

· 论著 ·

吸入用布地奈德联合重组人干扰素 α -1b 注射液雾化干预对呼吸道合胞病毒感染幼鼠模型血清白介素 13 水平及 CD2⁺ T 淋巴细胞占比的影响

扫描二维码
查看原文董伟然¹, 张燕², 安会波³, 张建伟³, 周亮¹

【摘要】 目的 分析吸入用布地奈德联合重组人干扰素 α -1b 注射液雾化干预对呼吸道合胞病毒 (RSV) 感染幼鼠模型血清白介素 13 (IL-13) 水平及 CD2⁺ T 淋巴细胞占比的影响。方法 本实验时间为 2020-07-23 至 2020-08-02。采用随机数字表法将 32 只 SPF 级 Wistar 幼鼠分为空白对照组、阳性对照组、布地奈德组及联合用药组, 每组 8 只。除空白对照组外, 其余各组采用滴鼻法建立 RSV 感染幼鼠模型; 从实验第 4 天开始, 空白对照组和阳性对照组幼鼠给予 0.9% 氯化钠溶液雾化干预, 布地奈德组幼鼠给予吸入用布地奈德混悬液雾化干预, 联合用药组幼鼠给予吸入用布地奈德混悬液联合重组人干扰素 α -1b 注射液雾化干预, 各组均连续雾化干预 5 d。雾化干预结束后, 观察各组幼鼠的一般情况, 采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 双抗体夹心法检测各组幼鼠血清 IL-13 水平, 采用流式细胞仪检测各组幼鼠血清 CD2⁺ T 淋巴细胞占比。**结果** 本实验过程中各组幼鼠均未出现死亡情况, 其中空白对照组幼鼠毛发光滑、有光泽, 呼吸频率正常, 活动自如, 精神状态良好, 进食正常, 体温正常; 阳性对照组幼鼠毛发无光泽、竖立, 呼吸急促、喘息, 伴有发热、寒战, 行动迟缓, 精神萎靡或烦躁不安, 厌食; 布地奈德组和联合用药组幼鼠毛发光滑、有光泽, 呼吸频率稍快, 行动、饮食基本正常, 精神状态一般。阳性对照组幼鼠血清 IL-13 水平、CD2⁺ T 淋巴细胞占比高于空白对照组, 布地奈德组、联合用药组幼鼠血清 IL-13 水平高于空白对照组 ($P < 0.05$); 布地奈德组、联合用药组幼鼠血清 IL-13 水平、CD2⁺ T 淋巴细胞占比低于阳性对照组 ($P < 0.05$); 联合用药组幼鼠血清 IL-13 水平低于布地奈德组 ($P < 0.05$)。**结论** 吸入用布地奈德联合重组人干扰素 α -1b 注射液雾化干预可降低 RSV 感染幼鼠模型血清 IL-13 水平、CD2⁺ T 淋巴细胞占比, 其可能通过抑制炎症反应、调节免疫功能而提高治疗效果。

【关键词】 呼吸道合胞病毒; 布地奈德; 重组人干扰素 α -1b; 雾化干预; 白细胞介素 13; CD2⁺ T 淋巴细胞

【中图分类号】 R 373.1 **【文献标识码】** A DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2022.00.265

董伟然, 张燕, 安会波, 等. 吸入用布地奈德联合重组人干扰素 α -1b 注射液雾化干预对呼吸道合胞病毒感染幼鼠模型血清白介素 13 水平及 CD2⁺ T 淋巴细胞占比的影响 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2022, 30 (10): 75-80. [www.syxnf.net]

DONG W R, ZHANG Y, AN H B, et al. Effects of budesonide for inhalation combined with recombinant human interferon α -1b injection aerosol intervention on serum interleukin-13 levels and the proportion of CD2⁺ T lymphocytes in young mouse model of respiratory syncytial virus infection [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2022, 30 (10): 75-80.

Effects of Budesonide for Inhalation Combined with Recombinant Human Interferon α -1b Injection Aerosol Intervention on Serum Interleukin-13 Levels and the Proportion of CD2⁺ T Lymphocytes in Young Mouse Model of Respiratory Syncytial Virus Infection

DONG Weiran¹, ZHANG Yan², AN Huibo³, ZHANG Jianwei³, ZHOU Liang¹

1. Respiratory Department 1B, Children's Hospital of Hebei Province, Shijiazhuang 050031, China

2. National Institute for Viral Disease Control and Prevention, China CDC, Beijing 102206, China

3. Department of Pathology, Children's Hospital of Hebei Province, Shijiazhuang 050031, China

Corresponding author: ZHOU Liang, E-mail: liuzongtai@sina.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects of budesonide for inhalation combined with recombinant human interferon α -1b injection aerosol intervention on serum interleukin-13 (IL-13) levels and the proportion of CD2⁺ T lymphocytes in young mouse model of respiratory syncytial virus (RSV) infection. **Methods** This experiment was conducted from 2020-07-

基金项目: 2020年度河北省医学科学研究课题计划 (20200220)

1.050031河北省石家庄市, 河北省儿童医院呼吸一B科 2.102206北京市, 中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所

3.050031河北省石家庄市, 河北省儿童医院病理科

通信作者: 周亮, E-mail: liuzongtai@sina.com

23 to 2020-08-02. Using random number table method, 32 SPF Wistar young mice were divided into blank control group, positive control group, budesonide group and combination group, with 8 young mice in each group. Except for the blank control group, the other groups were established the RSV infection model of young mouse by nasal drip method. From the 4th day of the experiment, the young mice in the blank control group and the positive control group were given 0.9% sodium chloride solution aerosol intervention, the young mice in the budesonide group were given budesonide suspension for inhalation, the young mice in the combination group were given budesonide suspension for inhalation combined with recombinant human interferon α -1b injection, and each group received continuous nebulization intervention for 5 days. After the nebulization intervention, the general conditions of the young mouse in each group were observed, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) double-antibody sandwich method was used to detect serum IL-13 levels of young mouse in each group, and flow cytometry was used to detect the proportion of serum CD2⁺ T lymphocytes in young mouse of each group. **Results** During the experiment, the young mice in each group did not die. Among them, the young mice in the blank control group had smooth and shiny hair, normal breathing rate, free movement, good mental state, normal eating and normal body temperature; the young mice in the positive control group showed dull and erect hair, shortness of breath, wheezing, accompanied by fever, chills, slow movement, listlessness or restlessness, and anorexia; the young mice in the budesonide group and the combination group had smooth and shiny hair, slightly faster breathing rate, normal movement and diet, and normal mental state. The serum IL-13 level and the proportion of CD2⁺ T lymphocytes of the young mouse in the positive control group were higher than those in the blank control group, and the serum IL-13 level of the young mice in the budesonide group and the combination group was higher than that in the blank control group ($P < 0.05$); the serum IL-13 level and the proportion of CD2⁺ T lymphocytes of the young mouse in the budesonide group and the combination group were lower than those in the positive control group ($P < 0.05$); the serum IL-13 level of the young mouse in the combination group was lower than that in the budesonide group ($P < 0.05$). **Conclusion** Budesonide for inhalation combined with recombinant human interferon α -1b injection aerosol intervention can reduce the serum IL-13 level and the proportion of CD2⁺ T lymphocytes in the RSV-infected young mouse model, inhibit the inflammatory response, regulate immune function, and improve the therapeutic effect.

【Key words】 Respiratory syncytial viruses; Budesonide; Recombinant human interferon α -1b; Atomization intervention; Interleukin-13; CD2⁺ T lymphocytes

呼吸道合胞病毒 (respiratory syncytial virus, RSV) 属于RNA病毒, 可以通过空气以及密切接触传播, 是引起婴幼儿呼吸道感染最常见的一种病原体, 也是引发全世界范围内婴幼儿下呼吸道感染的最主要病原体^[1]。研究显示, 2~6个月的婴儿感染RSV后常可引发严重毛细支气管炎和肺炎, 但其引起严重下呼吸道感染的机制尚不清楚, 其有可能是通过呼吸道上皮细胞间的传播由上呼吸道播散至下呼吸道所致^[2-3]。目前研究表明, 婴幼儿感染RSV后可导致机体免疫功能紊乱, 主要表现为辅助性T淋巴细胞 (T helper cells, Th) 1/Th2比例失衡, 常呈现出Th2的优势免疫应答^[4]。白介素13 (interleukin-13, IL-13) 主要是由活化Th2分泌的一种细胞因子, 可促进B淋巴细胞增殖、免疫球蛋白E (immunoglobulin E, IgE) 合成、嗜酸粒细胞生成, 进而产生一系列炎症反应, 在RSV感染发病过程中 (尤其是感染RSV后喘息的发作过程中) 具有重要作用^[5]。CD2为T淋巴细胞特征性表面标志物, 与毒性T淋巴细胞 (cytotoxic T lymphocyte, CTL) 活性相关, 当机体发生病原体感染时可促进T淋巴细胞与其他细胞结合, 从而扩大免疫应答反应^[6]。目前临床上对于RSV感染主要以对症治疗和支持治疗为主, 尚无特异性的治疗药物, 患儿合并细菌感染时可联合抗菌药物进行治疗^[7]。布地奈德是糖皮质激素类药物, 具有良好的

局部抗炎作用, 是治疗RSV感染的常用药物^[8]。重组人干扰素 α -1b是一种通过克隆基因工程研制的干扰素制剂, 具有抗病毒及免疫调节作用^[9-10]。因感染RSV患儿具有免疫功能紊乱的特点, 本课题组采用吸入用布地奈德联合重组人干扰素 α -1b注射液雾化干预RSV感染幼鼠模型, 并观察其对幼鼠血清IL-13水平及CD2⁺T淋巴细胞占比的影响, 以期为临床治疗RSV感染提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验时间 实验时间为2020-07-23至2020-08-02。

1.2 实验动物 SPF级Wistar幼鼠32只, 雌雄各半, 体质量为 (14 ± 2) g, 4周龄左右, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供〔经营许可证编号: SCXK(京)200220043〕。

1.3 主要实验仪器与试剂 RSV Long株病毒液由中国科学院上海巴斯德研究所提供, 重组人干扰素 α -1b注射液 (购自北京三元基因药业股份有限公司, 国药准字S20010007)、吸入用布地奈德混悬液 (购自澳大利亚AstraZeneca Pty Ltd, 批准文号H20140475) 均由河北省儿童医院药房提供, IL-13酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒购自上海江莱生物科技有限公司, 流式细胞仪 (Cytomics Fc 500 MCL) 购自美国贝克曼库尔特公司。

1.4 实验方法

1.4.1 实验分组及干预方法 所有幼鼠置于清洁无病原体的鼠笼中适应性饲养1周, 室温为(20±2)℃, 相对湿度为40%~60%, 昼夜光照节律为12 h: 12 h, 自由饮水、饮食。采用随机数字表法将幼鼠分为空白对照组、阳性对照组、布地奈德组及联合用药组, 每组8只。除空白对照组外, 其余各组参照文献[11], 采用滴鼻法建立RSV感染幼鼠模型, 幼鼠首先采用7%水合氯醛联合七氟烷麻醉, 然后经鼻腔接种RSV Long株病毒液, 0.1 ml/次, 1次/d。空白对照组在同等条件下接种等量不含RSV Long株病毒液的0.9%氯化钠注射液, 0.1 ml/次, 1次/d。均连续接种3 d, 若幼鼠出现发热、流涕、喘息、呼吸急促、厌食、蜷卧、竖毛等表现则提示造模成功。参照临床雾化给药浓度并根据人与动物药物等效剂量进行换算配置^[12]: 从实验第4天开始, 空白对照组和阳性对照组幼鼠给予0.9%氯化钠溶液雾化干预(10 g/kg), 布地奈德组幼鼠给予吸入用布地奈德混悬液雾化干预(0.5 mg/次), 联合用药组幼鼠给予吸入用布地奈德混悬液(0.5 mg/次)联合重组人干扰素α-1b注射液(15 μg/次)雾化干预。每组幼鼠均每日早晚各雾化干预1次, 连续雾化干预5 d。

1.4.2 观察各组幼鼠一般情况 观察各组幼鼠雾化干预后的一般情况, 包括呼吸、毛发、活动、体温、精神状态等。

1.4.3 标本取材 雾化干预结束后通过眼眶静脉丛采血方法抽取各组幼鼠血液2 ml, 于4℃下3 000 r/min离心10 min(离心半径10 cm), 取血清, 然后置于-40℃冰箱冷冻保存。

1.4.4 ELISA双抗体夹心法检测血清IL-13水平 采用ELISA双抗体夹心法检测各组幼鼠血清IL-13水平, 相关实验操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.4.5 流式细胞仪检测血清CD2⁺ T淋巴细胞占比 采用流式细胞仪检测各组幼鼠血清CD2⁺ T淋巴细胞占比, 相关实验操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.5 统计学方法 应用SPSS 22.0统计软件进行数据分析。计量资料均符合正态分布, 以($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用LSD-*t*检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组幼鼠一般情况 本实验过程中各组幼鼠均未出现死亡情况, 其中空白对照组幼鼠毛发光滑、有光泽, 呼吸频率正常, 活动自如, 精神状态良好, 进食正常, 体温正常; 阳性对照组幼鼠毛发无光泽、竖立, 呼吸急促、喘息, 伴有发热、寒战, 行动迟缓, 精神萎靡或烦躁不安, 厌食; 布地奈德组和联合用药组幼鼠毛发光滑、有光泽, 呼吸频率稍快, 行动、饮食基本正常,

精神状态一般。

2.2 四组幼鼠血清IL-13水平、CD2⁺ T淋巴细胞占比比较 四组幼鼠血清IL-13水平、CD2⁺ T淋巴细胞占比比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。阳性对照组幼鼠血清IL-13水平、CD2⁺ T淋巴细胞占比高于空白对照组, 布地奈德组、联合用药组幼鼠血清IL-13水平高于空白对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 布地奈德组、联合用药组幼鼠血清IL-13水平、CD2⁺ T淋巴细胞占比低于阳性对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 联合用药组幼鼠血清IL-13水平低于布地奈德组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表1。

表1 四组幼鼠血清IL-13、CD2⁺ T淋巴细胞占比比较($\bar{x} \pm s$, $n=8$)
Table 1 Comparison of serum levels of IL-13 and CD2⁺ T lymphocytes in four groups of young mice

组别	IL-13 (pg/ml)	CD2 ⁺ T淋巴细胞占比 (%)
空白对照组	4.29 ± 0.26	26.00 ± 0.38
阳性对照组	6.97 ± 0.17 ^a	31.84 ± 5.47 ^a
布地奈德组	6.16 ± 0.13 ^{ab}	27.07 ± 1.00 ^b
联合用药组	5.39 ± 0.35 ^{abc}	26.96 ± 1.53 ^b
<i>F</i> 值	176.74	6.61
<i>P</i> 值	<0.001	0.002

注: ^a表示与空白对照组比较, $P < 0.05$; ^b表示与阳性对照组比较, $P < 0.05$; ^c表示与布地奈德组比较, $P < 0.05$

3 讨论

RSV是一种中等大小的、膜包裹的RNA病毒, 与副流感病毒、腮腺炎病毒、麻疹病毒等均属于副黏病毒家族, 在感染细胞的胞质内发育并且通过胞质膜出芽方式成熟^[13]。RSV对婴幼儿的呼吸道有很强的致病力, 其可通过空气飞沫或直接进入易感者呼吸道而传播, 也可通过间接接触患儿呼吸道分泌物污染的物品而传播, 婴幼儿是RSV感染的易感人群, 但新生儿感染RSV也较常见, 其是引起新生儿严重下呼吸道感染的最主要病原体, 早产儿发生RSV感染时症状更重^[14-16]。范丽等^[17]对因下呼吸道感染而住院的551例<1岁婴儿的RSV感染情况进行调查分析, 结果显示, 感染RSV患儿占有患儿的31.94% (176/551), 其中<6月龄者占74.43% (131/176), 且51.14% (90/176)的患儿同时合并细菌感染; 感染RSV患儿中出现喘息、鼻塞症状者明显多于未感染RSV患儿。袁琳等^[14]对309例RSV肺炎新生儿的临床和流行病学特点进行分析, 结果显示, RSV感染存在明显季节性, 以冬春季为主; 早产患儿占总患儿例数的11.3% (35/309); 患儿早期临床表现为流涕、鼻塞等上呼吸道感染症状, 而后可出现咳嗽、喘息, 并逐渐加重, 重者可有气促、发绀, 而早产儿则以呼吸暂停和发绀为主。黄志英等^[18]对江苏省常州地区的急性呼吸道感染患儿RSV流行病学情况进行调查, 结

果显示,RSV是常州地区引起婴幼儿急性呼吸道感染的重要病原体,但随年龄增长其感染率逐渐下降,新生儿RSV的感染率最高。本研究结果显示,空白对照组幼鼠毛发光滑、有光泽,呼吸频率正常,活动自如,精神状态良好,进食正常,体温正常;阳性对照组幼鼠毛发无光泽,呼吸急促、喘息,伴有发热、寒战,行动迟缓,厌食等,提示RSV感染造模成功。布地奈德组和联合用药组幼鼠毛发光滑、有光泽,呼吸频率稍快,行动、饮食基本正常,精神状态一般,较阳性对照组明显好转,提示吸入用布地奈德雾化干预和吸入用布地奈德联合重组人干扰素 $\alpha-1b$ 注射液雾化干预可有效改善RSV感染幼鼠模型症状。

鉴于RSV对婴幼儿健康造成了极大的威胁,WHO已将RSV疫苗的研发列为首要发展的疫苗之一^[19]。尽管各个国家对RSV疫苗的研制投入了巨大的人力、物力,由于病毒本身的特点和RSV感染人群的特点,目前尚没有有效的疫苗被批准应用。因此,目前临床上对于RSV的治疗还是以支持治疗和对症治疗为主,但由于不同亚型RSV的中和抗体不能提供有效的亚型间交叉保护作用,RSV感染不能产生完全免疫,故临床可出现反复多次感染^[20]。重组人干扰素 $\alpha-1b$ 是我国自主研发的新型基因工程类药物,是一种多功能活性蛋白质,其虽然并不能直接杀伤或抑制病毒,但可以通过与细胞表面受体作用,使细胞产生抗病毒蛋白,从而抑制病毒的复制,同时还可增强自然杀伤细胞、巨噬细胞和T淋巴细胞的活力,起到免疫调节作用,并增强抗病毒能力。黄艳娟等^[21]研究表明,RSV可对小鼠酪氨酸蛋白激酶(januskinase, JAK)/信号传导与转录活化因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)信号通路产生抑制作用,而JAK/STAT信号通路对机体的免疫应答、免疫细胞分化发育及炎症反应均有重要的调节作用,而重组人干扰素 $\alpha-1b$ 可明显促进STAT1、STAT2蛋白表达,提高JAK/STAT信号通路的活性,调节免疫功能,进而发挥抗病毒作用。糖皮质激素是一类极其重要的调节分子,对机体的生长、发育、代谢及免疫功能等起着重要的调节作用,是临床上使用最为广泛而有效的抗炎和免疫调节剂。其中布地奈德是临床上常用的吸入型糖皮质激素,具有快速、强大的非特异性抗炎作用,对各种炎症反应均有疗效,在炎症初期既能抑制毛细血管扩张,减轻渗出和水肿,又能抑制白细胞的浸润和吞噬,减轻炎症症状;在炎症后期能抑制毛细血管和纤维母细胞的增殖,延缓肉芽组织的生成,避免粘连等炎症后遗症的发生。布地奈德还有很好的免疫抑制作用,小剂量时主要抑制细胞免疫,大剂量时能够抑制浆细胞和抗体生成,抑制体液免疫功能,减少IgE的分泌。何为^[20]认为,RSV感染可直接损伤气道黏膜,导

致分泌物增多,并诱导机体发生免疫应答,促进炎症因子分泌,从而导致气道高反应性,出现喘息等症状,气道炎症反应是RSV毛细支气管炎发生发展的关键因素,而布地奈德能够通过和细胞膜、细胞质的皮质醇受体结合,阻止炎症细胞活化,抑制炎症因子的合成与释放,减轻气道高反应性状态,从而达到改善临床症状的目的。郭颖等^[22]进一步研究布地奈德对RSV感染哮喘模型小鼠肺损伤的保护机制,结果显示,布地奈德能够抑制小鼠肺组织中高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1, HMGB1)和Toll样受体4(Toll-like receptors 4, TLR-4)的表达,减轻炎症细胞浸润,减少血清和肺泡灌洗液中炎症细胞总数,诱导Th1细胞因子——干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)、IL-2的表达,降低Th2因子——IL-13和嗜酸粒细胞趋化因子的表达,促进Th1/Th2恢复平衡,减轻气道炎症。

有研究认为,RSV感染引起的免疫功能紊乱是诱发患儿气道慢性炎症反应和气道高反应性的主要病理机制,主要表现为Th1/Th2失衡,并呈现Th2优势免疫应答状态,大量可溶性炎症因子被释放而引起炎症和组织损伤^[23-24]。IL-13是由Th2分泌的一种多效性细胞因子,能够促进B淋巴细胞增殖,增强树突状细胞和巨噬细胞的活性,活化嗜酸粒细胞,并驱使B淋巴细胞分泌IgE,而IgE是引起哮喘的主要效应分子,能够促进气道黏液的分泌和气道高反应性的形成^[25-26]。有研究认为,IL-13水平升高是导致患儿感染RSV后发生喘息甚至哮喘的重要原因,其在哮喘和RSV感染所引起的免疫炎症反应过程中具有十分重要的作用^[6, 27-28]。常健等^[29]研究也表明,IL-13在儿童RSV毛细支气管炎转变为哮喘的过程中起主要作用,患儿病情可随着IL-13水平的降低而减轻。夏虎等^[30]研究表明,RSV感染可上调哮喘模型小鼠气道上皮细胞中胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)的表达,促进Th2因子——IL-4、IL-5、IL-13等的分泌,加重小鼠肺部Th2型炎症反应。CD2是广谱且较稳定的T淋巴细胞抗原,表达于成熟T淋巴细胞及胸腺细胞,能够促进T淋巴细胞与抗原呈递细胞的黏附,促进炎症反应^[31]。梁敏等^[32]研究表明,负向调控CD2相关蛋白(CD2-associated protein, CD2AP)可以抑制RSV感染导致的支气管上皮细胞的炎症反应及细胞凋亡,从而减轻细胞损伤。本研究结果显示,阳性对照组幼鼠血清IL-13水平、CD2⁺T淋巴细胞占比高于空白对照组,布地奈德组、联合用药组幼鼠血清IL-13水平高于空白对照组;布地奈德组、联合用药组幼鼠血清IL-13水平、CD2⁺T淋巴细胞占比低于阳性对照组;联合用药组幼鼠血清IL-13水平低于布地奈德组;提示RSV感染幼鼠模型血清IL-13、CD2⁺T淋巴细胞占比升高,而吸入用布地奈

德雾化干预和吸入用布地奈德联合重组人干扰素 α -1b注射液雾化干预可降低其血清IL-13水平、CD2⁺T淋巴细胞占比,且吸入用布地奈德联合重组人干扰素 α -1b注射液雾化干预的效果更好,这与吴莹等^[33]、范增婧^[34]研究结果基本一致。吴莹等^[33]采用重组人干扰素 α -1b联合布地奈德雾化吸入治疗小儿RSV毛细支气管炎,并与单纯采用布地奈德雾化吸入治疗比较,结果显示,联合用药组的总有效率明显高于对照组(95.75%比78.72%, $P<0.05$),且联合用药组治疗后肺功能指标——吸气呼气时间比、每千克体重潮气量均高于对照组,呼吸阻力小于对照组,并指出联合用药能促进Th1/Th2恢复平衡,减轻气道炎症反应。范增婧^[34]采用重组人干扰素 α -1b联合布地奈德治疗小儿RSV毛细支气管炎,并与单纯布地奈德治疗比较,结果显示,联合组总有效率明显高于对照组(96.67%比81.67%, $P<0.05$),且联合组治疗后咳嗽、喘憋、哮鸣音等症状缓解时间及住院时间均短于对照组,用力肺活量、第1秒用力呼气容积均大于对照组,在改善患儿临床症状的同时可有效提高患儿呼吸功能。分析原因,一方面,布地奈德具有抗炎和免疫抑制作用,可诱导抗炎因子合成,抑制炎症因子合成,减轻气道炎症反应和气道高反应性;另一方面,重组人干扰素 α -1b可调节免疫功能,增加机体的抗病毒能力,抑制病毒复制,标本兼治,从而能够有效提高治疗效果。此外,雾化干预对于婴幼儿来说安全性好、治疗指数高,可使药物直接作用于气道黏膜上皮细胞,避免肝脏首过效应,能够更快、更有效地发挥药物疗效,且雾化吸入药量较全身用药量小,可避免或减少糖皮质激素全身给药可能产生的不良反应,家属接受度高,从而提高患儿的治疗依从性^[35-36]。

综上所述,吸入用布地奈德联合重组人干扰素 α -1b注射液雾化干预可降低RSV感染幼鼠模型血清IL-13水平、CD2⁺T淋巴细胞占比,其可能通过抑制炎症反应、调节免疫功能而提高治疗效果。但本研究观察指标相对单一,未对深层次的信号通路作用机制进行探讨,是否还有其他方面的作用途径和作用机制有待将来深入研究。

作者贡献:周亮进行文章的构思与设计,负责文章的质量控制及审校,对文章整体负责、监督管理;张燕、安会波、周亮进行研究的实施与可行性分析;张建伟进行数据收集、整理;董伟然、周亮进行结果的分析与解释、论文的修订;董伟然撰写论文。

本文无利益冲突。

参考文献

- [1] LU S S, HARTERT T V, EVERARD M L, et al. Predictors of asthma following severe respiratory syncytial virus (RSV) bronchiolitis in early childhood [J]. *Pediatr Pulmonol*, 2016, 51 (12): 1382-1392. DOI: 10.1002/ppul.23461.

- [2] 李昌崇, 苏苗赏. 呼吸道合胞病毒致毛细支气管炎与支气管哮喘的关系及其诊断治疗策略 [J]. *实用儿科临床杂志*, 2006, 21 (16): 1045-1048. DOI: 10.3969/j.issn.1003-515X.2006.16.003.
- [3] 鲁靖, 殷菊, 李云娟, 等. 新生儿呼吸道合胞病毒下呼吸道感染临床分析及随访 [J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2014, 29 (6): 436-439. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2014.06.011.
- [4] 崔振泽, 吴振起, 王雪峰. 定喘汤调整呼吸道合胞病毒感染小鼠TH2/TH1免疫失衡 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2006, 8 (1): 63-65. DOI: 10.3969/j.issn.1008-8830.2006.01.017.
- [5] 董晓艳, 鲍一笑. 白介素-13与哮喘、呼吸道合胞病毒感染后喘息的相关性 [J]. *国际儿科学杂志*, 2008, 35 (3): 208-210. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4408.2008.03.005.
- [6] 国家呼吸系统疾病临床医学研究中心, 中华医学会儿科学分会呼吸学组, 中国医师协会呼吸医师分会儿科呼吸工作委员会, 等. 儿童呼吸道合胞病毒感染诊断、治疗和预防专家共识 [J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2020, 35 (4): 241-250. DOI: 10.3760/cma.j.cn101070-20200225-00243.
- [7] VAN KOOYK Y, VAN DE WIEL-VAN KEMENADE P, WEDER P, et al. Enhancement of LFA-1-mediated cell adhesion by triggering through CD2 or CD3 on T lymphocytes [J]. *Nature*, 1989, 342 (6251): 811-813. DOI: 10.1038/342811a0.
- [8] 黄胜, 黄婷. 布地奈德对呼吸道合胞病毒感染相关喘息患儿血清炎症因子水平的影响 [J]. *中国医药*, 2019, 14 (4): 587-590. DOI: 10.3760/j.issn.1673-4777.2019.04.027.
- [9] PRÜMMER O. Interferon- α antibodies in patients with renal cell carcinoma treated with recombinant interferon- α -2A in an adjuvant multicenter trial. The Delta-P Study Group [J]. *Cancer*, 1993, 71 (5): 1828-1834. DOI: 10.1002/1097-0142(19930301)71:5<1828:aid-ncr2820710518>3.0.co;2-0.
- [10] DZYUBLYK I, YEGOROVA T, MOROZ L, et al. Controlled release recombinant human interferon- α 2b for treating patients with chronic hepatitis C genotype 1: a phase 2a clinical trial [J]. *J Viral Hepat*, 2011, 18 (4): 271-279. DOI: 10.1111/j.1365-2893.2010.01298.x.
- [11] 邹毅, 黄海鹭, 徐军, 等. 小鼠的原发性呼吸道合胞病毒感染 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2001, 24 (8): 484-486. DOI: 10.3760/j.issn:1001-0939.2001.08.012.
- [12] 贺石林. 中医科研设计与统计学 [M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2001: 48-49.
- [13] BORCHERS A T, CHANG C, GERSHWIN M E, et al. Respiratory syncytial virus—a comprehensive review [J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2013, 45 (3): 331-379. DOI: 10.1007/s12016-013-8368-9.
- [14] 袁琳, 张金萍, 陈超. 新生儿呼吸道合胞病毒肺炎309例临床及流行病学特点 [J]. *实用儿科临床杂志*, 2009, 24 (14):

- 1064-1067.
- [15] Global Burden of Disease Pediatrics Collaboration, KYU H H, PINHO C, et al. Global and national burden of diseases and injuries among children and adolescents between 1990 and 2013: findings from the global burden of disease 2013 study [J]. *JAMA Pediatr*, 2016, 170 (3): 267-287. DOI: 10.1001/jamapediatrics.2015.4276.
- [16] 文文衡, 范秀玖, 付印强. 婴儿 (<1岁) 急性下呼吸道感染病毒感染的临床流行病学特点及其危险因素研究 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 2015, 23 (7): 40-42. DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2015.07.011.
- [17] 范丽, 周燕明, 王子川. 婴儿下呼吸道感染病毒感染的临床特点及流行病学分析 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2013, 23 (22): 5483-5484, 5487.
- [18] 黄志英, 程宝金, 林红, 等. 江苏省常州地区急性呼吸道感染患儿呼吸道感染病毒流行病学特点 [J]. *实用临床医药杂志*, 2014, 18 (1): 125-127. DOI: 10.7619/jcmp.201401042.
- [19] 王善辉, 李培锋, 王希良. 人呼吸道感染病毒亚单位疫苗的研究进展 [J]. *微生物学免疫学进展*, 2009, 37 (1): 48-51. DOI: 10.3969/j.issn.1005-5673.2009.01.012.
- [20] 何为. 孟鲁司特钠联合布地奈德治疗小儿呼吸道感染毛细支气管炎的临床疗效及其对气道炎性反应的影响 [J]. *临床合理用药杂志*, 2020, 13 (6): 75-77. DOI: 10.15887/j.cnki.13-1389/r.2020.06.036.
- [21] 黄艳娟, 张国成, 刘瑞清, 等. 重组人干扰素 α 1b 对呼吸道感染病毒感染小鼠酪氨酸蛋白激酶/信号传导与转录活化因子通路的影响 [J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2015, 30 (10): 772-775. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2015.10.014.
- [22] 郭颖, 张娟, 蔡玉香, 等. 布地奈德对呼吸道感染病毒感染的哮喘小鼠肺损伤保护作用 [J]. *山西医科大学学报*, 2017, 48 (11): 1135-1140. DOI: 10.13753/j.issn.1007-6611.2017.11.010.
- [23] 梁若枫. 呼吸道感染病毒毛细支气管炎临床特征及其预后随访 [D]. 杭州: 浙江大学, 2006.
- [24] 王珏, 梅爱农. 婴幼儿呼吸道感染病毒感染的免疫机制 [J]. *现代诊断与治疗*, 2003, 14 (5): 296-298. DOI: 10.3969/j.issn.1001-8174.2003.05.020.
- [25] XI D, PAN S X, CUI T P, et al. Association between IL-13 gene polymorphism and asthma in Han nationality in Hubei Chinese population [J]. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci*, 2004, 24 (3): 219-222. DOI: 10.1007/BF02831994.
- [26] ALASANDAGUTTI M L, ANSARI M S, SAGURTHI S R, et al. Role of IL-13 genetic variants in signalling of asthma [J]. *Inflammation*, 2017, 40 (2): 566-577. DOI: 10.1007/s10753-016-0503-3.
- [27] VARGAFTIG B B, SINGER M. Leukotrienes, IL-13, and chemokines cooperate to induce BHR and mucus in allergic mouse lungs [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2003, 284 (2): L260-269. DOI: 10.1152/ajplung.00226.2002.
- [28] DAKHAMA A, PARK J W, TAUBE C, et al. The enhancement or prevention of airway hyperresponsiveness during reinfection with respiratory syncytial virus is critically dependent on the age at first infection and IL-13 production [J]. *J Immunol*, 2005, 175 (3): 1876-1883. DOI: 10.4049/jimmunol.175.3.1876.
- [29] 常健, 李玉梅, 鲁继荣, 等. 呼吸道感染病毒毛细支气管炎患儿血浆IL-9、IL-13水平研究 [J]. *临床儿科杂志*, 2006, 24 (6): 472-474. DOI: 10.3969/j.issn.1000-3606.2006.06.015.
- [30] 夏虎, 蔡绍曦, 佟万成, 等. 呼吸道感染病毒感染促进哮喘小鼠气道分泌TSLP和Th2炎症反应 [J]. *南方医科大学学报*, 2009, 29 (4): 724-728. DOI: 10.3321/j.issn.1673-4254.2009.04.022.
- [31] ORLIK C, DEIBEL D, KÜBLBECK J, et al. Keratinocytes costimulate naive human T cells via CD2: a potential target to prevent the development of proinflammatory Th1 cells in the skin [J]. *Cell Mol Immunol*, 2020, 17 (4): 380-394. DOI: 10.1038/s41423-019-0261-x.
- [32] 梁敏, 李弯, 熊诗思, 等. miR-133a-3p 靶向调控CD2AP基因减轻RSV感染的人支气管上皮细胞系16-HBE损伤 [J]. *基础医学与临床*, 2021, 41 (10): 1463-1469. DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2021.10.017.
- [33] 吴莹, 徐济宝, 汪丙松. 干扰素联合布地奈德雾化吸入治疗小儿RSV毛细支气管炎的疗效观察 [J]. *医学综述*, 2021, 27 (18): 3739-3744. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2021.18.036.
- [34] 范增婧. 重组人干扰素 α -1b 联合布地奈德治疗小儿呼吸道感染病毒毛细支气管炎的疗效观察 [J]. *当代医学*, 2020, 26 (31): 99-101. DOI: 10.3969/j.issn.1009-4393.2020.31.039.
- [35] 申昆玲, 李云珠, 李昌崇, 等. 糖皮质激素雾化吸入法在儿科应用的专家共识 [J]. *临床儿科杂志*, 2011, 29 (1): 86-91.
- [36] 赵倩. 小剂量布地奈德雾化联合重组人干扰素 α 1b 辅助治疗呼吸道感染病毒患儿的疗效评价 [J]. *实用中西医结合临床*, 2021, 21 (10): 41-42. DOI: 10.13638/j.issn.1671-4040.2021.10.018.

(收稿日期: 2022-06-21; 修回日期: 2022-08-12)

(本文编辑: 崔丽红)