

外周血 EETs 水平与咳嗽变异性哮喘患儿 Th1 和 Th2 及其细胞因子、小气道功能的相关性分析

蒋萍影, 唐国英

(重庆市开州区人民医院儿科, 重庆 405400)

[摘要]目的 探讨外周血嗜酸性粒细胞胞外诱捕网(EETs)水平与咳嗽变异性哮喘(CVA)患儿的辅助性 T 淋巴细胞(Th)1 和 Th2 及其细胞因子、小气道功能的相关性。**方法** 选取 2019 年 10 月至 2022 年 10 月重庆市开州区人民医院收治的 95 例 CVA 患儿为 CVA 组,选取同期于该院儿科保健门诊体检的 67 例健康儿童为对照组。检测外周血中形成 EETs 的嗜酸性粒细胞(EOS)百分比、Th1 和 Th2 细胞占比、Th1/Th2 比值、血清 Th1 和 Th2 细胞因子[白细胞介素(IL)-2、IL-4、IL-6、干扰素(IFN)- γ]水平及小气道功能[25%、50%、75%肺活量的最大呼气量(FEF25%、FEF50%、FEF75%) and 最大中期呼气流速(FEF25%~FEF75%)]。分析外周血形成 EETs 的 EOS 百分比与 Th1 和 Th2 及其细胞因子、小气道功能的相关性,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析外周血形成 EETs 的 EOS 百分比诊断 CVA 的价值。**结果** CVA 组外周血形成 EETs 的 EOS 百分比明显高于对照组[(20.35 $\pm$ 6.09)% vs. (6.32 $\pm$ 1.28)%, $t=18.554$, $P<0.05$]。CVA 组 Th2 细胞占比、血清 IL-4 水平、血清 IL-6 水平均明显高于对照组(t 值分别为 31.012、13.649、17.644, $P<0.05$); Th1 细胞占比、Th1/Th2 比值、血清 IL-2 水平、血清 IFN- γ 水平,以及 FEF25%、FEF50%、FEF75%、FEF25%~FEF75%均明显低于对照组(t 值分别为 18.833、43.188、11.652、13.788、16.390、33.090、42.565、39.767, $P<0.05$)。CVA 组外周血形成 EETs 的 EOS 百分比与 Th2 细胞占比、血清 IL-4 水平、血清 IL-6 水平均呈正相关(r 值分别为 0.532、0.421、0.395, $P<0.05$),与 Th1 细胞占比、Th1/Th2 比值、血清 IL-2 水平、血清 IFN- γ 水平、FEF25%、FEF50%、FEF75%、FEF25%~FEF75%均呈负相关(r 值分别为 -0.253、-0.605、-0.321、-0.385、-0.421、-0.377、-0.485、-0.568, $P<0.05$)。ROC 曲线分析显示,外周血形成 EETs 的 EOS 百分比诊断 CVA 的曲线下面积(AUC)为 0.760(95%CI: 0.687~0.824),灵敏度为 78.95%,特异度为 77.61%。**结论** 外周血形成 EETs 的 EOS 百分比增高与 CVA 患儿 Th1/Th2 比值失衡、Th2 细胞因子过度释放及小气道损伤有关,其有望作为 CVA 的潜在标志物。

[关键词]咳嗽变异性哮喘;嗜酸性粒细胞胞外诱捕网;辅助性 T 淋巴细胞 2;小气道功能

Doi:10.3969/j.issn.1673-5293.2024.02.006

[中图分类号]R179 **[文献标识码]**A **[文章编号]**1673-5293(2024)02-0038-06

Correlation analysis of peripheral blood eosinophil extracellular traps with Th1/Th2, cytokines and small airway function in children with cough variant asthma

JIANG Pingying, TANG Guoying

(Department of Pediatrics, Kaizhou District People's Hospital of Chongqing Municipality, Chongqing 405400, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the correlation between peripheral blood eosinophil extracellular traps (EETs) levels and peripheral blood T helper (Th) lymphocytes 1 and Th2, as well as their cytokines and small airway function in children with cough variant asthma (CVA). **Methods** 95 children with CVA admitted to Kaizhou District People's Hospital of Chongqing from October 2019 to October 2022 were selected as the CVA group, and 67 healthy children who underwent physical examination at the department of pediatrics during the same period were selected as the control group. Peripheral blood eosinophil (EOS) percentage forming EETs, Th1 and Th2 cell proportions, Th1/Th2 ratio, serum Th1 and Th2 cytokines [interleukin (IL)-2, IL-4, IL-6, interferon- γ (IFN- γ)] and small airway function [25%, 50% and 75% lung maximum expiratory volume (FEF25%, FEF50%, FEF75%) and maximum mid-expiratory flow rate (FEF25%-75%)] were detected. The correlations between peripheral blood EOS percentage forming EETs and Th1 and Th2, Th1 and Th2 cytokines and small airway function were analyzed. Receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the value of peripheral blood EOS percentage forming EETs in diagnosing CVA. **Results** The percentage of EOS forming EETs in peripheral blood of CVA group was significantly higher than that of control group [(20.35 $\pm$ 6.09)% vs. (6.32 $\pm$ 1.28)%, $t=18.554$, $P<0.05$]. The proportion of Th2 cells in peripheral blood, serum IL-4 and IL-6

[收稿日期]2023-01-27

[作者简介]蒋萍影(1992—),女,主治医师,主要从事儿科感染性疾病的研究。

[通讯作者]唐国英,副主任医师。

levels in CVA group were significantly higher than those in control group ($t=31.012, 13.649$ and $17.644, P<0.05$), while the proportion of Th1 cells, Th1/Th2 ratio, serum IL-2 and IFN- γ levels, FEF25%, FEF50%, FEF75% and FEF25%-75% in CVA group were significantly lower than those in control group ($t=18.833, 43.188, 11.652, 13.788, 16.390, 33.090, 42.565$ and 39.767 , respectively, $P<0.05$). The percentage of EOS forming EETs in peripheral blood of CVA group was positively correlated with the proportion of Th2 cells, serum IL-4 and IL-6 levels ($r=0.532, 0.421$ and 0.395 , respectively, $P<0.05$), were negatively correlated with the proportion of Th1 cells, Th1/Th2 ratio, serum IL-2 and IFN- γ levels, FEF25%, FEF 50%, FEF75% and FEF25%-75% ($r=-0.253, -0.605, -0.321, -0.385, -0.421, -0.377, -0.485$ and -0.568 , respectively, $P<0.05$). The area under the curve (AUC) of EETs in peripheral blood was 0.760 (95%CI: $0.687-0.824$), the sensitivity was 78.95% , and the specificity was 77.61% .

Conclusion The increased percentage of EOS forming EETs in peripheral blood is related to Th1/Th2 imbalance, excessive release of Th2 cytokines and small airway injury in children with CVA, and it is expected to serve as a potential marker for CVA.

[Key words] cough variant asthma; eosinophil extracellular traps; T helper lymphocytes 2; small airway function

小儿咳嗽变异性哮喘(cough variant asthma, CVA)是一种特殊类型的哮喘,以咳嗽为唯一或主要临床表现,对支气管扩张剂治疗有反应,具有气道高反应、嗜酸性粒细胞炎症和气道重塑等经典哮喘特征,CVA 患儿往往反复咳嗽发作,部分患儿最终进展为典型哮喘^[1]。嗜酸性粒细胞(eosinophil, EOS)参与感染诱导的免疫应答,参与免疫球蛋白 E(immunoglobulin E, IgE)介导的 I 型超敏反应过程, EOS 气道炎症可增加 CVA 小气道功能障碍^[2]。嗜酸性粒细胞胞外诱捕网(eosinophil extracellular traps, EETs)是 EOS 以弹射器形式释放的线粒体、细胞核内 DNA、组蛋白及游离颗粒组成的网状结构,具有免疫调节和促炎作用,可促进气道高分泌和炎症反应,在哮喘、变应性支气管肺曲霉病、慢性阻塞性肺疾病等呼吸系统疾病中发挥重要作用^[3]。EETs 与 CVA 相关性的报道十分少见,其临床意义尚不清楚。本研究拟探讨 EETs 与 CVA 的免疫功能、炎症因子及小气道功能的关系,以期为临床 CVA 的诊治提供参考依据。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

选取 2019 年 10 月至 2022 年 10 月重庆市开州区人民医院收治的 95 例 CVA 患儿为 CVA 组,其中男 51 例(53.68%),女 44 例(46.32%);年龄为 5~12 岁,平均(9.12 ± 2.09)岁。

纳入标准:①符合《咳嗽的诊断与治疗指南(2015)》^[4];②近期无呼吸道感染史及激素、免疫抑制剂应用史;③年龄在 5 岁以上,能配合小气道功能检测;④患儿家属或监护人均知情同意,并签署同意

书。排除标准:①合并支气管炎、支气管扩张、肺癌、囊性纤维化或肺炎等其它肺部疾病;②合并上气道咳嗽综合征、嗜酸性支气管炎和胃食管反流相关咳嗽;③合并心、肝、肾等重要器官功能障碍;④合并恶性肿瘤。

另选取同期于本院儿科保健门诊体检的 67 例健康儿童为对照组,均排除近 2 周内感染、免疫缺陷及系统性疾病,其中男 39 例(58.21%),女 28 例(41.79%);年龄为 5~12 岁,平均(9.37 ± 2.21)岁。

CVA 组与对照组的性别、年龄比较差异均无统计学意义($\chi^2=0.732, t=0.326, P>0.05$)。

本研究已经获得重庆市开州区人民医院医学伦理委员会批准(编号:2019Z210)。

1.2 方法

1.2.1 CVA 的诊断标准

①刺激性干咳,清晨或夜间发作;②支气管激发试验(bronchial provocation test, BPT)阳性或最大呼气峰流速(peak expiratory flow, PEF)平均变异率 $>10\%$ 或支气管舒张试验阳性;③抗哮喘治疗有效^[4]。

1.2.2 EETs 的检测

所有 CVA 患儿入组后(对照组于门诊当日),均于次日晨采集外周静脉血 5mL,注入含柠檬酸-葡萄糖溶液的 Vacutainer® 真空采血管(美国 BD 公司)中,以密度梯度离心法(挪威 Axis-Shield 公司生产的 Lymphoprep™ 密度梯度离心液, 20°C , $879\times\text{g}$ 离心 25min)分离外周血单个核细胞,再采用 EOS 分离试剂盒和免疫磁珠细胞分选(magnetic activated cell sorting, MACS)(美国 Miltenyi Biotec 公司),从中分

离 EOS。取外周血 EOS(1×10^6) 样本, 将 EOS 维持 在无血清 RPMI-1640 培养基(美国 Thermo Fisher Scientific)中, 用 1mg 地塞米松(美国 Sigma-Aldrich 公司)、10mg 羟氯喹(美国 Sigma-Aldrich 公司)或 $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的 n -乙酰-1-半胱氨酸(美国 Sigma-Aldrich 公司)预处理 15min。采用 $25 \text{ ng}/\text{mL}$ 的人重组白细胞介素(interleukin, IL)-5(美国 Sigma-Aldrich 公司)引发 20min, 并用 $0.3 \mu\text{g}/\text{mL}$ 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)(美国 Sigma-Aldrich 公司)刺激 3h, 以诱导 EET。使用 Quant-iT™ PicoGreen® dsDNA 试剂盒(美国 Invitrogen 公司)测量 DNA 浓度, 以 QuantiPro BCA Assay Ki(美国 Sigma-Aldrich 公司)评估蛋白质浓度, 以 4', 6-二脒基-2-苯基吲哚和抗促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)抗体(美国 Cell Signaling 公司)对细胞进行染色, 用 Zeiss LSM710 共聚焦显微镜(德国 Carl Zeiss AG 公司)观察形成 EETs 的 EOS, 计算形成 EETs 的 EOS 百分比, 并以 % 表示。

1.2.3 辅助性 T 淋巴细胞 1 和辅助性 T 淋巴细胞 2 的检测

所有 CVA 患儿入组后(对照组于门诊当日), 均于次日晨采集外周静脉血 2mL, 以 Ficoll 密度梯度离心法分离外周血单个核细胞, 磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)洗涤 2 次, 将细胞悬浮在 RPMI 1640 培养基(美国 Sigma-Aldrich)中, 37°C 孵育 4h, 加入 $50 \mu\text{L}$ 乙二胺四乙酸涡旋, 室温下孵育 15min, 加入 5mL FACS Permeabilizing Solution(美国 BD Biosciences), 去离子水以 1:10 比例稀释, 涡旋并孵育 10min, $250 \times g$ 离心 10min, 加入 7mL Cell Wash 洗涤弃上清, 再次洗涤弃上清, 平均注入 2 个流式管中, 分别加入 $20 \mu\text{L}$ 干扰素(interferon, IFN)- γ PE(美国 Biolegend)、 $5 \mu\text{L}$ IL-10 PE-Cy7(美国 Biolegend), 4°C 避光孵育 30min, PermWash 缓冲液重复洗涤 2 次, 加入 $450 \mu\text{L}$ 的 PBS 重悬细胞, 用 Attune NxT 流式细胞仪(美国赛默飞公司)检测辅助性 T 淋巴细胞(Th)1 和 Th2 细胞百分比, 计算 Th1/Th2 比值。

1.2.4 Th1 和 Th2 细胞因子的检测

所有 CVA 患儿入组后(对照组于门诊当日), 均于次日晨采集外周静脉血 2mL, 注入干燥试管, 待血

液自然凝固后取上层液离心(37°C , $650 \times g$ 离心 5min)分离血清, 采用 WX-SY96A 酶标仪(山东万象环境科技有限公司), 应用酶联免疫吸附试验检测 Th1(血清 IL-2、IFN- γ)和 Th2(血清 IL-4、IL-6)细胞因子水平, 试剂盒购自上海酶联生物公司。

1.2.5 小气道功能的评估

所有 CVA 患儿入组后(对照组于门诊当日), 采用 FGY-200 便携式肺功能检测仪(济南泰医生物技术有限公司)测定小气道功能, 检测过程中指导患儿用力吸气后尽力呼出最大量气体, 记录 25%、50%、75% 肺活量的最大呼气量(FEF25%、FEF50%、FEF75%), 以及最大中期呼气流速(FEF25%~FEF75%), 测量 3 次, 取平均值。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 25.00 统计学软件对数据进行分析, 采用 Kolmogorov-Smirnov 法检验符合正态分布的计量资料, 以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 采用成组设计的 t 检验; 计数资料以例数(百分率)[$n(\%)$]表示, 采用 χ^2 检验; 采用 Pearson 分析外周血形成 EETs 的 EOS 百分比与 Th1/Th2 比值及其细胞因子, FEF25%、FEF50%、FEF75%, FEF25%~FEF75% 之间的相关性; 用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析外周血形成 EETs 的 EOS 百分比诊断 CVA 的价值, 检验水准为 $\alpha = 0.05$, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组外周血形成 EETs 的 EOS 百分比水平比较

CVA 组外周血形成 EETs 的 EOS 百分比为 $(20.35 \pm 6.09)\%$, 对照组为 $(6.32 \pm 1.28)\%$, CVA 组外周血形成 EETs 的 EOS 百分比明显高于对照组, 经比较差异有统计学意义($t = 18.554$, $P < 0.05$)。

2.2 两组 Th1 和 Th2 细胞占比及比值比较

CVA 组 Th2 细胞占比明显高于对照组($P < 0.05$), Th1 细胞占比、Th1/Th2 比值均明显低于对照组, 经比较差异均有统计学意义($P < 0.05$), 见表 1。

2.3 两组 Th1 和 Th2 细胞因子水平比较

CVA 组血清 IL-4、IL-6 水平均明显高于对照组, 血清 IL-2、IFN- γ 水平均明显低于对照组, 经比较差异均有统计学意义($P < 0.05$), 见表 2。

表 1 两组 Th1、Th2 细胞占比及 Th1/Th2 比值的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of the proportion of Th1 and Th2 cells and Th1/Th2 ratio between the two groups ($\bar{x} \pm s$)				
组别	例数(n)	Th1(%)	Th2(%)	Th1/Th2
CVA 组	95	6.47±1.41	4.09±0.65	1.58±0.33
对照组	67	12.43±2.59	1.48±0.27	8.40±1.49
<i>t</i>		18.833	31.012	43.188
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

表 2 两组 Th1 和 Th2 细胞因子水平的比较 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of Th1 and Th2 cytokine levels between the two groups (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)					
组别	例数(n)	IL-2	IL-4	IL-6	IFN- γ
CVA 组	95	23.58 $\pm$ 3.12	42.77 $\pm$ 9.12	50.48 $\pm$ 10.53	24.19 $\pm$ 3.35
对照组	67	31.09 $\pm$ 5.07	25.19 $\pm$ 6.29	25.09 $\pm$ 6.27	32.27 $\pm$ 4.09
<i>t</i>		11.652	13.649	17.644	13.788
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 两组小气道功能比较

CVA 组 FEF25%、FEF50%、FEF75%，以及

FEF25%~FEF75%均明显低于对照组，经比较差异均有统计学意义($P<0.05$)，见表 3。

表 3 两组小气道功能各指标的比较 (L/s, $\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of indicators of small airway function between the two groups (L/s, $\bar{x} \pm s$)					
组别	例数(n)	FEF25%	FEF50%	FEF75%	FEF25%~FEF75%
CVA 组	95	65.05±6.79	45.32±5.08	29.35±4.17	31.02±5.71
对照组	67	90.42±12.75	90.42±11.84	71.52±8.29	78.45±9.43
<i>t</i>		16.390	33.090	42.565	39.767
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.5 外周血形成 EETs 的 EOS 百分比与 Th1 和 Th2 及其细胞因子和小气道功能的相关性分析

CVA 组外周血形成 EETs 的 EOS 百分比与 Th2 细胞占比及血清 IL-4 水平和血清 IL-6 水平均呈正相关(r 值分别为 0.532、0.421、0.395, $P<0.05$)，与 Th1 细胞占比、Th1/Th2 比值、血清 IL-2 水平、血清 IFN-γ 水平、FEF25%、FEF50%、FEF75%、FEF25%~FEF75% 均呈负相关(r 值分别为 -0.253、-0.605、-0.321、-0.385、-0.421、-0.377、-0.485、-0.568, $P<0.05$)。

2.6 外周血形成 EETs 的 EOS 百分比诊断 CVA 的价值分析

经 ROC 分析结果显示，外周血形成 EETs 的 EOS 百分比诊断 CVA 的临界值为 15.42%，曲线下面积(area under the curve,AUC)为 0.760(95%CI: 0.687~0.824)，灵敏度为 78.95%(75/95)，特异度为

77.61%(52/67)，约登指数为 0.566，见图 1。

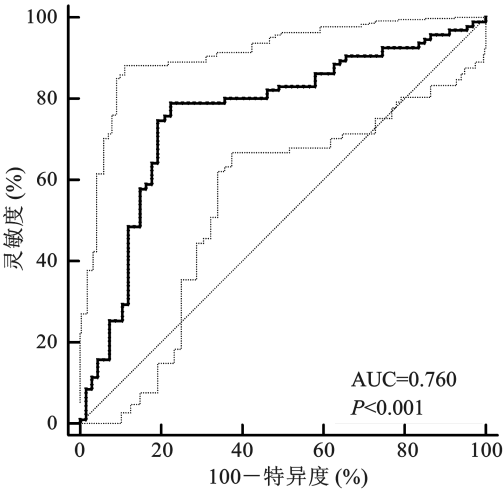


图 1 外周血形成 EETs 的 EOS 百分比诊断 CVA 的 ROC 曲线

Fig.1 ROC curve of the EOS percentage of peripheral blood forming EETs for diagnosis of CVA

3 讨论

3.1 EETs 与 CVA 发病有关

CVA 是导致慢性咳嗽的最主要原因,好发于学龄前期和学龄期儿童,由于缺乏典型的喘息、气促等哮喘症状或体征,临床上难以与支气管炎或呼吸道感染鉴别,该病主要临床表现为阵发性夜间咳嗽,不伴喘鸣,通过激素治疗可缓解咳嗽症状^[5-6]。EOS 来自骨髓造血干细胞,含有大量细胞内颗粒,这些颗粒可活化中性粒细胞和肥大细胞,增强 Th2 免疫应答,在气道高反应性和组织重塑中起重要作用^[7]。已知 EOS 可通过胞吐、脱颗粒、细胞溶解方式释放次级颗粒。近年来研究发现,除上述方式外,EOS 还可以弹出载有特定 EOS 颗粒蛋白的线粒体 DNA,或释放富含染色质的细胞外诱捕网,这一过程称为 EOS 诱捕网的形成(eosinophil extracellular trap cell death, EETosis),这一网状结构被称为 EETs^[8]。EETs 是一种 DNA 纤维和细胞毒性颗粒蛋白组成的复杂网状结构,内包含分泌性嗜酸性粒细胞颗粒,在 EOS 死亡后可继续提供免疫调节、促炎和其他免疫致病刺激,DNA 纤维则可吞噬体型较大寄生虫,增加气道分泌物黏性,DNA 骨架上聚集大量分泌型颗粒,不易被巨噬细胞清除,EETs 外层包裹组蛋白分子,不易被内源性蛋白酶消化,可稳定存活 7d^[9]。自 2008 年 Yousefi 等^[10]首次发现克罗恩病患者肠黏膜中存在 EETs 以来,已有多数研究证实 EETs 与哮喘^[11]、变应性支气管肺曲霉病^[12]、慢性阻塞性肺疾病^[13]等多种慢性气道疾病也存在密切相关。本研究发现,CVA 组患儿外周血形成 EETs 的 EOS 百分比明显高于对照组,说明 EETs 可能也参与了 CVA 的发病过程。

3.2 EETs 与 CVA 患儿 Th1/Th2 比值失衡有关

本研究显示,外周血形成 EETs 的 EOS 百分比与 Th2 细胞占比及血清 IL-4、IL-6 水平均呈正相关,与 Th1 细胞占比、Th1/Th2 比值、IL-2、IFN- γ 均呈负相关,表明外周血 EETs 的形成与 CVA 患儿 Th1/Th2 比值失衡、Th2 过度活化介导的炎症反应有关。免疫失调与炎症反应是 CVA 发病的主要基础,Th 反应失衡,使以 Th2 为主的免疫反应介导的细胞因子分泌增多,启动了免疫级联激活反应,导致 IgE 产生的增加,促进了 EOS 生长分化,气道黏液

分泌物增加,诱发气道炎症反应,进而促使 CVA 发生和进展^[14]。EETs 可通过卷曲螺旋结构域 25-整合素连接激酶-蛋白激酶 C α -CRTC1 通路激活肺神经内分泌细胞,肺神经内分泌细胞通过神经肽和神经递质放大过敏性免疫反应,增加杯状细胞增生、黏液产生、炎症细胞浸润和 Th2 型细胞因子表达^[11]。EETs 还可引发不受控制的中性粒细胞诱捕网形成,间接促使呼吸道炎症性损伤^[13]。

3.3 EETs 与 CVA 患儿小气道功能下降有关

本研究显示,形成 EETs 的 EOS 百分比与 FEF25%、FEF50%、FEF75%、FEF25%~FEF75% 均呈负相关,表明外周血 EETs 的形成与 CVA 患儿小气道受损有关。EETs 会诱导有毒颗粒蛋白释放和与损伤相关的分子模式激活,促使气道上皮损伤,降低黏液清除率^[12]。EETs 的 DNA 骨架可增加气道局部分泌物黏稠度,导致支气管阻塞和小气道功能障碍^[15]。EETs 参与 CVA 小气道损伤也可能通过介导 Th1/Th2 比值失衡,引起 Th2 过度活化和炎症反应。推测可能的机制为:首先,EETs 游离颗粒内含有阳离子蛋白,可诱导气道上皮细胞脱落,破坏气道上皮完整性和防御功能,并调节气道上皮免疫应答,促使炎症反应^[16];其次,EETs 可直接刺激气道上皮细胞释放 IL-33、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-5 等众多细胞因子,加剧气道炎症损伤,同时 IL-5 可活化 EOS,促使 EETs 释放,形成相互促进的正反馈通路,加剧气道炎症反应^[17];再次,EOS 含有大量细胞质夏科-莱登晶体(charcot-leyden crystals, CLCs),在 EETosis 过程中伴随 EETs 释放到外周血中^[18],而 CLCs 可促使 Th2 细胞分化,诱导 Th2 型气道炎症^[19]。由此可见,EETs 可能引起 Th2 介导的炎症反应,最终导致小气道损伤和功能障碍。

3.4 EETs 鉴别诊断 CVA 的价值分析

本研究中经 ROC 曲线分析结果显示,外周血形成 EETs 的 EOS 百分比诊断 CVA 的 AUC 为 0.760,灵敏度为 78.95%,特异度为 77.61%,表明 EETs 在 CVA 诊断中具有较高的价值,可作为 CVA 的潜在标志物,对临床诊断和治疗有着积极的意义。

综上,CVA 患者外周血形成 EETs 的 EOS 百分比显著增高,高外周血形成 EETs 的 EOS 百分比

与 CVA 患儿 Th1/Th2 比值失衡、以 Th2 免疫反应为主的炎症反应及小气道损伤有关。EETs 有望成为 CVA 的新标志物,通过抑制 EETs 的形成可能是治疗 CVA 的一种新方法。

[参考文献]

[1]Morice A H, Millqvist E, Bieksiene K, et al.ERS guidelines on the diagnosis and treatment of chronic cough in adults and children [J]. *Eur Respir J*, 2020, 55 (1): 1901136.

[2]Gao J, Wu H, Wu F.Small airway dysfunction in patients with cough variant asthma:a retrospective cohort study [J].*BMC Pulm Med*, 2021, 21(1):49.

[3]张平安,马艳良,陈希,等.嗜酸性粒细胞外诱捕网在慢性气道疾病发病机制中的作用[J].*中华微生物学和免疫学杂志*, 2022, 42(3):241-244.

[4]中华医学会呼吸病学分会哮喘学组.咳嗽的诊断与治疗指南(2015)[J].*中华结核和呼吸杂志*, 2016, 39(5):323-354.

[5]刘莎,刘芳君,符州,等.气道反应性测定在婴幼儿咳嗽变异性哮喘诊断中的价值[J].*中华实用儿科临床杂志*, 2020, 35(21):1624-1628.

[6]Xiong J, Qi W, Yang H, et al.Acupuncture treatment for cough-variant asthma: a meta-analysis [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021:6694936.

[7]O’Sullivan J A, Bochner B S.Eosinophils and eosinophil-associated diseases: an update[J].*J Allergy Clin Immunol*, 2018, 141(2):505-517.

[8]Mukherjee M, Lacy P, Ueki S.Eosinophil extracellular traps and inflammatory pathologies-untangling the web! [J].*Front Immunol*, 2018, 9:2763.

[9]Choi Y, Le Pham D, Lee D H, et al.Biological function of eosinophil extracellular traps in patients with severe eosinophilic asthma[J].*Exp Mol Med*, 2018, 50(8):1-8.

[10]Yousefi S, Gold J A, Andina N, et al.Catapult-like release of mitochondrial DNA by eosinophils contributes to antibacterial defense[J].*Nat Med*, 2008, 14(9):949-953.

[11]Lu Y, Huang Y, Li J, et al.Eosinophil extracellular traps drive asthma progression through neuro-immune signals [J].*Nat Cell Biol*, 2021, 23(10):1060-1072.

[12]Ueki S, Hebisawa A, Kitani M, et al.Allergic bronchopulmonary aspergillosis-a luminal hypereosinophilic disease with extracellular trap cell death[J].*Front Immunol*, 2018, 9:2346.

[13]Uribe Echevarría L, Leimgruber C, García González J, et al.Evidence of eosinophil extracellular trap cell death in COPD; does it represent the trigger that switches on the disease? [J].*Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2017, 12:885-896.

[14]Lee S Y, Kang B, Bok S H, et al.Macmoondongtang modulates Th1-/Th2-related cytokines and alleviates asthma in a murine model[J].*PLoS One*, 2019, 14(12): e0224517.

[15]Ueki S, Konno Y, Takeda M, et al.Eosinophil extracellular trap cell death-derived DNA traps: their presence in secretions and functional attributes [J].*J Allergy ClinImmunol*, 2016, 137(1):258-267.

[16]Choi Y, Le Pham D, Lee D H, et al.Biological function of eosinophil extracellular traps in patients with severe eosinophilic asthma[J].*Exp Mol Med*, 2018, 50(8):1-8.

[17]Choi Y, Kin Y M, Lee H R, et al.Eosinophil extracellular traps activate type 2 innate lymphoid cells through stimulating airway epithelium in severe asthma[J].*Allergy*, 2020, 75(1):95-103.

[18]Ueki S, Tokunaga T, Melo R C N, et al.Charcot-Leyden crystal formation is closely associated with eosinophil extracellular trap cell death[J].*Blood*, 2018, 132(20): 2183-2187.

[19]Ueki S, Miyabe Y, Yamamoto Y, et al.Charcot-Leyden crystals in eosinophilic inflammation: active cytolysis leads to crystal formation [J].*Curr Allergy Asthma Rep*, 2019, 19(8):35.

[专业责任编辑:孙 新]

[中文编辑:王 懿;英文编辑:孙兰迪]