

T淋巴细胞亚群影响报道甚少。本研究经过支气管镜冷冻治疗前后进行T淋巴细胞亚群对比研究结果表明,经过支气管镜冷冻治疗后,细胞免疫功能均有改善,其中 $CD3^+T$ 、 $CD4^+T$ 、 $CD4^+T/CD8^+T$ 有显著提高($P < 0.05$), $CD8^+T$ 有明显降低,说明支气管镜冷冻可能改善患者机体免疫力水平,其原因可能是经冷冻治疗后患者气道黏膜好转,病情改善,使得机体免疫力恢复。总之,此方法治疗肉芽增殖型EBTB患者疗效确切,不良反应少,安全性高,值得临床中推广应用。

参考文献

- 1 Saygideger Y, Oktay B, Sevgi E, *et al.* Bilateral multiple tumor-like endobronchial tuberculosis, diagnosed with bronchoscopic examination. [J]. Tuberk Toraks, 2011, 59 (3): 266 - 270
- 2 叶红, 吕莉萍. 经支气管镜介入治疗溃疡坏死型支气管结核的疗效观察[J]. 临床肺科杂志, 2012, 17(8): 1433 - 1435
- 3 中华医学会结核病学分会《中华结核和呼吸杂志》编辑委员会. 气管支气管结核诊断和治疗指南(试行)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2012, 35(8): 581 - 587
- 4 陈乐蓉, 陈中书, 邹禄如, 等. 经支气管镜介入冷冻加注药治疗支气管结核疗效观察[J]. 中国内镜杂志, 2013, 19(9): 986 - 989
- 5 Stulberg MS, Adams L. Textbook of respiratory medicine [M]. Philadelphia: Saunders, 1994: 511 - 512

- 6 Krinsky WS, Broussard JN, Sarkar SA, *et al.* Bronchoscopic spray cryotherapy: assessment of safety and depth of airway injury [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2010, 139: 781 - 782
- 7 Ranu H, Madden BP. Endobronchial stenting in the management of large airway pathology [J]. Postgrad Med J, 2009, 85: 682 - 687
- 8 张杰. 介入性呼吸内镜技术 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 227 - 242
- 9 方育霞, 李光明, 杨蓉美, 等. 支气管镜冷冻及注药联合雾化治疗溃疡坏死型支气管结核 [J]. 第三军医大学学报, 2015, (37) 20: 2106 - 2107
- 10 崔嘉, 徐建华, 刘福升, 等. 经支气管镜介入治疗气管支气管结核的近期临床效果初步分析 [J]. 中国防痨杂志, 2013, 35 (12): 1020 - 1024
- 11 林明贵, 张广宇, 李燕峰, 等. 经支气管镜介入冷冻治疗支气管结核 22 例临床分析 [J]. 中国内镜杂志, 2010, 16(9): 945 - 950
- 12 Scanga CA, Mohan VP, Yu K, *et al.* Depletion of $CD4^+T$ cells causes reactivation of murine persistent tuberculosis despite continued expression of interferon gamma and nitric oxide synthase 2 [J]. J Exp Med, 2000, 192 (3): 347 - 358
- 13 Green AM, Mattila JT, Bigbee CL, *et al.* $CD4^+$ regulatory T cells in a cynomolgus macaque model of mycobacterium tuberculosis infection [J]. J Infect Dis, 2010, 202: 533 - 541

(收稿日期: 2016 - 02 - 13)

(修回日期: 2016 - 03 - 12)

血清糖皮质激素受体在难治性肺炎支原体肺炎患儿中的变化及临床意义

姚欢银 张佩红 童海明 刘伟荣 刘淑梅 陈啸洪

摘要 目的 通过检测难治性肺炎支原体肺炎(RMPP)患儿血清 $GR\alpha$ 及 $GR\beta$ 蛋白表达水平的变化,为临床合理应用糖皮质激素(GC)提供理论依据。方法 2014年1月~2015年5月在笔者医院儿内科住院的226例年龄在3~12岁肺炎患儿,按临床症状和实验室检查分为肺炎组和肺炎支原体肺炎(MPP)组,采用ELISA法检测血清 $GR\alpha$ 及 $GR\beta$ 蛋白表达水平;同时对MPP组按照诊断标准分为普通MPP组和RMPP组,观察两组血清 $GR\alpha$ 及 $GR\beta$ 水平变化。结果 MPP组血清 $GR\alpha$ 水平(19.73 ± 5.05 ng/ml)明显高于肺炎组(11.76 ± 3.46 ng/ml)和对照组(9.41 ± 3.31 ng/ml) ($P < 0.01$),后两组比较差异有统计学意义($P < 0.01$); $GR\beta$ 水平在MPP组(9.40 ± 2.37 ng/ml)和肺炎组(9.67 ± 2.13 ng/ml)则明显高于对照组(7.71 ± 1.98 ng/ml) ($P < 0.01$),而前两组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);MPP组 $GR\alpha/GR\beta$ 比值(2.29 ± 0.94)明显高于肺炎组(1.31 ± 0.57)和对照组(1.36 ± 0.73) ($P < 0.01$),而后两组之间比较差异无统计学意义($P > 0.05$);RMPP患儿中血清 $GR\alpha$ 水平和 $GR\alpha/GR\beta$ 比值显著高于普通MPP组(24.49 ± 3.16 ng/ml vs 16.49 ± 3.17 ng/ml, $P < 0.01$; 9.58 ± 2.49 vs 2.90 ± 0.99 , $P < 0.01$), $GR\beta$ 水平(9.13 ± 3.19 ng/ml vs 9.58 ± 2.49 ng/ml, $P > 0.05$)两组差异无统计学意义。结论 在MPP和RMPP中存在着 $GR\alpha$ 的优势表达, $GR\alpha/GR\beta$ 比值增大,尤其在RMPP中表现更为明显。

关键词 难治性肺炎支原体肺炎 糖皮质激素受体 儿童

中图分类号 R563

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.10.021

基金项目:浙江省医药卫生一般研究计划项目(2015KYA219)

作者单位:312000 绍兴市人民医院、浙江大学绍兴医院儿内科

通讯作者:刘淑梅,主任医师,电子信箱:sxlium@sina.com

Clinical Significance of Changes of Serum Glucocorticoid Receptor in Children with Refractory Mycoplasma Pneumoniae Pneumonia. Yao Huanyin, Zhang Peihong, Tong Haiming, et al. Department of Pediatrics, Shaoxing People's Hospital Zhejiang Province & Shaoxing Hospital Zhejiang University, Zhejiang 312000, China

Abstract Objective To investigate the changes of glucocorticoid receptor including glucocorticoid receptor - α (GR α) and glucocorticoid receptor - β (GR β) in peripheral blood in patients with refractory mycoplasma pneumoniae pneumonia (RMPP), to provide a theoretical basis of the glucocorticoid (GC) therapy. **Methods** There were 226 children with pneumonia admitted from January 2014 to May 2015 in our hospital. According to clinical symptoms and laboratory examination, they were divided into pneumonia group and mycoplasma pneumoniae pneumonia (MPP) group. Serum GR α and GR β protein expression levels were measured by ELISA. The MPP group according to the diagnosis standard was divided into ordinary MPP group and the RMPP group. Serum GR α and GR β level changes of two groups were observe. **Results** The serum levels of GR α level in MPP group (19.73 ± 5.05 ng/ml) were significantly higher than those of ordinary pneumonia group (11.76 ± 3.46 ng/ml) and control group (9.41 ± 3.31 ng/ml) ($P < 0.01$). Comparison between the latter two groups had significantly difference ($P < 0.01$). The levels of GR β in MPP group (9.40 ± 2.37 ng/ml) and pneumonia group (9.67 ± 2.13 ng/ml) were significantly higher than those of the control group (7.71 ± 1.98 ng/ml) ($P < 0.01$), but there was no significantly difference between the former two groups ($P > 0.05$). GR α /GR β ratio in MPP group (2.29 ± 0.94) was significantly higher than that of ordinary pneumonia group (1.31 ± 0.57) and the control group (1.36 ± 0.73) ($P < 0.01$), but the latter two groups had no significantly difference ($P > 0.05$). The levels of serum GR α and GR α /GR β ratio in RMPP group were significantly higher than those in ordinary MPP group (24.49 ± 3.16 ng/ml vs 16.49 ± 3.17 ng/ml, $P < 0.01$; 9.58 ± 2.49 vs 2.90 ± 0.99 , $P < 0.01$), and there was no significant difference between the two groups of GR β (9.13 ± 3.19 ng/ml vs 9.58 ± 2.49 ng/ml, $P > 0.05$). **Conclusion** There was the advantage of GR α expression in MPP and RMPP. The ratio of GR α /GR β was significantly increased, especially in RMPP.

Key words Refractory mycoplasma pneumoniae; Glucocorticoid receptor; Children

肺炎支原体(MP)是儿童社区获得性肺炎最常见病原体之一,肺炎支原体肺炎(MPP)已成为常见的社区获得性肺炎(CAP)。近几年难治性肺炎支原体肺炎(RMPP)的发生率逐年提高,成为临床处理MPP的重点和难点。糖皮质激素(GC)在RMPP中的应用和疗效得到了大多数研究的肯定,但仍有部分RMPP表现GC抵抗^[1]。目前的研究显示,GC主要通过糖皮质激素受体(GR)是发挥其生理作用,GR亚型表达的异常可以影响疾病对GC的效应^[2]。本研究通过检测RMPP患儿血清GR α 及GR β 蛋白表达水平的变化,旨在探究一种相对有效的检测指标来预测GC对RMPP患儿的治疗效果。

资料与方法

1. 一般资料:选择2014年1月~2015年5月在笔者医院儿内科住院的肺炎患儿226例,年龄3~12岁。(1)按临床症状和实验室检查分为以下几组:①肺炎组:共132例,其中,男性74例,女性58例,患者年龄3~12岁,平均年龄 5.12 ± 2.21 岁;②MPP组:共94例,患者年龄3~12岁,平均年龄 5.12 ± 2.21 岁。根据诊断标准分为普通MPP组56例和RMPP组38例,MPP诊断参考《中华儿科杂志》诊断标准^[3]:具有发热、咳嗽等临床表现;胸部影像学提示肺间质浸润性、大叶性或小叶性肺实变;血清MP-IgM阳性,咽拭子MP-PCR阳性。RMPP诊断参考文

献[4]标准:MPP经合理的大环内酯类抗生素治疗,持续发热超过7天,临床症状和肺部影像学表现加重;③对照组42例,为同期因腹股沟斜疝、鞘膜积液、包茎等非感染性疾病住院的小儿外科手术前患儿,无特异性及过敏性疾病家族史,其中男性28例,女性14例,患者年龄4.3~12岁,平均年龄 7.55 ± 3.25 岁。(2)排除标准:①患有支气管哮喘、肺结核等呼吸系统疾病;②近1个月内有类固醇激素或其他免疫抑制剂应用史;③近期有过敏性疾病或免疫性疾病史。

2. 方法:所有患儿均于入院当日抽取静脉血3ml,对照组为清晨8:00时抽取静脉血,静置1h,1500r/min离心,提取血清后置-70℃冰箱保存待检。采用ELISA法检测血清中GR- α 、GR- β 水平,GR- α 试剂盒(货号GD-S0740)和GR- β 试剂盒(货号GD-S0739)购自上海古朵生物科技有限公司。

3. 血清GR- α 、GR- β 水平测定:①微滴定孔中加100 μ l样品;②室温孵育30min;③以washing buffer洗板5次;④加入50 μ l酶标偶合液;⑤室温孵育30min;⑥以washing buffer洗板5次;⑦加入50 μ l底物A和50 μ l底物B;⑧室温避光孵育15min;⑨加反应终止液50 μ l;⑩酶标仪读取450nm波长吸光度;⑪制定标准曲线,标本读数。

4. 统计学方法:采用SPSS 17.0统计软件。数据用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两样本均数之间的比较

采用 t 检验,多个样本均数比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. MPP 组、肺炎组与对照组外周血 GR α 和 GR β 水平比较: MPP 组血清 GR α 水平和 GR α /GR β 比值均明显高于肺炎组和对照组 (P 均 < 0.01); 肺炎组 GR α 水平与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 而 GR α /GR β 比值在肺炎组和对照组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$); GR β 水平在 MPP 组和肺炎组亦明显高于对照组 ($P < 0.01$), 而前两组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (表 1)。

表 1 MPP 组、肺炎组与对照组外周血 GR α 和 GR β 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/ml)

组别	n	GR α	GR β	GR α /GR β
对照组	42	9.4 \pm 3.3	7.7 \pm 2.0	1.4 \pm 0.7
肺炎组	132	11.8 \pm 3.5*	9.7 \pm 2.1*	1.3 \pm 0.6
MPP 组	94	19.7 \pm 5.1*	9.4 \pm 2.4*	2.3 \pm 0.9**
F		139.41	12.92	51.42
P		< 0.01	< 0.01	< 0.01

与对照组同指标比较, * $P < 0.01$; 与肺炎组 GR α /GR β 比较, ** $P < 0.01$

2. 普通 MPP 组和 RMPP 组儿童外周血 GR α 和 GR β 水平比较: RMPP 患儿中血清 GR α 的水平和 GR α /GR β 比值显著高于普通 MPP 组, GR β 水平两组差异无统计学意义 (表 2)。

表 2 普通 MPP 组和 RMPP 组儿童外周血 GR α 和 GR β 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/ml)

组别	n	GR α	GR β	GR α /GR β
普通 MPP 组	56	16.5 \pm 3.2	9.6 \pm 2.5	1.9 \pm 0.7
RMPP 组	38	24.5 \pm 3.2	9.1 \pm 3.2	2.9 \pm 1.0
t		12.01	0.92	5.91
P		< 0.01	> 0.05	< 0.01

讨 论

MPP 是常见的社区获得性肺炎, 多见于 5 岁以上的大龄儿童, 随着临床多中心研究的深入, 目前认为小龄儿童的发生率也逐渐增多。大多数 MPP 经大环内酯类抗生素治疗后病情完全康复, 但仍有一些 MPP 患儿即使及时、足量应用大环内酯类抗生素 7 天或以上, 病情仍进展迅速, 表现为持续高热, C 反应蛋白升高, 血沉加快, 肺部影像学加重等, 这些患者在临床可以诊断为 RMPP^[5,6]。RMPP 病情进展迅速, 往往伴有全身炎症反应综合征, 若得不到合理的治

疗, 常常会发生严重的肺内和肺外并发症, 如坏死性肺炎、胸腔积液、支原体肺炎等, 甚至遗留闭塞性细支气管炎、肺纤维化以及继发性癫痫等后遗症, 如何合理有效地控制 RMPP, 目前已成为临床医师研究和关注的热点^[7]。近期研究表明, RMPP 与机体细胞因子表达失衡密切相关, 表现为全身过强的炎症反应, 而 GC 具有强大的抗炎和免疫抑制作用, 减少炎症因子释放^[8,9]。因此, GC 成为临床治疗 RMPP 最常用的药物^[10,11]。

GR 是 GC 发挥生理作用的重要载体, 主要位于细胞质内, 未与配体结合时, 是以多蛋白复合体的形式存在。当 GR 与配体结合后, 其构象发生改变, 从蛋白复合体中解离, 并转入细胞核内, 与糖皮质激素相关基因的反应原件结合, 启动或抑制相应基因的转录, 从而发挥 GC 的作用。目前发现的 GR 主要包括 GR α 和 GR β 两类亚型^[12]。GC 只有激活 GR α , 形成 GC-GR 复合物, 才能发挥转录调控这一生物学效应, 使 GC 最终在细胞水平发挥作用。而 GR β 目前认为是 GR α 的内源性抑制因子, 对 GC 的生理及药理功能起着重要的负性调节作用。因此, 检测疾病 GR 亚型表达的变化, 可为合理使用 GC 提供参考依据^[13,14]。

笔者对 MPP 组、肺炎组和对照组 GR 亚型检测发现, MPP 组 GR α 的表达明显高于其他两组, 而 GR β 的表达在 MPP 组和肺炎组则明显高于对照组, 这可能与 MP 或细菌等刺激机体产生各种炎症因子, 导致总 GR 表达增加有关。同时, 由于 GR α 和 GR β 由细胞质向细胞核转位速度相差悬殊, 检测 GR α 与 GR β 的比值能更准确地说明 GR β 对 GR α 的抑制程度。笔者的研究发现, MPP 组 GR α /GR β 比值明显高于肺炎组和对照组, 说明在 MPP 中虽然同时存在着 GR α 和 GR β 的高表达, 但 GR α /GR β 比值显著增加, 表现为 GR α 优势表达。笔者进一步对普通 MPP 和 RMPP 进行 GR 表达的研究, 发现在 RMPP 患儿中血清 GR α 的水平和 GR α /GR β 比值显著高于普通 MPP 组, GR β 水平两组差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 说明在 RMPP 中有着更高的 GR α 表达, GR α /GR β 比值增大, 疾病对 GC 的敏感度增加, 提示在 MPP 患儿中及早进行 GR 亚型表达水平的检测, 可以早期预测 RMPP 的发生, 对 GR α 表达显著增加的患儿及时使用 GC 治疗, 将有效改善 RMPP 的预后。

综上所述, 在 MPP 和 RMPP 中存在着 GR α 的高表达, GR α /GR β 比值增大, 在 RMPP 中表现更为明