑的重要介质,且目前有研究提示 GCs 不能有效抑制体内 CysLTs 合成与释放<sup>[1,2]</sup>,因此有理由推测,CysLTs 表达和合成水平的个体差异可能是决定哮喘儿童 ICS 疗效的因素之一,但目前缺乏相关的研究。本研究拟比较 ICS 控制良好与控制不良两组哮喘儿童体内 CysLTs 表达与分泌水平,了解体内 CysLTs 水平的高低是否是决定哮喘儿童 ICS 疗效个体差异的主要因素之一,可望为哮喘患儿最佳联合用药方案的选择提供理论依据。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

选取 2005 年 12 月~2006 年 4 月来我院呼吸专

科门诊就诊的 5~12 岁非急性发作期哮喘儿童 32 例,均已规律使用 ICS 6 个月以上,符合 2003 年全国儿科哮喘协作组制定的《儿童支气管哮喘防治常规(试行)》诊断标准<sup>[3]</sup>,近 4 周末口服 GCs 及白三烯调节剂(LTs 调节剂),肝肾功正常。入选患儿按病情控制程度分为 ICS 控制良好组(14 例)和 ICS 控制不良组(18 例)。选取 5~12 岁健康儿童 10 例作为健康对照组。哮喘控制良好定义为:近 8 周无咳嗽和气喘症状且肺功能正常。排除标准:(1)哮喘儿童组:近 4 周有急性感染或症状加重或因喘息发作需要急诊就医者;(2)正常儿童组:近 4 周有急性感染或先天性或后天性免疫功能不全者。ICS 控制良好组和 ICS 控制不良组两组患儿的年龄、性别、病程、ICS 剂量及使用时间比较差异均无显著性意义,见表 1。哮喘儿童组(ICS 控制良好组+ICS 控制不良组)与健康对照组儿童的年龄、性别构成差异无显著性意义。

表 1 ICS 控制良好组及 ICS 控制不良组一般情况比较

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

组别	例数	年龄(岁)	性别(男/女)	病程(年)	ICS 剂量( $\mu\text{g}/\text{d}$ )	ICS 使用时间(月)
ICS 控制良好组	14	9.0 ± 1.9	10/4	5.0 ± 3.2	392.9 ± 61.6	24.0 ± 19.9
ICS 控制不良组	18	8.8 ± 1.9	11/7	4.9 ± 2.8	422.2 ± 135.3	26.2 ± 32.8
<i>t</i> 值		0.373	0.261	0.551	0.252	0.657
<i>P</i> 值		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

### 1.2 研究方法

哮喘患儿及健康对照组儿童均于 8~10 am 留取外周 EDTA 抗凝全血 3 mL,2 h 内用 PolymorphPred 细胞分离液(Axis-Shield 公司,挪威)分离出外周血多型核白细胞(PMNL),抽提总 RNA 并逆转录为 cDNA(Stratagene 公司,美国),-20℃ 保存,待用实时荧光定量 PCR(FQ-PCR)方法检测白三烯 C<sub>4</sub> 合成酶(LTC<sub>4</sub>S)mRNA 表达水平。同时留取尿液 5 mL,-20℃ 保存,待用竞争性 ELISA 法检测尿白三烯 E<sub>4</sub>(LTE<sub>4</sub>)水平(Cayman 公司,美国)。

FQ-PCR 法由本实验室构建(Taqman 探针与 LATaq 酶购自 Takara 公司,大连)。LTC<sub>4</sub>S 上游引物:5'-TACCCGAGCCCAGGTGAACCTG-3',下游引物:5'-CGAACAGGTAGACCAGGCCG-3',Taqman 探针:5'-(FAM)-CTTCCCCTGTTCTCCGCCACGC(Eclipse)-3'; $\beta$ -actin 上游引物:5'-GACTACCTCATGAAGATCCTCACC-3',下游引物:5'-TCTCCTTAATGTCCAGCAGGATT-3',Taqman 探针:5'-(FAM)-CGGCTACAGCTTCACCACCACGGC(Eclipse)-3'。反应条件:起始变性 95℃ 5 min,一个循环;变性 94℃ 30 s,复性 60℃ 20 s,延伸 72℃ 40 s,共 40 个循环,设 60℃

为荧光收集点,通过 ROTORGENE 计算软件,按照标准曲线计算每个样品的 Ct 值(检测到荧光信号的起始循环数),并与各自的内参  $\beta$ -actin 的 Ct 值校正后得出 qCt 值(目的基因 Ct 值/内参基因 Ct 值),qCt 值与基因表达水平呈负相关。

### 1.3 统计学分析

应用 SPSS 12.0 统计软件包进行统计分析,两组间比较用非配对 *t* 检验,多组间比较应用单因素方差分析(ANOVA)。*P* < 0.05 为差异有显著性意义。

## 2 结果

### 2.1 外周血 LTC<sub>4</sub>S mRNA 及尿 LTE<sub>4</sub> 水平

哮喘儿童组外周血 PMNL LTC<sub>4</sub>S qCt 值(1.12 ± 0.27)明显低于健康对照组儿童(1.42 ± 0.12),即其 LTC<sub>4</sub>S mRNA 表达水平明显高于健康对照组儿童(*t* = -2.164, *P* < 0.05),其中 ICS 控制不良组 PMNL LTC<sub>4</sub>S mRNA 表达水平最高,与 ICS 控制良好组和健康对照组比较差异均有显著性意义,但 ICS 控制良好组和健康对照组之间比较差异无显著性意

义(表2)。哮喘儿童组与健康对照组尿  $LTE_4$  分泌水平差异无显著性意义( $P > 0.05$ ); ICS 控制良好组、ICS 控制不良组及健康对照组之间比较差异也无显著性意义( $P > 0.05$ )。见表2。

### 2.2 ICS 吸入时间对哮喘儿童外周血 $LTC_4S$ mRNA及尿 $LTE_4$ 水平的影响

将哮喘儿童分为规律使用 ICS  $\geq 12$  月与  $< 12$  月两个亚组进行统计学比较,使用 ICS  $\geq 12$  月的哮喘儿童外周血 PMNL  $LTC_4S$  mRNA 表达水平明显低于使用 ICS  $< 12$  月的患儿,但仍显著高于健康对照组,提示长程规范 ICS 治疗可一定程度降低哮喘儿童 CysLTs 合成主要限速酶的表达。两组间尿  $LTE_4$  分泌水平差异无显著性意义。见表3。

状与最大呼气流量(PEF)的改善,尿  $LTE_4$  水平明显下降。但目前多个研究显示,全身用或吸入 GCs 均不能有效抑制体内 LTs 合成与释放。Dworski 等<sup>[1]</sup> 研究发现,变应性哮喘患者口服泼尼松 60 mg/d,持续1周,其支气管肺泡灌洗液(BALF)中  $LTC_4$  和  $LTD_4$  基础水平和抗原刺激后水平均没有明显下降,尿中  $LTE_4$  的基础水平和抗原刺激后水平亦无显著变化。O'Shaughnessy 等<sup>[2]</sup> 亦观察了吸入 GCs 对尿  $LTE_4$  的影响,结果显示10例轻度变应性哮喘患者吸入 FP (1 000  $\mu\text{g}/\text{d}$ ) 2周后,抗原吸入所致的早期及迟发哮喘反应明显抑制,气道对组胺的反应性亦明显降低,但尿中  $LTE_4$  分泌水平无明显变化。Vachier 等<sup>[5]</sup> 和 Pavord 等<sup>[6]</sup> 研究也发现,长期口服激素治疗的重度哮喘患者尿  $LTE_4$  及长期吸入高剂量 GCs(平均剂量 1 444  $\mu\text{g}/\text{d}$  布地奈德或等效价的其他 ICS)的持续性哮喘患者诱导痰中 CysLTs 水平仍明显增高。上述多个研究均提示无论全身用或吸入 GCs 均不能有效抑制哮喘患者体内 CysLTs 合成。另外, $LTC_4S$  是 CysLTs 合成的主要限速酶,目前仅查找到一篇关于哮喘儿童  $LTC_4S$  基因表达水平的研究,Zaitsu 等<sup>[7]</sup> 采用 RT-PCR 法检测了哮喘儿童外周血 PMNL  $LTC_4S$  mRNA 表达水平,结果显示非急性发作期哮喘儿童 PMNL  $LTC_4S$  mRNA 表达水平显著高于正常对照儿童。由于只有单个研究,故研究结论尚有待进一步后续研究证实。本研究结果显示,哮喘组儿童 PMNL  $LTC_4S$  mRNA 表达水平明显高于健康对照组,且规律使用 ICS 控制不良哮喘儿童其表达水平明显高于 ICS 控制良好患儿,提示体内  $LTC_4S$  mRNA 表达水平的个体差异可能是影响哮喘儿童 ICS 疗效的主要因素之一,CysLTs 表达和合成水平明显增高可能与个体长程规范使用 ICS 而哮喘控制不良有关。

目前有关哮喘患者尿  $LTE_4$  水平的研究尚未得出统一结果。Taylor 等<sup>[8]</sup> 与 Westcott 等<sup>[9]</sup> 研究显示,哮喘患者在急性发作期尿  $LTE_4$  明显增高,但在缓解期,尿  $LTE_4$  水平与正常对照组比较差异无显著性。Asano 等<sup>[10]</sup> 研究结果虽然显示哮喘患者基础状态下尿  $LTE_4$  水平比正常对照组增高,但也同时指出哮喘人群尿  $LTE_4$  变异范围较大,且与正常对照组间有一定程度的重叠,即部分哮喘患者尿  $LTE_4$  在正常范围内。本研究结果显示,哮喘儿童与健康对照组儿童以及 ICS 控制不良组与 ICS 控制良好组哮喘儿童尿  $LTE_4$  水平差异均无显著性,与 Taylor 等<sup>[8]</sup> 的研究结果相符,提示尿  $LTE_4$  不能敏感反映

表2 三组外周血  $LTC_4S$  mRNA 及尿  $LTE_4$  水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	$LTC_4S$ qCt 值	尿 $LTE_4$ (pg/mg)
健康对照组	10	1.42 $\pm$ 0.12	29.27 $\pm$ 35.45
ICS 控制良好组	14	1.24 $\pm$ 0.33	43.07 $\pm$ 39.64
ICS 控制不良组	18	1.03 $\pm$ 0.17 <sup>a,b</sup>	47.09 $\pm$ 39.64

a:与健康对照组比较, $t = 3.320, P < 0.01$ ; b:与 ICS 控制良好组比较, $t = 2.38, P < 0.05$

表3 ICS 吸入时间对外周血  $LTC_4S$  及尿  $LTE_4$  水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	$LTC_4S$ qCt 值	尿 $LTE_4$ (pg/mg)
健康对照组	10	1.42 $\pm$ 0.12	29.27 $\pm$ 35.45
ICS 使用 $\geq 12$ 月	11	1.21 $\pm$ 0.29 <sup>a</sup>	31.73 $\pm$ 29.28
ICS 使用 $< 12$ 月	21	0.99 $\pm$ 0.14 <sup>b,c</sup>	47.59 $\pm$ 47.97

a:与健康对照组比较, $t = 2.630, P < 0.05$ ; b:与健康对照组比较, $t = 6.933, P < 0.01$ ; c:与 ICS 使用  $\geq 12$  月组比较, $t = 2.488, P < 0.05$

### 3 讨论

ICS 是目前最有效的抗气道炎症药物,是哮喘长期规范治疗的首选用药,多数哮喘患者经过规范使用 ICS 治疗,病情能得到良好控制,但临床发现部分哮喘患者尽管长期规律使用 ICS 治疗,其病情仍未能得到有效控制,哮喘症状迁延反复,肺功能渐进性下降,推测这些对 ICS 治疗反应不良的患者可能体内存在不能被 GCs 有效抑制的某种(些)炎症介质。CysLTs 是参与哮喘气道炎症与重塑的重要介质,目前有关 GCs 能否有效抑制体内 CysLTs 合成与释放尚无一致结论。个别研究显示 GCs 可抑制白三烯(LTs)的合成,如 Tanaka 等<sup>[4]</sup> 研究显示,哮喘患者吸入氟替卡松(FP) 800  $\mu\text{g}/\text{d}$  后2周,随着症

非急性发作期哮喘患者体内 CysLTs 合成与分泌水平的增高,寻找能更准确反映哮喘患者体内尤其气道局部 CysLTs 合成与分泌水平的指标(如诱导痰及呼出气冷凝液中 CysLTs 水平),将具有重要的临床实用价值。

2006 年版《全球哮喘防治倡议》(GINA)推荐联合吸入 ICS 和长效  $\beta_2$ -受体激动剂(LABA)是成人和年长儿童中-重度持续性哮喘首选的长期预防用药方案。但目前有关该方案与其他联合用药方案疗效对比的随机、双盲研究在较小年龄哮喘儿童中尚未取得明确结论,故 2006 年版 GINA 尚未将该方案列为  $\leq 5$  岁儿童中、重度持续哮喘的首选联合用药方案。如上所述,CysLTs 是哮喘发病过程的重要炎症介质,哮喘患者体内 CysLTs 表达和合成增加,GCs 不能有效抑制哮喘患者体内 CysLTs 合成,而且目前有研究提示,CysLTs 在儿童尤其婴幼儿喘息中占有比成人更重要的地位,临床也发现 LTs 调节剂对小龄儿童哮喘有较好的疗效<sup>[11,12]</sup>。因此,对于小龄儿童尤其婴幼儿吸入 ICS 联用口服 LTs 调节剂可能是更好的联合用药途径。

综上所述,哮喘儿童体内 LTC<sub>4</sub>S mRNA 表达水平增高,且规范使用 ICS 控制不良患儿显著高于 ICS 控制良好患儿,提示 CysLTs 表达和合成水平增高可能与 ICS 控制不良有关。对于这部分病人可否使用 LTs 调节剂控制其症状有待进一步的临床研究证实。

#### [参 考 文 献]

[1] Dworski R, Fitzgerald GA, Oates JA, Sheller JR. Effect of oral prednisone on airway inflammatory mediators in atopic asthma [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1994, 149(4 Pt 1): 953-959.  
[2] O'Shaughnessy KM, Wellings R, Gillies B, Fuller RW. Differential effects of fluticasone propionate on allergen-evoked broncho-

constriction and increased urinary leukotriene E<sub>4</sub> excretion [J]. *Am Rev Respir Dis*, 1993, 147(6 Pt 1): 1472-1476.  
[3] 中华医学会儿科学分会呼吸学组. 儿童支气管哮喘防治常规(试行) [J]. *中华儿科杂志*, 2004, 42(2): 100-106.  
[4] Tanaka S, Tanaka H, Abe S. High dose of inhaled fluticasone reduces high levels of urinary leukotriene E<sub>4</sub> in the early morning in mild and moderate nocturnal asthma [J]. *Chest*, 2003, 124(5): 1768-1773.  
[5] Vachier I, Kumlin M, Dahlén SE, Bousquet T, Godard P, Chan-chez P. High levels of urinary leukotriene E<sub>4</sub> excretion in steroid treated patients with severe asthma [J]. *Respir Med*, 2003, 97(11): 1225-1229.  
[6] Pavord ID, Ward R, Woltmann G, Wardlaw AJ, Sheller JR, Dworski R. Induced sputum eicosanoid concentrations in asthma [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1999, 160(6): 1905-1909.  
[7] Zaitsu M, Hamasaki Y, Matsuo M, Ichimaru T, Fujita I, Ishii E. Leukotriene synthesis is increased by transcriptional up-regulation of 5-lipoxygenase, leukotriene A<sub>4</sub> hydrolase, and leukotriene C<sub>4</sub> synthase in asthmatic children [J]. *J Asthma*, 2003, 40(2): 147-154.  
[8] Taylor GW, Taylor I, Black P, Maltby NH, Turner N, Fuller RW, et al. Urinary leukotriene E<sub>4</sub> after antigen challenge and in acute asthma and allergic rhinitis [J]. *Lancet*, 1989, 1(8638): 584-588.  
[9] Westcott JY, Smith HR, Wenzel SE, Larsen GL, Thomas RB, Felsien D. Urinary leukotriene E<sub>4</sub> in patients with asthma. Effect of airways reactivity and sodium cromoglycate [J]. *Am Rev Respir Dis*, 1991, 143(6): 1322-1328.  
[10] Asano K, Lilly CM, O'Donnell WJ, Israel E, Fischer A, Ransil BJ, et al. Diurnal variation of urinary leukotriene E<sub>4</sub> and histamine excretion rates in normal subjects and patients with mild-to-moderate asthma [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 1995, 96(5 Pt 1): 643-651.  
[11] Piedimonte G, Renzetti G, Auais A, Pi Marro A, Tripodi S, Golistro F, et al. Leukotriene synthesis during respiratory syncytial virus bronchiolitis; influence of age and atopy [J]. *Pediatr Pulmonol*, 2005, 40(4): 285-291.  
[12] Szeffler SJ, Phillips BR, Martinez FD, Chinchilli VM, Lemanske RF, Strunk RC, et al. Characterization of within-subject responses to fluticasone and montelukast in childhood asthma [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2005, 115(2): 233-242.

(本文编辑:邓芳明)