

DOI:10.16781/j.0258-879x.2016.04.0521

• 研究简报 •

肺炎支原体感染与儿童继发过敏的相关性研究

邵文霞^{1,2}, 叶青³, 王青青^{1*}, 王贤军²

1. 浙江大学医学院免疫研究所, 杭州 310058
2. 杭州市第一人民医院检验科, 杭州 310006
3. 浙江大学医学院附属儿童医院实验检验中心, 杭州 310005

[关键词]肺炎支原体; 过敏; 免疫调节; 免疫球蛋白 E

[中图分类号]R 563.13 [文献标志码]B [文章编号]0258-879X(2016)04-0521-03

Relationship between *Mycoplasma pneumoniae* infection and secondary allergic diseases in children

SHAO Wen-xia^{1,2}, YE Qing³, WANG Qing-qing^{1*}, WANG Xian-jun²

1. Department of Immunology, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, Zhejiang, China
2. Clinical Laboratory, First People’s Hospital of Hangzhou, Hangzhou 310006, Zhejiang, China
3. Clinical Laboratory, The Children’s Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310005, Zhejiang, China

[Key words]*Mycoplasma pneumoniae*; allergy; immune regulation; immunoglobulin E

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2016, 37(4): 521-523]

肺炎支原体是一种细胞外致病菌,它黏附在呼吸道黏膜的纤毛上皮细胞上,引起呼吸道黏膜损伤^[1]。肺炎支原体是引起儿童肺炎的常见致病菌之一^[2]。超过40%的社区获得性肺炎是由肺炎支原体引起^[3-4]。4~5岁的儿童最容易感染肺炎支原体,并且肺炎支原体一般每3~4年爆发流行一次^[4]。临床上发现肺炎支原体感染的儿童特异性地表现为阵发性咳嗽,且常常并发I型超敏反应,例如过敏性鼻炎和哮喘^[5-6]。

为了阐明肺炎支原体感染和I型超敏反应之间的关联及其中的机制,本研究前瞻性的检测分析了肺炎支原体患儿血液中细胞因子谱的变化及免疫球蛋白E(IgE)水平。现将结果报告如下。

1 对象和方法

1.1 研究对象 本研究收集了2012年1月到2013年12月期间在浙江大学医学院附属儿童医院呼吸科住院的268例肺炎支原体感染患者,年龄中位数为3.1

岁,年龄范围为0.3~14.3岁,男、女人数分别为140人和128人。111例血流感染患者作为不同的病源对照,年龄中位数为2.9岁,年龄范围为0.1~11.1岁,男、女人数分别为60人和51人;革兰阴性菌引起的血流感染68例,其中最常见的致病菌是大肠埃希菌、粘质沙雷菌和肺炎克雷伯菌;革兰阳性菌引起的血流感染43例,其中最常见的致病菌是表面葡萄球菌、人葡萄球菌和肺炎链球菌。33例健康儿童作为健康对照,年龄中位数为3.0岁,年龄范围0.03~11.5岁,男、女人数分别为19人和14人。这3组研究对象的年龄($P=0.572$)和性别($P=0.825$)分布间的差异无统计学意义。

该研究获得了浙江大学医学院附属儿童医院伦理委员会的批准,并且取得了相关患儿家属的知情同意。研究对象纳入标准:(1)年龄小于18周岁;(2)临床诊断为肺炎支原体肺炎。肺炎的诊断基于影像学检查及患儿的临床症状和体征,典型的临床表现包括阵发

[收稿日期]2015-10-07 [接受日期]2015-12-22

[基金项目]国家自然科学基金青年项目(81501760),浙江省自然科学基金青年项目(LQ16H050002),浙江省卫生计生委科技计划项目(2015KYB191). Supported by Youth Program of National Natural Science Foundation of China (81501760), Youth Program of Natural Science Foundation of Zhejiang (LQ16H050002), Project of Health and Family Planning Commission of Zhejiang Province (2015KYB191).

[作者简介]邵文霞,检验师. E-mail: yeqingkaoyan@163.com

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 0571-88208019, E-mail: wqq@zju.edu.cn

性哮喘、呼吸困难、发热和啰音。肺炎支原体的病原学检查通过 PCR 检测痰液中的肺炎支原体 DNA 确定,痰标本通过吸痰取得。研究对象排除标准:通过平行检测,将感染其他常见病原体的患儿及有过敏史或者过敏家族史的患儿排除。本研究采用荧光免疫法检测呼吸道病毒,包括腺病毒、呼吸道合胞病毒、流感病毒和副流感病毒;采用酶联免疫吸附法检测 EB 病毒;通过血培养和痰培养检测细菌;通过 PCR 检测肺炎衣原体和沙眼衣原体。血流感染的诊断都通过血培养证实。为了避免污染引起的假阳性结果,特别是当血培养检测到凝固酶阴性的葡萄球菌时,只有在不同的采血部位得到同样的培养结果或者多次培养得到同样的结果,才认为结果可靠。所有的标本在入院时立即采集。

1.2 血清细胞因子和 IgE 水平检测 血标本在完全凝固后,用 $1\,000\times g$ 的离心力在 20°C 的温度下离心 20 min,吸取血清立即用流式细胞仪(320 flow cytometry)检测 Th1/Th2 细胞因子。白介素(IL)-2、IL-4、IL-6、IL-10、肿瘤坏死因子(TNF)- α 和干扰素(IFN)- γ 采用美国 BD 公司的人类 Th1/Th2 细胞因子试剂盒进行定

量检测。这 6 种细胞因子的最低和最高检测限分别为 1.0 和 $5\,000\text{ pg/mL}$ 。具体步骤见文献[7]。血清总 IgE 水平通过美国法玛西亚公司的总 IgE 试剂盒完成,具体步骤见文献[8]。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 18.0 统计软件分析数据。两组分类变量之间的比较采用 χ^2 检验或者精确检验,3 组分类变量之间的比较采用 Kruskal-Wallis H 检验,两组连续变量之间的比较采用 Mann-Whitney U 检验。检验水准(α)为 0.05。

2 结 果

表 1 可见,与健康对照组比较,血流感染组患儿血清中 IL-6、IL-10 水平升高($P<0.001$),而 IL-4、IgE 水平差异无统计学意义。与健康对照组比较,肺炎支原体感染组患儿 IL-2 水平下降($P<0.001$);而 IL-4、IL-6、IL-10、IFN- γ 、IgE 水平均上升,差异均有统计学意义($P<0.001$)。与血流感染组比较,肺炎支原体感染组患儿 IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IFN- γ 和 IgE 水平均上升($P<0.01$)。

表 1 健康对照组、血流感染组和肺炎支原体感染组患儿血清细胞因子和 IgE 水平

	健康对照组 $n=33$	血流感染组 $n=111$	肺炎支原体感染组 $n=268$	P 值 ^a	P 值 ^b	P 值 ^c
IL-2 $\rho_{\text{B}}/(\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1})$	5.8(2.7~7.8)	2.7(1.0~16.9)	4.1(1.0~5.8)	<0.001	<0.001	<0.001
IL-4 $\rho_{\text{B}}/(\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1})$	2.7(1.1~4.0)	3.0(1.0~7.5)	3.5(1.8~7.2)	0.333	<0.001	<0.001
IL-6 $\rho_{\text{B}}/(\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1})$	4.1(1.2~8.5)	91.2(2.8~2 605.8)	12.9(1.1~180.2)	<0.001	<0.001	<0.001
IL-10 $\rho_{\text{B}}/(\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1})$	2.4(1.3~9.9)	9.1(1.2~1 783.2)	4.6(1.9~41.0)	<0.001	<0.001	<0.001
TNF- α $\rho_{\text{B}}/(\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1})$	2.3(1.1~3.1)	2.5(1.0~99.9)	2.1(1.0~48.0)	0.054	0.78	0.078
IFN- γ $\rho_{\text{B}}/(\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1})$	4.6(3.3~7.8)	8.1(1.7~102.2)	10.4(2.8~177.1)	<0.001	<0.001	0.007
IgE $\rho_{\text{B}}/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	6.3(4.0~26.0)	9.0(3.0~21.0)	72.4(8.0~580.0)	0.384	<0.001	<0.001

IL-2、IL-4、IL-6、IL-10:白介素 2、4、6、10;TNF- α :肿瘤坏死因子 α ;IFN- γ :干扰素 γ ;IgE:免疫球蛋白 E。^a:健康对照组与血流感染组比较;^b:健康对照组与肺炎支原体感染组比较;^c:血流感染组与肺炎支原体感染组比较。各组数据以中位数(最小值~最大值)表示

3 讨 论

IgE 过量生成在过敏性疾病的发病机制中起了关键作用^[9]。当过敏原初次进入机体后,机体内一小群浆细胞分泌少量的 IgE 抗体,这些抗体与嗜碱细胞和肥大细胞上的 IgE 高亲和力受体(Fc ϵ RI receptors)紧密结合,导致这些效应细胞致敏;当机体再次遇到相同的过敏原时,结合在嗜碱细胞和肥大细胞上的 IgE 抗体发生交联,促使嗜碱细胞和肥大细胞脱颗粒,释放大量的组胺和其它炎症介质,使患者表现出一系列的过敏症状^[10]。临床上我们发现肺炎支原体感染的儿童更

容易继发过敏反应,这与一些文献的报道一致^[5-6]。为此,我们进一步检测肺炎支原体感染患儿的血清 IgE 水平,结果显示肺炎支原体感染后的患儿血清 IgE 水平明显升高。由此可见,肺炎支原体感染是继发过敏性疾病的危险因素,且感染后以 IgE 介导的 I 型超敏反应为主。

阐明肺炎支原体感染时 IgE 升高的机制很关键。大量的研究表明 IL-4 在抗体的类别转化中起了重要的作用,IL-4 升高将有利于 IgE 型抗体的产生^[11-12]。IL-4 由 Th2 细胞分泌产生。Th1 细胞分泌的 IFN- γ 能够下调 Th2 细胞引起的免疫反应,从而抑制过敏反应;

相反的, Th2 细胞分泌的 IL-4 能抑制 Th1 细胞分泌细胞因子, 从而强化体液免疫应答, 有利于过敏反应的发生^[13]。因此, 阐明肺炎支原体感染患儿血清中 Th1 类细胞因子和 Th2 类细胞因子水平的变化, 有利于揭示患儿血清 IgE 升高的机制。

本研究结果显示, 较健康对照组, 肺炎支原体感染组患儿的 IL-4、IL-6 和 IL-10 等 Th2 类细胞因子水平升高($P < 0.01$)。较健康对照组, 血流感染组患儿的 IL-6 和 IL-10 水平升高($P < 0.01$), 但是 IL-4 水平在两组间的差异却无统计学意义。3 组间只有肺炎支原体感染组患儿的血清 IgE 水平发生了明显的升高, 由此可见 IL-4 水平上调是血清 IgE 水平升高的决定因素。表明肺炎支原体感染的过程中发生了 Th1/Th2 失衡。

简言之, 肺炎支原体黏附于患儿呼吸道上皮细胞上, 招募了大批淋巴细胞和其他免疫细胞, 这些细胞分泌大量的 Th2 类细胞因子, 促进 Th0 细胞向 Th2 细胞转化, 使得体液免疫应答占优势, 促进淋巴细胞转化成 B 细胞分泌抗体。由于 IL-4 表达增高使得生成的抗体发生了类别转化, 生成过量的 IgE 型抗体, 这些 IgE 型抗体介导了患儿继发的 I 型超敏反应。

[参考文献]

[1] Chalker V, Stocki T, Litt D, Bermingham A, Watson J, Fleming D, et al. Increased detection of *Mycoplasma pneumoniae* infection in children in England and Wales, October 2011 to January 2012 [J]. Euro Surveill, 2012, 17(6). pii: 20081.

[2] He X Y, Wang X B, Zhang R, Yuan Z J, Tan J J, Peng B, et al. Investigation of *Mycoplasma pneumoniae* infection in pediatric population from 12,025 cases with respiratory infection [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2013, 75: 22-27.

[3] 曲久鑫, 谷 丽, 吴 疆, 李晓莉, 董建平, 蒲增惠. 北京地区成年人社区获得性肺炎中肺炎支原体急性感染的调查[J]. 中华流行病学杂志, 2012, 33: 545-546.

[4] Blystad H, Ånestad G, Vestrheim D F, Madsen S, Rønning K. Increased incidence of *Mycoplasma pneumoniae* infection in Norway 2011 [J]. Euro Surveill, 2012, 17(5). pii: 20074.

[5] Chu H W, Honour J M, Rawlinson C A, Harbeck R J, Martin R J. Effects of respiratory *Mycoplasma*

pneumoniae infection on allergen-induced bronchial hyperresponsiveness and lung inflammation in mice[J]. Infect Immun, 2003, 71: 1520-1526.

[6] Medina J L, Coalson J J, Brooks E G, Winter V T, Chaparro A, Principe M F, et al. *Mycoplasma pneumoniae* CARDS toxin induces pulmonary eosinophilic and lymphocytic inflammation [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2012, 46: 815-822.

[7] Tang Y, Xu X, Song H, Yang S, Shi S, Wei J, et al. Early diagnostic and prognostic significance of a specific Th1/Th2 cytokine pattern in children with haemophagocytic syndrome [J]. Br J Haematol, 2008, 143: 84-91.

[8] Woschnagg C, Rubin J, Venge P. Eosinophil cationic protein (ECP) is processed during secretion [J]. J Immunol, 2009, 183: 3949-3954.

[9] Le T M, Bublin M, Breiteneder H, Fernández-Rivas M, Asero R, Ballmer-Weber B, et al. Kiwifruit allergy across Europe: clinical manifestation and IgE recognition patterns to kiwifruit allergens [J]. J Allergy Clin Immunol, 2013, 131: 164-171.

[10] Antó J M, Pinart M, Akdis M, Auffray C, Bachert C, Basagaña X, et al; WHO Collaborating Centre on Asthma and Rhinitis (Montpellier). Understanding the complexity of IgE-related phenotypes from childhood to young adulthood: a Mechanisms of the Development of Allergy (MeDALL) seminar [J]. J Allergy Clin Immunol, 2012, 129: 943-954. e4.

[11] Kitayama D, Sakamoto A, Arima M, Hatano M, Miyazaki M, Tokuhisa T. A role for Bcl6 in sequential class switch recombination to IgE in B cells stimulated with IL-4 and IL-21 [J]. Mol Immunol, 2008, 45: 1337-1345.

[12] Lim A, Luderschmidt S, Weidinger A, Schnopp C, Ring J, Hein R, et al. The IgE repertoire in PBMCs of atopic patients is characterized by individual rearrangements without variable region of the heavy immunoglobulin chain bias [J]. J Allergy Clin Immunol, 2007, 120: 696-706.

[13] Rachid R, Umetsu D T. Immunological mechanisms for desensitization and tolerance in food allergy [J]. Semin Immunopathol, 2012, 34: 689-702.

[本文编辑] 魏学丽