

川崎病患儿血清酸性鞘磷脂酶、钙调神经磷酸酶水平和炎症因子表达的相关性以及免疫球蛋白治疗效果的关系研究

张俊民, 许爱平, 赵利平, 代宝春, 张 娟 (邯郸市中心医院儿科, 河北邯郸 056000)

摘要: 目的 探讨川崎病 (Kawasaki disease, KD) 患儿血清酸性鞘磷脂酶 (acid sphingomyelinase, ASM)、钙调神经磷酸酶 (calcineurin, CaN) 水平和炎症因子表达的相关性以及免疫球蛋白治疗效果的关系研究。方法 选择2017年2月~2020年3月邯郸市中心医院收治的196例KD患儿 (KD组) 和198例健康体检儿童 (对照组) 为研究对象。检测所有儿童血清ASM, CaN及炎症因子 [白细胞介素 (interleukin, IL)-2, C反应蛋白 (C-reactive protein, CRP), 白细胞介素 (interleukin, IL)-6, 肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)- α] 水平。分析血清ASM, CaN水平与IL-2, CRP, IL-6, TNF- α 的相关性。根据静脉注射免疫球蛋白 (intravenous immunoglobulin, IVIG) 治疗反应性将KD患儿分为IVIG反应组 ($n=165$) 和IVIG无反应组 ($n=31$), 分析IVIG治疗效果的影响因素。结果 KD组患儿血清ASM (3.31 ± 0.75 nmol/L), CaN (2.52 ± 0.62 ng/ml), IL-2 (3.65 ± 0.95 pg/ml), CRP (31.15 ± 5.34 mg/L), IL-6 (85.91 ± 19.75 pg/ml), TNF- α (5.19 ± 0.98 μ g/L) 水平均高于对照组 (1.05 ± 0.31 nmol/L, 0.86 ± 0.25 ng/ml, 0.95 ± 0.23 pg/ml, 1.32 ± 0.27 mg/L, 23.15 ± 6.59 pg/ml, 2.01 ± 0.34 μ g/L), 差异有统计学意义 ($t=33.715 \sim 41.914$, 均 $P < 0.05$)。Pearson相关性分析结果显示: 血清ASM, CaN水平与IL-2, CRP, IL-6, TNF- α 水平均呈正相关 ($r_{ASM}=0.396 \sim 0.521$, $r_{CaN}=0.342 \sim 0.512$, 均 $P < 0.05$)。单因素分析结果显示: IVIG反应组血清ASM, CaN, CRP和IL-6水平以及发热时间、中性粒细胞比例和白细胞计数均低于IVIG无反应组, 差异有统计学意义 ($t=5.969 \sim 18.252$, 均 $P < 0.05$)。多因素Logistic回归分析结果显示: ASM (OR=1.390, 95%CI=1.158 ~ 1.669), CaN (OR=1.749, 95%CI=1.346 ~ 2.272) 和CRP (OR=1.865, 95%CI=1.358 ~ 2.561) 均是KD患儿IVIG治疗效果的影响因素 (均 $P < 0.05$)。结论 KD患儿血清ASM和CaN水平均异常升高, 且血清ASM和CaN水平升高与机体发生炎症反应、IVIG治疗无反应有关, 检测血清ASM和CaN水平有助于评估KD病情和IVIG疗效。

关键词: 川崎病; 酸性鞘磷脂酶; 钙调神经磷酸酶; 炎症反应; 免疫球蛋白

中图分类号: R725.5; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2022) 05-180-06

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2022.05.036

Correlation between Serum Acid Sphingomyelinase, Calcineurin Levels and Expression of Inflammatory Factors in Children with Kawasaki Disease and the Relationship with the Therapeutic Effect of Immunoglobulin

ZHANG Jun-min, XU Ai-ping, ZHAO Li-ping, DAI Bao-chun, ZHANG Juan

(Department of Pediatrics, Handan Central Hospital, Hebei Handan 056000, China)

Abstract: Objective To investigate the correlation between serum acid sphingomyelinase (ASM), calcineurin (CaN) levels and expression of inflammatory factors in children with Kawasaki disease (KD) and the relationship with the therapeutic effect of immunoglobulin. **Methods** 196 children with KD (KD group) who were treated in Handan Central Hospital from February 2017 to March 2020 and 198 healthy children (control group) were selected as the study subjects. The levels of serum ASM, CaN and inflammatory factors [interleukin (IL)-2, C-reactive protein (CRP), interleukin (IL)-6 and tumor necrosis factor (TNF)- α] were detected in all children. The correlation of serum ASM and CaN levels with IL-2, CRP, IL-6 and TNF- α were analyzed. According to intravenous immunoglobulin therapy (IVIG) treatment response, children with KD were divided into IVIG response group ($n=165$) and IVIG non-response group ($n=31$) treatment response. The influencing factors of IVIG treatment effect were analyzed. **Results** The levels of serum ASM (3.21 ± 0.75 nmol/L), CaN (2.52 ± 0.62 ng/ml), IL-2 (3.65 ± 0.95 pg/ml), CRP (31.15 ± 5.34 mg/L), IL-6 (85.91 ± 19.75 pg/ml) and TNF- α (5.19 ± 0.98 μ g/L) in KD group were higher than those in control group (1.05 ± 0.31 nmol/L, 0.86 ± 0.25 ng/ml, 0.95 ± 0.23 pg/ml, 1.32 ± 0.27 mg/L,

基金项目: 2017年度河北省医学科学研究重点课题计划 (编号: 201701849)。

作者简介: 张俊民 (1977-), 女, 本科, 主治医师, 从事儿科方面的研究, E-mail: zjm3313015634@163.com。

$23.15 \pm 6.59 \mu\text{g/ml}$, $2.01 \pm 0.34 \mu\text{g/L}$), the differences were statistically significant ($t=33.715 \sim 41.914$, all $P < 0.05$). Pearson correlation analysis showed that serum ASM and CaN levels were positively correlated with IL-2, CRP, IL-6 and TNF- α levels ($r_{\text{ASM}}=0.396 \sim 0.521$, $r_{\text{CaN}}=0.342 \sim 0.512$, all $P < 0.05$). Univariate analysis showed that the levels of serum ASM, CaN, CRP, IL-6 levels, heating time, neutrophil proportion and white blood cell count in IVIG response group were lower than those in IVIG non-response group, the differences were statistically significant ($t=5.969 \sim 18.252$, all $P < 0.05$). Multivariate Logistic regression analysis showed that ASM (OR=1.390, 95%CI=1.158 ~ 1.669), CaN (OR=1.749, 95%CI=1.346 ~ 2.272) and CRP (OR=1.865, 95%CI=1.358 ~ 2.561) were the influencing factors of IVIG treatment effect in children with KD (all $P < 0.05$). **Conclusion** The serum ASM and CaN levels in children with KD were abnormally increased, and the increase of serum ASM and CaN levels were related to the inflammatory reaction in the body and the non-response to IVIG treatment. The detection of serum ASM and CaN levels is helpful to evaluate the disease of KD and the efficacy of IVIG.

Keywords: Kawasaki disease; acid sphingomyelinase; calcineurin; inflammatory response; immunoglobulin

川崎病 (Kawasaki disease, KD) 是一种不明原因导致的急性、自限性、发热性、系统性血管炎症, 约 20% ~ 25% 未经治疗的 KD 患儿会发生冠状动脉病变^[1]。静脉注射免疫球蛋白 (intravenous immunoglobulin, IVIG) 能调节免疫功能, 抑制全身炎症反应, 是 KD 治疗的一线用药, 可降低冠状动脉瘤发生率^[2], 但是 IVIG 治疗反应性个体差异较大, 部分患儿对 IVIG 治疗无反应。现有观点认为免疫系统异常激活、过度炎症反应可能与 IVIG 治疗无反应有关^[3]。酸性鞘磷脂酶 (acid sphingomyelinase, ASM) 是一种溶酶体糖蛋白, 可将鞘磷脂水解为神经酰胺, ASM 激活与细胞应激、炎症反应以及血管内皮功能障碍有关^[4]。钙调神经磷酸酶 (calcineurin, CaN) 是一种由钙激活的蛋白磷酸酶, 激活后会触发钙信号通路, 上调炎症细胞因子表达, CaN 水平升高与冠状动脉炎症反应有关^[5]。为了解血清 ASM, CaN 与 KD 的关系以及在 KD 中的临床应用价值, 本研究拟检测 KD 患儿血清 ASM, CaN 水平, 分析其与 KD 患儿炎症反应和 IVIG 治疗效果的关系, 结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选择 2017 年 2 月 ~ 2020 年 3 月邯郸市中心医院收治的 196 例 KD 患儿 (KD 组), 男性 123 例, 女性 73 例, 年龄 3 ~ 6 (4.85 ± 0.49) 岁; 体重 11 ~ 28 (18.80 ± 6.41) kg; 发热时间 2 天 ~ 15 天, 平均 5.69 ± 2.19 天。纳入标准: ①符合《川崎病的诊断、治疗和长期管理: 来自美国心脏协会的健康专业人员的科学声明》中相关诊断标准^[6]; ②初次诊断为 KD, 处于急性期; ③均发病 10 天内接受 IVIG 联合阿司匹林治疗。排除标准: ①复发性 KD; ②入组前已经接受 IVIG 治疗; ③对 IVIG 治疗过敏者。另选择同期于我院进行体检的 198 例健康儿童为对照组, 男性 131 例, 女性 67 例, 年龄 4 ~ 6 (4.90 ± 0.42) 岁, 体重 13 ~ 30 (19.63 ± 6.71) kg; 均排除先天性心脏病、遗传病、急慢性感染。

KD 组和对照组儿童监护人均知情同意本研究且签署同意书, 两组性别、年龄、体质量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 本研究获得我院伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂 Varioskan LUX 多功能酶标仪 (美国赛默飞世尔公司); 酶联免疫吸附试验所用试剂盒 (上海酶联生物科技有限公司); AU5800 全自动生化分析仪, DxH800 血细胞分析仪, DxH800 血细胞分析仪 (美国贝克曼公司); Roller 20 MicroTEST1 全自动血沉仪 (意大利 ALIFAX 公司); iE Elite 四维心血管彩超仪 (荷兰飞利浦公司)。

1.3 方法

1.3.1 实验室检测: 于 KD 患儿入院当日 (对照组体检当日清晨) 采集静脉血标本 7ml, 分装为 3 管。其中一管 (3ml) 室温下静置 30min, 离心 (室温, 3 000r/min, 半径 10cm) 10min 分离血清上机检测, 当日未完成检测的样本 -80°C 保存。采用 Varioskan LUX 多功能酶标仪运用酶联免疫吸附试验检测血清 ASM, CaN, 白细胞介素 (interleukin, IL)-2, 白细胞介素 (interleukin, IL)-6, 肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)- α 和 C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 水平, AU5800 全自动生化分析仪检测血清清蛋白 (albumins, Alb), 丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 水平。另一管 (2ml) 注入 EDTA 抗凝试管, 不经离心处理, 采用 DxH800 血细胞分析仪检测中性粒细胞比例、白细胞计数 (white blood cell count, WBC)、血小板 (blood platelet count, PLT)、血红蛋白 (hemoglobin, Hb)。第三管 (2ml) 注入含 3.2g/dl 枸橼酸钠试管, Roller 20 MicroTEST1 全自动血沉仪采用魏氏法测定红细胞沉降率。所有试剂盒批内和批间变异系数控制在 5% 以内。飞利浦 iE Elite 四维心血管彩超仪测量左冠状动脉主干和右冠状动脉内径, 测量 3 次, 取平均值, 根据公式计算冠状动脉 Z 值, $Z \text{ 值} = [\ln \text{ 冠状动脉实测值 (cm)} - \beta_1 - \beta_2 \times \ln \text{ 体表面积 (m}^2\text{)}] /$

均方误差值, β_1 , β_2 为冠状动脉的系数^[7]。彩超由我院超声医学科 2 名 10 年以上工作经验的超声医师操作完成。

1.3.2 临床治疗: KD 患儿入组后均给口服阿司匹林肠溶片 (Bayer Vital GmbH, 规格 100mg/片, 批准文号 H20130339) 30 ~ 50mg/kg/d, 单次静脉滴注人免疫球蛋白 (pH4) [(国药准字 S20023011, 国药集团上海血液制品有限公司, 规格 2.5g(50ml)/瓶] 2g/kg/d 治疗。患儿体温恢复正常 3 天后或病程 14 天后, 阿司匹林肠溶片剂量逐渐减至 3 ~ 5mg/kg/d, 6 ~ 8 周且冠状动脉恢复正常后停用。

1.3.3 IVIG 治疗反应性判定: 初次 IVIG 治疗后仍持续发热 36h 或以上, 或者再度发热归为 IVIG 无反应组 (31 例), 体温恢复正常者归为 IVIG 反应组 (165 例)^[6]。

1.4 统计学分析 SPSS 25.0 进行数据分析。计量资料均符合正态分布, 仅少量有轻微偏态 (Kolmogorov-Smirnov 法检验), 以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用配对或成组 t 检验 (含校正 t 检验)。计数资料以 $[n(\%)]$ 表示采用 χ^2 检验。ASM, CaN 与 IL-2, CRP, IL-6, TNF- α 之间相关性采用 Pearson 检验。多因素 Logistic 回归分析 KD 患儿 IVIG 治疗效果的影响因素。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 KD 组与对照组血清 ASM, CaN 及炎症因子水平比较 见表 1。KD 组患儿血清 ASM, CaN, IL-2, CRP, IL-6 和 TNF- α 水平均高于对照组, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。

表 1 KD 组与对照组血清 ASM, CaN 及炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 项目 | KD 组 ($n=196$) | 对照组 ($n=198$) | t | P |
|----------------------------|---------------------|--------------------|--------|-------|
| ASM (nmol/L) | 3.31 \pm 0.75 | 1.05 \pm 0.31 | 37.763 | 0.000 |
| CaN (ng/ml) | 2.52 \pm 0.62 | 0.86 \pm 0.25 | 33.715 | 0.000 |
| IL-2 (pg/ml) | 3.65 \pm 0.95 | 0.95 \pm 0.23 | 38.197 | 0.000 |
| CRP (mg/L) | 31.15 \pm 5.34 | 1.32 \pm 0.27 | 78.061 | 0.000 |
| IL-6 (pg/ml) | 85.91 \pm 19.75 | 23.15 \pm 6.59 | 41.277 | 0.000 |
| TNF- α (μ g/L) | 5.19 \pm 0.98 | 2.01 \pm 0.34 | 41.914 | 0.000 |

2.2 血清 ASM, CaN 水平与炎症因子的相关性 经 Pearson 相关性分析显示: 血清 ASM, CaN 水平与 IL-2, CRP, IL-6, TNF- α 水平均呈正相关, 差异有统计学意义 ($r_{ASM}=0.482, 0.521, 0.479, 0.396, r_{CaN}=0.342, 0.512, 0.465, 0.485$, 均 $P < 0.05$)。

2.3 IVIG 治疗效果影响因素的单因素分析 见表 2。IVIG 反应组血清 ASM, CaN, CRP, IL-6 水平、发热时间、中性粒细胞比例、白细胞

计数均低于 IVIG 无反应组, 差异有统计学意义 ($t=5.969 \sim 18.252$, 均 $P < 0.05$); 两组年龄、性别、体重、血小板、血红蛋白、红细胞沉降率、清蛋白、丙氨酸氨基转移酶、左冠状动脉主干 Z 值、右冠状动脉冠脉 Z 值、IL-2, TNF- α 比较差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。

表 2 IVIG 治疗效果影响因素的单因素分析

| 项目 | IVIG 治疗效果 | | χ^2/t | P |
|----------------------------|--------------------|--------------------|------------|-------|
| | 反应组 ($n=165$) | 无反应组 ($n=31$) | | |
| 年龄 (岁) | 4.84 \pm 0.41 | 4.90 \pm 0.43 | 0.742 | 0.459 |
| 男 $[n(\%)]$ | 101 (61.21) | 22 (70.97) | 1.063 | 0.303 |
| 体重 (kg) | 18.97 \pm 6.40 | 17.87 \pm 6.43 | 0.048 | 0.962 |
| 发热时间 (天) | 1.27 \pm 0.13 | 3.20 \pm 0.69 | 15.522 | 0.000 |
| 中性粒细胞比例 (%) | 43.26 \pm 10.16 | 63.52 \pm 18.42 | 5.956 | 0.000 |
| 白细胞计数 ($\times 10^9/L$) | 7.83 \pm 2.46 | 15.32 \pm 4.16 | 9.711 | 0.000 |
| 血小板 ($\times 10^9/L$) | 410.12 \pm 62.13 | 409.15 \pm 60.77 | 0.080 | 0.936 |
| 血红蛋白 (g/L) | 88.26 \pm 5.16 | 89.97 \pm 5.43 | 1.679 | 0.095 |
| 红细胞沉降率 (mm/h) | 46.12 \pm 3.26 | 46.02 \pm 3.19 | 0.157 | 0.875 |
| 清蛋白 (g/L) | 27.15 \pm 2.15 | 27.35 \pm 2.41 | 0.466 | 0.642 |
| 丙氨酸氨基转移酶 (U/L) | 46.12 \pm 3.49 | 45.95 \pm 3.27 | 0.251 | 0.802 |
| 左冠状动脉主干 Z 值 | 2.51 \pm 0.37 | 2.48 \pm 0.32 | 0.423 | 0.673 |
| 右冠状动脉冠脉 Z 值 | 2.41 \pm 0.32 | 2.39 \pm 0.36 | 0.313 | 0.755 |
| ASM (nmol/L) | 3.22 \pm 0.55 | 3.81 \pm 0.23 | 9.917 | 0.000 |
| CaN (ng/ml) | 2.45 \pm 0.39 | 2.88 \pm 0.23 | 8.388 | 0.000 |
| IL-2 (pg/ml) | 3.78 \pm 1.06 | 4.12 \pm 1.11 | 1.626 | 0.105 |
| CRP (mg/L) | 20.71 \pm 4.03 | 86.72 \pm 20.06 | 18.252 | 0.000 |
| IL-6 (pg/ml) | 86.65 \pm 13.26 | 97.93 \pm 7.03 | 6.916 | 0.000 |
| TNF- α (μ g/L) | 5.11 \pm 0.94 | 5.39 \pm 1.10 | 1.480 | 0.140 |

2.4 IVIG 治疗效果影响因素的多因素 Logistic 回归分析 回归设计: 建立非条件 Logistic 回归模型, 以本研究 KD 患儿资料为样本, 以 IVIG 治疗效果为因变量, 以前述单因素分析中 $P < 0.10$ 的指标为自变量, 为提高统计效率并使回归结果清晰, 也考虑到阳性样本量较少, 将部分为连续数值的自变量, 按两组总均值进行分段 (分层), 转化成两分类变量。各变量赋值均尽可能咨询专业统计人员, 参考应变量危险方向进行赋值, 见表 3。回归过程采用逐步后退法, 以进行自变量的选择和剔除, 设定 $\alpha_{剔除}=0.10$, $\alpha_{入选}=0.05$ 。回归结果: ASM, CaN, CRP 均是 KD 患儿 IVIG 治疗效果的影响因素 ($P < 0.05$), 见表 4。

3 讨论

川崎病 (KD) 是一种急性发热性全身性血管

炎,其发病机制尚不清楚,一般认为是遗传因素、感染和免疫等多种因素经过复杂相互作用的结果,其主要病理基础为全身脉管系统炎症反应,大量巨噬细胞、淋巴细胞、单核/巨噬细胞浸润,激活免疫球蛋白、炎性因子、基质金属蛋白酶等细胞因子,驱使白细胞、粒细胞迁移浸润于血管炎症部位,引起脉管炎症症状^[8-9]。多数KD患儿病程呈自限性,但随着KD进展,其会导致冠状动脉瘤和血栓栓塞等严重并发症,因此需要早期诊断和控制疾病进展。目前控制炎症反应是治疗KD的关键,IVIG作为治疗KD的一线用药,多数患儿经静脉注射免疫球蛋白(IVIG)治疗后可退热,但仍有10%~20%患儿对IVIG治疗无反应^[10],需要额外的抗炎治疗。IVIG治疗无反应可增加冠状动脉损伤风险,导致青少年时期早发动脉粥样硬化、心肌梗死^[11]。现有研究显示过度炎症反应是IVIG治疗无反应的危险因素^[12]。因此探讨与KD炎症反应相关的生物学指标,有助于评估KD患儿IVIG治疗效果。

表3 赋值设计

| 变 量 | | | 回归哑变量赋值 | |
|-----|----|-----------|---------------------------|-----|
| | | | 1 | 0 |
| 因变量 | Y | IVIG 治疗效果 | 无反应 | 有反应 |
| 自变量 | X1 | CRP | ≥ 40mg/L | 否 |
| | X2 | ASM | ≥ 3.5nmol/L | 否 |
| | X3 | CaN | ≥ 2.65ng/ml | 否 |
| | X4 | 发热时间 | ≥ 2天 | 否 |
| | X5 | 中性粒细胞比例 | ≥ 50% | 否 |
| | X6 | 白细胞计数 | ≥ 10 × 10 ⁹ /L | 否 |
| | X7 | IL-6 | ≥ 92pg/ml | 否 |

表4 IVIG 治疗效果影响因素的多因素 Logistic 回归分析结果

| 类别 | 回归系数 | 标准误差 | Wald 卡方 | P | OR | OR 95% 置信区间 |
|-----|--------|-------|---------|-------|-------|---------------|
| 常数 | -0.076 | 0.034 | 4.949 | 0.026 | - | - |
| CRP | 0.623 | 0.162 | 14.855 | 0.000 | 1.865 | 1.358 ~ 2.561 |
| ASM | 0.329 | 0.093 | 12.479 | 0.000 | 1.390 | 1.158 ~ 1.669 |
| CaN | 0.559 | 0.134 | 17.528 | 0.000 | 1.749 | 1.346 ~ 2.272 |

酸性鞘磷脂酶(ASM)是鞘脂类代谢的关键酶,位于染色体11p15.1-11p15.4,通过水解鞘磷脂生成神经酰胺、神经鞘氨醇等活性脂类,调节膜结构和信号转导^[13]。ASM/神经酰胺信号通路具有介导炎症反应和细胞凋亡的作用,在动脉粥样硬化、心力衰竭等心血管疾病发病过程中扮演重要角色^[14]。现有研究显示ASM/神经酰胺信号通路活化可抑制内

皮型一氧化氮合酶磷酸化,增加血管环超氧阴离子含量,进而导致动脉内皮功能障碍^[15]。ASM还可调节辅助性T淋巴细胞2(helper T lymphocyte 2, Th2)细胞因子释放,ASM激活可引起Th2细胞分化,Th2细胞因子白细胞介素-5释放,加重局部炎症反应^[16]。本研究发现KD患儿血清ASM水平明显高于对照组,IVIG反应组血清ASM水平明显低于IVIG无反应组,多因素Logistic回归分析结果显示ASM是KD患儿IVIG治疗效果的影响因素之一,以上结果共同说明血清ASM水平升高与KD发病以及IVIG治疗效果有关。分析原因为:KD脉管炎症反应可刺激ASM激活和易位,导致神经酰胺释放,ASM/神经酰胺信号通路激活后进一步调节细胞因子释放,放大炎症反应,并促使细胞凋亡^[17],加速KD病情进展,导致IVIG治疗无反应。本研究相关性分析结果也显示血清ASM水平与IL-2,CRP,IL-6,TNF-α均呈正相关,说明ASM可能通过诱导或加重炎症反应,导致KD患儿对IVIG治疗无反应。

钙调神经磷酸酶(CaN)是一种Ca²⁺/钙调蛋白依赖性丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶,在心肌细胞、神经细胞、骨骼肌细胞、淋巴细胞等不同类型细胞中广泛表达,参与细胞增殖分化、突触传递和神经递质释放,T细胞活化、线粒体功能障碍、炎症反应和蛋白质糖基化等病理生理过程^[18-19]。现有研究发现细胞内Ca²⁺信号传导通路异常是KD易感的主要因素,游离胞质Ca²⁺的浓度增加可导致T细胞中CaN过度活跃,继而激活T细胞,导致单核细胞/巨噬细胞过度分泌白细胞介素-1β和TNF-α,诱导脉管炎症反应,该炎症反应进一步诱导尾加压素-2信号传导,加速血管内皮细胞凋亡^[20]。本研究发现KD患儿血清CaN水平明显升高,且CaN是IVIG治疗效果的影响因素。分析可能的机制为:在应激刺激下细胞内Ca²⁺浓度升高,T细胞中CaN被激活,激活的CaN使活化T细胞核因子(nuclear factor of active T cells, NFAT)去磷酸化,调节NFAT靶基因转录,介导黏附分子和促炎细胞因子表达^[21],进而促使炎症细胞浸润,加剧血管炎性损伤,导致IVIG治疗无反应。另外,CaN亚基B与线粒体结合可增加细胞中Ca²⁺浓度和CaN活性,促使半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3和TNF-α表达,介导炎症反应^[22],影响IVIG治疗效果。本研究相关性分析结果也显示CaN与KD患儿血清炎症因子有关,说明CaN可能通过介导脉管炎症反应导致IVIG治疗无反应的发生。本研究Logistic回归分析结果显示CRP与IVIG治疗无反应存在密切关系,亦佐证了炎症反应与IVIG治疗无反应的

关系。

综上, KD 患儿血清 ASM, CaN 水平均升高, 且 ASM, CaN 与 IVIG 治疗效果有关。ASM, CaN 可能通过诱导炎症反应参与 IVIG 治疗无反应的发生。临床可通过检测血清 ASM, CaN 水平变化, 辅助判断 KD 患儿 IVIG 治疗反应性, 及时调整治疗策略, 改善患儿预后。本研究局限性在于未分析 ASM, CaN 与 KD 患儿冠状动脉损伤之间的关系, 望在以后研究中进行分析。

参考文献:

- [1] SUN Yameng, LIU Jingjing, GENG Zhimin, et al. The elevated serum levels of calcineurin and nuclear factor of activated T-cells 1 in children with Kawasaki disease[J]. Pediatric Rheumatology Online Journal, 2020, 18(1): 23.
- [2] 林瑶, 李晓惠, 石琳, 等. 2017 年版《川崎病的诊断、治疗及远期管理 - 美国心脏协会对医疗专业人员的科学声明》解读 [J]. 中国实用儿科杂志, 2017, 32(9):641-648.
LIN Yao, LI Xiaohui, SHI Lin, et al. Interpretation of the 2017 edition of *diagnosis, treatment, and long-term management of Kawasaki disease: A scientific statement for health professionals from the American Heart Association*[J]. Chinese Journal of Practical Pediatrics, 2017,32(9):641-648.
- [3] 蔡琰璇, 麦隽, 翁陈华, 等. 静脉注射免疫球蛋白无反应型川崎病的临床特征 [J]. 广东医学, 2008, 29(3):491-493.
CAI Lixuan, MAI Jun, WENG Chenhua, et al. Clinical features of Kawasaki disease unresponsive to intravenous immunoglobulin[J]. Guangdong Medical Journal, 2008, 29(3):491-493.
- [4] 王娟, 马飞艳, 樊萍. 血清 ASM 与 GPx 水平检测与类风湿性关节炎膝关节病变的相关性研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(4):61-64.
WANG Juan, MA Feiyan, FAN Ping. Study on the relationship between serum levels of ASM and GPx, and Rheumatoid Arthritis [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020,35(4):61-64.
- [5] MURATA K, MOTOMURA Y, TANAKA T, et al. Calcineurin inhibitors exacerbate coronary arteritis via the MyD88 signalling pathway in a murine model of Kawasaki disease[J]. Clinical and Experimental Immunology, 2017, 190(1): 54-67.
- [6] MCCRINDLE B W, ROWLEY A H, NEWBURGER J W, et al. Diagnosis, treatment, and Long-Term management of Kawasaki disease: A scientific statement for health professionals from the American Heart Association[J]. Circulation, 2017, 135(17): e927-e999.
- [7] OLIVIERI L, ARLING B, FRIBERG M, et al. Coronary artery Z score regression equations and calculators derived from a large heterogeneous population of children undergoing echocardiography[J]. Journal of the American Society of Echocardiography, 2009, 22(2): 159-164.
- [8] AGARWAL S, AGRAWAL D K. Kawasaki disease: etiopathogenesis and novel treatment strategies[J]. Expert Review of Clinical Immunology, 2017, 13(3): 247-258.
- [9] RIFE E, GEDALIA A. Kawasaki disease: an update[J]. Current Rheumatology Reports, 2020, 22(10): 75.
- [10] 胡秀芬, 温宇. 丙种球蛋白无反应型川崎病的发病机制及治疗进展 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2017, 32(21):1612-1616.
HU Xiufen, WEN Yu. Pathogenesis and treatment of intravenous immunoglobulin-resistant Kawasaki disease [J]. Chinese Journal of Applied Clinical Pediatrics, 2017,32(21):1612-1616.
- [11] 张芝艳, 朱洁, 钮建宏, 等. 川崎病患者对静注丙种球蛋白无反应的影响因素及冠状动脉损伤程度 [J]. 山东医药, 2014, 54(41):65-66.
ZHANG Zhiyan, ZHU Jie, NIU Jianhong, et al. Factors influencing nonresponse to intravenous injection of gamma globulin and severity of coronary artery injury in Kawasaki disease patients[J]. Shandong Medical Journal, 2014, 54(41):65-66.
- [12] 王颖, 袁越, 高路, 等. 静脉注射免疫球蛋白无反应川崎病的危险因素分析 [J]. 北京医学, 2020, 42(11):1062-1065.
WANG Ying, YUAN Yue, GAO Lu, et al. Risk factors of non-response to intravenous immunoglobulin in Kawasaki disease [J]. Beijing Medical Journal, 2020, 42(11):1062-1065.
- [13] SIMONIS A, SCHUBERT-UNKMEIR A. The role of acid sphingomyelinase and modulation of sphingolipid metabolism in bacterial infection[J]. Biological Chemistry, 2018, 399(10): 1135-1146.
- [14] 潘玮, 石瑞正, 张国刚. 酸性鞘磷脂酶和心血管疾病的研究进展 [J]. 中国心血管杂志, 2011, 16(3):233-234.
PAN Wei, SHI Ruizheng, ZHANG Guogang. Research progress of acid sphingomyelinase and cardiovascular diseases[J]. Chinese Journal of Cardiovascular Medicine, 2011,16(3):233-234.
- [15] 苏玉婷, 孟星星, 程耀萍, 等. 血管紧张素 II 经酸性鞘磷脂酶 / 神经酰胺通路致动脉内皮功能障碍的作用 [J]. 心脏杂志, 2017, 29(1): 34-39.
SU Yuting, MENG Xinxin, CHENG Yaoping, et al. Acid sphingomyelinase/ceramide mediates arterial angiotensin II -induced endothelial dysfunction [J]. Chinese Heart Journal, 2017, 29(1):34-39.
- [16] BÖLL S, ZIEMANN S, OHL K, et al. Acid sphingomyelinase regulates T(H) 2 cytokine release and bronchial asthma[J]. Allergy, 2020, 75(3): 603-615.
- [17] LI Cao, WANG Anni, WU Yuqing, et al. Acid Sphingomyelinase-Ceramide system in bacterial infections[J]. Cellular Physiology and Biochemistry, 2019, 52(2): 280-301.
- [18] TARASOVA E O, GAYDUKOV A E, BALEZINA O

- P. Calcineurin and its role in synaptic transmission[J]. Biochemistry Biokhimiia, 2018, 83(6): 674-689.
- [19] ZHANG Yu, LIU Rongbei, CAO Qian, et al. USP16-mediated deubiquitination of calcineurin A controls peripheral T cell maintenance[J]. The Journal of Clinical Investigation, 2019, 129(7): 2856-2871.
- [20] BIJNENS J, MISSIAEN L, BULTYNCK G, et al. A critical appraisal of the role of intracellular Ca^{2+} -signaling pathways in Kawasaki disease[J]. Cell Calcium, 2018, 71: 95-103.
- [21] LI Min, FANG Xiangzhi, LIU Xiaotian, et al. Inhibition of calcineurin/NFATc4 signaling attenuates ventilator-induced lung injury[J]. Molecular Medicine Reports, 2020, 21(2): 607-614.
- [22] CHENG Jinbo, TANG Wei, SU Zhenyi, et al. Calcineurin subunit B promotes TNF- α -induced apoptosis by binding to mitochondria and causing mitochondrial Ca^{2+} overload[J]. Cancer Letters, 2012, 321(2): 169-178.
- 收稿日期: 2021-08-05
修回日期: 2022-05-31

(上接第170页)

- SHEN Chenyang, LI Weihao. Interpretation and consideration of *the society for vascular surgery practice guidelines for atherosclerotic occlusive disease of the lower extremities management of asymptomatic disease and claudication* [J]. Chinese Journal of Surgery, 2016, 54(2):81-83.
- [9] BAI Junqing, WANG Fule, WANG Xuguang, et al. Expression and clinical significance of HSP27 and its phosphorylation in lower extremity arteriosclerosis obliterans[J]. Peer J, 2020, 8(3): e9305.
- [10] HU Xiaorong, CAI Xinyong, MA Ruisong, et al. Iron-load exacerbates the severity of atherosclerosis via inducing inflammation and enhancing the glycolysis in macrophages[J]. Journal of Cellular Physiology, 2019, 234(10): 18792-18800.
- [11] 武雪亮, 屈明, 薛军, 等. 下肢动脉硬化闭塞症患者腔内治疗术后支架内再狭窄的原因和治疗进展 [J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2018, 17(8):626-630.
- WU Xueliang, QU Ming, XUE Jun, et al. Causes of in-stent restenosis following endovascular treatment in patients with lower extremity atherosclerotic occlusive disease and research progress in its treatment [J]. Chinese Journal of Multiple Organ Diseases in the Elderly, 2018, 17(8):626-630.
- [12] NORDLOHNE J, HELMKE A, GE Shuwang, et al. Aggravated atherosclerosis and vascular inflammation with reduced kidney function depend on interleukin-17 receptor α and are normalized by inhibition of interleukin-17A[J]. JACC Basic to Translational Science, 2018, 3(1): 54-66.
- [13] 王露, 白桦, 韩梅, 等. 2型糖尿病患者血清脂肪细胞型脂肪酸结合蛋白、白细胞介素-17水平及其与下肢动脉粥样硬化病变的关系 [J]. 中国医药导报, 2019, 16(8):116-119, 135.
- WANG Lu, BAI Hua, HAN Mei, et al. Serum adipocyte-type fatty acid binding protein and interleukin-17 levels in patients with type 2 diabetes mellitus and their relationship with lower limb atherosclerosis[J]. China Medical Herald, 2019, 16(8):116-119, 135.
- [14] LEE J, HA S J, PARK J, et al. Arctium lappa root extract containing L-arginine prevents TNF- α -induced early atherosclerosis in vitro and in vivo[J]. Nutrition Research (New York, N.Y.), 2020, 77(1): 85-96.
- [15] TONG Litao, JU Zhiyuan, WANG Lili, et al. Peptides derived from rice α -globulin reduce atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice by inhibiting TNF- α -induced vascular endothelial cells injury[J]. Journal of Functional Foods, 2019, 63(1): 103582.
- [16] 罗姝, 刘世平, 龚君佐, 等. HGF及血清炎症因子的变化与CAS严重程度的相关性分析 [J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(11):4878-4883.
- LUO Shu, LIU Shiping, GONG Junzuo, et al. Correlation of changes in HGF and serum inflammatory factors with the severity of carotid atherosclerosis [J]. Genomics and Applied Biology, 2018, 37(11):4878-4883.
- [17] 黄珊, 杨洋, 孟庆雯, 等. IL-23/IL-17炎症轴与冠心病及动脉粥样硬化的关系 [J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(8):1800-1803.
- HUANG Shan, YANG Yang, MENG Qingwen, et al. Relationship between IL-23 / IL-17 inflammatory axis and coronary heart disease and atherosclerosis[J]. Chinese Journal of Gerontology, 2019, 39(8):1800-1803.
- [18] 严晓华, 白涛敏, 马娟, 等. 儿童川崎病患者血浆和肽素、IL-17A、TNF- α 检测与冠脉病变的相关性研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(6): 50-52.
- YAN Xiaohua, BAI Taomin, MA Juan, et al. Study on the relationship between peptides and interleukin-17A, tumor necrosis factor α in children kawasaki coronary artery disease [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32(6):50-52.
- [19] 韩玉明. 阿孜古丽·阿布都热合曼. 血清 TNF- α , IL-1 β , IL-17水平与类风湿关节炎患者并发动脉粥样硬化关系研究 [J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(3): 371-373.
- HAN Yuming, AZIGULI·Abudurehman. Serum TNF- α , IL-1 β , relationship between IL-17 level and atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2018, 39(3):371-373.
- 收稿日期: 2021-07-28
修回日期: 2022-03-25