

GINA 联合阿法骨化醇对支气管哮喘患儿血清 25-(OH)D₃、IL-4、IL-12、IgE 的影响^①

黄仁勇¹, 刘运广², 林娜^{2②}

(1. 广西田东县妇幼保健院儿科, 广西 田东 531500 E-mail: 15878610982@163.com;
2. 右江民族医学院附属医院儿科, 广西 百色 533000)

摘要: **目的** 探讨 GINA 联合阿法骨化醇对哮喘儿童血清 25 羟维生素 D₃[25-(OH)D₃]与 IL-4、IL-12、IgE 的影响及其对儿童哮喘的治疗效果。**方法** 选取 2012 年 3 月~2013 年 12 月在我院儿科门诊就诊符合支气管哮喘诊断标准的患儿, 采用随机数字表法分为 GINA 方案治疗+维生素 D 组(GINA+D 组)和 GINA 方案治疗组(GINA 组), 另选取同期健康体检的儿童为对照组, 前两组均按 GINA 方案规范化治疗, GINA+D 组另给予阿法骨化醇胶囊口服, 对所有哮喘儿童追踪、观察、随访 1 年, 评价疗效, 并检测三组不同时期血清 25-(OH)D₃、IgE、IL-4、IL-12 水平。**结果** ①GINA+D 组哮喘发作总控制率与 GINA 组比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$); ②GINA 组及 GINA+D 组血清 IgE、IL-4 浓度明显高于对照组, 差异有统计学意义(P 均 < 0.001), 而 IL-12 低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.001$); ③GINA+D 组予 25-(OH)D₃ 治疗 3 个月与加 D 治疗前、GINA 组 GINA 治疗后比较, 血清 IgE、IL-4 浓度明显降低, 差异有统计学意义(P 均 < 0.001), 25-(OH)D₃、IL-12 明显增高, 差异有统计学意义(P 均 < 0.001)。**结论** 哮喘儿童血清存在低水平状态, 25-(OH)D₃ 作为一种免疫调节剂, 在哮喘的免疫应答、气道高反应性等方面发挥重要作用, 临床上在治疗哮喘儿童时按 GINA 方案规范化治疗外, 同时给予 25-(OH)D₃ 辅助治疗, 将有助于极大改善患儿病情, 减少复发, 提高哮喘儿童的生活质量。

关键词: 哮喘; 儿童; 骨化二醇; 白细胞介素 4

中图分类号: R725.622.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2015)03-0352-04
doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2015.03.002

The effects of GINA regimen combined alfacalcidol on serum 25-(OH) D₃, IL-4, IL-12, IgE in asthmatic children

Huang Renyong¹, Liu Yunguang², Lin Na²

(1. Department of Pediatrics, Tiandong County Maternal and Child Health Hospital, Tiandong 531500, Guangxi, China E-mail: 15878610982@163.com;
2. Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects GINA regimen combined alfacalcidol on serum 25-(OH) D₃, IL-4, IL-12, IgE and its efficacy in treatment of children with asthma. **Methods** Patients in accordance with bronchial asthma diagnostic criteria visited pediatric outpatient department of our hospital from March 2012 to December 2013 were divided into a GINA treatment + vitamin D group (GINA + D group) and a GINA regimen group (GINA group) with using a random number table method, and the other healthy children selected for the same period were enrolled in the control group. The first two groups were given standardized treatment with GINA regimen, GINA + D group were added with oral alfacalcidol capsule. All children with asthma were traced, observed and followed up for one year. The treatment efficacy was evaluated and the serum 25-(OH)D₃, IgE, IL-4, IL-12 levels were detected among three groups in different periods. **Results** ①The difference was statistically significant ($P < 0.01$) in asthma attack total control rate between GINA + D group and GINA group. ②The serum IgE, IL-4 levels in GINA group and GINA + D group were significantly higher than the control group (all $P < 0.001$), the serum IL-12 level in treatment group was significantly lower than the control group ($P < 0.001$). ③Three months after 25-(OH)D₃ treatment, GINA +

① 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81360003); 广西自然科学基金资助项目(桂财教[2014]118号)

② 通讯作者, E-mail: linna7766328@163.com

D group had lower serum IgE, IL-4 level, comparison of post-treatment IgE and IL-4 to pre-treatment in GINA + D group and those of post-treatment in GINA group yielded statistically significant differences (all $P < 0.001$) and the 25-(OH)D₃, IL-12 level was significantly increased at the same period (all $P < 0.001$).

Conclusion Low serum level occurred in children with asthma, 25-(OH)D₃ played an important role as an immunomodulation, in immune response in asthma, airway hyper-responsiveness. and in treatment of children with asthma by GINA standardization regimen, while giving 25-(OH)D₃ adjuvant therapy will help greatly improve the condition of children and reduce recurrence and improve the quality of life for children with asthma.

Key words: bronchial asthma; children; calcifediol; interleukin-4

支气管哮喘(哮喘)是多种炎性细胞参与的一种呼吸道慢性炎症,其病因和发病机制极为复杂,变应性呼吸道慢性炎症是哮喘的基本病理特征,而主要参与炎症反应的 T 淋巴细胞 Th1/Th2 比例失衡是发病的重要原因^[1],IL-4 和 IL-12 分别是 Th2、Th1 分泌的主要细胞因子。维生素 D 除了能够调节机体钙磷的代谢外,在呼吸道炎症和哮喘的免疫应答等方面具有重要的调控作用^[2-7]。本研究通过对哮喘患儿补充维生素 D,观察血清维生素 D、IL-4、IL-12、IgE 水平变化,进一步探讨儿童支气管哮喘发病机制,为防治及预防复发提供依据。将其结果报道如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 3 月~2013 年 12 月在我院儿科哮喘门诊就诊,符合中华医学会儿科学分会呼吸学组、中华医学会《中华儿科杂志》编辑委员会制定的诊断、分期与病情严重程度评估标准(包括新发生的哮喘患儿和既往已经被诊断为哮喘而长时间未规范应用药物治疗的患儿)^[8],均为急性发作期轻至中度病例,无重度发作病例,共 238 例,年龄 0.5~8.0 岁,根据随机数字表法分为两组:GINA 方案治疗+维生素 D 组(GINA+D 组)120 例,男 73 例,女 47 例,年龄 0.5~8.0 岁,平均(4.5±1.3)岁,轻度发作 85 例(70.83%),中度发作 35 例(29.17%);GINA 方案治疗组(GINA 组)118 例,男 68 例,女 50 例,年龄 0.6~8.0 岁,平均(4.6±1.4)岁,轻度发作 87 例(73.72%),中度发作 31 例(26.28%)。两组在病情方面比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。选取同期健康体检的儿童 71 例为对照组,男 48 例,女 23 例,年龄 1.0~8.3 岁,平均(4.7±1.2)岁。三组在性别、年龄方面比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。所有的病例均排除近 3 个月内使用维生素制剂、免疫调节剂、肾上腺皮质激素及有心血管疾病、肝肾功能损害者。本研究入选对象均经家长知情同意,并能坚持完成试验。

1.2 方法 同期健康体检的儿童体检时空腹抽血静脉血 5 ml,GINA+D 组和 GINA 组于治疗前、后清晨空腹抽取静脉血 5 ml,3 000 r/min 离心 10 min,分离血清,置-70℃冰箱中保存待测。采用 ELISA 测定 IgE(人免疫球蛋白 ELISA 检测试剂盒,美国 ADL 公司生产)、25-(OH)D₃[英国 Ins 公司的 25-(OH)D₃ 酶联免疫试剂盒];采用酶联免疫吸附双抗体夹心法检测 IL-4、IL-12,试剂盒由深圳晶美生物公司提供,操作严格按试剂盒说明书进行。两组患儿均按 GINA

方案规范化治疗,GINA+D 组在 GINA 治疗的基础上,给予口服维生素制剂阿法骨化醇胶囊(青岛正大海尔制药生产,国药准字:H19991114),每次 0.25 μg(相当维生素 1 000 IU),每周 4 次,连服 3 个月,累积剂量 12 μg,复查血清 25-(OH)D₃、IgE、IL-4、IL-12 水平的变化。治疗后全部病例追踪随访 1 年,观察疗效。

1.3 疗效评价 按中华医学会儿科学分会呼吸学组、中华医学会《中华儿科杂志》编辑委员会制定的病情严重程度评估标准进行评价^[8],总控制=控制+部分控制。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 17.0 统计软件,连续性变量以($\bar{x} \pm s$)表示,疗效比较采用非参数检验,组间治疗前后比较采用 *t* 检验,三组比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床疗效 GINA+D 组和 GINA 组所有病例均完成 1 年的复诊、随访、追踪观察,按控制水平分三级(控制、部分控制、未控制),两组临床疗效的比较。GINA+D 组总控制率高于 GINA 组($P < 0.001$),见表 1。

表 1 两组临床疗效的比较 (n,%)

组别	n	控制	部分控制	未控制	总控制
GINA+D 组	120	95(79.17)	19(15.83)	6(5.0)	114(95.00)
GINA 组	118	78(66.10)	18(15.25)	22(18.64)	96(81.36)

注:两组总控制率比较, $\chi^2=10.670$, $P=0.001$

2.2 三组血清 25-(OH)D₃、IgE、IL-4、IL-12 水平变化的比较 对照组与 GINA+D 组、GINA 组治疗前比较,血清 25-(OH)D₃、IL-12 水平明显高于 GINA+D 组、GINA 组,差异有统计学意义(P 均 < 0.05),而 IgE、IL-4 明显低于 GINA+D 组、GINA 组,差异有统计学意义(P 均 < 0.05);GINA+D 组加 D 后与 GINA 治疗后比较,血清 25-(OH)D₃、IL-12 水平明显增高,而 IgE、IL-4 明显降低,差异有统计学意义(P 均 $< 0.05 \sim 0.001$);GINA+D 组加 D 后与对照组比较,除 IL-12 差异无统计学意义($P > 0.05$)外,25-(OH)D₃ 仍低于对照组,IgE、IL-4 高于对照组而未达正常对照组水平,差异有统计学意义(P 均 $< 0.05 \sim 0.001$);GINA+D 组加 D 前后比较,25-(OH)D₃、IL-12 水平明显增高,IgE、IL-4 明显降低,差异有统计学意义(P 均 < 0.05),见表 2。

表 2 三组血清 25-(OH)D₃、IgE、IL-4、IL-12 水平变化的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	25-(OH)D ₃ (nmol/L)	IgE (mg/L)	IL-4 (ng/L)	IL-12 (ng/L)
GINA+D 组					
加 D 前	120	22.6 ± 4.5 ^a	18.9 ± 8.2 ^a	145.22 ± 77.81 ^a	43.72 ± 22.38 ^a
加 D 后	120	45.8 ± 5.3 ^{bcd}	13.1 ± 6.5 ^{bcd}	85.13 ± 55.28 ^{bcd}	68.79 ± 25.44 ^{bcd}
GINA 组					
治疗前	118	23.2 ± 4.3 ^a	18.4 ± 7.8 ^a	143.77 ± 76.32 ^a	44.51 ± 23.81 ^a
治疗后	118	24.8 ± 3.9 ^b	17.1 ± 7.3 ^b	102.14 ± 54.22 ^b	56.14 ± 24.13 ^b
对照组	71	56.8 ± 7.8	11.1 ± 4.2	68.47 ± 33.56	77.15 ± 33.45

注:a:GINA+D 组加 D 前和 GINA 治疗前与对照组比较, $F=1089, 25, 29, 32, 32, 68, 44, 74$, P 均 <0.05 ; b:GINA+D 组加 D 后与 GINA 治疗后比较, $t=34, 769, 4, 466, 2, 396, 3, 935$, P 均 <0.05 ; c:对照组与 GINA+D 组加 D 后比较, 除 IL-12 $t=0.050$, $P>0.05$ 外, 其余分别 $t=11, 585, 2, 321, 2, 300$, P 均 <0.05 ; GINA+D 组加 D 前后比较, t 分别 = 36, 553, 6, 072, 6, 896, 8, 105, P 均 <0.001

3 讨论

目前大多数研究认为,哮喘的发生是体内 Th1/Th2 失衡所致,哮喘患者体内 T 辅助细胞向 Th2 分化使 Th2 型细胞因子过度表达,导致 IgE 的产生并促使嗜酸性粒细胞在气道聚集及气道高反应性^[1-2,5-7]。Th2 型细胞最重要和最具代表性的细胞因子是 IL-4, IL-4 的生物作用包括刺激和活化 B 细胞,刺激 T 细胞增殖及促进 IgG 向 IgE 转化。而 IL-12 可以直接抑制多种 Th2 型细胞因子,促进 Th0 向 Th1 方向转化及 Th1 型细胞因子的产生,故被认为是促使 T 辅助细胞向 Th1 分化的始动因素。维生素 D₃ 属开环甾体类化合物激素,除调节骨钙代谢外,还具有重要的免疫调节作用,目前被运用到多种免疫相关性疾病中,是一种重要的新型免疫调节剂。大量的流行病学研究结果显示,维生素 D 缺乏在哮喘儿童中的发生率相对正常儿童的发生率高,且与哮喘的严重程度、住院次数相关^[9-12]。

本研究结果发现,在完成所有病例 1 年的复诊、随访、追踪观察中,GINA+D 组哮喘发作总控制率与 GINA 组比较,差异有统计学意义($P<0.01$),哮喘儿童在 GINA 方案规范化治疗的基础上加维生素 D 的治疗其疗效明显优于单纯的 GINA 治疗;同时发现,哮喘儿童血清 25-(OH)D₃ 浓度较健康体检儿童(对照组)明显降低($P<0.001$),表明广西桂西地区哮喘儿童普遍存在维生素缺乏,与 Brehm 等^[9]在北美洲报道轻中度哮喘儿童普遍存在维生素缺乏现象相同。提示维生素缺乏可能是儿童哮喘发病的重要危险因素之一,维生素 D 在哮喘的防治中可能发挥重要作用^[13]。

进一步研究结果表明,哮喘儿童血清 IgE、IL-4 浓度明显高于对照组(P 均 <0.001),而 IL-12 低于对照组($P<0.001$),予维生素 D 治疗 3 个月后(GINA+D 组加 D 后)与加 D 治疗前、GINA 组 GINA 治疗后比较,血清 IgE、IL-4 浓度明显降低(P 均 <0.001),25-(OH)D₃、IL-12 明显增高(P 均 <0.001),与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$),与国内外报道相似^[9-14]。提示 25-(OH)D₃ 参与哮喘的免疫调节,但其确切机制尚不明确。Augusto 等^[15]的研究表明,25-(OH)D₃ 参与体内 Th0 细胞的

转化,使 Th1 细胞免疫与 Th2 细胞免疫维持平衡状态,Baeke 等^[16]认为 25-(OH)D₃ 直接作用于 T 细胞,影响 Th1/Th2 相关因子的分泌,Sutherland 等^[12]研究显示,25-(OH)D₃ 下降直接导致气道高反应性增加,陈伟伟等^[17]在哮喘大鼠肺泡灌洗液、肺组织中发现,T 细胞分泌的趋化因子(一种重要的嗜酸性粒细胞相关的趋化因子,对嗜酸性粒细胞具有特异的趋化活性并参与其活化过程)蛋白及其 mRNA 的表达水平明显增高,25-(OH)D₃ 干预可以降低其表达水平,提示维生素 D 可以通过调节分泌的趋化因子的表达来减轻气道炎症反应,且维生素 D 可以协同布地奈德进一步降低分泌的趋化因子蛋白及其 mRNA 的表达水平。

综上所述,25-(OH)D₃ 作为一种免疫调节剂,在哮喘的免疫应答、气道高反应性等方面发挥重要作用,临床上在治疗哮喘儿童时除按 GINA 方案规范化治疗外,同时给予 25-(OH)D₃ 辅助治疗,将有助于极大改善患儿病情,减少复发,提高哮喘儿童的生活质量,同时建议常规监测哮喘儿童血清 25-(OH)D₃ 浓度,发现异常即予纠正。

参考文献:

- [1] 林娜,郭瑜修,刘运广,等. 白细胞介素-4 基因启动子多态性与广西壮族支气管哮喘患儿易感性和血清总免疫球蛋白 E 水平的相关性[J]. 实用儿科临床杂志,2012,27(9):677-680,683.
- [2] 黄海,农凯,林娜,等. 维生素对儿童反复呼吸道感染免疫调节作用的研究[J]. 右江民族医学院学报,2014,36(2):167-169.
- [3] 董时军,周英红,李晓松,等. 维生素抗呼吸道感染免疫研究近况[J]. 预防医学情报杂志,2010,26(8):634-635.
- [4] Daele J, Zicot AF. Humoral immunodeficiency in recurrent upper respiratory tract infections. Some basic, clinical and therapeutic features [J]. Acta Otorhinolaryngologica Belgica, 2000, 54(3):373-390.
- [5] Lagishetty V, Nancy QL, Hewison M. Vitamin D metabolism and innate immunity [J]. Mol Cell Endocrinol, 2011, 347(1-2):97-105.

(下转第 359 页)

为 0.5、1.0、2.0 mg/(kg·d) 的紫杉醇观察到, 最早在第三次连续用药后(给药第 6 d), 剂量浓度为 2.0 mg/(kg·d) 的实验组中, 大鼠出现了机械痛敏, 在第 4 次给药后(用药第 8 d) 达到最小, 并且基本稳定在该水平。相对于本实验中注射紫杉醇剂量为 1.0 mg/(kg·d) 的大鼠, 2.0 mg/(kg·d) 剂量组的大鼠机械痛阈出现得更早, 更稳定。实验结果提示, 隔天腹腔注射 2.0 mg/(kg·d) 的紫杉醇建立稳定的致神经病理性疼痛模型。本研究的紫杉醇致痛敏最佳剂量低于 2000 年 Authier 等^[6] 的 32 mg/kg, 高于陈治军等^[7] 的 1.0 mg/(kg·d)。另外, 本研究隔天注射的频率高于 Authier 等^[6] 的一周一次, 而与陈治军等^[7]、Boyette 等^[8] 的剂量与注射频率相一致。另外, 本实验结果还提示, 重复间断腹腔注射 2.0 mg/(kg·d) 紫杉醇的实验组大鼠在用药 8 d 左右, 机械刺激疼痛阈值达到最低数值。

综合对注射紫杉醇后大鼠的机械阈值改变、组织学改变和一般情况观察与分析, 我们认为, 隔天腹腔注射 2.0 mg/(kg·d) 紫杉醇可以成功建立大鼠神经病理性疼痛模型, 表现为外周感觉神经的机械超敏, 且存在组织学的结构变化。用药 8 d 左右可以考虑作为下一阶段研究紫杉醇诱导的神经病理性疼痛机制的合理、有效时间段。本研究采用紫杉醇诱导的神经病理性疼痛动物模型构建方法简便可行, 成本不高, 神经病变确切, 可为紫杉醇诱导的神经病理性疼痛机制的研究, 开发治疗紫杉醇化疗痛的药物提供有价值的评价工具。

参考文献:

- [1] Ren K, Rouald Dubner. Neuron—glia crosstalk gets serious: role in pain hypersensitivity[J]. *Current Opinion in Anaesthesiology*, 2008, 21(5): 570—579.
 - [2] Kiya T, Kawamata T, Namiki A, et al. Role of satellite cell—derived l—serine in the dorsal root ganglion in paclitaxel—induced painful peripheral neuropathy[J]. *Neuroscience*, 2011, 174: 190—199.
 - [3] Kaplan JG, Einzig AI, Schumburg HH. Taxol causes permanent large fiber peripheral nerve dysfunction: a lesson for preventative strategies[J]. *J Neurooncol*, 1993, 16(2): 105—107.
 - [4] Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw[J]. *J Neurosci Methods*, 1994, 53(1): 55—63.
 - [5] 毛庆祥, 杨天德. 神经病理性疼痛动物模型[J]. *中国医药指南*, 2008, 6(3): 13—14.
 - [6] Authier N, Gillet JP, Fialip J, et al. Description of a short—term taxol—induced nociceptive neuropathy in rats [J]. *Brain Res*, 2000, 887(2): 239—249.
 - [7] 陈治军, 田玉科, 罗放, 等. 紫杉醇致大鼠外周神经病理性疼痛模型的建立[J]. *华中科技大学学报: 医学版*, 2008, 37(6): 785—790.
 - [8] Boyette—Davis J, Xin W, Zhang H, et al. Intraepidermal nerve fiber loss corresponds to the development of taxol—induced hyperalgesia and can be prevented by treatment with minocycline[J]. *Pain*, 2011, 152(2): 308—313.
- 收稿日期: 2015—05—22; 修回日期: 2015—06—04
-
- (上接 354 页)
- [6] Bartley J. Vitamin D: emerging roles in infection and immunity[J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2010, 8(12): 1359—1369.
 - [7] Miller J, Gallo RL. Vitamin D and innate immunity[J]. *Dermatol Ther*, 2010, 23(1): 13—22.
 - [8] 中华医学会儿科学分会呼吸学组, 中华儿科杂志编辑委员会. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南[J]. *中华儿科杂志*, 2008, 46(10): 745—750.
 - [9] Brehm JM, Celedón JC, Soto—Quiros ME, et al. Serum vitamin D levels and markers of severity of childhood asthma in Costa Rica[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2009, 179(9): 765—771.
 - [10] Brehm JM, Schuemann B, Fuhlbrigge AL, et al. Serum Vitamin D Levels and Severe Asthma Exacerbations in the Childhood Asthma Management Program Study[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2010, 126(1): 52—58.
 - [11] Freishtat RJ, Iqbal SF, Pillai DK, et al. High Prevalence of Vitamin D Deficiency among Inner—City African American Youth with Asthma in Washington, DC[J]. *J Pediatr*, 2010, 156(6): 948—952.
 - [12] Sutherland ER, Goleva, Jackson LP, et al. Vitamin D Levels, Lung Function, and Steroid Response In Adult Asthma[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2010, 181: 699—704.
 - [13] Erkkola M, Kaila M, Nwaru BI, et al. Maternal vitamin D intake during pregnancy is inversely associated with asthma and allergic rhinitis in 5—year—old children [J]. *Clin Exp Allergy*, 2009, 39(6): 875—882.
 - [14] 莫丽亚, 邓永超, 黄彩芝, 等. 哮喘儿童血清 25 羟维生素 D 与相关白介素水平分析[J]. *实用预防医学*, 2013, 20(11): 1291—1293.
 - [15] Augusto A, Liton J. Childhood asthma may be a consequence of vitamin D deficiency[J]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2009, 9(3): 202—207.
 - [16] Baeke F, Korf H, Overbergh L, et al. Human T lymphocytes are direct targets of 1, 25—dihydroxyvitamin D₃ in the immune system[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2010, 121(12): 221—227.
 - [17] 陈伟伟, 蔡栩栩, 田维敏, 等. RANTES 在哮喘大鼠肺组织中的表达及维生素 D 的干预作用[J]. *中国当代儿科杂志*, 2012, 14(11): 863—868.
- 收稿日期: 2015—04—17; 修回日期: 2015—05—13