

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.011.014
文章编号: 1005-8982 (2018) 011-0075-04

喘息患儿肠道菌变迁与肠局部免疫 及炎症的相关性研究

曹向可¹, 钱庆增², 王维³, 王彬⁴, 刘海燕²

(华北理工大学 1. 生命科学学院, 2. 公共卫生学院, 河北 唐山 063210; 3. 河北省唐山市妇幼保健院 儿科, 河北 唐山 063000; 4. 华北理工大学附属医院 儿科, 河北 唐山 063000)

摘要: **目的** 探讨喘息患儿肠道菌变迁与肠局部免疫及炎症的相关性。**方法** 选取 2013 年 10 月-2016 年 4 月于河北省唐山市妇幼保健院诊治的 <3 岁喘息患儿 178 例作为观察组, 选取唐山妇幼保健院同期健康体检儿童 178 例作为对照组, 行肠道菌群 (双歧杆菌、大肠杆菌及 B/E 值), T 淋巴细胞 (CD_4^+ 、 CD_8^+ 及 CD_4^+/CD_8^+), 免疫球蛋白 (IgA), 炎症因子 (白介素-17、C 反应蛋白及白细胞计数), 及细胞因子 (转化生长因子- β_1) 检测。**结果** 观察组患儿双歧杆菌、B/E 值、 CD_4^+ 、 CD_8^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 、IgA 及转化生长因子- β_1 低于对照组 ($P < 0.05$)。双歧杆菌与 CD_4^+ 、 CD_8^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 、IgA 及转化生长因子- β_1 呈正相关 ($P < 0.05$), 与白介素-17、C 反应蛋白、白细胞计数呈负相关 ($P < 0.05$)。大肠杆菌与 CD_4^+ 、 CD_8^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 、IgA 及转化生长因子- β_1 呈负相关 ($P < 0.05$), 与白介素-17、C 反应蛋白及白细胞计数呈正相关 ($P < 0.05$)。**结论** <3 岁喘息患儿肠道炎症反应增加可能与双歧杆菌及分泌型免疫球蛋白 A 减少有关, 其具体作用机制有待进一步研究。

关键词: 喘息; 肠道菌; 免疫; 炎症; 相关性

中图分类号: R378.2

文献标识码: A

Correlations of intestinal bacteria changes with intestinal local immunity and inflammation in asthmatic children

Xiang-ke Cao¹, Qing-zeng Qian², Wei Wang³, Bin Wang⁴, Hai-yan Liu²

(1. College of Life Science, 2. College of Public Health, North China University of Science and Technology, Tangshan, Hebei 063210, China; 3. Department of Pediatrics, Tangshan Maternal and Child Health Hospital, Tangshan, Hebei 063000, China; 4. Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of North China University of Science and Technology, Tangshan, Hebei 063000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the correlations of intestinal bacteria changes with intestinal local immunity and inflammation in asthmatic children. **Methods** Totally 178 asthmatic children <3 years in Tangshan Maternal and Child Health Hospital from October 2013 to April 2016 were selected as observation group, meanwhile 178 healthy children having physical examination in the same period were selected as control group. Intestinal bacteria (*Bifidobacterium*, *Escherichia coli*, B/E), T lymphocytes (CD_4^+ , CD_8^+ and CD_4^+/CD_8^+), immunoglobulin (IgA), inflammatory cytokines (IL-17, C reactive protein and white blood cell count), and TGF- β_1 were detected. **Results** *Bifidobacterium*, B/E, CD_4^+ , CD_8^+ , CD_4^+/CD_8^+ , IgA and TGF- β_1 in the observation group were statistically lower than those in the control group ($P < 0.05$). *Escherichia coli*, IL-17, C reactive protein, white

收稿日期: 2016-04-06

[通信作者] 刘海燕, E-mail: 971421428@qq.com; Tel: 18031507989

blood cell count in the observation group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). *Bifidobacterium* was in positive correlation with CD_4^+ , CD_8^+ , CD_4^+/CD_8^+ , IgA and TGF- β_1 ($P < 0.05$), and in negative correlation with IL-17, C reactive protein and white blood cell count ($P < 0.05$). *Escherichia coli* was in negative correlation with CD_4^+ , CD_8^+ , CD_4^+/CD_8^+ , IgA and TGF- β_1 ($P < 0.05$), but in positive correlation with IL-17, C reactive protein and white blood cell count ($P < 0.05$). **Conclusions** Increased intestinal inflammation may be related to the reduction of *Bifidobacterium* and secretory IgA in asthmatic children under 3 years. The specific mechanism needs further study.

Keywords: asthma; intestinal bacteria; immunity; inflammation; correlation

喘息是临床常见病症, 高发于 <3 岁患儿^[1-2]。如果不能给予患儿及时有效的对症处理, 有可能形成反复喘息, 进展为哮喘。流行病学研究显示, 婴幼儿期喘息的发病率一直处于高位, 严重影响患儿的健康状况, 及早揭示喘息的发生机制至关重要^[3-4]。本研究探讨喘息患儿肠道菌变迁与肠局部免疫及炎症的相关性, 为患儿的临床治疗提供科学依据, 具有一定的临床价值, 现报道如下。

1 资料与资料

1.1 一般资料

选取 2013 年 10 月 -2016 年 4 月于河北省唐山市妇幼保健院诊治的 <3 岁喘息患儿 178 例作为观察组, 均符合《诸福堂实用儿科学》中喘息的诊断标准^[5]。其中, 男性 102 例, 女性 76 例; 年龄 1 ~ 3 岁, 平均 (2.0 ± 0.6) 岁; 体重 8.1 ~ 17.3 kg, 平均 (12.9 ± 3.4) kg。选取同期于河北省唐山市妇幼保健院体检的健康儿童 178 例作为对照组。其中, 男性 105 例, 女性 73 例; 年龄 1 ~ 3 岁, 平均 (2.1 ± 0.5) 岁; 体重 8.0 ~ 17.5 kg, 平均 (13.0 ± 4.2) kg。纳入标准: 患儿无呼吸道及消化道感染史, 无个人及家庭过敏性疾患, 无其他变态反应性疾病史。排除标准: 入院前使用过糖皮质激素、免疫调节剂治疗的患儿, 患儿存在免疫功能缺陷、活动性肺结核、先天性气道疾病等肺部相关病症, 近期使用过益生菌制剂的患儿。两组年龄、性别、体重比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。所有研究对象均取得家属同意, 签订知情同意书, 并经医院伦理委员会审核通过。

1.2 方法

肠道菌群 [(双歧杆菌、大肠杆菌、肠杆菌科细菌数量值的比值 (以下简称 B/E 值))] 检测: 将新鲜粪便 0.5 g 加入到无菌氯化钠溶液中, 使用法国生物梅里埃公司生产的 ATB 半自动微生物鉴定系统进行

细菌鉴定, 菌种包括双歧杆菌、大肠杆菌, 以每克粪便湿重中菌落形成单位数的对数值表示 lgCFU/g, 然后计算 B/E 值。

T 淋巴细胞 (CD_4^+ 、 CD_8^+ 及 CD_4^+/CD_8^+) 检测: 抽取空腹静脉血 2 ml, 加入到肝素抗凝管中, 采用 ELISA 法测定, 试剂盒购自上海巍樊生物科技有限公司, 严格按照说明书操作。

免疫球蛋白 A (immunoglobulin A, IgA) 检测: 抽取空腹静脉血 2 ml, 加入到肝素抗凝管中, 采用免疫比浊法测定, 试剂盒购自上海科华生物工程股份有限公司, 严格按照说明书操作。

炎症因子 (白介素 -17、C 反应蛋白) 检测: 抽取空腹静脉血 2 ml, 加入到肝素抗凝管中, 采用 ELISA 法测定, 试剂盒购自上海前尘生物科技有限公司, 严格按照说明书操作。同时采用全自动生化分析仪检测, 记录白细胞计数。

转化生长因子 - β_1 检测: 抽取空腹静脉血 2 ml, 加入到肝素抗凝管中, 采用酶联免疫吸附法检测, 试剂盒购自于武汉博士德生物工程有限公司, 严格按照说明书操作。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 统计软件, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 用 t 检验, 相关分析采用 Pearson 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患儿肠道菌群的检测结果比较

观察组患儿双歧杆菌、大肠杆菌及 B/E 值分别为 (6.73 ± 0.94) lgCFU/g、 (8.61 ± 0.72) lgCFU/g 及 (0.78 ± 0.26) 。对照组患儿双歧杆菌、大肠杆菌及 B/E 值分别为 (10.28 ± 1.13) lgCFU/g、 (7.10 ± 0.65) lgCFU/g 及 (1.45 ± 0.23) 。两组患儿双歧杆菌、大肠杆菌及 B/E 值比较, 差异均有统计学意义 ($t = 8.317$ 、

5.127 和 12.674, 均 $P=0.000$), 观察组患儿双歧杆菌、B/E 值低于对照组, 而大肠杆菌高于对照组。

2.2 两组患儿 T 淋巴细胞与免疫球蛋白的检测比较

观察组患儿 CD_4^+ 、 CD_8^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 及 IgA 分别为 $(23.81 \pm 0.57)\%$ 、 $(22.10 \pm 0.76)\%$ 、 (1.08 ± 0.13) 及 (0.64 ± 0.37) g/L。对照组患儿 CD_4^+ 、 CD_8^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 及 IgA 分别为 $(32.75 \pm 0.83)\%$ 、 $(24.92 \pm 1.05)\%$ 、 (1.31 ± 0.20) 及 (1.12 ± 0.42) g/L。两组患儿 CD_4^+ 、 CD_8^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 及 IgA 比较, 差异均有统计学意义 ($t=6.739$ 、 4.276 、 5.129 和 10.502 , 均 $P=0.000$), 观察组患儿 CD_4^+ 、 CD_8^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 及 IgA 低于对照组。

2.3 两组患儿炎症因子与细胞因子的检测结果比较

观察组患儿白介素 -17、C 反应蛋白、白细胞计数及转化生长因子 - β_1 分别为 (179.43 ± 21.69) ng/L、 (13.72 ± 1.20) mg/L、 $(10.26 \pm 1.57) \times 10^9/L$ 和 (73.62 ± 10.34) pg/ml。对照组患儿白介素 -17、C 反应蛋白、白细胞计数及转化生长因子 - β_1 分别为 (103.65 ± 17.81) ng/L、 (2.01 ± 0.45) mg/L、 $(5.13 \pm 0.81) \times 10^9/L$ 和 (112.45 ± 15.73) pg/ml。两组患儿白介素 -17、C 反应蛋白、白细胞计数及转化生长因子 - β_1 比较, 差异有统计学意义 ($t=10.626$ 、 8.903 、 13.541 和 8.403 , 均 $P=0.000$); 观察组患儿白介素 -17、C 反应蛋白、白细胞计数高于对照组, 而转化生长因子 - β_1 低于对照组。

2.4 肠道菌群与各检测指标的相关性分析

双歧杆菌与 CD_4^+ 、 CD_8^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 、IgA 及转化生长因子 - β_1 呈正相关 ($r=0.408$ 、 0.380 、 0.417 、 0.424 和 0.509 , 均 $P=0.000$), 与白介素 -17、C 反应蛋白及白细胞计数呈负相关 ($r=-0.331$ 、 -0.428 和 -0.392 , 均 $P=0.000$)。大肠杆菌与 CD_4^+ 、 CD_8^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 、IgA 及转化生长因子 - β_1 呈负相关 ($r=-0.327$ 、 -0.379 、 -0.293 、 -0.305 和 -0.412 , 均 $P=0.000$), 与白介素 -17、C 反应蛋白及白细胞计数呈正相关 ($r=0.426$ 、 0.382 和 0.463 , 均 $P=0.000$)。

3 讨论

<3 岁喘息患儿是特殊群体, 由于身体机能状况较差, 发育并未完全, 更易成为喘息易感者^[6-7]。不同于成年人的临床治疗, 治疗方案较为棘手, 一旦处理不佳, 就有可能造成病情进一步发展, 会长期影响患儿的身心发育。喘息的病机尚未完全清晰, 如何治疗

便成为了临床医生讨论的热点话题。

诸多研究显示, 喘息患儿体内多存在不同程度的肠道菌群失衡^[8-9]。机体内肠道含有大量肠道菌, 数量是十分惊人的, 可高达人体细胞数量的 10 倍, 这些肠道菌不仅参与了宿主的营养物质吸收, 还参与了宿主免疫系统的发育, 是宿主肠道和免疫系统发育的重要刺激物^[10-11]。

当喘息发作时, 患儿会发生不同程度的缺氧缺血, 会造成肠黏膜上皮细胞紧密连接, 而使得肠黏膜通透性增加, 这会诱使肠道内病原肠道菌聚集。其产生的毒素也将在局部释放, 可直接损害肠黏膜, 造成肠道细菌与内毒素移位, 引起应激反应, 机体肠道内环境改变, 不利于肠道正常菌群定植, 造成肠道微生态失衡。

目前, 肠道菌群主要为双歧杆菌和大肠杆菌, 其中双歧杆菌是 1899 年由法国学者 TISSIER 从母乳营养儿的粪便中分离出的一种厌氧的革兰阳性杆菌, 其分布在胃肠的数量随年龄阶段的生长而减少, 在母乳喂养儿肠道内大量存在, 对婴幼儿有许多好处, 包括营养、免疫及抗感染、抗过敏、抗肿瘤及调整肠道功能等作用, 可以预防腹泻, 减少便秘, 能起到预防和治疗各种肠道疾病的效果。而大肠杆菌是寄生在人体大肠里对人体无害的一种单细胞生物, 正常情况下, 大肠杆菌是无害的, 能竞争性抵御致病菌的进攻, 帮助合成维生素 K2, 与人体是互利共生的关系。只有在机体免疫力降低、肠道长期缺乏刺激等特殊情况下, 大肠杆菌可引起感染, 如腹膜炎、胆囊炎、膀胱炎及腹泻等, 危及患者健康^[12-13]。

本研究结果显示, 观察组 CD_4^+ 、 CD_8^+ 及 CD_4^+/CD_8^+ 低于对照组, 说明喘息患儿的机体免疫能力降低。 CD_4 细胞是人体免疫系统的一种重要免疫细胞, 又称为免疫系统的辅助手, 能指挥身体对抗肠道菌, 能够直接反映人体免疫功能。 CD_8 是作为协同受体的 T 细胞受体的跨膜糖蛋白, 其受体主要表达在表面的细胞毒性 T 细胞, 但也可以发现自然杀伤细胞、皮层胸腺细胞和树突状细胞。

通过分析炎症因子, 观察组白介素 -17、C 反应蛋白及白细胞计数高于对照组, 而转化生长因子 - β_1 低于对照组, 说明喘息患儿的体内存在炎症反应。白介素 -17 是 T 淋巴细胞诱导的炎症反应的早期启动因素之一, 是调节机体炎症反应的关键细胞因子, 白介素 -17 可诱导平滑肌细胞表达白介素 -6 和白介素 -8,

诱导支气管上皮细胞表达白介素-8, 粒细胞集落刺激因子等。C 反应蛋白可以激活补体和加强吞噬细胞的吞噬而起调理作用, 在机体的天然免疫过程中发挥重要的保护作用。白细胞有抵御和消灭外来病菌的作用, 因而认为, 白细胞计数是机体防御系统的重要组成部分。转化生长因子- β_1 属于调节细胞生长和分化的 TGF- β 超家族, 对细胞的生长、分化和免疫功能有重要的调节作用^[14-15]。在机体内, 还可发挥抑制免疫活性细胞的增殖、调节细胞表型、抑制淋巴细胞的分化、抑制细胞因子产生等作用。

经相关性分析, 双歧杆菌与 CD_4^+ 、 CD_8^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 、IgA 及转化生长因子- β_1 呈正相关, 与白介素-17、C 反应蛋白及白细胞计数呈负相关。大肠杆菌与 CD_4^+ 、 CD_8^+ 、 CD_4^+/CD_8^+ 、IgA 及转化生长因子- β_1 呈负相关, 与白介素-17、C 反应蛋白及白细胞计数呈正相关。因而认为, <3 岁喘息患儿肠道炎症反应增加可能与双歧杆菌及分泌型免疫球蛋白 A 减少有关, 其具体作用机制有待进一步研究。

参 考 文 献:

- [1] 陈广道, 陈爱欢. 儿童肺炎支原体感染相关喘息的研究进展 [J]. 中华儿科杂志, 2012, 50(10): 756-759.
- [2] 金蕊, 邱灵芝, 袁文霄, 等. 反复喘息患儿外周血清类黏蛋白 1 样蛋白 3 基因表达水平的意义 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2014, 29(21): 1618-1620.
- [3] 姚苗苗, 王克明, 许群英, 等. 婴幼儿喘息的病因及相关危险因素分析 [J]. 中国当代儿科杂志, 2011, 13(3): 195-198.
- [4] 徐艳娜, 顾剑华, 李永莲, 等. 反复喘息婴幼儿维生素 D3 水平及与 Th1/Th2 细胞平衡变化的相关性研究 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2015, 30(4): 264-266.
- [5] 胡亚美, 江载芳. 诸福堂实用儿科学 [M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1172-1177.
- [6] 方骞, 梁庆红, 郝明明, 等. 喘息样支气管炎患儿肠道菌群变化与 $CD3^+$ $CD8^+$ IL-17 $^+$ 细胞关系的研究 [J]. 河北医科大学学报, 2013, 34(8): 908-911.
- [7] 范飞, 鲍一笑, 华丽, 等. 婴幼儿喘息急性期联合降阶梯治疗方案中氯雷他定的作用 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2013, 28(4): 274-277.
- [8] 韩红. 喘息急性发作期儿童肠道菌群变化与免疫耐受关系研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2010.
- [9] 温玲. 喘息急性发作期儿童肠道微生态学变化及 Th9 细胞作用机制的研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2012.
- [10] YUAN M, SHI D Z, WANG T Y, et al. Transformation of trolloside and isoquercetin by human intestinal flora in vitro[J]. Chin J Nat Med, 2016, 14(3): 220-226.
- [11] YANG X W, WANG N, LI W, et al. Biotransformation of 4,5-O-dicaffeoylquinic acid methyl ester by human intestinal flora and evaluation on their inhibition of NO production and antioxidant activity of the products[J]. Food Chem Toxicol, 2013, 55(1): 297-303.
- [12] 郝明明, 张琳, 方骞, 等. 喘息样支气管炎患儿肠道微生态学变化与免疫耐受关系的研究 [J]. 中国微生态学杂志, 2013, 25(3): 303-305.
- [13] 吴惠强, 陈惠敏. 探析肺炎支原体感染合并喘息患儿的细胞及体液免疫功能的变化 [J]. 中国现代医药杂志, 2015, 23(4): 45-46.
- [14] BIANCHERI P, GIUFFRIDA P, DOCENA G H, et al. The role of transforming growth factor (TGF)- β in modulating the immune response and fibrogenesis in the gut[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2014, 25(1): 45-55.
- [15] LOUBAKI L, CHABOT D, BAZIN R. Involvement of the TNF- α /TGF- β /IDO axis in IVIg-induced immune tolerance[J]. Cytokine, 2015, 71(2): 181-187.

(李科 编辑)