

血清 SFRP5、IL-13 及 MPO 在急性哮喘发作患儿中的表达及相关性分析

徐晓蓬,袁伯稳,季风华

[摘要] 目的 探究血清分泌型卷曲相关蛋白5(secreted frizzled-related protein5, SFRP5)、白细胞介素13(interleukin-13, IL-13)及过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)在急性哮喘发作患儿中的表达及相关性。方法 选取2018年5月至2020年5月海安市人民医院儿科收治的哮喘患儿98例,根据病情分为急性组(47例)和缓解组(51例),选择同期健康儿童45例作为对照组。根据急性发作期病情严重程度分为轻度急性组(25例)和中重度急性组(22例),检测各组血清SFRP5、IL-13及MPO水平,并分析其相关性。结果 急性组SFRP5水平低于对照组,IL-13及MPO水平高于对照组,差异比较有统计学意义($P<0.05$)。急性组SFRP5水平低于缓解组,IL-13及MPO水平高于缓解组,差异比较有统计学意义($P<0.05$)。中重度急性组SFRP5水平低于轻度急性组,IL-13及MPO水平高于轻度急性组,差异比较有统计学意义($P<0.05$)。急性组SFRP5与IL-13、MPO水平呈负相关($r=-0.356, -0.425, P<0.05$),与病情严重程度呈正相关($r=0.647, P<0.05$)。结论 急性哮喘发作患儿血清SFRP5水平降低,IL-13及MPO水平升高,血清SFRP5水平与IL-13、MPO水平及急性发作期严重程度显著相关。

[关键词] 分泌型卷曲相关蛋白5;白细胞介素13;过氧化物酶;急性哮喘;儿童

[中图分类号] R725.6

[文献标志码] A

[文章编号] 2095-3097(2021)06-0358-04

doi: 10.3969/j.issn.2095-3097.2021.06.003

The expression and correlation analysis of serum SFRP5, IL-13 and MPO in children with acute asthma attack

XU Xiaopeng, YUAN Bowen, JI Fenghua

(Department of Pediatrics, Hai'an People's Hospital, Hai'an Jiangsu 226600, China)

[Abstract] **Objective** To explore the expression and correlation of serum secreted frizzled-related protein 5 (SFRP5), interleukin 13 (IL-13) and peroxidase (MPO) in children with acute asthma attacks. **Methods** A total of 98 children with asthma admitted to our hospital's pediatric department from May 2018 to May 2020 were selected and divided into acute group (47 cases) and remission group (51 cases) according to their condition, and 45 healthy children during the same period were selected as the control group. In the acute group, according to the severity of the acute episode, they were divided into mild acute group (25 cases) and moderate to severe acute group (22 cases). Serum levels of SFRP5, IL-13 and MPO in each group were detected and their correlations were analyzed. **Results** The levels of SFRP5 in the acute group were lower than that of in the control group, and the levels of IL-13 and MPO were higher than those in the control group. The difference was statistically significant ($P<0.05$). The level of SFRP5 in the acute group was lower than that of the remission group, and the levels of IL-13 and MPO were higher than that of the remission group. The difference was statistically significant ($P<0.05$). The level of SFRP5 in the moderate-to-severe acute group was lower than that of the mild-acute group, and the levels of IL-13 and MPO were higher than those of the mild-acute group. The difference was statistically significant ($P<0.05$). In the acute group, SFRP5 was negatively correlated with IL-13 and MPO levels ($r=-0.356, -0.425, P<0.05, P<0.05$), and positively correlated with the severity of the disease ($r=0.647, P<0.05$). **Conclusion** Serum SFRP5 levels are decreased in children with acute asthma attacks, and IL-13 and MPO levels are increased. Serum SFRP5 levels are significantly correlated with IL-13, MPO levels and the severity of acute attacks.

[Key words] Secreted frizzled-related protein5(SFRP5), Interleukin-13(IL-13); Myeloperoxidase(MPO); Acute asthma; Children

哮喘是临床常见的呼吸道慢性疾病,目前对其发病机制尚无明确阐述,临床主要症状为反复咳嗽、喘息、气促等,多发生在早晨或夜间^[1]。据统计,全球目前有超过1亿哮喘患者,而国内哮喘患病率

约占1%,其中儿童可达到2%~7%,且大多数儿童成年后哮喘仍存在,因此及早防治儿童哮喘具有重要意义^[2]。哮喘是一种呼吸道慢性炎症,主要特征是气道痉挛和气道高反应性,故检测气道炎症对其诊断、治疗及预后评估具有重要作用。分泌型卷曲相关蛋白5 (secreted frizzled - related protein5, SFRP5)是源自脂肪细胞的抗炎因子,可通过Wnt信号转导通路介导炎症因子低表达发挥抗炎作用^[3]。研究显示,“细胞炎症因子网络失衡”参与哮喘患儿发病发展重要过程,白细胞介素13(interleukin-13, IL-13)及过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)是重要炎症因子,可能参与急性哮喘发作^[4]。国外研究发现IL-3和MPO在变态反应和炎症性疾病方面发挥重要作用^[5]。目前血清SFRP5、IL-13及MPO在急性哮喘发作患儿中关系尚不清楚,因此本研究重点探究血清SFRP5、IL-13及MPO在哮喘患儿急性发作期中的表达及相关性,为提高哮喘患儿急性发作期的防治提供可靠资料。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2018年5月至2020年5月海安市人民医院儿科收治的哮喘患儿98例。纳入标准:①符合《儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016年版)》^[6]中诊断标准,急性发作期为长时间内发生不同程度喘息、气急或胸闷,或在双肺可闻及散在或弥性,以呼气相为主的哮鸣音;缓解期为症状体征消失,1秒用力呼气量或最大呼气流速在80%预计值及以上,持续1个月以上;②年龄5~12岁,且为初诊。排除标准:①急性感染,或严重免疫缺陷;②合并血液系统疾病;③患有恶性肿瘤;④近1个月使用免疫抑制剂或激素治疗。根据病情分为急性组(47例)和缓解组(51例),急性组男25例,女22例,年龄5~12(7.92±2.68)岁;缓解组男27例,女24例,年龄5~12(8.02±2.55)岁。选择同期健康儿童45例作为对照组,均无哮喘和其他过敏性疾病,近3个月未出现感染情况;男23例,女22例,年龄5~12(7.75±2.43)岁。又根据急性发作期病情严重程度^[6]分为轻度急性组(25例)和中重度急性组(22例),具体分级标准:轻度急性:步行气短,可平卧,无出汗,呼吸频率轻度增加,无辅助呼吸肌活动及三凹征,心率<100/min,哮鸣音散在/呼吸末期,奇脉/深吸气时收缩压下降<10 mmHg,氧分压正常,二氧化碳分压<45 mmHg,氧饱和度>95%。中重度急性:轻微活动/休息时气短,多坐位/端坐呼吸,有出汗/大汗淋漓,呼吸频率增加/超过30/min,心率在100~120/min及以上,有辅助呼吸肌活动及三凹征,哮鸣音弥漫、响亮,奇脉/深吸气时收缩压下降10~2510 mmHg及以上,氧分压>60 mmHg或<60

mmHg,二氧化碳分压<45 mmHg或>45 mmHg,氧饱和度在91%~95%或<90%。

1.2 方法

①血清SFRP5、IL-13检测:采集各组清晨空腹静脉血3 mL,通过枸橼酸钠抗凝处理,送至检验科离心,并置于零下80℃保存。采用酶联免疫吸附试验检测SFRP5、IL-13水平,将对应一抗稀释至10 mg/L,置于96孔板(北京希凯恩生物科技有限公司)中,在4℃条件下过夜,将血清置于96孔板中,在37℃条件下孵育60 min;加入新配置对应二抗0.1 mL孵育60 min;加3,3',5,5'-四甲基联苯胺底物溶液(上海研拓生物科技有限公司)0.1 mL,显色20 min,加2 mol/L硫酸(石家庄丰民贸易有限公司)0.05 mL结束反应,在波长450 nm处检测各孔吸光度值。②血清MPO检测:采集各组清晨空腹静脉血3 mL,置于试管,静置15 min,送至检验科离心,置于零下20℃保存。采用酶联免疫吸附试验检测MPO水平,均严格按照试剂盒(德国IBL)说明书操作。

1.3 统计学处理

采用SPSS20.0统计学软件。计量资料符合正态分布,采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 t 检验,多组间比较采用 F 检验。计数资料采用例数(%)表示,计数资料组间比较采用卡方检验,相关性采用Pearson分析。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 急性组和对照组SFRP5、IL-13及MPO水平比较

急性组SFRP5水平低于对照组,IL-13及MPO水平高于对照组,差异比较有统计学意义($P<0.05$),表1。

表1 急性组和对照组SFRP5、IL-13及MPO水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	SFRP5($\mu\text{g/L}$)	IL-13(ng/L)	MPO(U/L)
急性组 (n=47)	6.49±0.91	184.01±78.14	878.63±18.87
对照组 (n=45)	13.52±1.17	23.94±11.44	679.72±33.46

$t_{\text{SFRP5}}: 32.248, P<0.001; t_{\text{IL-13}}: 13.599, P<0.001; t_{\text{MPO}}: 35.314, P<0.001$

2.2 急性组与缓解组SFRP5、IL-13及MPO水平比较

急性组SFRP5水平低于缓解组,IL-13及MPO水平高于缓解组,差异比较有统计学意义($P<0.05$),见表2。

表2 急性组与缓解组SFRP5、IL-13及MPO水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	SFRP5($\mu\text{g/L}$)	IL-13(ng/L)	MPO(U/L)
急性组 (n=47)	6.49±0.91	184.01±78.14	878.63±18.87
缓解组 (n=51)	9.88±1.20	58.03±25.97	703.27±18.36

$t_{\text{SFRP5}}: 15.655, P<0.001; t_{\text{IL-13}}: 10.883, P<0.001; t_{\text{MPO}}: 46.611, P<0.001$

2.3 急性发作期病情不同程度之间 SFRP5、IL-13 及 MPO 水平比较 中重度急性组 SFRP5 水平低于轻度急性组, IL-13 及 MPO 水平高于轻度急性组, 差异比较有统计学意义 ($P < 0.05$), 表 3。

表 3 急性发作期病情不同程度之间 SFRP5、IL-13 及 MPO 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	SFRP5($\mu\text{g/L}$)	IL-13(ng/L)	MPO(U/L)
轻度急性组 (n=25)	7.45 \pm 0.90	160.23 \pm 80.23	865.33 \pm 22.34
中重度急性组 (n=22)	5.48 \pm 0.51	208.17 \pm 75.34	891.33 \pm 20.32

$t_{\text{SFRP5}}: 9.059, P < 0.001; t_{\text{IL-13}}: 2.102, P < 0.001; t_{\text{MPO}}: 4.152, P < 0.001$

2.4 急性组 SFRP5 与 IL-13、MPO 水平及病情严重程度相关性比较 急性组 SFRP5 与 IL-13、MPO 水平呈负相关 ($r = -0.356, -0.425, P < 0.05, P < 0.05$), 与病情严重程度呈正相关 ($r = 0.647, P < 0.05$), 图 1。

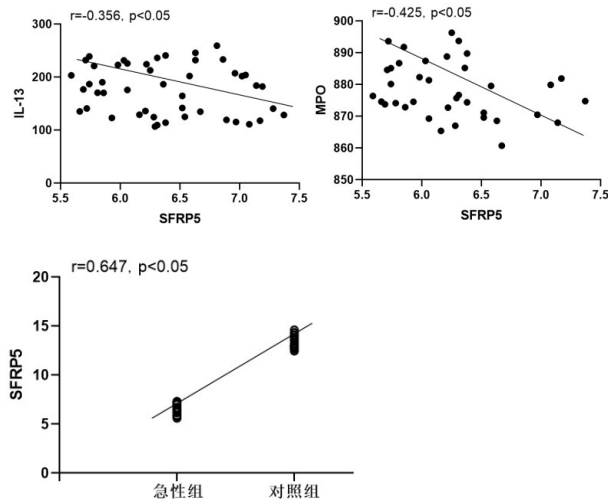


图 1 急性哮喘患儿 SFRP5 与 IL-13、MPO 水平及病情严重程度的关系

3 讨论

研究证实,哮喘多由免疫系统损伤导致,细胞因子类别决定着哮喘的发生和发展^[7]。相关研究显示,炎症参与气道炎症发生与发展,同时也决定了肺功能转归情况, SFRP5、IL-13 及 MPO 三者均参与了哮喘发病过程^[8-9]。SFRP5 属于 SFRP 家族, SFRP5 基因位于人染色体 10q24.1, 伴有一个细胞外富含半胱氨酸结构域, 与 Wnt 信号转导通路跨膜受体卷曲蛋白的半胱氨酸结构域存在同源性, 与跨膜受体卷曲蛋白竞争性结合 Wnt 配体, 从而发挥阻碍 Wnt 信号转导通作用^[10-11]。Wnt 信号转导能够介导 T 细胞、B 细胞和巨噬细胞等多种免疫细胞分化, 参与机体免疫应答^[12-13]。SFRP5 在脂肪和肺等组织中分布较广, 可阻碍脂肪组织中巨噬细胞分泌(如 IL-13 等)起到抗炎作用。研究显示, 通过检测风湿

性关节炎患者 SFRP5 水平得出, SFRP5 可降低非经典 Wnt 通路的下游靶点 c-Jun 氨基末端激酶-1, 阻碍白细胞介素 6 释放, 说明 SFRP5 基因沉寂可激活 c-Jun 氨基末端激酶-1, 增加炎症因子水平, SFRP5 抑制 Wnt 通路的下游靶点 c-Jun 氨基末端激酶-1 信号通路, 从而发生炎症反应^[13-14]。本研究结果表明, 急性组 SFRP5 水平低于缓解组和对照组, 且中重度急性组 SFRP5 水平低于轻度急性组, 提示哮喘急性发作期患儿血清 SFRP5 水平较低, 且与其病情严重程度存在显著关系。

IL-13 源自活化 TH2 细胞, 诱发气道高反应性是通过刺激嗜酸性粒细胞加速白介素 1 β 转化酶分泌完成, 从而导致哮喘患儿气道炎症发生; 同时 IL-13 还能直接作用于成纤维细胞, 导致气道狭窄和呼吸道重塑^[15-16]。研究显示, 在小鼠哮喘模型中注入 IL-13 抗体, 发现气道炎症显著减少, 小鼠哮喘症状明显减轻^[17-18]。本研究结果表明, 急性组 IL-13 水平高于对照组和缓解组; 同时中重度急性组 IL-13 水平高于轻度急性组。说明 IL-13 参与急性哮喘发作, 哮喘患儿在缓解期呼吸道炎症仍存在, 且与急性发作病情严重程度有关。MPO 源自单核细胞、中性粒细胞及某些组织中巨噬细胞的血红素蛋白酶, 隶属血红素过氧化物酶超家族, 在多种疾病发生发展中扮演重要角色。MPO 活性反映了其浸润数目和活性, 其水平表达和活性也反映了嗜中性多形核白细胞功能和活性状态, 被临床用作评估炎症严重程度重要指标^[19-20]。本研究结果表明, 急性组 MPO 水平高于对照组和缓解组, 中重度急性组 MPO 水平高于轻度急性组。提示 MPO 参与急性哮喘发作, 且在中重度急性哮喘发作患儿中水平更高, 因此检测 MPO 水平有利于保护易感人群, 同时也便于急性哮喘发作防治。经 Pearson 相关分析得出, 急性组 SFRP5 与 IL-13、MPO 水平呈负相关, 与病情严重程度呈正相关。说明 SFRP5、IL-13 和 MPO 参与急性哮喘发作过程, SFRP5 与 IL-13、MPO 相互影响, 参与哮喘病理生理变化, 与细胞因子研究中“因子网络失衡”在参与哮喘发生发展重要过程结果相似。因此动态检测 SFRP5、IL-13 和 MPO 水平, 有利于急性哮喘发作病情评估和预后评估, 为阻断 IL-13 和 MPO 产生途径, 治疗哮喘提供新思路。

综上所述, 急性哮喘发作患儿血清 SFRP5 水平降低, IL-13 及 MPO 水平升高, 血清 SFRP5 水平与 IL-13、MPO 水平及急性发作期严重程度显著相关。本研究不足之处在于为单中心研究, 后续会进行多中心深入研究。

【参考文献】

[1] 张婉青, 陈立凌, 成芳芳, 等. 苏州地区 2011-2017 年 5 岁以下儿

- 童流感相关严重急性呼吸道感染临床症状和影响因素研究[J]. 中华流行病学杂志, 2021, 42(6): 1044-1049.
- [2] 刘传合. 我国儿童哮喘患病与诊治现状[J]. 山东大学耳鼻喉眼学报, 2019, 33(1): 28-32.
- [3] Yang L, Tian MY, Yang ML, et al. Central Sfrp5 regulates hepatic glucose flux and VLDL-triglyceride secretion[J]. *Metabolism*, 2020, 103(11): 154029.
- [4] Gao J, Iwamoto H, Koskela J, et al. Characterization of sputum biomarkers for asthma-COPD overlap syndrome[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2016, 11(22): 2457-2465.
- [5] Suzuki K, Nagao T, Itabashi M, et al. A novel autoantibody against moesin in the serum of patients with MPO-ANCA-associated vasculitis[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2014, 29(6): 1168-1177.
- [6] 中华医学会儿科学分会呼吸学组. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016年版)[J]. 中华儿科杂志, 2016, 54(3): 167-181.
- [7] 姜成利, 代国仲, 郭涛弦, 等. 血清总IgE, TGF- β 1及IL-6在哮喘-慢性阻塞性肺疾病重叠综合征患者的表达及临床意义[J]. 转化医学杂志, 2020, 9(1): 17-20.
- [8] 卢新翠, 马丽, 孙兴珍. 支气管哮喘患儿外周血IL-12、IL-25、MPO、PMN、sFas、sFasL水平变化及其与病情的关系[J]. 山东医药, 2019, 59(2): 64-66.
- [9] 廖正寿, 陈东华, 鲁潜乾, 等. 支气管哮喘患者的血清分泌型卷曲相关蛋白5与其气道炎症的相关性分析[J]. 国际呼吸杂志, 2019, 39(19): 1447-1451.
- [10] 徐琳, 徐嘉琼, 罗秋平, 等. 分泌型卷曲相关蛋白5与2型糖尿病合并慢性阻塞性肺疾病患者的相关性分析[J]. 心肺血管病杂志, 2019, 38(11): 40-44.
- [11] Tong S, Du Y, Ji QW, et al. Expression of Sfrp5/Wnt5a in human epicardial adipose tissue and their relationship with coronary artery disease[J]. *Life Sci*, 2020, 245(15): 117338.
- [12] 张婵娟, 覃丽. Wnt信号通路介导胆固醇逆向转运与炎症应答的交互作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2018, 26(8): 843-850.
- [13] Liu WH, Ji YQ, Chu HP, et al. SFRP5 mediates downregulation of the wnt5a/caveolin-1/JNK signaling pathway[J]. *J Endocrinol*, 2020, 247(3): 263-272.
- [14] Kwon YJ, Lee SW, Park YB, et al. Secreted frizzled-related protein 5 suppresses inflammatory response in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes through down-regulation of c-Jun N-terminal kinase[J]. *Rheumatology*, 2014, 53(9): 1704-1711.
- [15] Manson ML, S  fholm J, James A, et al. IL-13 and IL-4, but not IL-5 nor IL-17A, induce hyperresponsiveness in isolated human small airways[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2020, 145(3): 808-817.
- [16] Wang XZ, Xu CY, Ji JY, et al. IL-4/IL-13 upregulates Sonic hedgehog expression to induce allergic airway epithelial remodeling[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2020, 318(5): 888-899.
- [17] Wang ZX, Ji NF, Chen ZQ, et al. MiR-1165-3p suppresses Th2 differentiation via targeting IL-13 and PPM1A in a mouse model of allergic airway inflammation[J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2020, 12(5): 859-876.
- [18] Saglani S, Gregory LG, Manghera AK, et al. Inception of early-life allergen-induced airway hyperresponsiveness is reliant on IL-13+ CD4+ T cells[J]. *Sci Immunol*, 2018, 3(27): 4128.
- [19] Chen S, Chen HS, Du QH, et al. Targeting myeloperoxidase (MPO) mediated oxidative stress and inflammation for reducing brain ischemia injury: potential application of natural compounds[J]. *Front Physiol*, 2020, 11(12): 433.
- [20] Maestrini I, Tagzirt M, Gautier S, et al. Analysis of the association of MPO and MMP-9 with stroke severity and outcome: Cohort study[J]. *Neurology*, 2020, 95(1): e97-e108.

(收稿日期: 2021-08-11 本文编辑: 李记文)