

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.09.037

◇临床医学◇

过敏性哮喘诱导痰中高迁移率族蛋白 B1、晚期糖基化终产物受体表达与血清总免疫球蛋白 E 水平的相关性

马敬斌, 王道方

作者单位: 聊城市第二人民医院儿科, 山东 聊城 252600

摘要:目的 检测过敏性哮喘患儿诱导痰中高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)、晚期糖基化终产物受体(RAGE)表达及血清中免疫球蛋白 E(IgE)水平,并探讨过敏性哮喘患儿诱导痰中 HMGB1、RAGE 表达与血清总 IgE 水平的相关性。方法 选取 2015 年 4 月至 2018 年 9 月因过敏性哮喘于聊城市第二人民医院免疫专科门诊及病房接受治疗的 148 例患儿(哮喘组);同期选取 136 例健康体检儿童作为对照组。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测两组诱导痰中 HMGB1、RAGE 表达及血清总 IgE 水平;检测两组肺功能指标、粒细胞水平;分析哮喘组 HMGB1、RAGE、IgE 与肺功能指标、粒细胞水平相关性;分析哮喘组诱导痰中 HMGB1、RAGE 表达与血清总 IgE 水平相关性;分析影响过敏性哮喘的因素。结果 哮喘组诱导痰中 HMGB1(273.23 ± 86.39)ng/L、RAGE 表达(469.54 ± 121.35)ng/L、血清总 IgE 水平(557.73 ± 156.87)IU/mL、中性粒细胞(33.46 ± 8.73)%、嗜酸粒细胞(7.48 ± 2.64)%均显著高于对照组[(164.83 ± 49.36)ng/L、(309.43 ± 93.68)ng/L、(271.70 ± 89.43)IU/mL、(25.47 ± 6.14)%、(3.46 ± 1.05)%]($P < 0.05$),第一秒用力呼气量(FEV1)(63.19 ± 8.27)%、用力肺活量(FVC)(65.42 ± 6.93)%、最大呼气峰流速(PEF)(63.54 ± 8.42)%水平均显著低于对照组[(89.38 ± 13.21)%、(94.86 ± 13.47)%、(103.24 ± 14.17)%]($P < 0.05$);过敏性哮喘患儿 HMGB1、RAGE、IgE 与 FEV1、FVC、PEF 水平均呈现负相关,与中性粒细胞、嗜酸粒细胞水平均呈现正相关($P < 0.05$);过敏性哮喘患儿诱导痰中 HMGB1、RAGE 表达与血清总 IgE 水平均呈现正相关($r = 0.454, 0.522$, 均 $P < 0.05$);HMGB1、RAGE、IgE、嗜酸性粒细胞是影响过敏性哮喘发生的危险因素。结论 过敏性哮喘患儿诱导痰中 HMGB1、RAGE 表达与血清总 IgE 水平均呈现正相关,三者与过敏性哮喘病情密切相关。HMGB1、RAGE、IgE 结合肺功能指标、粒细胞水平对评价过敏性哮喘的早期危险性有重要意义。

关键词:哮喘/病因学; 呼吸超敏反应; 痰; HMGB 蛋白质类; 糖基化终产物,高级; 免疫球蛋白 E; 儿童

Correlations between the expressions of high mobility group protein B1 and receptor of advanced glycation end-product in induced sputum and serum total immunoglobulin E level in children with allergic asthma

MA Jingbin, WANG Daofang

Author Affiliation: Department of Pediatrics, Liaocheng Second People's Hospital, Liaocheng, Shandong 252600, China

Abstract: Objective To detect the expressions of high mobility group protein B1 (HMGB1), receptor of advanced glycation end-product (RAGE) and level of serum immunoglobulin E (IgE) in induced sputum of sick children with allergic asthma, and to explore the correlations between the expressions of HMGB1 and RAGE in induced sputum of children with allergic asthma and serum total IgE level. **Methods** One hundred and forty-eight sick children (asthma group) with allergic asthma who were treated in the Immunology clinic and ward, Liaocheng Second People's Hospital from April 2015 to September 2018 were enrolled, and 136 healthy children were selected as control group during the same period. The expressions of HMGB1 and RAGE in induced sputum and the level of serum total IgE were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), the pulmonary function index and granulocyte level were measured in both groups, the correlations between HMGB1, RAGE, IgE with lung function and granulocyte level in asthma group were analyzed, the correlations between the expressions of HMGB1 and RAGE in induced sputum and the level of serum total IgE in asthma group were analyzed, the factors affecting allergic asthma were analyzed. **Results** The levels of HMGB1 [(273.23 ± 86.39) ng/L vs. (164.83 ± 49.36)ng/L], RAGE [(469.54 ± 121.35) ng/L vs. (309.43 ± 93.68)ng/L], serum total IgE [(557.73 ± 156.87) IU/mL vs. (271.70 ± 89.43)IU/mL], neutrophils [(33.46 ± 8.73) % vs. (25.47 ± 6.14)%] and eosinophils [(7.48 ± 2.64) % vs. (3.46 ± 1.05)%] in induced sputum of asthma group were significantly higher than those of control group ($P < 0.05$), and the levels of forced expiratory volume in one second (FEV1) [(63.19 ± 8.27) % vs. (89.38 ± 13.21)%], forced vital capacity (FVC) [(65.42 ± 6.93) % vs. (94.86 ± 13.47)%], and peak expiratory flow (PEF) [(63.54 ± 8.42) % vs. (103.24 ± 14.17)%] were significantly lower than those of control group ($P < 0.05$). HMGB1, RAGE, IgE were negatively correlated with FEV1, FVC and PEF levels, and

positively correlated with neutrophils and eosinophils levels in children with allergic asthma ($P < 0.05$). The expressions of HMGB1 and RAGE in induced sputum of sick children with allergic asthma were positively correlated with serum total IgE ($r = 0.454$, 0.522 , $P < 0.05$). HMGB1, RAGE, IgE and neutrophils were risk factors for allergic asthma. **Conclusions** The expressions of HMGB1 and RAGE in induced sputum of sick children with allergic asthma are positively correlated with the level of serum total IgE, which is closely related to the condition of allergic asthma. HMGB1, RAGE, IgE combined with pulmonary function index and granulocyte level are important for evaluating the early risk of allergic asthma.

Key words: Asthma/etiology; Respiratory hypersensitivity; Sputum; HMGB proteins; Glycosylation end products, advanced; Immunoglobulin E; Child

过敏性哮喘是反复接触过敏原后,产生主要由免疫球蛋白E(IgE)介导的一种变态反应性呼吸炎症性疾病,发病表现为咳嗽、喘鸣及呼吸困难^[1-2]。高迁移率族蛋白B1(HMGB1)是一种具有免疫调节功能的重要细胞因子,且有组织修复的功能,许多研究表明拮抗HMGB1活性可缓解哮喘,推测HMGB1影响哮喘慢性气道炎症发病过程^[3-4]。晚期糖基化终产物受体(RAGE)是HMGB1重要受体之一,两者结合后激活细胞内信号传导途径,导致病理损伤发生,影响关节炎、动脉粥样硬化等炎症疾病的发病过程^[5]。IgE属于人体五大免疫球蛋白之一,可促发、推进I型变态反应^[6]。当变应原进入易感者体内,大量IgE吸附于嗜酸性粒细胞表面,使机体处于致敏状态,引起哮喘^[7]。因此,检测血清总IgE水平对于I型变态反应和过敏原的确定很有价值。但目前关于过敏性哮喘患儿诱导痰中HMGB1、RAGE与血清总IgE水平相关性的研究较少。

因此,本研究通过检测过敏性哮喘患儿诱导痰中HMGB1、RAGE与血清总IgE水平,探讨各指标之间的相关性,从而为临床上提供过敏性哮喘的诊断指标,对评价其早期危险性有重要意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2015年4月至2018年9月因过敏性哮喘于聊城市第二人民医院免疫专科门诊及病房接受治疗的150例患儿为研究对象,其中2例患儿诱导痰失败,最后纳入148例患儿(哮喘组),其中男83例,女65例;年龄(7.63 ± 4.01)岁,范围为3~12岁;同期选取136例健康体检儿童作为对照组,其中男71例,女65例;年龄(7.72 ± 4.23)岁,范围为3~13岁。两组性别($\chi^2 = 0.287$, $P > 0.05$)、年龄($t = 0.184$, $P > 0.05$)等一般资料比较差异无统计学意义。

纳入标准:①符合过敏性哮喘诊断标准^[8]并排除其他呼吸系统疾病者;②入组前4周无全身糖皮质激素应用者;③入组前1周未使用抗白三烯、抗组胺类药物者;④年龄范围为3~13岁。排除标准:①有风湿类疾病、其它心肺疾病及精神异常者;②有糖皮质激素和 β_2 受体激动剂过敏史者;③入组前4周

有呼吸道感染者。本研究病人或其近亲属知情同意,符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

1.2 主要试剂与仪器 IgE酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒,购自上海凯博生物科技有限公司;HMGB1 ELISA试剂盒(生产批号180214),购自深圳市科润达生物工程有限公司;RAGE ELISA试剂盒(生产批号180425),购自北京绿源伯德生物科技有限公司;二巯苏糖醇(DTT)溶液,购自南京森贝伽生物科技有限公司。HB7501型五分类全自动血细胞分析仪,购自济南童鑫生物科技公司;CHESTAC-8900型肺功能仪,购自北京西化仪科技有限公司。

1.3 研究方法

1.3.1 样品采集及保存 血清采集抽取两组儿童清晨空腹静脉血,其中一管加入乙二胺四乙酸二钾抗凝;另一管3 000 r/min离心15 min后收集血清,置于 -80°C 保存待测。

诱导痰采集给予两组儿童4.5%高渗盐水氧化射流雾化吸入,鼻腔内分泌物完成清除后进行漱口、吞水,充分清洁鼻腔及口腔后,在家长配合下让两组儿童进行重复深咳嗽获得至少1 g痰液,部分做中性粒细胞检测,另一部分加入2倍体积0.1%DTT溶液,震荡混匀15 s,37 $^\circ\text{C}$ 恒温水浴锅中震荡15 min,3 000 r/min离心15 min后收集上清,置于 -80°C 保存待测。

1.3.2 ELISA法检测诱导痰中HMGB1、RAGE及血清总IgE水平 -80°C 中取出诱导痰和血清,ELISA法检测两组儿童诱导痰中HMGB1、RAGE及血清总IgE水平,检测方法按照试剂盒说明书进行。

1.3.3 检测肺功能指标、粒细胞水平 肺功能指标检测采用肺功能仪检测两组儿童的肺通气功能,主要检测指标:第一秒用力呼气量(FEV1)、用力肺活量(FVC)、最大呼气峰流速(PEF)。诱导痰中性粒细胞水平检测诱导痰采集后不经稀释处理制成痰标本,痰涂片可见较多柱状上皮细胞和巨噬细胞且鳞片上皮细胞占有核细胞比例 <0.2 的标本为合格。选取少量痰标本进行涂片,风干后做瑞氏染色,显微镜进行分类计数,计算中性粒细胞百分比。血清嗜酸粒

表2 过敏性哮喘患儿148例与健康儿童136例肺功能指标、粒细胞水平比较/(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	肺功能指标			粒细胞	
		FEV1	FVC	PEF	中性粒细胞	嗜酸粒细胞
对照组	136	89.38±13.21	94.86±13.47	103.24±14.17	25.47±6.14	3.46±1.05
哮喘组	148	63.19±8.27	65.42±6.93	63.54±8.42	33.46±8.73	7.48±2.64
<i>t</i> 值		10.609	12.194	15.642	8.849	16.591
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:FEV1为第一秒用力呼气量,FVC为用力肺活量,PEF为最大呼气峰流速

细胞检测取抗凝处理的血,使用五分类全自动血细胞分析仪进行分类计数,计算嗜酸粒细胞百分比。

1.4 统计学方法 利用SPSS 23.0对数据进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组比较行*t*检验;采用Pearson法分析两组HMGB1、RAGE、IgE与肺功能指标、粒细胞相关性,分析哮喘组HMGB1、RAGE与IgE水平相关性。logistic回归分析影响过敏性哮喘的因素。*P* < 0.05表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组诱导痰中HMGB1、RAGE表达及血清总IgE水平比较 哮喘组诱导痰中HMGB1、RAGE表达及血清总IgE水平均显著高于对照组(*P* < 0.05),见表1。

表1 过敏性哮喘患儿148例与健康儿童136例诱导痰中HMGB1、RAGE表达及血清总IgE水平比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	例数	HMGB1/(ng/L)	RAGE/(ng/L)	IgE/(IU/mL)
对照组	136	164.83±49.36	309.43±93.68	271.70±89.43
哮喘组	148	273.23±86.39	469.54±121.35	557.73±156.87
<i>t</i> 值		12.833	12.368	18.658
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

注:HMGB1为高迁移率族蛋白B1,RAGE为晚期糖基化终产物受体,IgE为免疫球蛋白E

2.2 两组肺功能指标、粒细胞水平比较 哮喘组FEV1、FVC、PEF水平均显著低于对照组(*P* < 0.05),中性粒细胞、嗜酸粒细胞水平显著高于对照组(*P* < 0.05),见表2。

2.3 过敏性哮喘患儿HMGB1、RAGE、IgE与肺功能指标、粒细胞水平相关性 Pearson法分析结果显示,两组HMGB1、RAGE、IgE与FEV1、FVC、PEF水平均呈现负相关(*P* < 0.05)。与中性粒细胞、嗜酸粒细胞水平均呈现正相关(*P* < 0.05)。见表3。

2.4 过敏性哮喘患儿诱导痰中HMGB1、RAGE表达与血清总IgE水平相关性 Pearson法分析结果显示,过敏性哮喘患儿诱导痰中HMGB1、RAGE表达与血清总IgE水平均呈现正相关(*r* = 0.454、0.522,均*P* < 0.05)。

2.5 影响过敏性哮喘的多因素分析 将是否发生过过敏性哮喘为因变量,以HMGB1、RAGE、IgE等为自变

表3 过敏性哮喘患儿HMGB1、RAGE、IgE水平与肺功能指标、粒细胞水平相关性

指标	统计值	FEV1	FVC	PEF	中性粒细胞	嗜酸粒细胞
HMGB1	<i>r</i> 值	-0.423	-0.631	-0.472	0.417	0.523
	<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
RAGE	<i>r</i> 值	-0.589	-0.564	-0.569	0.424	0.419
	<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
IgE	<i>r</i> 值	-0.625	-0.610	-0.674	0.625	0.682
	<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:HMGB1为高迁移率族蛋白B1,RAGE为晚期糖基化终产物受体,IgE为免疫球蛋白E,FEV1为第一秒用力呼气量,FVC为用力肺活量,PEF为最大呼气峰流速

量进行logistic回归分析,结果显示HMGB1、RAGE、IgE、嗜酸性粒细胞是影响过敏性哮喘发生的危险因素。见表4。

表4 影响过敏性哮喘的多因素分析

因素	回归系数	标准误	Wald χ^2 值	<i>P</i> 值	OR值	95%CI
HMGB1	1.44	0.87	2.74	0.001	4.22	1.89~9.43
RAGE	1.85	1.02	3.29	0.000	6.38	4.56~8.94
IgE	2.05	0.87	5.55	0.003	7.79	6.78~8.94
FEV1	0.89	0.78	1.30	0.530	2.44	0.45~13.26
FVC	1.56	1.68	0.86	0.147	3.18	0.94~10.73
PEF	0.24	0.17	1.99	0.374	1.27	0.19~8.49
中性粒细胞	0.34	0.59	0.33	0.089	1.41	0.22~8.98
嗜酸粒细胞	1.95	0.61	10.22	0.003	7.02	4.77~10.34

注:HMGB1为高迁移率族蛋白B1,RAGE为晚期糖基化终产物受体,IgE为免疫球蛋白E,FEV1为第一秒用力呼气量,FVC为用力肺活量,PEF为最大呼气峰流速

3 讨论

儿童过敏性哮喘长期反复发作可并发慢性支气管炎、肺间质纤维化等^[9-10]。过敏性哮喘病人发病机制主要是其体内存在多种细菌、病毒的特异性IgE,吸入相应抗原时即可激发哮喘^[11]。

HMGB1是一种晚期炎症介质,广泛分布于细胞核内外,能参与氧化应激反应、刺激促炎因子产生、促进炎症细胞活化,目前已被证实类在类风湿性关节炎、慢性阻塞性肺疾病、慢性心力衰竭等多种疾病发病过程中发挥作用^[12-13]。RAGE是HMGB1受体之

一,与HMGB1结合后可趋化炎症细胞募集^[14]。吴小进等^[15]表明HMGB1能剂量依赖性诱导RAGE蛋白的表达,支气管上皮细胞中HMGB1诱导的炎症反应通过RAGE/c-Jun氨基端激酶(JNK)/核因子- κ B(NF- κ B)信号通路介导。本研究提示过敏性哮喘患儿诱导痰中HMGB1、RAGE表达水平高于健康儿童,分析HMGB1、RAGE结合后,触发信号通路,促进NF- κ B活化,促使炎症反应进行,参与过敏性哮喘发生过程。

IgE是人体五大免疫球蛋白之一,正常情况下IgE低表达^[16]。陈丹君等^[17]指出哮喘患儿血清中25-羟维生素D₃水平降低,IgE水平增加,且与病情严重程度呈正相关。本研究提示过敏性哮喘患儿血清中总IgE水平高于健康儿童,分析机体内B淋巴细胞合成IgE后,激活嗜酸性粒细胞、肥大细胞,释放炎症介质使病人出现炎症反应、引起平滑肌收缩、毛细血管扩张,最终导致哮喘。

FEV1及PEF是检测大小气道气流受限的肺功能常用指标,能反映大气道的阻塞情况^[18]。嗜酸粒细胞释放多种蛋白造成气道上皮细胞损伤,最终导致哮喘。许多研究发现部分重症哮喘或难治性哮喘病人表现为中性粒细胞性气道炎症,中性粒细胞与炎症介质共同作用影响哮喘的发生^[19]。本研究提示过敏性哮喘患儿FEV1、FVC、PEF水平低于健康儿童,中性粒细胞、嗜酸粒细胞水平高于正常儿童,过敏性哮喘患儿肺功能受损。

进一步研究发现过敏性哮喘患儿HMGB1、RAGE、IgE与FEV1、FVC、PEF水平均呈现负相关,与中性粒细胞、嗜酸粒细胞水平均呈现正相关;且诱导痰中HMGB1、RAGE表达与血清总IgE水平均呈现正相关。logistic回归分析结果显示HMGB1、RAGE、IgE、嗜酸性粒细胞是影响过敏性哮喘发生的危险因素。提示HMGB1、RAGE、IgE可能与FEV1、FVC、PEF、粒细胞共同作用,影响过敏性哮喘发生。进一步提示临床上应密切关注各指标水平的变化,尤其是HMGB1、RAGE、IgE、中性粒细胞,及时预防和治疗。

参考文献

- [1] KERKHOF M, TRAN TN, SORIANO JB, et al. Healthcare resource use and costs of severe, uncontrolled eosinophilic asthma in the UK general population[J]. Thorax, 2018, 73(2): 116-124.
- [2] SHAMJI MH, KAPPEN JH, AKDIS M, et al. Biomarkers for monitoring clinical efficacy of allergen immunotherapy for allergic rhinoconjunctivitis and allergic asthma: an EAACI Position Paper[J]. Allergy, 2017, 72(8): 1156-1173.
- [3] 程小丽, 段海婧, 王志旺, 等. 当归与糖皮质激素治疗哮喘对HMGB表达及临床症状的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2018, 34

- (10): 1491-1496.
- [4] LV Y, LI Y, ZHANG D, et al. HMGB1-induced asthmatic airway inflammation through GRP75-mediated enhancement of ER-mitochondrial Ca²⁺ transfer and ROS increased[J]. J Cell Biochem, 2018, 119(5): 4205-4215.
- [5] WANG Y, LE Y, ZHAO W, et al. Short thymic stromal lymphopoietin attenuates toluene diisocyanate-induced airway inflammation and inhibits high mobility group Box 1-receptor for advanced glycation end products and long thymic stromal lymphopoietin expression[J]. Toxicol Sci, 2017, 157(2): 276-290.
- [6] 钟帅, 马亦飞, 张惠琴. 粉尘螨滴剂舌下含服脱敏治疗变应性鼻炎117例疗效观察[J]. 贵州医药, 2017, 41(6): 650-651.
- [7] OLIVERIA JP, SALTER BM, PHAN S, et al. Allergic asthma subjects have elevated levels of IgE⁺B-cells in the airways[J]. J Allergy Clin Immunol, 2017, 140(2): 590-593.
- [8] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组, 中国哮喘联盟. 重症哮喘诊断与处理中国专家共识[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2017, 40(11): 813-829.
- [9] SMITH-NOROWITZ TA, WEAVER D, CHORNY V, et al. Chlamydia pneumoniae induces Interferon gamma responses in peripheral blood mononuclear cells in children with allergic asthma[J]. Scand J Immunol, 2017, 86(1): 59-64.
- [10] 武金银. 孟鲁司特钠与布地奈德对儿童咳嗽变异性哮喘血清肿瘤坏死因子- α 、免疫球蛋白E水平变化分析[J]. 安徽医药, 2018, 22(4): 750-753.
- [11] WANG IJ, WJ K, YANG CC. Lead exposure, IgE, and the risk of asthma in children[J]. J Expo Sci Environ Epidemiol, 2017, 27(5): 478-483.
- [12] ELFEKY M, YONESHIO T, OKAMATSU-OGURA Y, et al. Adiponectin suppression of late inflammatory mediator, HMGB1-induced cytokine expression in RAW264 macrophage cells[J]. J Biochem, 2018, 163(2): 143-153.
- [13] 刘祖霞, 张斌, 汪伟, 等. 丹红注射液治疗慢性心力衰竭患者的疗效及对血清TGF- β 1和HMGB1水平的影响[J]. 安徽医药, 2018, 22(3): 498-501.
- [14] 侯长春, 梁悦, 刘唐娟, 等. 高迁移率族蛋白B1对人原代支气管上皮细胞血管内皮生长因子表达和释放的影响[J]. 广东医学, 2014, 35(22): 3477-3480.
- [15] 吴小进, 陈远远, 刘晓倩, 等. HMGB-1促进人支气管上皮细胞炎症反应的机制[J]. 中华生物医学工程杂志, 2018, 24(1): 7-12.
- [16] MORÁN G, UBERTI B, ORTLOFF A, et al. Aspergillus fumigatus-sensitive IgE is associated with bronchial hypersensitivity in a murine model of neutrophilic airway inflammation[J]. J Mycol Med, 2018, 28(1): 128-136.
- [17] 陈丹君, 郭建芬, 俞建娇. 血清25-羟维生素D₃、IgE在哮喘患儿中的表达及意义[J]. 健康研究, 2018, 38(2): 189-191.
- [18] WERNER CU, LINDE K, SCHÄFFNER J, et al. Weekly self-measurement of FEV1 and PEF and its impact on ACQ (asthma control questionnaire)-scores: 12-week observational study with 76 patients[J]. NPJ Prim Care Respir Med, 2017, 27(1): 64.
- [19] 陈希, 郭梓君, 郑佩燕, 等. 哮喘并过敏性鼻炎儿童血清总IgE、外周血嗜酸性粒细胞、过敏原致敏程度与呼出气一氧化氮间的关系[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(15): 2501-2505.

(收稿日期: 2019-09-05, 修回日期: 2019-10-12)