

血清孤儿核受体 4A1 对儿童难治性肺炎支原体肺炎的预测价值

史伟勋¹, 左路广², 刘训涛², 阎敏娜², 孙喜斌²

(河北北方学院附属第一医院 1. 静脉采血室; 2. 检验科, 河北 张家口 075000)

[摘要] **目的** 探讨血清孤儿核受体 4A1(NR4A1)对儿童难治性肺炎支原体肺炎(RMPP)的预测价值。**方法** 选取 2022 年 4 月至 2023 年 4 月河北北方学院附属第一医院收治的 200 例肺炎支原体肺炎(MPP)患儿为研究对象,依据病情分为普通肺炎支原体肺炎(GMPP)组(n=132)、RMPP 组(n=68)。比较各组血清 NR4A1 及临床资料的差异;Pearson 法分析血清 NR4A1 与血清 C 反应蛋白(CRP)水平、白介素-6(IL-6)、白介素-8(IL-8)的相关性;受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 NR4A1 对儿童 RMPP 的预测价值。**结果** RMPP 组住院时间、高热率、胸腔积液、肺实变、肺不张、中性粒细胞百分比(NEUT%)均较 GMPP 组增高,白蛋白较 GMPP 组降低,差异均有统计学意义($t/Z/\chi^2$ 值介于 6.386~41.599 之间, $P<0.05$);RMPP 组血清 NR4A1 较 GMPP 组降低,CRP、IL-6、IL-8 较 GMPP 组增高,差异均有统计学意义(t 值介于 10.279~16.889 之间, $P<0.05$);急性期 RMPP 患儿血清 NR4A1 较恢复期降低,CRP、IL-6、IL-8 较恢复期增高,差异均有统计学意义(t 值介于 6.367~16.889 之间, $P<0.05$);Pearson 相关性分析显示,血清 NR4A1 与 CRP、IL-6、IL-8 呈负相关性(r 值分别为 -0.335、-0.507、-0.291, $P<0.05$);ROC 曲线分析显示,血清 NR4A1 预测 RMPP 的曲线下面积(AUC)为 0.870(95%CI:0.821~0.919),最佳截断值为 0.89,灵敏度和特异度分别为 74.21%、92.60%。**结论** RMPP 患儿血清 NR4A1 低表达,且与病情恢复程度、炎症因子表达相关,对儿童 RMPP 具有较好的预测价值。

[关键词] 孤儿核受体 4A1; 难治性肺炎支原体肺炎; 儿童; 肺炎支原体; 炎症因子

Doi:10.3969/j.issn.1673-5293.2024.12.007

[中图分类号] R179

[文献标识码] A

[文章编号] 1673-5293(2024)12-0048-05

Predictive value of serum nuclear receptor 4A1 level for refractory *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children

SHI Weixun¹, ZUO Luguang², LIU Xuntao², YAN Minna², SUN Xibin²

(1.Venous Blood Collection Room; 2.Department of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Hebei North University, Hebei Zhangjiakou 075000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate predictive value of serum nuclear receptor 4A1 (NR4A1) for refractory *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia (RMPP) in children. **Methods** 200 children with *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia (MPP) who admitted to The First Affiliated Hospital of Hebei North University from April 2022 to April 2023 were selected as the study subjects, and they were divided into general *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia (GMPP) group (n=132) and RMPP group (n=68) according to disease condition of the child. The differences in serum NR4A1 level and clinical data of the children were compared between the two groups. Pearson correlation analysis was used to analyze correlations of serum NR4A1 with serum C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6) and interleukin-8 (IL-8). Receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze predictive value of serum NR4A1 for RMPP in children. **Results** Compared with GMPP group, length of hospital stay, high fever rate, incidences of pleural effusion, lung consolidation, pulmonary atelectasis and neutrophil percentage (NEUT%) of the children in RMPP group were higher than those in GMPP group, while the serum albumin level was lower, and the differences were statistically significant ($t/Z/2$ values ranged from 6.386 to 41.599, all $P<0.05$). The serum NR4A1 level of the children in RMPP group was lower than that in GMPP group, while the serum levels of CRP, IL-6 and IL-8 were higher than those in GMPP group, and the differences were statistically significant (t values ranged from 10.279 to 16.889, all $P<0.05$). The serum NR4A1 level of the children in acute RMPP stage was lower than that in recovery RMPP stage, while the serum levels of CRP, IL-6 and IL-8 were

[收稿日期] 2023-12-04

[基金项目] 河北省 2021 年度医学科学研究课题计划(20211026)

[作者简介] 史伟勋(1989—),男,初级检验师,主要从事临床检验相关的研究。

[通讯作者] 孙喜斌,副主任技师。

higher than those in recovery stage, and the differences were statistical significant (t value ranged from 6.367-16.889, all $P < 0.05$). Pearson correlation analysis showed that the serum NR4A1 was negatively correlated with CRP, IL-6 and IL-8 ($r = -0.335$, -0.507 and -0.291 respectively, all $P < 0.05$). ROC curve analysis showed that the area under the curve (AUC) of serum NR4A1 for predicting RMPP was 0.870 (95%CI: 0.821-0.919), the best cut-off value was 0.89, and the sensitivity and the specificity were 74.21% and 92.60%, respectively. **Conclusion** The expression of NR4A1 in serum is low in children with RMPP, and is related to recovery degree of the disease and expression of inflammatory factors, therefore, it has a good predictive value for RMPP in children.

[Key words] NR4A1; refractory *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia; children; *Mycoplasma pneumoniae*; inflammatory factor

肺炎支原体肺炎 (mycoplasma pneumoniae pneumonia, MPP) 由肺炎支原体 (mycoplasma pneumoniae, MP) 感染所致, 是儿童社区获得性肺炎的最常见类型, 其发病率约占儿童社区获得性肺炎的 10%~30%^[1-2]。大部分 MPP 患儿病情轻、呈自限性, 临床预后良好, 但仍有部分患儿发展为难治性肺炎支原体肺炎 (refractory *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia, RMPP), 以肺外脏器损害、肺实变、胸腔积液等为主要表现, 临床治疗较为棘手, 预后较差, 严重者甚至死亡^[3]。因此, 对儿童 RMPP 进行早期识别、干预对改善临床预后至关重要^[4]。RMPP 的发病机制尚未完全明确, 多认为与大环内酯类耐药 MP 感染及免疫炎症反应有关。孤儿核受体 4A1 (nuclear receptor subfamily 4 group A member 1, NR4A1) 为 NR4A 超家族成员, 对细胞增殖、分化、炎症、代谢等过程均具有调控作用^[5]。研究表明, NR4A1 参与了慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD)、肺癌、哮喘等多种炎症性肺部疾病的发生发展, 但 NR4A1 与 MPP 的相关研究鲜见报道, 其在 RMPP 临床诊疗中的价值尚不清楚^[6]。本研究旨在探讨 MPP 患儿血清 NR4A1 变化规律及其与 RMPP 的相关性, 以期为 RMPP 的临床诊疗提供新思路。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2022 年 4 月至 2023 年 4 月河北北方学院附属第一医院收治的 200 例 MPP 患儿为研究对象。纳入标准: ①符合《儿童肺炎支原体肺炎诊疗指南 (2023 年版)》制定的 MPP 诊断标准^[7]; ②年龄 2~14 岁; ③血清 MP 抗体滴度 $\geq 1:160$; ④临床资料完整; ⑤监护人知情同意。排除标准: ①细菌、真菌、病毒等其他病原菌感染所致的肺炎; ②合并恶性肿瘤、

免疫性疾病等; ③支气管肺发育不良、肺结核、支气管哮喘等肺部疾病。MPP 患儿均接受大环内酯类药物治疗, 若 ≥ 7 d 治疗无效, 且持续发热、咳嗽, 肺部影像学检查无改善或加重, 则诊断为 RMPP^[8]。依据病情将 MPP 患儿分为普通肺炎支原体肺炎组 (general *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia, GMPP)、RMPP 组。研究经医院伦理委员会审核批准 (批准号: W2023035)。

1.2 资料采集

采集患儿年龄、性别、住院时间、临床症状、肺部影像学及实验室检查等基线资料。临床症状包括高热、呼吸急促、咳嗽、肺部哮鸣音、细湿啰音; 肺部影像学表现包括肺实变、肺不张、肺坏死、胸腔积液等。全自动生化分析仪检测白蛋白, 全自动模块式血液体液分析仪检测白细胞计数 (white blood cell, WBC)、血小板计数 (platelet, PLT)、血红蛋白 (hemoglobin, Hb)、嗜酸性粒细胞百分比 (Eosinophils, EOS%)、中性粒细胞百分比 (neutrophil, NEUT%)。免疫透射比浊法测定血清 C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 水平, 酶联免疫吸附试剂盒 (购于武汉赛培生物有限公司) 测定血清白介素-6 (interleukin-6, IL-6)、白介素-8 (interleukin-8, IL-8) 水平。

1.3 血清 NR4A1 水平检测

发病第 1d (急性期), 抽取 MPP 患儿静脉血 3 mL, 3 500 r/min、4℃ 离心 10 min, 分离血清并于 -80℃ 保存备用。RT-PCR 法测定血清 NR4A1 水平, 利用总 RNA 提取试剂盒提取血清总 RNA 并反转录为 cDNA, 以 cDNA 为模板行 PCR 扩增, $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法测算血清 NR4A1 相对表达, β -actin 为内参。反应条件: 94℃ 5 min, 94℃ 1 min, 55℃ 1 min, 35 个循环。NR4A1 上游序列: 5'-GCACAGCTTGGGTGT TGATGT-3', 下游序列: 5'-GAGCCCGTGTTCGAT

CAGTGAT-3'。β-actin 上游序列: 5'-TGC GTGA CATCAAAGAGAAG-3',下游序列: 5'-TCCATAC CCAAGAAGGAAGG-3'。RMPP 患儿接受内科保守治疗,其中 65 例于病情好转后(恢复期)再次采集血样,检测指标、检测方法同上,剩余 3 例未接受再次采集血样。

1.4 统计学方法

使用 SPSS 28.0 分析数据。计量资料非正态分布以中位数及四分位间距 $M(Q_1 \sim Q_3)$ 表示,组间比较采用 Mann-Whitney U 检验;符合正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验。计数资料以例数(n)和百分比(%)表示,组间比

较采用 χ^2 检验;相关性分析用 Pearson 相关性分析法。受试者工作特征(receiver operating characteristic,ROC)曲线分析血清 NR4A1 对 RMPP 的预测价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GMPP 组与 RMPP 组基线资料比较

RMPP 组住院时间、高热率、胸腔积液、肺实变、肺不张、NEUT% 均较 GMPP 组增高,白蛋白较 GMPP 组降低,差异均有统计学意义($t/Z/\chi^2$ 值介于 6.386~41.599 之间, $P < 0.05$),见表 1。

表 1 GMPP 组与 RMPP 组基线资料比较 [$\bar{x} \pm s, M(Q_1 \sim Q_3), n(\%)$]

Table 1 Comparison of baseline data of the children between GMPP group and RMPP group [$\bar{x} \pm s, M(Q_1 \sim Q_3), n(\%)$]

项目	GMPP 组($n=132$)	RMPP 组($n=68$)	$t/Z/\chi^2$	P
男性	80(60.61)	37(54.41)	0.709	0.400
年龄(岁)	5.59 ± 2.14	5.92 ± 2.59	0.685	0.495
住院时间(d)	10.13 ± 2.05	16.47 ± 4.11	8.462	<0.001
高热	69(52.27)	62(91.17)	30.059	<0.001
呼吸急促	48(36.36)	31(45.58)	1.598	0.206
咳嗽	129(97.73)	68(100.00)	1.569	0.210
细湿啰音	45(34.09)	25(36.76)	0.141	0.707
哮鸣音	23(17.42)	15(22.05)	0.626	0.429
胸腔积液	25(18.94)	44(64.71)	41.599	<0.001
肺实变	53(40.15)	58(85.29)	37.032	<0.001
肺不张	16(12.12)	26(38.24)	18.448	<0.001
肺坏死	1(0.75)	2(2.94)	1.448	0.229
WBC($\times 10^9/L$)	8.35 ± 2.42	9.14 ± 3.06	1.512	0.143
PLT($\times 10^9/L$)	346.93 ± 29.47	411.28 ± 35.23	1.713	0.094
Hb(g/L)	125.86 ± 15.78	119.73 ± 16.31	1.639	0.105
EOS%	0.54(0.31~1.18)	0.72(0.52~1.56)	0.794	0.443
NEUT%	61.2(49.3~70.7)	77.5(70.25~84.99)	6.386	<0.001
白蛋白(g/L)	41.97 ± 5.28	33.46 ± 4.67	6.758	<0.001

2.2 GMPP 组与 RMPP 组血清学指标比较

发病第 1d(急性期)时,RMPP 组血清 NR4A1 较 GMPP 组降低,CRP、IL-6、IL-8 较 GMPP 组增

高,差异均有统计学意义(t 值介于 10.279~16.889 之间, $P < 0.05$),见表 2。

表 2 GMPP 组与 RMPP 组血清学指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serological indexes of the children between GMPP group and RMPP group ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	NR4A1	CRP(mg/L)	IL-6(pg/mL)	IL-8(pg/mL)
GMPP 组	132	1.94 ± 0.46	12.75 ± 5.42	9.85 ± 2.31	18.81 ± 6.97
RMPP 组	68	0.53 ± 0.21	31.36 ± 12.54	36.78 ± 14.26	40.77 ± 16.05
t		16.889	10.279	13.357	11.283
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 急性期和恢复期 RMPP 患儿血清学指标比较

急性期 RMPP 患儿血清 NR4A1 较恢复期降

低,CRP、IL-6、IL-8 较恢复期增高,差异均有统计学意义(t 值介于 6.367~16.889 之间, $P<0.05$),见表 3。

表 3 急性期和恢复期 RMPP 患儿血清学指标比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of serological indexes of the RMPP children between acute stage and convalescent stage ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	NR4A1	CRP(mg/L)	IL-6(pg/mL)	IL-8(pg/mL)
急性期	68	0.53±0.21	31.36±12.54	36.78±14.26	40.77±16.05
恢复期	65	1.75±0.56	17.15±5.68	16.72±5.02	26.86±10.55
t		16.889	7.112	9.012	6.367
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 NR4A1 与 CRP、IL-6、IL-8 的相关性分析

Pearson 相关性分析显示,血清 NR4A1 与 CRP、IL-6、IL-8 呈负相关性(r 值分别为-0.335、-0.507、-0.291, $P<0.05$),见表 4。

表 4 NR4A1 与 CRP、IL-6、IL-8 的相关性分析

Table 4 Correlations of NR4A1 with CRP,IL-6 and IL-8

项目	r	P
CRP(mg/L)	-0.335	<0.001
IL-6(pg/mL)	-0.507	<0.001
IL-8(pg/mL)	-0.291	<0.001

2.5 血清 NR4A1 对 RMPP 的预测价值

ROC 曲线分析显示,血清 NR4A1 预测 RMPP 的曲线下面积(area under the curve,AUC)为 0.870 (95%CI:0.821~0.919),最佳截断值为 0.89,灵敏度和特异度分别为 74.21%、92.60%,见图 1。

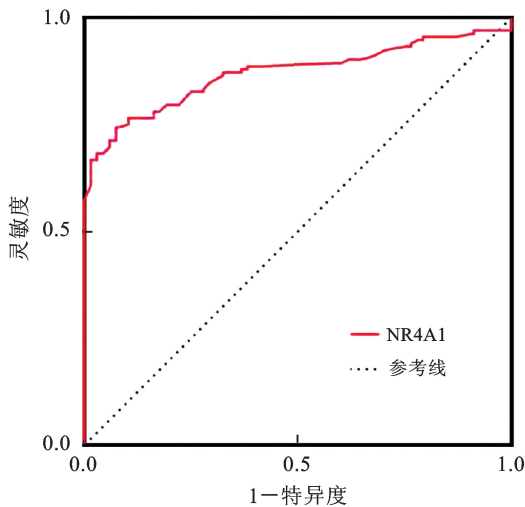


图 1 血清 NR4A1 预测 RMPP 的 ROC 曲线

Fig.1 ROC curve of serum NR4A1 for predicting RMPP

3 讨论

3.1 RMPP 患儿肺部损害明显,亟需开展早期识别和干预

近年来,随着 MP 对大环内酯类抗菌药物的耐药性增加,RMPP 发病率明显上升,并趋于低龄化,其所导致的闭塞性细支气管炎、肺不张、肺外并发症等严重威胁患儿生命健康^[9]。因此,对 RMPP 开展早期识别、干预尤为重要。既往研究对 RMPP 危险因素的分析主要集中于年龄、临床表现、肺部影像学及血常规等方面。郑雪香等^[10]发现,普通 MPP 和 RMPP 患儿的高热发生率、肺实变发生率、肺不张发生率、气促发生率、胸腔积液发生率、WBC、PLT、NEUT%、Hb、白蛋白、降钙素原、LDH、肺实变发生率、肺不张发生率比较存在统计学差异,且高热、Hb、LDH、肺实变为患儿发生 RMPP 的独立危险因素。本研究显示,RMPP 组住院时间、高热率、胸腔积液、肺实变、肺不张、NEUT%均较 GMPP 组明显增高,白蛋白较 GMPP 组明显降低,提示 RMPP 患儿肺部损害明显,亟需早期识别、干预。

3.2 RMPP 患儿血清 NR4A1 水平降低,与 RMPP 病情发展密切相关

NR4A1 定位于人类 12 号染色体,由 598 个氨基酸组成,其可抑制多种炎症因子和趋化因子表达,减轻机体炎症反应,从而发挥抗炎症性肺部疾病的作用^[11]。邓俊华等^[12]证实,COPD 患者血清 NR4A1 水平低于对照组,且急性加重期患者血清 NR4A1 水平低于稳定期;血清 NR4A1 水平与 FEV1、FEV1% pred、FEV1/FVC 等肺功能指标成正相关,并与 CRP、IL-6 等炎症因子表达呈负相关。Li 等^[13]研究发现,急性肺损伤(acute lung injury,

ALI)模型大鼠肺组织中 NR4A1 表达下调,给予 NR4A1 激动剂预处理可提高肺组织 NR4A1 表达,并抑制 NF- κ B 炎症信号通路,从而改善 ALI 大鼠肺损伤。Chen 等^[14]利用 LPS 诱导的哮喘小鼠模型证实,NR4A1 可通过调控 NF- κ B 介导的炎症信号通路,抑制支气管上皮细胞凋亡,从而改善哮喘症状。但 NR4A1 在 RMPP 发生发展中的作用尚未明确。本研究结果显示,RMPP 组血清 NR4A1 较 GMPP 组明显降低,急性期患儿血清 NR4A1 较恢复期明显降低,提示 NR4A1 与 RMPP 患儿病情发展密切相关。

3.3 血清 NR4A1 对 RMPP 病有较好的预测价值

目前认为,RMPP 所致肺部损害与 MP 感染介导的免疫炎症反应有关^[15]。本研究结果显示,RMPP 组血 CRP、IL-6、IL-8 较 GMPP 组明显增高,且急性期 RMPP 患儿血清 CRP、IL-6、IL-8 较恢复期明显增高,与付彬彬等^[16]报道一致。进一步分析发现,血清 NR4A1 与 CRP、IL-6、IL-8 呈负相关。分析其原因可能为肺部 MP 感染可激活 T 淋巴细胞免疫反应,诱导炎症因子大量释放,加剧炎症级联反应并导致病情进一步加重;NR4A1 则可通过负向调控炎症因子表达,抑制炎症级联反应,从而阻止 RMPP 病程进展。ROC 曲线分析显示,血清 NR4A1 预测 RMPP 的 AUC 为 0.870(95%CI:0.821~0.919),最佳截断值为 0.89,灵敏度和特异度分别为 74.21%、92.60%。提示血清 NR4A1 对 RMPP 有良好的预测价值,可用于 RMPP 早期诊断及病情监测。

综上所述,RMPP 患儿血清 NR4A1 低表达,且与病情恢复程度、炎症因子表达相关,对儿童 RMPP 具有较好的预测价值。

[参考文献]

- [1]Chen L, Yin J, Liu X, et al. Thromboembolic complications of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children [J]. Clin Respir J, 2023, 17(3): 187-196.
- [2]Xie Q, Zhang X, Cui W, et al. Construction of a Nomogram for Identifying Refractory *Mycoplasma pneumoniae* Pneumonia Among Macrolide-Unresponsive *Mycoplasma pneumoniae* Pneumonia in Children [J]. J Inflamm Res, 2022, 15(1): 6495-6504.
- [3]He Y S, Yang M, Liu G, et al. Safety study of moxifloxacin in children with severe refractory *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia [J]. Pediatr Pulmonol, 2023, 58(7): 2017-2024.
- [4]Zhang W H, Zhou M P, Zou Y Y, et al. The predictive values of soluble B7-DC in children with refractory mycoplasma pneumoniae pneumonia [J]. Transl Pediatr, 2023, 12(3): 396-404.
- [5]Garabuczi E, Tarban N, Fige E, et al. Nur77 and PPAR γ regulate transcription and polarization in distinct subsets of M2-like reparative macrophages during regenerative inflammation [J]. Front Immunol, 2023, 14(2): 1139204.
- [6]Banno A, Lakshmi S P, Reddy A T, et al. Key functions and therapeutic prospects of nur77 in inflammation related lung diseases [J]. Am J Pathol, 2019, 189(3): 482-491.
- [7]中华人民共和国国家卫生健康委员会. 儿童肺炎支原体肺炎诊疗指南(2023 年版) [J]. 中国合理用药探索, 2023, 20(3): 16-24.
- [8]杨会荣, 张应谦, 黄坤玲, 等. 清热解毒方佐治痰热闭肺型难治性肺炎支原体肺炎临床效果 [J]. 中国医药导报, 2022, 19(14): 146-149.
- [9]孙先琳, 刘冬阳, 罗兵兵, 等. 哮喘合并肺炎支原体感染患儿血清 CD4⁺/CD8⁺、IL-5、维生素 D 对肺功能的影响 [J]. 中国妇幼健康研究, 2023, 34(1): 106-111.
- [10]郑雪香, 林继雷, 代继宏. 基于决策曲线和剂量反应分析评估乳酸脱氢酶对儿童难治性肺炎支原体肺炎的预测价值 [J]. 中国当代儿科杂志, 2020, 22(2): 112-117.
- [11]Zhu P, Wang J, Du W, et al. NR4A1 Promotes LPS-Induced Acute Lung Injury through Inhibition of Opa1-Mediated Mitochondrial Fusion and Activation of PGAM5-Related Necroptosis [J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 18: 6638244.
- [12]邓俊华, 王志波, 黄表华. 慢性阻塞性肺疾病患者血清 NR4A1 表达及临床意义 [J]. 临床肺科杂志, 2021, 26(7): 1034-1037.
- [13]Li Y, Wang S M, Li X, et al. Pterostilbene pre-treatment reduces LPS-induced acute lung injury through activating NR4A1 [J]. Pharm Biol, 2022, 60(1): 394-403.
- [14]Chen Z, Fan N, Shen G, et al. Silencing lncRNA CDKN2B-AS1 Alleviates Childhood Asthma Progression Through Inhibiting ZFP36 Promoter Methylation and Promoting NR4A1 Expression [J]. Inflammation, 2023, 46(2): 700-717.
- [15]Lee Y C, Chang C H, Lee W J, et al. Altered chemokine profile in Refractory *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia infected children [J]. Microbiol Immunol Infect, 2021, 54(4): 673-679.
- [16]付彬彬, 钟兰兰, 叶婷婷, 等. Autotaxin 对儿童难治性肺炎支原体肺炎的预测价值及其与炎症细胞因子的相关性 [J]. 中国当代儿科杂志, 2022, 24(7): 765-770.

[专业责任编辑: 孙 新]

[中文编辑: 郭乐倩; 英文编辑: 杨周岐]