

血清 25 羟维生素 D、YKL-40 检测在诊治儿童难治性支原体肺炎中的临床意义

任彦红 陈 丹 张广超 郭 青 沈照波 孙晓敏

摘 要 **目的** 探究血清 25 羟维生素 D [25(OH)D] 及甲壳质酶蛋白 40 (YKL-40) 水平检测在儿童难治性支原体肺炎早期诊断中的临床意义。**方法** 选取 2016 年 4 月~2018 年 1 月笔者医院收治的肺炎支原体肺炎 (MPP) 患儿 107 例为研究对象, 其中普通支原体肺炎 (OMPP) 组 67 例, 难治性支原体肺炎 (RMPP) 组 40 例, 选取同期肺炎健康体检儿童 55 例作为对照组。采集各受试者静脉血, 酶联免疫吸附 (ELISA) 法检测各患儿血清 25(OH)D 及 YKL-40 蛋白水平, 并绘制 ROC 曲线分析二者在 RMPP 早期诊断中的预测价值。**结果** MPP 患儿血清 25(OH)D 水平明显低于对照组, YKL-40 蛋白水平明显高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。血清 25(OH)D、YKL-40 水平诊断 RMPP 的 ROC 曲线下面积 (AUC) 分别为 0.732、0.679。血清 25(OH)D 水平与 MPP 患儿肺部啰音、呼吸音低、胸腔积液、肺部坏死性炎症等发生率有关 ($P < 0.05$); 血清 YKL-40 水平与 MPP 患儿肺外并发症、肺部啰音、呼吸音低、胸腔积液、肺部坏死性炎症发生率有关 ($P < 0.05$)。RMPP 组肺炎患儿血清 25(OH)D 水平明显低于 OMPP 组 ($P < 0.05$)、YKL-40 蛋白水平显著高于 OMPP 组 ($P < 0.05$)。血清 25(OH)D、YKL-40 对 MPP 患者诊断的 AUC 分别为 0.751、0.797。**结论** RMPP 患儿血清 25(OH)D 水平显著降低, YKL-40 显著升高, 检测血清 25(OH)D、YKL-40 水平对 RMPP 早期诊断, 具有一定临床应用价值。

关键词 儿童 25 羟维生素 D 甲壳质酶蛋白 40 肺炎支原体肺炎 诊断

中图分类号 R725.6

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.02.029

Clinical Significance of Serum 25-Hydroxy Vitamin D and YKL-40 Levels Detections in the Early Diagnosis of Refractory Mycoplasma Pneumonia in Children. Ren Yanhong, Chen Dan, Zhang Guangchao, et al. Department of General Medicine, Shildren's Hospital Affiliated to Zhengzhou University/Henan Children's Hospital/Zhengzhou Children's Hospital, Henan 450000, China

Abstract **Objective** To explore the clinical significance of serum 25-hydroxy vitamin D [25(OH)D] and chitinase protein 40 (YKL-40) levels detections in the early diagnosis of refractory mycoplasma pneumonia in children. **Methods** Totally 107 children with mycoplasma pneumoniae pneumonia (MPP) in our hospital from April 2016 to January 2018 were selected as the subjects, including 67 cases of common mycoplasma pneumonia (OMPP) and 40 cases of refractory mycoplasma pneumonia (RMPP), and 55 children with pneumonia in the same period were selected as the control group. Venous blood was collected from the subjects, enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect serum 25(OH)D and YKL-40 protein levels, the ROC curve was drawn to analyze the predictive values of the them in the early diagnosis of RMPP. **Results** The serum 25(OH)D level of children in the MPP group was significantly lower than that in the control group, the level of YKL-40 protein was significantly higher than that in the control group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The areas under the ROC curve (AUC) of serum 25(OH)D and YKL-40 levels in the diagnosis of RMPP was 0.732 and 0.679 respectively. The level of serum 25(OH)D was related to the incidence rates of lung rales, low respiratory sounds, pleural effusion and necrotizing inflammation in children with MPP ($P < 0.05$). The level of serum YKL-40 was related to the incidence rates of extrapulmonary complications, pulmonary rales, low respiratory sounds, pleural effusion and necrotizing inflammation in children with MPP ($P < 0.05$). The level of serum 25(OH)D of children in RMPP group was significantly lower than that in OMPP group ($P < 0.05$), and YKL-40 protein level was significantly higher than that in OMPP group ($P < 0.05$). The AUCs of serum 25(OH)D and YKL-40 levels in the diagnosis of MPP were 0.751 and 0.797 respectively. **Conclusion** The level of serum 25(OH)D decreased significantly in children with RMPP, YKL-40 increased significantly, the detections of serum 25(OH)D and YKL-

基金项目:河南省郑州市科技发展计划项目(20150158)

作者单位:450000 郑州大学附属儿童医院、河南省儿童医院、郑州儿童医院普通内科

通讯作者:孙晓敏,电子邮箱:13513892805@163.com

40 levels have certain clinical values in early diagnosis of RMPP.

Key words Children; 25 - hydroxyvitamin D; Chitinase protein 40; *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia; Diagnosis

肺炎支原体肺炎 (*mycoplasma pneumoniae* pneumonia, MPP) 是由于感染肺炎支原体 (*mycoplasma pneumoniae*) 导致儿童呼吸系统肺等产生炎症的一种常见非典型性肺炎。其中大多数支原体感染导致的肺炎病情较轻, 对大环内酯类抗生素敏感, 疗效好, 但由于 MP 病原菌耐药性、多种病原混合感染和患儿免疫功能损伤等因素, 导致某些支原体肺炎患儿较为难治^[1]。流行病学研究表明, 近年来儿童难治性肺炎支原体肺炎 (refractory MPP, RMPP) 在获得性肺炎病例中比例明显增高, 其在儿童疾病中致死率也相对升高^[2]。然而, 关于 RMPP 的致病原因尚不完全明确, 临床治疗显示在感染早期采用糖皮质激素进行治疗, 有利于抑制 MPP 疾病进展, 控制病情^[3]。因此, 尽早准确诊断对于及时进行治疗、减少 RMPP 发生、改善患儿预后具有重要临床意义。研究发现, 血清中 25 羟维生素 D [25 - hydroxy vitamin D, 25 (OH) D] 含量是衡量人体内维生素 D 水平的有效指标, 一定程度上可反映人体免疫水平; 甲壳质酶蛋白 40 (YKL - 40) 是巨噬细胞、血管平滑肌细胞等合成、释放的分泌型蛋白质, 在机体处于炎症状态时其血浆水平升高, 可反映机体炎症状态^[4,5]。然而其在 RMPP 早期诊断中的作用尚不清楚。因此, 本研究通过检测 MPP 患儿血清中 25 (OH) D、YKL - 40 水平并进行分析, 旨在探究二者对儿童 RMPP 的早期诊断价值。

资料与方法

1. 一般资料: 选取 2016 年 4 月 ~ 2018 年 1 月笔者医院收治的肺炎支原体肺炎患儿 107 例为研究对象, 据 RMPP 诊断标准将 MPP 患儿分为普通支原体肺炎 (ordinary MPP, OMPP) 组 67 例, 难治性支原体肺炎 (RMPP) 组 40 例。MPP 诊断标准按照《实用儿科学》第 7 版相关诊断标准: 患儿剧烈持续性咳嗽, 胸片显示两肺有斑片或点网状阴影, 白细胞计数正常或稍微偏高, 大环内酯类抗菌药物对其治疗效果不好, MP 特异性抗体 IgM 呈阳性^[6]。RMPP 诊断标准根据《儿科难治性疾病管理指南》(2013 年) 中标准进行评定: 采用大环内酯类抗菌药物正规治疗超过 1 周, 咳嗽、发热等临床症状未减轻, 呈进行性加重, 肺外其他系统出现并发症, 且胸片显示肺部阴影加剧的 MPP 患儿即可诊断为 RMPP^[7]。MPP 患儿纳入标准: ①符合 MPP 诊断标准且排除其他造成肺部感染病因的患

儿; ②患儿年龄 5 ~ 12 岁; ③病程 ≤ 7 天; ④一般资料及病理资料完整患儿。排除标准: ①合并其他病原菌感染患儿; ②合并有反复呼吸道感染、先天性免疫缺陷疾病患儿; ③病程超过 7 天患儿; ④肺炎恢复期住院患儿; ⑤中途未遵医嘱进行治疗患儿。选取同期与笔者医院门诊进行体检的健康儿童 55 例为对照组。本研究通过笔者医院道德伦理委员会批准并取得患儿家属知情同意。

2. 临床资料收集: 记录所有 MPP 患儿一般资料及临床资料, 包括患儿年龄、性别、住院时病程、发热时间、肺外并发症、肺部啰音、呼吸音情况、胸腔积液情况、肺部坏死性炎症情况等资料。

3. 血清 25 (OH) D 及 YKL - 40 蛋白水平检测: 于入院 2h 内采集所有 MPP 患儿静脉血 (2 毫升/人), 4℃ 下, 3000r/min 离心 10min, 收集上层血清, 采用人 25 (OH) D ELISA 试剂盒 (货号: SBJ - H1130, 南京森贝伽生物公司)、人 YKL - 40 ELISA 试剂盒 (货号: CSB - E13608h, 武汉华美生物工程公司) 检测各患儿血清中 25 (OH) D、YKL - 40 水平, 具体步骤如下: ①将特异性抗体球蛋白用包被缓冲液稀释至 5 μ g/ml, 每凹孔加 0.4ml, 4℃ 过夜; ②缓冲液洗 3 次, 加入 0.2ml 血清, 37℃ 孵育 60min; ③缓冲液洗 3 次, 加入酶标抗体 anti - 25 (OH) D、anti - YKL - 40, 37℃ 孵育 60min; ④缓冲液洗 3 次后, 加入 0.2ml 酶的作用底物, 室温孵育 30min; ⑤加 0.05ml 柠檬酸 (2mol/L) 终止反应, 检测 492nm 下吸光度 (A) 值。

4. 统计学方法: 采用 SPSS 24.0 统计学软件对数据进行统计分析。计量资料采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 行单因素方差分析; 采用 ROC 曲线分析血清 25 (OH) D、YKL - 40 水平对 RMPP 的诊断价值, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. MPP 患儿与健康儿童血清 25 (OH) D、YKL - 40 水平的比较: 与对照组健康儿童比较, MPP 组支原体肺炎患儿血清中 25 (OH) D 水平明显降低, YKL - 40 蛋白水平显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 详见表 1。

2. 血清 25 (OH) D、YKL - 40 水平对 MPP 的诊断价值: ROC 曲线分析显示, 血清 25 (OH) D、YKL - 40 水平表现出对 MPP 患儿与健康儿童较强的区分能

力。血清 25(OH)D 对 MPP 患者诊断的 ROC 曲线下面积为 0.732,95% CI:0.679~0.881($P<0.05$),以 21.09ng/ml 为截断值诊断 MPP 敏感度为 56.97%,特异性为 82.86%,详见图 1A;血清 YKL-40 对 MPP 患者诊断的 ROC 曲线下面积为 0.679,95% CI:0.536~0.791($P<0.05$),以 36.57ng/ml 为截断值诊断 MPP 敏感度为 50.79%,特异性为 78.58%,详见图 1B。

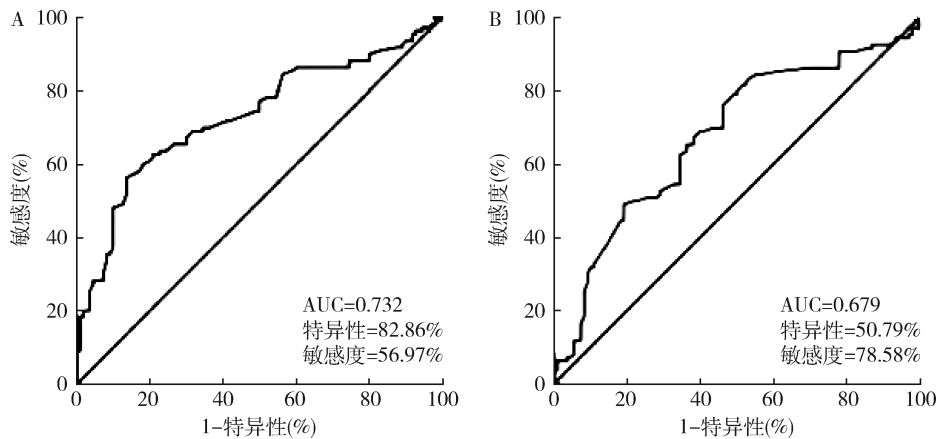


图1 血清 25(OH)D、YKL-40 水平对 MPP 诊断的 ROC 曲线分析
A. 25(OH)D; B. YKL-40

3. 血清 25(OH)D、YKL-40 水平与 MPP 患儿临床病理特征的关系:根据 ROC 曲线所取截断值将 MPP 患儿分为 25(OH)D 高水平组 43 例、25(OH)D 低水平组 64 例和 YKL-40 高表达组 62 例、YKL-40 低表达组 45 例。25(OH)D 低水平者肺炎患儿肺部啰音、呼吸音低、胸腔积液、肺部坏死性炎症等发生率明显高于 25(OH)D 高水平者($P<0.05$);25(OH)D 低水平者肺炎患儿的性别构成、年龄构成、发热时长、肺外并发症发生率与 25(OH)D 高水平者比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。YKL-40 高表达者肺炎患儿中肺外并发症、肺部啰音、呼吸音低、胸腔积液、肺部坏死性炎症等发生率明显高于 YKL-40 低表达者,差异有统计学意义($P<0.05$);YKL-40 高表达者肺炎患儿的性别构成、年龄构成、发热时长与 YKL-40 低表达者比较,差异无统计学意义($P>0.05$),详见表 2。

4. RMPP 患儿与 OMPP 患儿血清 25(OH)D、YKL-40 水平比较:与 OMPP 组肺炎患儿比较,RMPP 组患儿血清 25(OH)D 水平明显降低,YKL-40 蛋白水平显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$),详见表 3。

表 1 MPP 患儿与健康儿童血清 25(OH)D、YKL-40 水平的比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/ml)			
组别	n	25(OH)D	YKL-40
MPP 组	107	22.85 $\pm$ 5.21	35.12 $\pm$ 7.04
对照组	55	32.63 $\pm$ 5.17	24.98 $\pm$ 5.72
t	-	11.343	9.226
P	-	0.000	0.000

5. 血清 25(OH)D、YKL-40 水平对 RMPP 的诊断价值:ROC 曲线分析显示,血清 25(OH)D、YKL-40 水平表现出对 RMPP 患儿和 OMPP 患儿较强的区分能力。血清 25(OH)D 对 MPP 患者诊断的 ROC 曲线下面积为 0.751,95% CI:0.614~0.877($P<0.05$),以 18.57ng/ml 为截断值诊断 RMPP 敏感度为 55.95%,特异性为 81.66%,详见图 2A;血清 YKL-40 对 MPP 患者诊断的 ROC 曲线下面积为 0.797,95% CI:0.683~0.954($P<0.05$),以 38.59ng/ml 为截断值诊断 RMPP 敏感度为 63.76%,特异性为 84.07%,详见图 2B。

讨 论

RMPP 一般指经大环内酯类抗生素治疗 7 天以上,未见明显疗效者,是 MPP 疾病中较为难治的一种。近年来,随着 β 内酰胺类抗生素的推广使用,儿童 RMPP 发生率逐年升高。RMPP 疾病病程进展迅速,易引发肺坏死等严重肺内并发症,对患儿心脏、肝脏、脑等多器官造成损伤,导致多器官功能障碍,严重者进展为坏死性肺炎,甚至死亡^[8]。研究发现,对早期 RMPP 患儿加用糖皮质激素进行治疗,可有效控制肺炎病情发展,改善患儿预后,治疗效果明显^[3]。因

表 2 血清 25 (OH) D、YKL - 40 水平与 MPP 患儿临床病理特征的关系 ($\bar{x} \pm s$)									
项目	<i>n</i>	25 (OH) D		χ^2	<i>P</i>	YKL - 40		χ^2	<i>P</i>
		高	低			高	低		
性别									
男性	52	19	33	0.560	0.454	29	23	0.196	0.658
女性	55	24	31			33	22		
年龄 (岁)									
5 ~ 9	44	15	29	1.155	0.282	28	16	0.994	0.319
10 ~ 12	63	28	35			34	29		
发热时间 (天)									
≤ 3	56	20	36	0.978	0.323	35	21	1.001	0.317
> 3	51	23	28			27	24		
肺外并发症									
有	60	28	32	2.386	0.122	41	19	6.050	0.014
无	47	15	32			21	26		
肺部啰音									
无	61	33	28	11.424	0.001	25	36	16.749	0.000
有	46	10	36			37	9		
呼吸音情况									
正常	41	25	16	11.951	0.001	17	24	7.408	0.006
低	66	18	48			45	21		
胸腔积液									
有	39	8	31	9.882	0.002	28	11	4.831	0.028
无	68	35	33			34	34		
肺部坏死性炎症									
是	59	15	44	11.925	0.001	43	16	12.042	0.001
否	48	28	20			19	29		

表 3 RMPP 患儿与 OMPP 患儿血清 25 (OH) D、YKL - 40 水平比较 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/ml}$)				
组别	<i>n</i>	25 (OH) D	YKL - 40	
RMPP 组	40	19.76 ± 4.08	37.28 ± 5.56	
OMPP 组	67	25.81 ± 5.13	32.17 ± 6.15	
<i>t</i>	—	6.352	4.307	
<i>P</i>	—	0.000	0.000	

此,探索与 RMPP 发生、发展相关的生物标志物,寻找敏感度、特异性较高的 RMPP 诊断生物标志物,可为早期精确诊断、后期靶向治疗及改善 RMPP 患者预后提供新思路。

维生素是维持人和动物正常生理功能的一类微量有机物,自身不可合成产生,依靠从食物中摄取,在

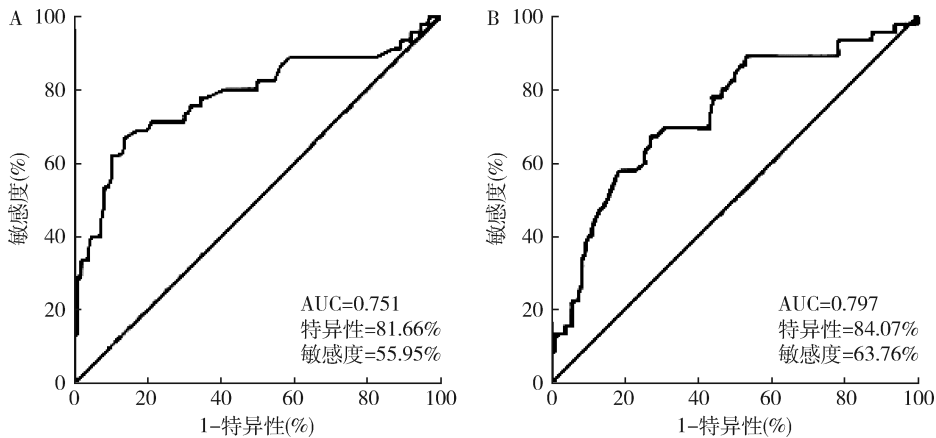


图 2 血清 25 (OH) D、YKL - 40 水平对 RMPP 诊断的 ROC 曲线分析
A. 25 (OH) D; B. YKL - 40

人体生长、发育及代谢等生物过程中具有重要作用^[9]。其中维生素 D 是一类脂溶性固醇类维生素,其活性形式为 1,25(OH)D 半衰期很短,在人体血清中多以稳定的前提形式 25(OH)D 存在,一定程度上可反映人体维生素 D 状态^[10]。邓永超等^[11]研究发现,维生素 D 水平较低儿童,免疫力较低,COX 分析显示,维生素 D 水平较低是儿童发生肺炎的独立危险因素,重症肺炎患儿肺内皮细胞中 25(OH)D 水平显著低于轻症患儿,提示维生素 D 水平较低是影响肺炎由轻症进展为重症的因素之一。

Thuesen 等^[12]研究发现,25(OH)D 低水平哮喘患者 FEV1% 等肺功能较低,提示 25(OH)D 与哮喘患者肺功能有关。另外,Rathored 等^[13]发现,耐多药性结核病患者血清 25(OH)D 水平显著低于普通结核患者。MPP 发病的根本原因即在于机体免疫水平低,免疫系统不能成功抵御支原体病菌感染,因此本研究推测血清 25(OH)D 水平可能与 MPP 疾病发生有关。本研究发现,MPP 患儿血清中 25(OH)D 水平明显低于健康儿童,表明 25(OH)D 水平较低可能是 MPP 疾病发生的原因之一。ROC 曲线分析显示,血清 25(OH)D 对 MPP 患者诊断的 AUC 为 0.732,表明血清 25(OH)D 水平对 MPP 患儿和健康儿童之间有较强的区分能力,提示检测儿童血清 25(OH)D 水平能较准确地诊断 MPP 疾病。进一步研究发现,血清 25(OH)D 水平与 MPP 患儿肺部啰音、呼吸音低、胸腔积液、肺部坏死性炎症发生率有关,提示 25(OH)D 可能参与 MPP 疾病进展。

甲壳质酶蛋白 40 是一种由巨噬细胞、血管平滑肌细胞等合成、释放的分泌型蛋白质,因其 N 端起始氨基酸为酪氨酸(tyrosine, Y)、赖氨酸(lysine, K)和亮氨酸(leucine, L)而被称为 YKL-40^[14]。研究表明,机体中 YKL-40 过表达在多种炎症相关疾病发生、发展中具有重要作用,参与调解炎症相关因子表达、细胞增殖、组织重塑等生理病理过程^[15]。Corradi 等^[16]发现,非小细胞肺癌患者血清 YKL-40 浓度显著升高,检测血清 YKL-40 水平可显著提高肺癌的诊断特异性。Korthagen 等^[17]发现,循环 YKL-40 水平在纤维性间质性肺炎中显著升高,与纤维化程度和炎症的活动程度有关,提示血清 YKL-40 水平可能与肺部病变的发生、发展有关,但 YKL-40 在 MPP 疾病中作用尚不清楚。本研究发现,MPP 患儿血清中 YKL-40 蛋白水平显著高于健康儿童,血清 YKL-40 对 MPP 患者诊断的 AUC 为 0.679,表明血

清 YKL-40 蛋白水平对 MPP 患儿和健康儿童之间有一定区分能力,提示检测儿童血清 25(OH)D 水平可能较准确地诊断 MPP 疾病。进一步研究发现,血清 YKL-40 蛋白水平与 MPP 患儿肺外并发症、肺部啰音、呼吸音低、胸腔积液、肺部坏死性炎症发生率有关,表明血清 YKL-40 蛋白水平与 MPP 疾病严重程度有关,提示 YKL-40 参与 MPP 疾病进展。

根据 RMPP 诊断标准,可将 MPP 患儿分为 OMPP 患儿和 RMPP 患儿,其中 RMPP 患儿常常伴随肺内及肺外多脏器并发症,导致多器官衰竭,病死率更高,治疗的重点在于早期糖皮质激素药物的介入处理和感染的及时有效控制^[18]。因此, RMPP 的准确诊断有利于区分 OMPP 和 RMPP 患者,从而尽早给与合理干预,控制患儿病情进程,改善预后。本研究发现与 OMPP 组肺炎患儿比较, RMPP 组患儿血清 25(OH)D 水平明显降低, YKL-40 蛋白水平显著升高,表明 25(OH)D、YKL-40 可能与 RMPP 发生相关。ROC 曲线分析发现,血清 25(OH)D、YKL-40 水平表现出对 RMPP 患儿和 OMPP 患儿较强的区分能力,且血清 25(OH)D 对 MPP 患者诊断的 AUC 为 0.751,血清 YKL-40 对 MPP 患者诊断的 AUC 为 0.797,敏感度及特异性较高,提示检测 MPP 患者血清 25(OH)D、YKL-40 水平可用于 RMPP 的初步诊断,且血清 YKL-40 水平对 RMPP 的诊断价值更高。然而 25(OH)D、YKL-40 在 MPP 疾病发生、发展中作用机制仍不明确,将在后续研究中进行探究。

综上所述, MPP 患者血清 25(OH)D 水平较低, YKL-40 水平较高,二者对 MPP 具有较高诊断价值,且在 OMPP 患儿和 RMPP 患儿中呈现显著差异,对 RMPP 的诊断具有一定价值,推测检测血清 25(OH)D、YKL-40 水平可能应用于 RMPP 的诊断和早期筛查。

参考文献

- 1 Shin JE, Cheon BR, Shim JW, *et al.* Increased risk of refractory Mycoplasma pneumoniae pneumonia in children with atopic sensitization and asthma[J]. Korean J Pediatr, 2014, 57(6): 271-277
- 2 Gao J, Yue B, Haitao LI, *et al.* Epidemiology and clinical features of segmental/lobar pattern Mycoplasma pneumoniae pneumonia: A ten-year retrospective clinical study[J]. Exp Ther Med, 2015, 10(6): 2337-2344
- 3 李刚, 顾承东, 张素巧, 等. 糖皮质激素对重症社区获得性肺炎合并脓毒性休克患者的治疗价值[J]. 中华危重病急救医学, 2016, 28(9): 780-784
- 4 Chun RF, Liu PT, Modlin RL, *et al.* Impact of vitamin D on immune function: lessons learned from genome-wide analysis[J]. Front Physiol, 2014, 5(5): 151-162