

论著 · 临床研究

新生儿呼吸窘迫综合征合并呼吸机相关肺炎患儿气道灌洗液 IL-4 和 IL-13 水平监测

夏耀方¹, 刘翠青¹, 时会菊², 马莉¹

(1. 河北省儿童医院新生儿科, 河北 石家庄 050031; 2. 深圳市西丽医院儿科, 广东 深圳 518055)

[摘要] 目的 通过监测新生儿呼吸窘迫综合征(RDS)患儿呼吸机相关肺炎(VAP)气道灌洗液中 IL-4 和 IL-13 含量, 了解发生 VAP 时免疫调节功能。方法 68 名机械通气 > 48 h 的 RDS 新生儿作为研究对象, 其中发生 VAP 的患儿 37 名, 未发生 VAP 的 31 名。用 ELISA 法测定机械通气后 1 h、72 h 及 96 h 支气管肺泡灌洗液中 IL-4 和 IL-13 水平。结果 机械通气后 96 h VAP 组支气管肺泡灌洗液中 IL-4 水平显著高于非 VAP 组 (35.34 ± 1.78 ng/L vs 13.69 ± 2.47 ng/L, $P < 0.05$); IL-13 水平亦显著高于非 VAP 组 (33.74 ± 2.74 ng/L vs 13.50 ± 3.81 ng/L, $P < 0.05$)。随着上机时间的延长, VAP 组支气管肺泡灌洗液中 IL-4 及 IL-13 含量逐渐增加, 上机后 96 h 与 1 h 比较差异均有显著性 ($P < 0.05$)。结论 新生儿 RDS 患儿在合并 VAP 时支气管灌洗液中 IL-4 及 IL-13 浓度增高, 提示 IL-4 及 IL-13 参与了体内免疫反应的调节。 [中国当代儿科杂志, 2009 11(8): 645—648]

[关键词] 呼吸窘迫综合征; 呼吸机相关肺炎; IL-4; IL-13 支气管肺泡灌洗液; 新生儿

[中图分类号] R722 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2009)08-0645-04

Interleukin-4 and interleukin-13 concentrations in bronchoalveolar lavage fluid in neonates with respiratory distress syndrome and concurrent ventilator-associated pneumonia

XIA Yao-Fang, LIU Cui-Qing, SHI Hui-Ju, MA Li, Department of Neonatology, Hebei Province Children's Hospital, Shijiazhuang 050031, China (Liu C-Q, Email: liu_cuiqing@gmail.com)

Abstract Objective To study the concentrations of IL-4 and IL-13 in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) in neonates with respiratory distress syndrome (RDS) and concurrent ventilator-associated pneumonia (VAP). Methods Sixty-eight neonates with RDS undergoing mechanical ventilation for over 48 hrs were enrolled. IL-4 and IL-13 levels in BALF were measured using ELISA 1, 72 and 96 hrs after mechanical ventilation. The results were compared between the neonates with concurrent VAP ($n=37$) and without ($n=31$). Results The levels of BALF IL-4 96 hrs after ventilation in the VAP group (35.34 ± 1.78 ng/mL) were significantly higher than those in the non-VAP group (13.69 ± 2.47 ng/mL, $P < 0.05$). The levels of BALF IL-13 96 hrs after ventilation in the VAP group (33.74 ± 2.74 ng/mL) also increased significantly compared with those in the non-VAP group (13.50 ± 3.81 ng/mL) ($P < 0.05$). There were significant differences in BALF IL-4 and IL-13 levels between 1 hr and 96 hrs in the VAP group ($P < 0.05$). Conclusions BALF IL-4 and IL-13 levels increase in neonates with RDS and concurrent VAP. IL-4 and IL-13 may involve in the regulation of the inflammatory immune response. [Chin J Contemp Pediatr 2009 11(8): 645—648]

Key words Respiratory distress syndrome; Ventilation associated pneumonia; IL-4; IL-13; Bronchoalveolar lavage fluid; Neonate

近年来随着新生儿重症监护水平的不断提高和机械通气技术的应用, 呼吸窘迫综合征(RDS)患儿的抢救成活率也越来越高。但呼吸机相关肺炎(ventilator-associated pneumonia, VAP)也逐渐增多, 增加了患儿的死亡率、并发症、住院费用及住院时

间。预防和治疗 VAP 已成为新生儿重症监护病房中棘手的问题。辅助性 T 细胞亚群(helper T cell, Th) Th1/Th2 细胞功能的变化被证明在肺部疾病中发挥复杂的作用^[1]。白介素 4(IL-4)和白介素 13(IL-13)主要由 Th2 型 T 辅助淋巴细胞产生, 在导致

[收稿日期] 2009-01-08 [修回日期] 2009-02-14
[基金项目] 河北省科学技术研究与发展计划项目(07276101D-144)。
[作者简介] 夏耀方, 女, 硕士, 主治医师。主攻方向: 新生儿急救。
[通讯作者] 刘翠青, 女, 教授, 河北省儿童医院新生儿科, 邮编: 050031。

持续的气道炎症反应中发挥关键作用,并且可能与支气管肺发育不良有一定关系。但是有关 IL-4 和 IL-13 在新生儿 RDS 合并 VAP 患儿中的变化尚未见报道。本研究通过检测新生儿 RDS 合并 VAP 时肺泡灌洗液中 IL-4 和 IL-13 的浓度变化,以了解患儿免疫功能是否失衡。

1 对象和方法

1.1 研究对象

河北省儿童医院新生儿科自 2007 年 2~12 月间的住院病人。入选标准:①符合新生儿 RDS 诊断标准^[2];②生后 24 h 内住院;③根据病情需要给予气管插管,且机械通气时间 > 48 h 排除标准:①合并重大呼吸系统、心血管系统、神经系统畸形;②呼吸道感染患儿。符合纳入标准的共有 68 名患儿,其中发生 VAP 的患儿 37 名(54%),未发生 VAP 的患儿 31 名(45%)。分别定义为 VAP 组和非 VAP 组。两组之间性别比、分娩方式、肺表面活性物质(PS)应用、产前类固醇激素应用、日龄、胎龄、体重、SNAPPE-II 评分比较差异均无显著性($P > 0.05$)。

VAP 的诊断标准^[3]:使用机械通气 48 h 后 X 线胸片检查显示:肺部有浸润阴影;查体肺部可闻及湿啰音,同时具备下列条件之一者:白细胞 $> 10 \times 10^9/L$ 体温在 37.5°C 以上,呼吸道有脓性分泌物,从支气管分泌物中分离出病原菌。

本研究在治疗前获得法定监护人的知情认可,签定知情同意书,并经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 临床资料采集 所有入选患儿入院时均记录其出生时间、性别、分娩方式、胎龄、体重、SNAPPE-II 评分、PS 的应用、产前激素应用、合并症、机械通气时间、氧暴露时间。经统计学分析两组之间各项资料比较差异均无显著性($P > 0.05$)。

1.2.2 一般措施 所有入选患儿均给予常规护理及治疗,应用 Dräger Babylog 8000 呼吸机行机械通气,通气模式采用同步间歇正压联合容量保证。潮气量(VT) $3 \sim 6 \text{ mL/kg}$

1.2.3 取材时间 所有入选患儿在气管插管后 1 h、48~72 h、96 h 三次采集气道灌洗液作细菌培养、药敏试验及拍摄胸部 X 线片。

1.2.4 支气管灌洗液取材方法 用生理盐水 $0.5 \sim 1 \text{ mL/kg}$ 注入气管插管,人工气囊加压 3~4 次,抽吸气管分泌物在负压管中,再用 0.5 mL 生理盐水将所有标本冲到试管中,整个过程严格遵守无

菌操作规程。所有标本滤去分泌物、沉淀物, 3000 r/min 取上清液 $400 \mu\text{L}$ 放于 -20°C 冰箱冻存备检。

1.2.5 支气管肺泡灌洗液 IL-4、IL-13 测定 采用双抗体夹心 ABC-ELISA 法于机械通气后 1 h、72 h 及 96 h 检测。试剂盒由上海轩昊科技公司提供,所用仪器为雅培 AXSYM 免疫分析仪。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 10.0 软件包进行统计学分析。对计量资料进行正态性检验和方差齐性检验,服从正态分布和方差齐性的资料,采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示;计量资料间比较采用两样本比较的 t 检验。计数资料组间比较采用卡方检验。各项指标的变化采用重复测量设计方差分析,对资料进行正态性及球对称性检验,不满足球对称性条件时,使用 Greenhouse-Geisser(G-G) 法的球对称系数进行校正。检验水准 $\alpha = 0.05$ $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 两组 IL-4 及 IL-13 含量的比较

机械通气后 VAP 和非 VAP 组支气管肺泡灌洗液中 IL-4 及 IL-13 含量见表 1。上机后 1 h 和 72 h 两组 IL-4 及 IL-13 含量比较,差异无显著性($P > 0.05$)而上机后 96 h VAP 组 IL-4 及 IL-13 含量显著高于非 VAP 组,差异有显著性($P < 0.05$)。

2.2 组内 IL-4 及 IL-13 含量比较

VAP 组在上机后 1 h 与 72 h 支气管肺泡灌洗液中 IL-4 和 IL-13 比较差异均无显著性, $P > 0.05$ 。但随着上机时间延长, VAP 组支气管肺泡灌洗液中 IL-4 和 IL-13 水平逐渐增高, 96 h 与 1 h 比较,差异有显著性($P < 0.05$)。非 VAP 组在 3 个时间点间支气管肺泡灌洗液中 IL-4、IL-13 水平的比较差异均无显著性(表 1)。

2.3 两组患儿机械通气、氧暴露时间以及并发症和转归的比较

VAP 和非 VAP 组机械通气时间分别为 $140.34 \pm 8.15 \text{ h}$ 、 $119.37 \pm 4.01 \text{ h}$ VAP 组显著长于非 VAP 组($P < 0.05$)。氧暴露时间分别为 $220.34 \pm 18.73 \text{ h}$ 、 $169.47 \pm 16.34 \text{ h}$ VAP 组显著长于非 VAP 组($P < 0.05$)。VAP 组死亡 4 例,发生颅内出血 4 例,发生气漏 3 例。非 VAP 组死亡 1 例,发生颅内出血 2 例,发生气漏 1 例。两组死亡例数及颅内出血、气漏发生例数比较差异无显著性($P > 0.05$)。

表 1 两组各时间点支气管肺泡灌洗液中 IL-4 及 IL-13 含量比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)

时间 (h)	IL-4		IL-13	
	非 VAP 组	VAP 组	非 VAP 组	VAP 组
1	15.53 ± 1.32	17.31 ± 0.95	12.54 ± 1.03	13.75 ± 0.74
72	16.68 ± 1.07	18.23 ± 0.77	13.08 ± 1.06	14.80 ± 0.77
96	13.69 ± 2.47	35.34 ± 1.78 ^{a, b}	13.50 ± 3.81	33.74 ± 2.74 ^{a, b}
F 值	34.04		19.06	
P 值	< 0.01		< 0.01	

a 与非 VAP 组比较, P < 0.05; b 与同组 1 h 比较, P < 0.05

2.4 VAP 的病原菌及药物敏感性分析

VAP 组的 37 例患儿痰培养结果:肺炎克雷伯菌 17 例 (45.9%), 铜绿假单胞菌 9 例 (24.3%), 鲍氏不动杆菌、催产克雷伯菌、阴沟肠杆菌各 2 例, 大肠埃希杆菌、液化沙雷菌、臭鼻克雷伯菌、非发酵 G 杆菌、使水泡单胞菌各 1 例。药物敏感试验:对美罗培南、环丙沙星、阿米卡星多数敏感。部分对头孢哌酮舒巴坦敏感, 对哌拉西林及头孢曲松多数耐药。

3 讨论

VAP 是机械通气的常见并发症, 其发生率国内报道为 17.5% ~ 70%, 国外报道为 9% ~ 70%^[4]。本研究显示 VAP 的发生率为 54%。本组病例 VAP 的病原菌中革兰阴性菌在 60% 以上, 并且耐药率高, 增加了治疗难度。其结果是延长了机械通气时间、吸氧时间, 对患儿本身及其家庭、社会增加了负担。VAP 的发生是由于机械通气的持续正压和较高的潮气量, 使气道上皮细胞损伤, 气道黏膜基底层长期暴露, 造成致病菌的侵入。机械通气诱发的炎症过激反应, 以及免疫调节紊乱也是造成 VAP 的重要因素^[5, 9]。

Th 对于机体的特异性免疫和非特异性免疫, 以及对细胞免疫和体液免疫均有重要的调节作用。Th1 细胞分泌 IFN- γ , IL-2, IL-12, TNF β 等可以增强杀伤炎症细胞的细胞毒性作用, 介导细胞免疫应答。Th2 细胞产生 IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 等细胞因子, 以抗炎症介质为主, 促进抗体的产生, 介导体液免疫应答。Th1/Th2 通过其分泌的细胞因子以负反馈机制互相调节对方的分化和增殖^[7]。如果机体免疫系统选择了某一亚群为主的应答, 这种 Th 细胞就会正反馈地加强自身优势, 压抑另一亚群发展^[8]。

IL-4 主要由活化的 Th2 细胞和肥大细胞产生, 对 Th2 类细胞因子的产生和对淋巴细胞及巨噬细胞发挥免疫调节作用。IL-4 能阻滞抗体依赖性细胞

毒性作用, 抑制 IL-1 β 、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 前列腺素 E₂ (PGE₂), IL-6, IL-8 及一氧化氮的产生^[9]。IL-4 对巨噬细胞是一种强有力趋化剂, 并能诱导 B 细胞产生 IgG₁ 和 IgE 引起气道高反应性, 可能与支气管肺发育不良有关^[10]。IL-13 能调节单核巨噬细胞形态的变化, 下调炎症细胞因子和趋化因子的合成, 包括 TNF- α , IL-1, IL-6 等, 起着重要的炎症调节作用^[11]。IL-13 和 IL-4 是在人体内发现的仅有的两种可以直接促进 IgE 合成的细胞因子。

新生儿的免疫能力较成人低下, 这就给 VAP 的发生与发展提供了可能。新生儿期 T 辅助细胞功能低下, 产生各种细胞因子的能力普遍不足^[12]。尤其以 Th1 类细胞因子水平低下更为显著, 呈现低水平的 Th2 优势。本研究通过监测 RDS 患儿支气管灌洗液中 IL-4 及 IL-13 浓度变化, 发现患儿在发生 VAP 后 IL-4 及 IL-13 水平明显增高, 而且 VAP 组明显高于非 VAP 组, 说明 IL-4 及 IL-13 参与了体内炎症免疫反应的调节, 使 Th1/Th2 平衡越来越向 Th2 倾斜。通过监测患儿体内 IL-4 和 IL-13 浓度变化可以间接了解 Th1/Th2 平衡, 帮助了解正在给予机械通气的患儿肺部炎症发生、发展过程, 为探讨进一步的临床干预措施提供帮助^[13]。

[参 考 文 献]

- [1] Iwanura C, Kimura MY, Shinoda K, Endo Y, Hasegawa A, Yamashita M, et al. Schnurri2 regulates Th2-dependent airway inflammation and airway hyperresponsiveness. *J. Int Immunol* 2007; 19(6): 755-762
- [2] 金汉珍, 黄德珉, 官希吉. 实用新生儿学 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 421-427.
- [3] 李文静, 刘翠青, 马莉. 新生儿呼吸机相关性肺炎病原菌分析. *中国新生儿科杂志*, 2006; 21(1): 36-38.
- [4] Peltachai W. Ventilator associated pneumonia in a newborn in intensive care unit. *J. Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2004; 35(3): 724-729
- [5] Noor A, Hussain SF. Risk factors associated with development of ventilator associated pneumonia. *J. Coll Physicians Surg Pak* 2005; 15(2): 92-95.
- [6] 刘翠青, 曹蕾, 郑华成, 贾系群, 康利民, 李兰凤, 等. 肺泡巨噬细胞核转录因子 κB 和核转录因子抑制物 $\kappa B-\alpha$ 在肺透明膜病中的表达 [J]. *中华儿科杂志*, 2006; 46(8): 602-606
- [7] Liu Q, Liu Z, Rozo CT, Hamed HA, Alem F, Urban JF, Jr, et al. The role of B cells in the development of CD4 effector T cells during a polarized Th2 immune response. *J. Immunol* 2007; 179(6): 3821-3830
- [8] Kay AB. The role of T lymphocytes in asthma. *J. Chem Immunol Allergy* 2006; 94: 59-75
- [9] Kimura MY, Iwanura C, Suzuki A, Miki T, Hasegawa A, Sugaya K, et al. Schnurri2 controls memory Th1 and Th2 cell numbers in vivo. *J. Immunol* 2007; 178(8): 4926-4936
- [10] Kimura MY, Hasegawa H, Yamashita M, Hasegawa A, Iwanura C, Wataira H, et al. Regulation of T helper type 2 cell differentiation by murine Schnurri2. *J. Exp Med* 2005; 201(3): 397-408

[11] Kehler J, Gamara F, Welsch U, Jores RA, Huber RM, Begner A et al. IL-13Ralph2 reverses the effects of IL-13 and IL-4 on bronchial reactivity and acetylcholine induced Ca²⁺ signaling [J]. *Int Arch Allergy Immunol* 2007; 142(3): 199-210.

[12] Salahuddin N, Zafar A, Sulkhyan L, Rahim S, Noor MF, Hussain K et al. Reducing ventilator associated pneumonia rates through a staff education program [J]. *J Hosp Infect* 2004; 57(3):

223-227.

[13] 朱绪亮, 赵玲, 杨嘉琛, 陈晓, 吴星恒. 新生儿呼吸机相关性肺炎的病原学和高危因素分析 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2007; 9(6): 549-552.

(本文编辑: 吉耕中)

· 病例报告 ·

新生儿恶性组织细胞增生症 1 例

李军, 李贵南, 孙正香, 刘新晖, 李强

(湖南省儿童医院新生儿 I 科, 湖南 长沙 410007)

[中图分类号] R722.733.1 [文献标识码] E [文章编号] 1008-8830(2009)08-0648-01

患儿, 男, 10 d 因发热、皮肤黄染、呕吐、腹泻 3 d 入院。患儿 G₄P₂, 足月顺产, 无窒息史, 母亲 36 岁, 妊娠 0~6 月有密切农药接触史 (包括有机磷、有机氮、有机菊酯、金属类等), 有同胞兄弟 1 人, 12 岁, 体健。入院查体: T 38.6℃, 生命体征平稳, 皮肤中度黄染, 双肺闻及痰鸣音, 心脏听诊正常, 肝肋下 2 cm 质软, 肛门右侧可触及一肿块, 边界不清, 表面皮肤红肿, 中心部位发黑, 无波动感, 穿刺无脓液。入院后实验室检查: WBC 0.07×10⁹/L, Hb 136 g/L, PLT 19×10⁹/L, 生生化示肝肾功能受损, CRP 180 mg/L, 细胞免疫: 淋巴细胞明显减低, T 淋巴细胞比值增高, 抑制性 T 淋巴细胞亚群比值增高, B 淋巴及 NK 细胞比值减低; 体液免疫 (一), TORCH 梅毒、HIV 肝炎全套检查均阴性, B 超示肝脾大, 肠系膜淋巴结未见, 胸腺发育不良。曾 3 次骨髓穿刺检查, 仅 1 次于骨髓片中找到一个有核细胞。入院后予保护性隔离, 万古霉素、美罗培南等抗感染, 多次输血小板、浓缩红细胞, 静脉用粒细胞集落刺激因子、静脉丙种球蛋白等支持治疗。但患儿白细胞计数除一次为 0.54×10⁹/L (输血后) 外, 其余均低于 0.5×10⁹/L, 最低为 0.05×10⁹/L, 血红蛋白、血小板进行性下降; 渐出现皮肤出血点, 肛周肿块一直未形成脓肿, 黄疸和肝功能受损进行性加重, 全身情况恶化, 于住院第 27 天出现呼吸循环衰竭经抢救无效死亡。死亡后尸体解剖病理检查: 肝窦、肝索、脾索、肺泡间质内见较多的异型核组织细胞浸润, 肾间质内、骨髓见少数异型核组织细胞浸润, 骨髓镜下见原粒细胞及原白细胞较正常减少; 胸腺重 2 g 较正常新生儿小, 镜下见胸腺组织明显发育不良, 大部分为胸腺上皮样细胞形成的胸腺基质, 散在分布较少的淋巴细胞, 扁桃体缺如; 诊断: ①恶性组织细胞增生症 (肝、脾、肺、肾、骨髓受累); ②胸腺发育不良。

讨论: 恶性组织细胞增生症 (恶组) 是单核-巨噬细胞系统中组织细胞及其前体细胞异常增生, 广泛浸润各组织器官的恶性疾病。但有研究表明, 真正起源于组织细胞的极少见^[1]。其发病年龄多在 15~40 岁之间, 婴幼儿少见^[2]。该病目前病因不明, 可能与 EB 病毒或 B19 微小病毒有关, 但未找到证据。临床表现多样化, 多数起病急, 进展快, 常以发热

为首发症状, 晚期可出现面色苍白、消瘦、黏膜皮肤出血、肝脾和淋巴结肿大。外周血常规早期无特异性, 晚期则可出现三系减少; 骨髓: 多数骨髓象增生活跃, 也可增生低下 (三系减少), 但常出现空抽现象。确诊依靠于骨髓及病变部位组织的活检, 但由于病情进展快, 骨髓常难获得而误诊率很高, 免疫组织化学检查对确定异常组织细胞的起源有一定价值^[3]。治疗主要为对症支持、联合化疗, 部分病例有近期疗效, 国外已开始骨髓移植但疗效不确定^[4]。预后很差, 病死率高, 大多发病后短期内死亡。

该患儿于生后第 7 天出现明显症状, 考虑先天性的可能性大, 属国内外罕见; 孕母有密切的农药接触史, 是否与本病有关, 未查到相关报道; 本例患儿以发热起病, 伴有黄疸, 有肝脾肿大等多器官受损, 三系减少, 骨髓穿刺出现空抽现象, 均与本病相符, 但白细胞如此低者少见; 该患儿还伴有胸腺发育不良和扁桃体缺如, 是否与该患儿可能为胎儿期起病, 导致网状组织系统发育不良有关, 有待进一步探讨。该病例提示, 恶组在新生儿期罕见, 但也可发病, 临床出现不能解释的发热、无法控制的感染、三系减少、骨髓空抽等恶性组织细胞增生的特征性表现时, 应考虑到该病的可能, 应尽早获取骨髓或其他部位的病理学检查结果以明确诊断, 生前未能明确诊断者, 尸检为最后明确诊断的方法。

[参 考 文 献]

[1] 鲁昌立, 李甘地. 恶性组织细胞增生症的研究进展 [J]. *实用肿瘤杂志* 2003; 18(1): 11-15.

[2] Onciu M. Histocytic proliferations in childhood [J]. *Am J Clin Pathol* 2004; 122(1): 128-136.

[3] Pillay K, Solomon R, Daubenton JJ. Sinus histiocytosis with eosinophilic dendritic cell sarcoma: a report of four paediatric cases and review of the literature [J]. *Histopathology* 2004; 44(3): 283-291.

[4] Dalle JH, Leblond P, Decouveleere A, Yekoub-Agha J, Puelhannec C, Nelken B et al. Efficacy of thalidomide in a child with histiocytic sarcoma following a [k] geneic bone marrow transplantation for T-ALL [J]. *Leukemia* 2003; 17(10): 2056-2057.

(本文编辑: 吉耕中)

[收稿日期] 2008-12-27; [修回日期] 2009-02-07
[作者简介] 李军, 男, 大学, 医师。主攻方向: 新生儿疾病。