

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.11.024

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.11.024

白三烯 B4 与 25-羟维生素 D3 在反复呼吸道感染学龄前儿童中表达的临床意义

张媛媛¹, 高菲², 贾伟娜¹, 王娇¹

(1. 廊坊市人民医院儿科, 河北 廊坊 065099; 2. 天津市儿童医院呼吸科, 天津 300074)

[摘要] 目的: 探讨白三烯 B4 (leukotriene B4, LTB4) 与 25-羟维生素 D3 在学龄前儿童反复呼吸道感染中的作用。方法: 选取 138 例连续 2 年在本科室就诊的反复呼吸道感染学龄前儿童作为观察组, 同时选取同期体检健康儿童 84 例作为对照组, 对照组性别比例, 年龄与观察组儿童差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。采用 ELISA 检测外周血血清 LTB4 和 25-羟维生素 D3 水平, 并进行相关性分析。以人气道上皮细胞株 H292 为研究对象, 采用 LPS 构建炎症细胞模型, 分析 25-羟维生素 D3 水平对 LTB4 水平的影响。结果: 反复呼吸道感染患儿外周血血清 25-羟维生素 D3 水平显著低于健康对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.001$), 而反复呼吸道感染患儿外周血血清 LTB4 水平显著高于健康对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.001$)。上呼吸道感染平均次数和上呼吸道感染患儿外周血血清 25-羟维生素 D3 呈负相关 ($r = -0.502$, $P = 0.019$); 上呼吸道感染平均次数与上呼吸道感染患儿外周血血清 LTB4 水平呈正相关 ($r = 0.852$, $P < 0.001$); 反复性上呼吸道感染患儿血清 LTB4 和 25-羟维生素 D3 水平呈负相关 ($r = -0.431$, $P = 0.024$)。体外细胞实验结果显示 25-羟维生素 D3 水平能够抑制 LTB4 的水平。结论: 学龄前儿童上呼吸道反复感染中血清 25-羟维生素 D3 水平缺乏能够引起 LTB4 升高。

[关键词] 学龄前儿童; 反复呼吸道感染; 白三烯 B4; 25-羟维生素 D3

Clinical significance of leukotriene B4 and 25-hydroxyvitamin D3 in recurrent respiratory tract infection in preschool children

ZHANG Yuanyuan¹, GAO Fei², JIA Weina¹, WANG Jiao¹

(1. Department of Pediatric, Langfang People's Hospital, Langfang Hebei 065099; 2. Department of Respiratory, Tianjin Children's Hospital, Tianjin 300074, China)

Abstract **Objective:** To investigate the role of leukotriene B4 (LTB4) and 25-hydroxyvitamin D3 in recurrent respiratory infections in preschool children. **Methods:** One hundred and thirty-eight preschool children with recurrent respiratory tract infection who visited the undergraduate room for 2 consecutive years were selected as the observation group. Meanwhile, 84 healthy children who had physical examination at the same time were selected

收稿日期 (Date of reception): 2018-08-29

通信作者 (Corresponding author): 王娇, Email: 347059259@qq.com

as the control group. There was no significant difference in gender ratio between the control group and the observation group ($P>0.05$). Peripheral blood serum levels of LTB4 and 25-hydroxyvitamin D3 were measured by ELISA and the correlation was analyzed. Human airway epithelial cell line H292 was studied, and an inflammatory cell model was constructed using LPS to analyze the effect of 25-hydroxyvitamin D3 level on LTB4 level. **Results:** Peripheral blood serum 25-hydroxyvitamin D3 level of children with recurrent respiratory tract infection was significantly lower than that of the control group ($P<0.001$), while peripheral blood serum LTB4 level was significantly higher than that of healthy control group ($P<0.001$). There was a significant negative correlation between the average number of upper respiratory tract infection and 25-hydroxyvitamin D3 in peripheral blood of children with upper respiratory tract infection ($r=-0.502, P=0.019$). The mean number of upper respiratory tract infection and the peripheral blood serum LTB4 level of children with upper respiratory tract infection showed a significant positive correlation ($r=0.852, P<0.001$). The serum levels of LTB4 and 25-hydroxyvitamin D3 showed a significant negative correlation ($r=-0.431, P=0.024$). Vitro cell experiments showed that 25-hydroxyl vitamin D3 levels inhibited LTB4 levels. **Conclusion:** The deficiency of serum 25-hydroxyvitamin D3 in the recurrent upper respiratory tract infection of preschool children can lead to increased LTB4.

Keywords preschool children; recurrent respiratory infection; leukotriene B4; 25-hydroxyvitamin D3

作为呼吸系统常见的疾病, 呼吸道感染主要由鼻病毒、腺病毒、流感病毒以及呼吸道合胞病毒等引起^[1], 病毒感染后气道出现异常均与炎症反应有关, 而气道上皮细胞是释放炎症细胞因子的重要来源^[2]。研究^[3]称血清25羟基维生素D3和反复呼吸道感染有关, 其水平高低与肺部感染及肺功能下降程度相关, 给予患者补充维生素D3在一定程度上能够减少呼吸道感染的反复发生。25羟基维生素D3缺乏的新生儿童呼吸道发生反复感染的风险和次数明显增加^[4]。白三烯作为重要的炎症介质, 主要分为白三烯B4(leukotriene B4, LTB4)和半胱氨酰白三烯类(LTC4, LTD5, LTE4)。LTB4是目前已知强有效的炎症介质, 其主要受体BLT1表达于多种炎症细胞表面, 包括中性粒细胞、嗜酸性粒细胞以及巨噬细胞等^[5]。LTB4能够与其受体结合, 从而吸引炎症细胞, 并使其在炎症区域聚集激活, 而中性粒细胞激活后会产生更多的LTB4, 从而参与多种炎症疾病的发生发展^[5]。有研究^[6]称25羟基维生素D3能够显著降低支气管哮喘患者血浆中嗜酸性粒细胞、LTB4等水平, 提高固有免疫, 从而增强机体抗感染能力。然而在上呼吸道反复感染中, 25羟基维生素D3和LTB4的相关性尚未见有报道, 因此笔者通过检测呼吸道反复性感染患者血清中25羟基维生素D3和LTB4水平, 分析其相关性, 从而探讨25羟基维生素D3, LTB4之间的相关性及其与上呼吸道反复感染之间的相关性。

1 对象与方法

1.1 对象

选取2014年6月至2016年6月在廊坊市人民医院儿科门诊确诊的138例反复呼吸道感染儿童作为观察组, 入选患儿连续2年在本科室就诊, 其中男70例, 女68例, 年龄1.5~5.6(4.01 ± 1.82)岁。所有入选患儿符合我国第一届小儿呼吸道疾病学术会议上制定的《反复呼吸道感染的诊断参考标准》^[7]。同时选择同期在廊坊市人民医院保健门诊体检的健康儿童84例作为对照组, 纳入标准: 近1个月未患感染性疾病, 无免疫性疾病以及哮喘病史; 入选健康儿童与观察组儿童性别、年龄等一般资料匹配。排除标准: 排除不能配合完成本研究的儿童。对照组男40例, 女44例, 年龄1.4~6.0(4.02 ± 1.91)岁, 经统计学分析, 两组儿童的性别比例、年龄无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性。本研究经廊坊市人民医院医学伦理委员会批准展开, 研究经儿童监护人同意并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本采集

空腹10 h于清晨抽取肘静脉血, 3 000 r/min离心10 min获得血清, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.2.2 细胞实验

以人气道上皮细胞株H292(购自中科院上海细胞研究所)为研究对象, 培养于含有10%血清的

DMEM培养基中, 加入10 mg/L脂多糖(LPS)诱导4 h, 构建炎症模型, 然后分为两组, 分别用25-羟维生素D3(10 nmol/L)和等体积的磷酸盐缓冲液(PBS)刺激细胞24 h, 然后检测LTB4浓度。

为进一步确认25-羟维生素D3的作用, 按上述步骤构建炎症模型, 分为两组, 一组加入25-羟维生素D3抑制剂(伊曲康唑)(20 nmol/L)处理, 另一组先采用25-羟维生素D3抑制剂(伊曲康唑)(20 nmol/L)预处理2 h, 再加入25-羟维生素D3(10 nmol/L)刺激细胞, 然后检测LTB4浓度。

1.2.3 ELISA 检测 LTB4 与 25-羟维生素 D3 水平

采用ELISA法检测LTB4与25-羟维生素D3水平, 其中LTB4检测试剂盒购自美国R&D公司, 25-羟维生素D3检测试剂盒购自德国IBL公司。

1.3 统计学处理

采用SPSS 16.0软件进行分析, 计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)来表示, 组间对比采用t检验, 采用Pearson相关性分析LTB4, 25-羟维生素D3水平及其反复呼吸道感染的相关性, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 LTB4 与 25-羟维生素 D3 水平对比

观察组外周血血清中25-羟维生素D3浓度为(38.19±3.18) ng/mL, 对照组为(64.68±5.72) ng/mL, 反复呼吸道感染患儿外周血血清25-羟维生素D3水平明显低于对照组($P < 0.001$, 表1)。

观察组外周血血清中LTB4浓度为(4.19±0.74) ng/L, 对照组为(1.93±0.35) ng/L, 反复呼吸道感染患儿外周血血清LTB4水平明显高于健康对照组($P < 0.001$, 表1)。

2.2 观察组外周血血清 LTB4 和 25-羟维生素 D3 水平与反复上呼吸道感染的相关性分析

138例患儿连续2年在本科室就诊, 2年内上呼吸道感染次数除以2为2年内上呼吸道感染平均次数, 上呼吸道感染平均次数和上呼吸道感染患儿外周血血清25-羟维生素D3呈负相关($r = -0.502$, $P = 0.019$); 上呼吸道感染平均次数与上呼吸道感染患儿外周血血清LTB4水平呈正相关($r = 0.852$, $P < 0.001$; 图1)。

表1 两组血清LTB4与25-羟维生素D3水平对比($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of serum LTB4 and 25-hydroxyl vitamin D3 level between the two groups ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | LTB4/(ng·L ⁻¹) | 25-羟维生素 D3/(ng·mL ⁻¹) |
|-----|-----|----------------------------|-----------------------------------|
| 观察组 | 138 | 4.19 ± 0.74 | 38.19 ± 3.18 |
| 对照组 | 84 | 1.93 ± 0.35 | 64.68 ± 5.72 |
| t | | 26.244 | 44.355 |
| P | | <0.001 | <0.001 |

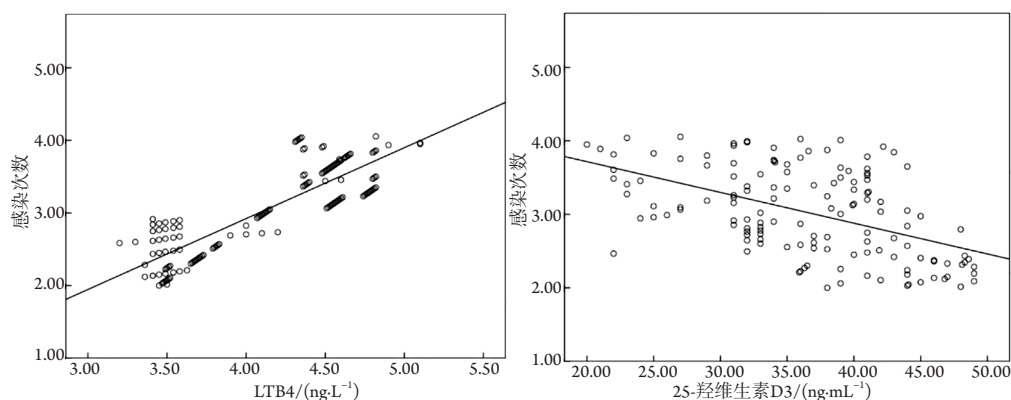


图1 血清LTB4和25-羟维生素D3水平与反复上呼吸道感染的相关性

Figure 1 Correlation between serum LTB4 and 25-hydroxyvitamin D3 levels and recurrent upper respiratory tract infection

2.3 观察组外周血血清 LTB4 和 25-羟维生素 D3 水平相关性分析

反复性上呼吸道感染患儿血清 LTB4 和 25-羟维生素 D3 水平相关性分析结果显示: 反复性上呼吸道感染患儿外周血血清 LTB4 和 25-羟维生素 D3 水平呈负相关 ($r = -0.431$, $P = 0.024$; 图 2)。

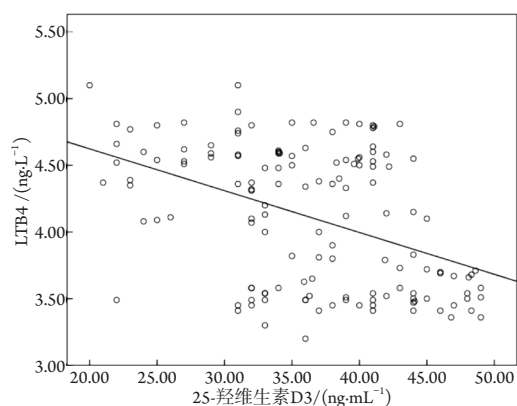


图 2 血清 LTB4 和 25-羟维生素 D3 水平相关性分析

Figure 2 Correlation analysis of serum LTB4 and 25-hydroxyvitamin D3 levels

2.4 25-羟维生素 D3 对 LTB4 的水平的影响

通过 ELSIA 检测 LTB4 水平, 结果显示与 PBS 相比, 25-羟维生素 D3 能够明显下调 LTB4 浓度 ($P < 0.05$), 而 25-羟维生素 D3 抑制剂能够降低 25-羟维生素 D3 对 LTB4 的抑制。

3 讨论

反复呼吸道感染时学龄前儿童最为常见的呼吸道疾病, 其病因复杂, 临床表现为反复性, 病程较长, 且缺乏特异性治疗方法。近些年来, 有文献[8]报道称维生素 D 对免疫/炎症反应具有调节作用, 维生素 D 缺乏与呼吸道反复感染密切相关。LTB4 作为强有效的炎症介质, 其在机体抗感染方面的作用引起了科研工作者的关注, 然而 LTB4 在上呼吸道反复感染中的作用尚未见有报道。本研究对比学龄前呼吸道感染儿童和健康儿童血清 LTB4 和 25-羟维生素 D3 的水平, 并分析了反复上呼吸道感染儿童外周血 25-羟维生素 D3 和 LTB4 水平与反复上呼吸道感染的相关性。结果显示: 反复上呼吸道感染儿童外周血清 25-羟维生素 D3 水平显著低于对照组, 上呼吸道感染平均次数和外周血 25-羟维生素 D3 呈负相关, 提示血清 25-羟维生素

D3 的缺乏可能与反复呼吸道感染有关, 进一步验证了血清 25-羟维生素 D3 在抗感染中的作用。

LTB4 是引起呼吸道变应性炎症的主要介质, 对中性粒细胞有很强的趋化作用。研究^[9]表明在发生变应性炎症前, 炎症部位组织内的 LTB4 就会增高, 从而进一步诱发炎症细胞趋向炎症组织。在哮喘患者的诱导痰、呼出气以及血浆中 LTB4 水平明显高于健康者, 存在明显症状的患者高于无明显症状的患者^[10]。本研究发现 LTB4 在反复上呼吸道感染儿童血清中的水平明显低于健康对照组, 上呼吸道感染平均次数与血清 LTB4 水平呈正相关, 提示上呼吸道反复感染引起的 LTB4 水平增高可能是患儿反复呼吸道感染的重要因素。

此外, 有文献[11-12]报道称维生素 D 的活化形式 25-羟维生素 D3 能够诱导调节性 T 细胞从而抑制炎症反应。本研究中结果显示反复上呼吸道感染患儿外周血 25-羟维生素 D3 水平和 LTB4 呈负相关, 提示 25-羟维生素 D3 的缺乏可能引起 LTB4 水平的升高。同时采用细胞实验进一步的分析, 结果表明 25-羟维生素 D3 能够抑制 LTB4 的水平。

本研究揭示了血清 25-羟维生素 D3 与学龄前儿童反复呼吸道感染之间的关系, 与此同时, 本研究还发现学龄前儿童上呼吸道反复感染中, 血清 25-羟维生素 D3 水平缺乏能够引起 LTB4 升高, 而学龄前儿童上呼吸道感染血清中 LTB4 水平显著升高的机制需要进一步深入研究。

参考文献

- 张会娜, 刘卫红, 李萍, 等. 北京市东城区 3~6 岁儿童反复呼吸道感染影响因素多元回归分析[J]. 中国妇幼保健, 2009, 24(15): 2069-2070.
ZHANG Huina, LIU Weihong, LI Ping, et al. Multiple regression analysis on effect factors of recurrent respiratory tract infection of children aged 3-6 years old in Dongcheng District, Beijing[J]. Chinese Maternal and Child Health, 2009, 24(15): 2069-2070.
- 梁梅, 郭述良, 张红梅. 不同滴度噬菌体 D29 对气道上皮细胞 9HTE 的生长及功能影响研究[J]. 重庆医学, 2017, 46(15): 2024-2026.
LIANG Mei, GUO Shuliang, ZHANG Hongmei. Effects of different titers of bacteriophage D29 on growth and function of airway epithelia cell 9HTE[J]. Chongqing Medical, 2017, 46(15): 2024-2026.
- Bozzetto S, Carraro S, Giordano G, et al. Asthma, allergy and respiratory infections: the vitamin D hypothesis[J]. Allergy, 2012, 67(1): 10-17.

4. 李晓辉, 熊光明. 维生素D缺乏性佝偻病与婴幼儿反复呼吸道感染的关系[J]. 中国妇幼健康研究, 2015, 26(5): 1064-1065.
LI Xiaohui, XIONG Guangming. Relationship between vitamin D deficiency rickets and infant recurrent respiratory tract infection[J]. Chinese Journal of Maternal and Child Health Research, 2015, 26(5): 1064-1065.
5. Li P, Oh DY, Bandyopadhyay G, et al. LTB4 promotes insulin resistance in obese mice by acting on macrophages, hepatocytes and myocytes[J]. Nat Med, 2015, 21(3): 239-247.
6. 蒋鲲. 支气管哮喘患儿血清25-羟维生素D3水平与血清及支气管肺泡灌洗液基质金属蛋白酶-9的关系[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2016, 31(4): 279-283.
JIANG Kun. Relationship between different levels of 25 - hydroxyl - vitamin D3 in serum and levels of matrix metalloproteinase -9 in serum and bronchoalveolar lavage fluid in children with asthma[J]. Chinese Journal of Clinical Practice of Pediatrics, 2016, 31(4): 279-283.
7. 沈朝斌, 蒋瑾瑾, 陈同辛. 儿童反复呼吸道感染指南执行情况分析[J]. 临床儿科杂志, 2016, 34(11): 842-845.
SHEN Zhaobin, JIANG Jinjin, CHEN Tongxin. Status assessment of practice guideline in pediatric recurrent respiratory tract infections[J]. Journal of Clinical Pediatrics, 2016, 34(11): 842-845.
8. 卢滨, 贾金广, 李利华, 等. 血清25-(OH)D水平与慢性阻塞性肺疾病患者肺功能及炎症反应的关系[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(1): 140-142.
LU Bin, JIA Jinguang, LI Lihua, et al. Relationship between serum 25-(OH) D level and pulmonary function and inflammatory response in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. Chinese journal of gerontology, 2017, 37(1): 140-142.
9. 石健, 滕华. 血清白三烯b4、血栓调节蛋白、基质金属蛋白酶-9、白细胞介素-4与小儿过敏性紫癜的发病关系[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2015, 9(23): 72-75.
SHI Jian, TENG Hua. Relationship between the serum LTB4, TM, MMP-9, IL-4 and the attack of henoch schonlein purpura in children[J]. Chinese Journal of Clinicians. Electronic Version, 2015, 9(23): 72-75.
10. 朱杰, 吕学东, 马航, 等. 支气管哮喘患者呼出气冷凝液中LTB4和TNF- α 检测的研究[J]. 内科急危重症杂志, 2016, 22(4): 279-281.
ZHU Jie, LÜ Xuedong, MA Hang, et al. Determination of leukotriene B4 and tumor necrosis factor- α in exhaled breath condensate of patients with asthma[J]. Journal of Internal Intensive Medicine, 2016, 22(4): 279-281.
11. 牛锋, 陈碧琴. 血清25-羟维生素D3与儿童哮喘严重程度及气道炎症反应的相关性研究[J]. 中国临床医学, 2015, 22(6): 804-807.
NIU Feng, CHEN Biqin. Correlations among serum 25-hydroxyvitamin D3, severity of childhood asthma and airway inflammatory response[J]. Chinese Journal Of Clinical Medicine, 2015, 22(6): 804-807.
12. 周敏芳, 张倩. 哮喘患儿血清25-羟维生素D3水平检测的临床意义[J]. 中国热带医学, 2016, 16(2): 165-168.
ZHOU Minfang, ZHANG Qian. Clinical significance of detection on serum 25-hydroxyl Vitamin D3 levels in children with asthma[J]. China Tropical Medicine, 2016, 16(2): 165-168.

本文引用: 张媛媛, 高菲, 贾伟娜, 王娇. 白三烯B4与25-羟维生素D3在反复呼吸道感染学龄前儿童中表达的临床意义[J]. 临床与病理杂志, 2018, 38(11): 2442-2446. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.11.024

Cite this article as: ZHANG Yuanyuan, GAO Fei, JIA Weina, WANG Jiao. Clinical significance of leukotriene B4 and 25-hydroxyvitamin D3 in recurrent respiratory tract infection in preschool children[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2018, 38(11): 2442-2446. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.11.024