

- 征22例分析[J].心电图杂志(电子版),2015,4(1):21.
- 3 赵文玲.209例肺动脉血栓栓塞患者的诊疗体会[J].内蒙古医学杂志,2014,46(12):1444.
  - 4 向光明,张凌云,高宝安,等.中危急性血栓性肺动脉栓塞治疗的研究进展[J].中华老年心脑血管病杂志,2016,18(3):321.
  - 5 龚晶婧.肺动脉栓塞误诊为急性冠状动脉综合征的原因探讨与临床分析[J].中国医药指南,2015,13(31):42.
  - 6 李艳霞,张中和.心电图在鉴别急性肺栓塞与非ST段抬高型急性冠脉综合征中的价值探讨[J].中国现代医药杂志,2012,14(3):13.
  - 7 Kukla P,Dluqopolski R,Krupa E,et al. How often pulmonary embolism mimics acute coronary syndrome[J].Kardiologia Pol,2011,69(3):235-240.
  - 8 杨俊.血浆BNP、D-二聚体及cTnI水平检测在急性肺栓塞诊断中的价值分析[J].中外医学研究,2016,14(2):61.
  - 9 王仁平,于长久,明浩.D-二聚体阴性肺栓塞患者的临床特征探讨[J].中国临床医生杂志,2016,44(5):51.
  - 10 陈磊,吴剑卿.老年肺栓塞诊治进展[J].中华老年病研究电子杂志,2015,2(4):25.
- (收稿日期 2016-11-17)  
(本文编辑 蔡华波)

## ·经验交流·

# 儿童重症肺炎支原体肺炎的细胞因子水平观察

陈灵红 杨德华 林红霞

肺炎支原体(*Mycoplasma pneumoniae*, MP)是儿童社区获得性呼吸道感染的重要病原,约占社区获得性肺炎(community-acquired pneumonia, CAP)的10%~30%不等<sup>[1-3]</sup>。MP的致病机制目前尚不明确,有研究认为MP感染时可通过免疫炎症损害宿主,感染后可导致广泛、多系统、多器官的免疫损伤,严重者可进展为重症肺炎支原体肺炎(*Mycoplasma pneumoniae pneumoniae*, MPP),并发溶血性贫血、心肌炎、脑膜炎和肾炎等肺外疾病<sup>[4]</sup>。近年来,重症MPP患儿病例数越来越多,其生命健康受到严重威胁<sup>[5,6]</sup>。诸多研究报道MP感染患儿细胞因子明显高于正常儿童,且病情越严重,其水平越高<sup>[7-10]</sup>。本次研究通过比较重症MPP患儿和普通MPP患儿的临床特征和细胞因子水平,探讨细胞因子与重症MPP的关联,为早期识别和治疗儿童重症MPP提供可行性的检测指标。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料 本次研究为回顾性研究,选取温岭

市第一人民医院2012年1月至2015年12月收治的MPP患儿,均符合以下条件:①肺炎诊断标准:根据第八版《诸福棠实用儿科学》诊断标准,具有呼吸道症状、伴或不伴发热等表现,胸部影像学提示肺部有实质性浸润<sup>[11]</sup>;②MP感染标准:以血清MP特异性抗体免疫球蛋白M阳性和鼻咽吸出物和/或灌洗液经聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)荧光探针法测定MP-DNA阳性;③排除合并其他病原菌感染者。因目前重症MPP尚无统一的诊断标准,本次研究参照赵顺英等<sup>[6,12]</sup>总结的重症MPP临床表现进行诊断:①经规范的大环内酯类抗生素治疗,仍持续高热超过10 d以上、剧烈咳嗽影响睡眠;②影像学表现为双侧或单侧大叶高密度肺实变,合并中、大量胸腔积液,甚至出现坏死性肺炎改变;③合并肝脏、心肌等肺外脏器损害,可发生肺损伤、急性呼吸窘迫综合征;④炎症指标:C反应蛋白(C-reaction protein, CRP)升高超过40 mg/L,中性粒细胞百分数超过年龄组正常高限。具备上述两条或两条以上诊断为重症MPP。排除既往患免疫性疾病患者;近1个月有感染症状,包括呼吸道、消化道、泌尿系统等患者;近期使用激素、免疫蛋白、干扰素等患者。其中重症

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2017.04.021

基金项目:温岭市科技计划项目(2012WLCA0057)

作者单位:317500 浙江台州,温岭市第一人民医院儿科(陈灵红、林红霞);浙江大学医学院(陈灵红、杨德华)

MPP组98例,普通MPP组294例。同时,选取同期来院体检的健康儿童50例作为对照组。重症MPP组中男性52例、女性46例;平均年龄(5.34±1.54)岁。普通MPP组中男性156例、女138例;平均年龄(5.05±2.25)岁。对照组中男性33例、女性17例;平均年龄(5.31±2.25)岁。三组性别、年龄比较,差异均无统计学意义( $P$ 均>0.05)。

## 1.2 方法

1.2.1 标本采集 所有肺炎患儿均在入院当天采集静脉血,进行血常规、CRP检测。采用明胶凝集法检测血清学抗体检测MP、肺炎衣原体、沙眼衣原体、嗜肺军团菌,采用酶联免疫吸附测定法检测细胞因子。采集鼻咽部标本,荧光定量PCR检测肺炎支原体、肺炎衣原体、沙眼衣原体和人疱疹病毒4型的DNA,免疫荧光法检测呼吸道合胞病毒、腺病毒、流感病毒

(A、B型)、副流感病毒(I、II、III型)的抗原。采集痰液行痰培养,并进行肺部影像学检查。

1.2.2 资料收集 收集研究对象的性别、年龄、临床症状、血常规、CRP、血气、肝功能、心肌酶谱、影像学、细胞因子[白细胞介素-2(interleukin-2, IL-2)、IL-4、IL-6、IL-10、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )和 $\gamma$ -干扰素(interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )]。

1.3 统计学方法 应用SPSS 18.0统计学软件进行统计学分析。呈正态分布的计量资料组间比较采用独立样本 $t$ 检验,结果以均值±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示;非正态分布资料采用Mann-Whitney  $U$ 检验,结果以中位数和四分位数[M, (P25~P75)]表示。计数资料采用 $\chi^2$ 检验。设 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 重症MPP组和普通MPP组临床特征比较见表1

表1 重症MPP组和普通MPP组临床特征比较

| 组别       | 发热 / 例 (%) | 咳嗽 / 例 (%) | 咳嗽持续 时间 /d  | 发热持续 时间 /d  | WBC/ $\times 10^9/L$ | 中性粒细胞 百分比 /% | CRP/mg/L            |
|----------|------------|------------|-------------|-------------|----------------------|--------------|---------------------|
| 重症 MPP 组 | 87(88.78)  | 98(100)    | 15.79±4.36* | 11.30±5.09* | 8.48±3.23            | 60.10±14.69  | 37.00(10.75~96.25)* |
| 普通 MPP 组 | 278(94.56) | 291(98.98) | 8.24±4.62   | 9.10±3.97   | 8.66±3.26            | 57.93±14.46  | 15.00(8.00~38.00)   |

注: \*:与普通 MPP 组比较,  $P<0.05$ 。

由表1可见, MPP最常见的临床症状是咳嗽、发热,重症MPP组和普通MPP组出现咳嗽、发热的比例比较,差异均无统计学意义( $\chi^2$ 分别=1.73、2.98,  $P$ 均>0.05)。两组WBC、中性粒细胞百分比比较,差异亦无统计学意义( $t$ 分别=0.48、1.28,  $P$ 均>0.05),两

组在咳嗽、发热持续时间上比较,差异有统计学意义( $t$ 分别=14.17、4.20,  $P$ 均<0.05),两组在CRP上比较,差异亦有统计学意义( $Z=3.79$ ,  $P<0.05$ )。

2.2 三组细胞因子(IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、TNF- $\alpha$ 、INF- $\gamma$ )结果比较见表2

表2 三组细胞因子结果比较/pg/ml

| 组别       | IL-2       | IL-4       | IL-6         | IL-10       | TNF- $\alpha$ | INF- $\gamma$ |
|----------|------------|------------|--------------|-------------|---------------|---------------|
| 重症 MPP 组 | 3.82±0.64  | 3.29±0.64# | 24.02±9.15   | 11.61±4.51# | 2.85±0.84     | 14.94±10.34   |
| 普通 MPP 组 | 3.40±0.84* | 3.39±0.79# | 13.40±0.85** | 11.91±0.85# | 1.72±0.39*    | 8.46±0.44*    |
| 对照组      | 3.23±0.88* | 1.60±0.57* | 7.42±2.80*   | 3.00±0.58*  | 1.64±0.44*    | 7.58±2.76*    |

注: \*:与重症 MPP 组比较,  $P<0.05$ ; #:与对照组比较,  $P<0.05$ 。

由表2可见,重症MPP组、普通MPP组、对照组三组IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、TNF- $\alpha$ 、INF- $\gamma$ 比较,差异均有统计学意义( $F$ 分别=12.33、127.39、292.16、346.57、178.71、68.30,  $P$ 均<0.05)。其中重症MPP组IL-2、IL-6、TNF- $\alpha$ 、INF- $\gamma$ 均明显大于普通MPP组和对照组( $t$ 分别=4.46、19.70、18.02、10.74; 4.65、12.52、9.50、4.94,  $P$ 均<0.05),普通MPP组IL-2、TNF- $\alpha$ 、INF- $\gamma$ 与对照组比较,差异均无统计学意义( $t$ 分别=1.36、1.24、1.17,  $P$ 均>0.05),普通MPP组IL-6明显大于对照组( $t=29.60$ ,  $P<0.05$ )。重症

MPP组IL-4、IL-10和普通MPP组比较,差异无统计学意义( $t$ 分别=1.12、1.08,  $P$ 均>0.05),且均明显大于对照组( $t$ 分别=15.80、15.30; 13.44、71.44,  $P$ 均<0.05)。

2.3 MPP患者不同CRP水平细胞因子结果比较见表3

由表3可见,CRP $\geq 40$ mg/L组的细胞因子IL-2、IL-6、TNF- $\alpha$ 明显高于CRP<40 mg/L组( $Z$ 分别=2.42、4.85、2.97,  $P$ 均<0.05);两组在IL-4、IL-10、INF- $\gamma$ 上比较,差异均无统计学意义( $t=1.39$ ,  $Z$ 分别=0.52、0.67,  $P$ 均>0.05)。

表3 不同CRP水平细胞因子结果比较/pg/ml

| 组别                   | IL-2               | IL-4            | IL-6                  | IL-10                | TNF- $\alpha$      | INF- $\gamma$     |
|----------------------|--------------------|-----------------|-----------------------|----------------------|--------------------|-------------------|
| CRP $\geq$ 40 mg/L 组 | 3.50(3.10 ~ 4.20)* | 3.44 $\pm$ 0.73 | 13.90(13.30 ~ 22.43)* | 11.80(10.85 ~ 12.70) | 2.00(1.63 ~ 2.50)* | 8.50(8.20 ~ 9.88) |
| CRP<40 mg/L 组        | 3.40(3.00 ~ 3.88)  | 3.33 $\pm$ 0.77 | 13.50(12.93 ~ 14.50)  | 11.80(11.20 ~ 12.50) | 1.80(1.50 ~ 2.20)  | 8.50(8.20 ~ 8.90) |

注: \*:与 CRP<40 mg/L 组比较,  $P<0.05$ 。

### 3 讨论

近年来,随着MPP发病率的升高,重症MPP的临床病例也在逐年增加。目前重症MPP的发病原因主要考虑是MP感染后机体产生过度炎症反应<sup>[13]</sup>。在本次研究中也发现重症MPP组的CRP明显高于普通MPP组( $P<0.05$ ),提示存在强烈的炎症反应。细胞因子作为主要的炎症介质,在炎症反应中起重要作用。多项研究表明,细胞因子在重症MPP中起重要作用,且病情越重,其水平越高,故认为临床监测细胞因子水平变化,可用来判断MPP严重程度<sup>[14]</sup>。在本次研究也中发现,一些细胞因子在MPP,特别是重症MPP中明显异常。

IL-2主要由辅助T细胞产生,通过诱导T细胞、B细胞分化,调控免疫应答,具有广泛的调节活性,IL-2活性反应了体内辅助T细胞的功能。多项研究表明在MP感染后可出现IL-2明显升高<sup>[15,16]</sup>,朱翠明等<sup>[17]</sup>通过动物试验发现,IL-2在MP感染早期可激发较强的肺组织炎症。在本次研究中发现,在重症MPP中IL-2明显升高,明显高于普通组和正常儿童( $P<0.05$ ),提示监测IL-2的水平可反映患儿MPP的肺组织炎症情况,为尽早发现重症MPP提供帮助。

IL-6作为重要的促炎症因子,由活化的巨噬细胞、单核细胞和T细胞等产生,是重要的免疫调节因子,主要作用于B淋巴细胞,使其大量繁殖,参与MP感染的免疫损伤,目前大多数文献报道MPP患儿IL-6水平明显高于正常儿童,其水平高低可反映肺部感染程度,也可加强其他炎性因子产生而加重炎性损伤<sup>[18-22]</sup>。Fernandez-Serrano等<sup>[20]</sup>研究发现在重症CAP中IL-6明显高于普通CAP。通过对成人重症和非重症CAP患者的研究,Paats等<sup>[21]</sup>提出IL-6是病情严重程度的生物标记物。在动物试验中发现小鼠在接种MP后1周,肺泡灌洗液、血清、胸腔积液中IL-6水平明显升高<sup>[22]</sup>。本次研究结果也证实IL-6在MP感染患者中明显高于正常对照组( $P<0.05$ ),且在重症MPP组中明显高于普通MPP组( $P<0.05$ )。刘金荣等<sup>[23]</sup>研究发现在重症MPP中CRP明显增高,并且认为患儿CRP $\geq$ 40 mg/L可预测重症MPP发生。本次研究根据CRP值的不同分成两组比较发现,在CRP $\geq$

40 mg/L组的IL-6明显高于CRP<40 mg/L组( $P<0.05$ ),也进一步提示IL-6在重症MPP发病机制中发挥重要作用。因此对于重症MPP患儿,在检查CRP的同时,检测IL-6的水平,有利于评估病情的严重程度。

TNF- $\alpha$ 是单核-巨噬细胞系统产生的一种蛋白质,它不仅是一种有效的肿瘤杀伤因子,也是机体炎症及免疫应答反应的重要调节因子<sup>[24]</sup>。Ríos等<sup>[25]</sup>研究发现TNF- $\alpha$ 与MP感染的严重程度有关,考虑可能与TNF- $\alpha$ 增强巨噬细胞和自然杀伤细胞的细胞毒性作用有关。本次研究结果显示重症MPP患儿的TNF- $\alpha$ 明显高于普通MPP患儿( $P<0.05$ ),提示在重症MPP炎症损伤过程中可能存在巨噬细胞和自然杀伤细胞的细胞毒性作用。

INF- $\gamma$ 有抑制病毒复制、增强巨噬细胞活性、参与B细胞抗体类别转换和抑制Th2繁殖的作用,并且在迟发性变态反应中发挥各种调节效应<sup>[26]</sup>。Paats等<sup>[21]</sup>研究发现INF- $\gamma$ 作为一种促炎性细胞因子,在成人重症CAP中明显增加,在本次研究中也发现类似情况。临床上一般将INF- $\gamma$ 活性作为Th1细胞的功能指标<sup>[26]</sup>,而IL-4活性作为Th2细胞的功能指标<sup>[15]</sup>。本次研究结果显示重症MPP组INF- $\gamma$ 明显高于普通MPP组( $P<0.05$ ),而两组IL-4水平比较无明显差异,提示在重症MPP时存在严重的Th1/Th2失衡。

综上所述,各种细胞因子参与MPP发病机制,对疾病发病过程及预后有着重大影响。通过检测细胞因子,尽早发现重症MPP,给予早期免疫干预,可以阻止疾病进一步发展恶化,促进病情恢复。通过深入研究多种细胞因子在重症MPP中的作用,可进一步明确重症MPP的发病机制,为临床治疗重症MPP提供新的思路。由于本次研究是回顾性研究,研究对象仅来自一家医院,因此,尚需大样本、高质量的多中心临床试验进一步验证。

### 参考文献

- Xu YC, Zhu LJ, Xu D, et al. Epidemiological characteristics and meteorological factors of childhood Mycoplasma pneumoniae pneumonia in Hangzhou[J]. World J Pediatr, 2011, 7(3): 240-244.

- 2 Michelow IC, Olsen K, Lozano J, et al. Epidemiology and clinical characteristics of community-acquired pneumonia in hospitalized children[J]. *Pediatrics*, 2004, 113(4): 701-707.
- 3 Waites KB, Talkington DF. *Mycoplasma pneumoniae* and its role as a human pathogen [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2004, 17(4): 697-728.
- 4 Othman N, Isaacs D, Daley AJ, et al. *Mycoplasma pneumoniae* infection in a clinical setting [J]. *Pediatr Int*, 2008, 50(5): 662-666.
- 5 Ding S, Wang X, Chen W. Decreased Interleukin-10 Responses in Children with Severe *Mycoplasma pneumoniae* Pneumonia[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0146397.
- 6 赵顺英, 马云, 张桂芳, 等. 儿童重症肺炎支原体肺炎11例临床分析[J]. *中国实用儿科杂志*, 2003, 18(7): 414-416.
- 7 Hayakawa M, Taguchi H, Kamiya S, et al. Animal model of *Mycoplasma pneumoniae* infection using germfree mice[J]. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2002, 9(3): 669-676.
- 8 Mizukane R, Kadota JJ, Yamaguchi T, et al. An elderly patient with hemophagocytic syndrome due to severe *Mycoplasma pneumoniae* with marked hypercytokinemia [J]. *Respiration*, 2002, 69(1): 87-91.
- 9 Pietsch K, Ehlers S, Jacobs E. Cytokine gene expression in the lungs of BALB/c mice during primary and secondary intranasal infection with *Mycoplasma pneumoniae* [J]. *Microbiology*, 1994, 140 (Pt 8): 2043-2048.
- 10 Tanaka H, Narita M, Teramoto S, et al. Role of interleukin-18 and T-helper type 1 cytokines in the development of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in adults [J]. *Chest*, 2002, 121(5): 1493-1497.
- 11 胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学(8版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 1280-1282.
- 12 袁庄. 肺炎支原体肺炎的诊治 [J]. *中国实用儿科杂志*, 2008, 23(8): 564-572.
- 13 Wang K, Gao M, Yang M, et al. Transcriptome analysis of bronchoalveolar lavage fluid from children with severe *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia reveals novel gene expression and immunodeficiency[J]. *Hum Genomics*, 2017, 11(1): 4.
- 14 尚云晓. 儿童肺炎支原体感染的相关临床问题 [J]. *中国小儿急救医学*, 2010, 17(5): 385-388.
- 15 Wang RS, Jin HX, Shang SQ, et al. Associations of IL-2 and IL-4 Expression and Polymorphisms With the Risks of *Mycoplasma pneumoniae* Infection and Asthma in Children[J]. *Arch Bronconeumol*, 2015, 51(11): 571-578.
- 16 Yan T. Role of anti-inflammatory cytokines in pathogenesis of pediatric *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia [J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2016, 30(2): 541-545.
- 17 朱翠明, 余敏君, 高顺利, 等. 肺炎支原体P1C-IL-2融合基因疫苗鼻饲对小鼠免疫效果的检测 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2013, 29(6): 585-588.
- 18 刘文彬, 王太森, 郑淑梅, 等. 肺炎支原体肺炎免疫功能动态变化 [J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2004, 24(2): 755-757.
- 19 陆国琴, 刘文彬, 贺永. 肺炎支原体肺炎患者IL-2、sIL-2R、IL-6、IL-8动态变化观察 [J]. *西南军医*, 2007, 9(4): 62-63.
- 20 Fernandez-Serrano S, Dorca J, Coromines M, et al. Molecular inflammatory responses measured in blood of patients with severe community-acquired pneumonia [J]. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2003, 10(5): 813-820.
- 21 Paats MS, Bergen IM, Hanselaar WE, et al. Local and systemic cytokine profiles in nonsevere and severe community-acquired pneumonia [J]. *Eur Respir J*, 2013, 41(6): 1378-1385.
- 22 Lee KY. Pediatric respiratory infections by *Mycoplasma pneumoniae* [J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2008, 6(4): 509-521.
- 23 刘金荣, 彭芸, 杨海明, 等. 难治性肺炎支原体肺炎的表现特征和判断指标探讨 [J]. *中华儿科杂志*, 2012, 50(12): 915-918.
- 24 Menendez R, Sahuquillo-Arce JM, Reyes S, et al. Cytokine activation patterns and biomarkers are influenced by microorganisms in community-acquired pneumonia [J]. *Chest*, 2012, 141(6): 1537-1545.
- 25 Ríos AM, Mejías A, Chávez-Bueno S, et al. Impact of cethromycin (ABT-773) therapy on microbiological, histologic, immunologic, and respiratory indices in a murine model of *Mycoplasma pneumoniae* lower respiratory infection[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(8): 2897-2904.
- 26 Yerkovich ST, Wikstrom ME, Suriyaarachchi D, et al. Postnatal development of monocyte cytokine responses to bacterial lipopolysaccharide [J]. *Pediatr Res*, 2007, 62(5): 547-552.

(收稿日期 2016-09-23)

(本文编辑 蔡华波)