

支气管鼻病毒感染与儿童哮喘发病的关系

吴爱民, 陈 强, 刘建梅

(江西省儿童医院呼吸科, 南昌 330006)

摘要: 目的 探讨鼻病毒(RV)感染与儿童哮喘发病的关系。方法 应用反转录 PCR(RT-PCR)法检测 30例哮喘急性发作期患儿(哮喘发作组)及 30例哮喘缓解期患儿(哮喘缓解组)及 30例健康儿童(健康对照组)鼻咽分泌物中 RV基因。利用化学发光法检测各组儿童血清总 IgE(T-IgE), 同时测定其外周血嗜酸性粒细胞(EOS)计数及肺功能第 1秒用力呼气容积占预计值百分比(FEV₁% Pre)。结果 哮喘发作组 RV感染率为 36.67%, 哮喘缓解组 RV感染率为 3.33%, 健康对照组未检测到 RV。哮喘发作组 RV感染率与哮喘缓解组及健康对照组比较差异有统计学意义($\chi^2=7.501347$ $P<0.01$)。缓解组患儿 RV感染率与健康对照组比较差异无统计学意义($\chi^2=1.017$ $P>0.05$)。哮喘发作组 RV感染患儿肺功能 FEV₁% Pre为(62.73±13.54)%, 哮喘发作组非 RV感染患儿肺功能 FEV₁% Pre为(86.42±17.78)%, 二者比较差异均有统计学意义($F=14.553$ $P<0.05$)。哮喘发作组 RV感染患儿 T-IgE为(836.32±44.801) kU/L, EOS%为 10.63±4.09, 哮喘发作组非 RV感染患儿 T-IgE为(439.10±231.28) kU/L, EOS%为 5.04±2.64。2组 T-IgE及 EOS%比较差异均有统计学意义($U=2.475$ $F=20.806$ $P<0.05$)。RV感染患儿 T-IgE与 EOS%无相关性($r=0.364$ $P>0.05$)。结论 RV感染与哮喘急性发作和(或)加重密切相关。高水平血清 T-IgE的患儿更易因 RV感染而诱发哮喘加重。

实用儿科临床杂志, 2009, 24(16): 1230-1232

关键词: 哮喘; 鼻病毒; 免疫球蛋白 E; 嗜酸性粒细胞; 反转录聚合酶链反应; 儿童

中图分类号: R725.6 文献标志码: A 文章编号: 1003-515X(2009)16-1230-03

Relationship between Rhinovirus Infection and Asthma in Children

WU Ai-min, CHEN Qiang, LU Jian-mei

(Department of Respiratory Children's Hospital of Jiangxi Province, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China)

Abstract: Objective To explore the correlation of rhinovirus infection and the morbidity of asthma in children. Methods The RV gene in nasopharyngeal secretion of 30 children with asthma acute exacerbation (asthma group), 30 children in asthma clinical remission (remission group) and 30 healthy children (control group) were detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). The total serum IgE (T-IgE) was determined by chemiluminescence. The eosinophil (EOS) count (EOS%) of peripheral blood and lung function were also measured. Results The rhinovirus infection rate was 36.67% in asthma group and 3.33% in remission group. No rhinovirus was detected in control group. The rate of rhinovirus infections in asthma group was significantly higher than that in remission group and control group ($\chi^2=7.501347$ $P<0.01$). There was no difference of rhinovirus infection rate between remission group and control group ($\chi^2=1.017$ $P>0.05$). FEV₁% was (62.73±13.54)% in asthma rhinovirus infection and (86.42±17.78)% in asthma with no rhinovirus infection. There was remarkable difference between 2 groups ($F=14.553$ $P<0.05$). The T-IgE was (836.32±44.801) kU/L and EOS% was 10.63±4.09 in asthma group with rhinovirus infection. The total IgE was (439.10±231.28) kU/L and EOS% was 5.04±2.64 in asthma group with no rhinovirus infection. There was significant difference between 2 groups ($U=2.475$ $F=20.806$ $P<0.05$). But the T-IgE and EOS% had no correlation ($r=0.364$ $P>0.05$). Conclusions There is a close correlation between rhinovirus infection and acute attack of asthma (or worsening asthma) in children. Asthma exacerbations would be likely to happen easier because of rhinovirus infection in asthmatic children with high T-IgE.

J APPLIC in Pediatr 2009, 24(16): 1230-1232

Key words: asthma; rhinovirus; immunoglobulin E; eosinophils; reverse transcription-polymerase chain reaction; child

支气管哮喘是由多种细胞[如嗜酸性粒细胞(EOS)、肥大细胞、T淋巴细胞、中性粒细胞及呼吸道上皮细胞等]和细胞组分共同参与的慢性炎症性疾病^[1-2]。其病因及发病机制复杂。一般认为,血清 IgE异常增高是哮喘的重要特征。文献报道哮喘急性发作或(和)哮喘加重的主要原因之一是呼吸道病毒感染,其中鼻病毒(RV)是引起人类呼吸道病毒感染的最常见病原体^[3]。然而因 RV有 100多个血清型,临床难以找到有效的血清学检测方法,且 RV临床分离较困难。由于检测方法局限(大部分采用培养分离的方法),限制了其在临床开展。目前,国内对儿童哮喘与 RV感染的关系的研究很少。本研究

采用反转录 PCR(RT-PCR)检测哮喘患儿鼻咽分泌物中 RV基因,应用化学发光法检测哮喘患儿血清总 IgE(T-IgE),并检测外周血 EOS计数及肺功能第 1秒用力呼气容积占预计值百分比(FEV₁% Pre),探讨 RV感染与儿童哮喘发病的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 病例组:2007年11月—2008年10月江西省儿童医院呼吸科住院的哮喘急性发作期(哮喘发作组)患儿 30例(男 15例,女 15例)及门诊随访哮喘缓解期(哮喘缓解组)患儿 30例(男 16例,女 14例)。年龄 5~15岁。诊断均符合文献[1]标准。健康对照组:为同期在江西省儿童医院儿童保健科健康体检儿童 30例(男 14例,女 16例),无变态反应性疾病及寄生虫感染史,未使用过糖皮质激素,近 6个月无呼吸道感染儿童。年龄

收稿日期: 2009-07-22

基金项目: 江西省卫生厅科技计划项目资助(20073153)

作者简介: 吴爱民,男,主治医师,学士学位,研究方向为呼吸系统疾病。

通讯作者: 陈 强,女,主任医师,硕士生导师,研究方向为呼吸系统疾病,电子信箱: rx-@163.com

5~15岁。所做研究家属均知情同意。

1.2 方法 标本采集:患儿于就诊当日留取鼻咽分泌物(咽拭子提取),送实验室直接处理或置-70℃冰箱冻存;常规静脉取血2份,2 mL份,1份不加抗凝剂用于检测血清总 IgE 另1份加乙二胺四乙酸二钾抗凝剂用于EOS计数,送实验室直接处理。RV基因检测:特异性RV见文献[4]。上游引物:5'-GAATGXGGCTAACCTTAAAYCC3'(X=T/C Y=C/A);下游引物:5'-CAAAGTAGTWTG-GTCCCHTCC3'(W=T/C H=A/G);由上海捷瑞生物工程有限公司合成。鼻咽拭子样本应用 Trizol 提取 RNA 用一步法 RT-PCR试剂盒(Promega公司)扩增:总反应体积50 μL,扩增程序为先反转录45℃ 45 min 预变性94℃ 2 min 然后变性94℃ 30 s 退火60℃ 1 min 延伸68℃ 2 min 共35个循环;最后68℃延伸7 min 扩增产物检测:30 g/L琼脂糖凝胶电泳,见93 bp电泳带为阳性。法国SDR肺功能仪(SPIRODYN'R)监测FEV₁%指标。血清T-IgE测定:取血清标本按化学发光免疫分析仪(ACS80 SE)说明进行操作;IgE试剂盒为Bayer公司生产。EOS计数:取标本按全血细胞分析仪(XT-1800)操作规程进行操作。

1.3 统计学处理 应用SPSS 11.5软件进行处理。计数资料采用χ²检验,计量资料用x±s表示。组间比较,方差齐者采用F检验,方差不齐者采用秩和检验;二因素之间相关性采用Spearman秩相关分析。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RV感染率 哮喘发作组鼻病毒检测阳性11例,RV感染率为36.67%;哮喘缓解组鼻病毒检测阳性1例,RV感染率为3.33%;健康对照组未查到RV。哮喘发作组RV感染率与哮喘缓解组及健康对照组比较,差异均有统计学意义(χ²=7.50 13.47 P₁<0.01),哮喘缓解组RV感染率与健康对照组比较,差异无统计学意义(χ²=1.017 P>0.05)。

2.2 哮喘发作组RV感染及非RV感染患儿相关指标比较 哮喘发作组RV感染患儿FEV₁% Pre为(62.73±13.54)%,较非RV感染患儿FEV₁% Pre为[(86.42±17.78)%]降低,差异有统计学意义(F=14.553 P<0.05)。哮喘发作组RV感染患儿T-IgE为(836.32±44.801) kU/L,较非RV感染患儿T-IgE为[(439.10±231.28) kU/L]明显升高,差异有统计学意义(U=2.475 P<0.05);哮喘发作组RV感染患儿EOS%为(10.63±4.09)%较非RV感染患者EOS%[(5.04±2.648)%]明显升高,差异有统计学意义(F=20.806 P<0.05)。

2.3 哮喘发作组、哮喘缓解组及健康对照组儿童T-IgE与EOS%的相关性 哮喘发作组患儿T-IgE与EOS%呈正相关(r=0.763 P<0.01);哮喘缓解组T-IgE与

EOS%呈正相关(r=0.607 P<0.01);健康对照组T-IgE与EOS%无相关(r=0.354 P>0.05);哮喘发作组RV感染患儿T-IgE与EOS%无明显相关性(r=0.364 P>0.05);非RV感染患儿T-IgE与EOS%呈正相关(r=0.688 P<0.05)。

2.4 哮喘发作组、哮喘缓解组以及健康对照组T-IgE与EOS%的指标比较 哮喘缓解组T-IgE为(584.74±374.59) kU/L, EOS%为(7.09±4.19)%,哮喘发作组T-IgE为(316.90±163.88) kU/L, EOS%为(4.45±1.53)%,健康对照组T-IgE为(150.23±81.83) kU/L, EOS%为(2.47±0.90)%;哮喘发作组T-IgE与缓解组及健康对照组比较,差异有统计学意义(U=-3.238 P<0.05 U=-5.648 P<0.01);哮喘发作组EOS%与哮喘缓解组及健康对照组比较,差异有统计学意义(U=-2.506 P<0.05 U=-4.747 P<0.01);哮喘缓解组患儿T-IgE与健康对照组比较,差异有统计学意义(U=-4.274 P<0.01)。哮喘缓解组EOS%与健康对照组比较,差异有统计学意义(U=-4.498 P<0.01)。

2.5 RV基因电泳图 见图1。

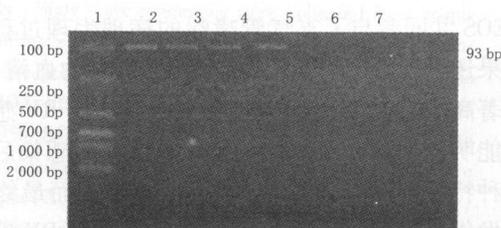


图1 哮喘患儿鼻咽拭子中RV基因电泳图 1: Marker 2, 3, 4, 5为阳性结果, 6, 7为阴性结果

3 讨论

RV于1956年Pelton用组织培养方法发现,属小核糖核酸科,是引起人类呼吸道病毒感染的最常见病原体^[2]。过去认为RV感染主要限于上呼吸道,近来越来越多的证据表明,RV可存在于下呼吸道,且是引起婴幼儿及儿童下呼吸道感染的重要病原之一^[5]。本研究采用RT-PCR检测哮喘患儿鼻咽分泌物中RV基因,发现哮喘发作组RV感染率为36.67%,而哮喘缓解组仅有1例RV检测阳性,感染率为3.3%,健康对照组未检测到RV基因;哮喘发作组RV感染与哮喘缓解组及健康对照组比较有显著差异;哮喘缓解组RV感染率与健康对照组比较无明显差异;且哮喘发作组RV感染患儿肺功能FEV₁%明显低于非RV感染患儿;说明RV感染与哮喘急性发作和(或)哮喘加重有相关性。与文献报道一致^[6]。但文献报道哮喘急性发作期RV阳性率高于本研究,考虑为年龄组不同或样本数差异所致可能性大。研究发现鼻病毒感染与哮喘的发生、发展、病情严重程度、病程等密切相关,Xatzip-sal等^[7]检测88例呼吸道鼻咽分泌物,检出RV感染患者血RV发现10例有RV血症,其中7例为哮喘急性发作患者(占7/28例),提示RV血症可能参与哮喘急性发作。婴幼儿期有呼吸道RV感染且出现临床症状的患儿,

学龄前期更容易出现喘息或哮喘, RV感染的哮喘患儿呼吸道高反应性持续长达5~11周^[8]。King等^[9]通过研究发现, RV感染哮喘严重发作的患儿, 6周后其鼻咽分泌物仍可检测到RV证实持续RV感染可能与哮喘急性发作严重程度有关。Wark等^[10]研究发现哮喘患儿RV感染时临床症状明显加重、症状持续时间更长、肺功能更为降低, 主要是因为哮喘患儿变应性呼吸道炎性反应使机体抗病毒免疫受损, 同时RV感染使哮喘患儿呼吸道上皮细胞免疫应答不足, 从而有利于RV在呼吸道上皮细胞复制。Xatzipsaltis等^[11]研究发现鼻病毒感染诱导气管上皮细胞的细胞毒性及延缓呼吸道上皮细胞的创伤愈合, 使呼吸道上皮细胞增生及自我修复能力减弱, 从而促成哮喘患者呼吸道重塑的发生。

支气管哮喘与I型变态反应的发生有关, EOS浸润是支气管哮喘的基本病理特征。本研究结果显示哮喘发作组患儿血清T_H1_β外周血EOS与哮喘缓解组患儿及健康对照组比较有显著差异, 哮喘缓解组患儿血清T_H1_β外周血EOS与健康对照组比较有明显差异; 哮喘发作组及哮喘缓解组患儿血清T_H1_β与EOS%呈正相关; 提示T_H1_β EOS共同参与了支气管哮喘的病理生理过程。本研究结果还发现, 哮喘发作组RV感染患儿的血清T_H1_β水平显著高于非RV感染患儿, 且哮喘发作组RV感染患儿肺功能明显低于非RV感染患儿, 提示RV感染后可能作为一种特异性的过敏原导致 β_2 升高, 从而最终导致哮喘的发作; 或高水平血清 β_2 的患儿更易因RV感染而诱发哮喘加重。与文献报道一致^[12]。本研究结果还发现哮喘组RV感染者T_H1_β与EOS%升高无相关, 提示哮喘组RV感染患者T_H1_β与EOS%升高可能是通过不同的机制发生, 或因本研究样本太少(RV感染样本少)所致, 有待于进一步研究。

像大多数呼吸道病毒感染一样, 呼吸道RV感染也有明显的季节分布, 国外研究显示感染流行高峰在每年的春季和秋季。张志勇等^[13]报道的重庆地区RV感染其流行无明显季节特点, 江文辉等^[14]在广州地区为期1年的研究中发现RV检出率全年在3~5月份和10~11月份有2个高峰, 赵林清等^[15]在北京地区2002—2006年急性呼吸道感染儿童中鼻病毒感染的研究发现RV检出率高

峰中3%在2、3月份, 显示RV流行高峰也存在有地域上的差异。本研究因样本太少, 未能反映RV感染与哮喘急性发作的季节性, 且未发现RV感染与哮喘急性发作患者性别有无差异。有待于进一步研究。

总之, 本研究证实了RV感染与哮喘急性发作和(或)加重密切相关。高水平血清T_H1_β的患儿更易因RV感染而诱发哮喘加重; 或RV感染患儿后可能作为一种特异性的过敏原导致T_H1_β升高, 从而最终导致哮喘的发作。一步法RT-PCR系统检测RV基因有快速、简便的优点, 适用于临床检测。

参考文献

- [1] 郭海英, 陈钦, 周新. 咳嗽变异性哮喘33例临床分析[J]. 新乡医学院学报, 2006, 23(1): 88—89
- [2] 张士奎, 张道远. 哮喘90例对糖皮质激素气雾依从性调查[J]. 新乡医学院学报, 2006, 23(1): 46—47
- [3] 牟京辉, 陈慧中. 病毒感染与婴幼儿喘息性疾病[J]. 实用儿科临床杂志, 2007, 22(16): 1212—1214
- [4] 向稚丹, 方峰, 董永绥, 等. 一步法RT-PCR从临床样本中检测到鼻病毒基因[J]. 中华儿科杂志, 2005, 43(9): 643—647
- [5] 魏红霞, 蒋瑾瑾. 呼吸道病毒感染与支气管哮喘[J]. 国际儿科学杂志, 2006, 33(5): 327—329
- [6] 窦丽阳, 冯玉麟. 病毒感染与哮喘的急性加重[J]. 华西医学, 2007, 22(1): 193—194
- [7] Xatzipsaltis M, Kyriakou S, Tsojia M, et al. Rhinovirus viraemia in children with respiratory infections[J]. Am J Respir Crit Care Med 2005; 172(8): 1037—1040
- [8] Meric M, Hbbas K, Nicholas H, et al. Role respiratory virus in acute upper and lower respiratory tract illness in the first year of life[J]. Pediatr Infect Dis J 2006; 25(8): 680—686
- [9] King S, Williams Z, Donniger H, et al. Persistence of rhinovirus RNA after asthma exacerbations in children[J]. Clin Exp Allergy 2005; 35(5): 672—678
- [10] Wark PA, Johnston SL, Buccheri F, et al. Asthmatic bronchial epithelial cells have a deficient innate immune response to infection with rhinovirus[J]. JEM 2005; 201(6): 937—947
- [11] Xatzipsaltis M, Psaros F, Konstantinou G, et al. Modulation of the epithelial inflammatory response to rhinovirus in an atopic environment[J]. Clin Exp Allergy 2007; 38: 466—472
- [12] 张静, 钟红. 鼻病毒与哮喘恶化[J]. 国外医学: 微生物学分册, 2005, 28(3): 37—39
- [13] 张志勇, 陈昕, 赵耀, 等. 重庆地区急性呼吸道感染儿童鼻病毒检测分析[J]. 实用儿科临床杂志, 2008, 23(10): 736—738
- [14] 江文辉, 陈羿, 张莹莹, 等. 广州地区儿童急性呼吸道鼻病毒感染的临床研究[J]. 中国儿童保健杂志, 2008, 16(8): 418—422
- [15] 赵林清, 钱渊, 朱汝南, 等. 北京地区2002—2006年急性呼吸道感染儿童中鼻病毒感染的研究[J]. 中华流行病学杂志, 2008, 28(7): 683—685

(本文编辑: 赵金燕)

《中国输血杂志》2010年征订启事

《中国输血杂志》系中华人民共和国卫生部主管, 中国输血协会暨中国医学科学院主办, 面向医疗单位、采供血机构、生物制品研发单位、医学科院所及大专院校各类人员的临床医学类学术期刊。自1988年3月创刊以来, 主要报道输血临床工作、输血基础研究、献血与健康、输血行业管理以及血液制品的研发与应用等方面的最新成就, 多角度地客观反映国内输血医学及输血科学的进展与水平; 辟有专家述评、特色专栏、论著、实验研究、临床研究、调查报告、个例报告、经验与方法、综述、血液制品、临床输血、输血管理以及读者·作者·编者等栏目。作为目前国内输血医学专业唯一的全国性学术刊物, 本刊已被列为中文核心期刊、中国科技核心期刊、美国《化学文摘》来源期刊, 欢迎订阅。邮发代号: 62—186月刊, 大16开, 80页, 订价为12元/期, 全年144元。编辑部地址: 成都市金牛区北站东一路73号, 邮政编码: 610081, 电话: 028—68169140。