

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.23.031

反复呼吸道感染儿童血清维生素 A、维生素 E 水平与免疫球蛋白、T 淋巴细胞亚群、NK 细胞及骨密度的关系分析*

杨倩文 李天苏 王秀丽 周 婷 何楷印

(安徽省妇幼保健院儿科 安徽 合肥 230001)

摘要 目的:探讨反复呼吸道感染(RRTI)儿童血清维生素 A、维生素 E 水平与免疫球蛋白(Ig)、T 淋巴细胞亚群、NK 细胞及骨密度的关系。**方法:**选择 2018 年 2 月至 2020 年 12 月我院儿科收治的 107 例 RRTI 患儿(感染组)和 83 例同期于我院体检的健康儿童(对照组)为研究对象,检测两组血清维生素 A、维生素 E 水平、Ig 水平,外周血 T 淋巴细胞亚群、NK 细胞占比以及骨密度。分析维生素 A、维生素 E 与 Ig、T 淋巴细胞亚群、NK 细胞及骨密度的相关性。**结果:**感染组血清维生素 A、维生素 E、IgG、IgA、IgM 及外周血 CD3⁺T 细胞百分比、CD4⁺T 细胞百分比、CD3⁺CD56⁺NK 细胞百分比、CD56brightNK 细胞百分比、CD56dimNK 细胞百分比、桡骨和胫骨骨密度均低于对照组($P<0.05$),外周血 CD8⁺T 细胞百分比高于对照组($P<0.05$)。血清维生素 A 及维生素 E 水平与外周血 CD8⁺T 细胞百分比呈负相关($P<0.05$),与 IgG、IgA、IgM 水平,外周血 CD3⁺T 细胞百分比、CD4⁺T 细胞百分比、CD3⁺CD56⁺NK 细胞百分比、CD56brightNK 细胞百分比、CD56dimNK 细胞百分比、桡骨和胫骨骨密度呈正相关($P<0.05$)。**结论:**RRTI 患儿血清维生素 A、维生素 E 水平明显降低,且与免疫功能障碍和骨密度降低有关。

关键词:反复呼吸道感染;维生素 A;维生素 E;免疫球蛋白;T 淋巴细胞亚群;NK 细胞;骨密度

中图分类号:R56;R725.6;Q56 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)23-4545-04

Analysis of the Relationship between Serum Vitamin A, Vitamin E Levels and Immunoglobulin, T Lymphocyte Subsets, NK Cells and Bone Mineral Density in Children with Recurrent Respiratory Tract Infection*

YANG Qian-wen, LI Tian-su, WANG Xiu-li, ZHOU Ting, HE Kai-yin

(Department of Pediatrics, Anhui Maternal and Child Health Hospital, Hefei, Anhui, 230001, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the relationship between serum vitamin A and vitamin E levels and immunoglobulin (Ig), T lymphocyte subsets, NK cell subsets and bone mineral density in children with recurrent respiratory tract infection (RRTI). **Methods:** 107 children with RRTI (infection group) who were admitted to our hospital from February 2018 to December 2020 and 83 healthy children (control group) who underwent physical examination in our hospital during the same period were selected as the study subjects. Serum vitamin A and vitamin E levels, Ig levels, the proportion of T lymphocyte subsets, NK cell subsets in peripheral blood and bone mineral density were detected in both groups. The correlation of serum vitamin A and vitamin E and Ig, T lymphocyte subsets, NK cell subsets and bone mineral density were analyzed. **Results:** The serum vitamin A, vitamin E, IgG, IgA, IgM and percentage of CD3⁺T cells, percentage of CD4⁺T cells, percentage of CD3⁺CD56⁺NK cells, percentage of CD56brightNK cells, percentage of CD56dimNK cells, and bone mineral density of radius and tibia in the infection group were lower than those in the control group ($P<0.05$). The percentage of CD8⁺T cells was higher than that in the control group ($P<0.05$). The serum vitamin A and vitamin E levels were negatively correlated with the percentage of CD8⁺T cells ($P<0.05$), was positively correlated with the IgG, IgA, IgM level and the percentage of CD3⁺T cells, percentage of CD4⁺T cells, percentage of CD3⁺CD56⁺NK cells, percentage of CD56brightNK cells, percentage of CD56dimNK cells and bone mineral density of radius and tibia ($P<0.05$). **Conclusion:** The serum vitamin A and vitamin E levels in children with RRTI are significantly decreased, which are associated with immune dysfunction and decreased bone mineral density.

Key words: Recurrent respiratory tract infection; Vitamin A; Vitamin E; Immunoglobulin; T lymphocyte subsets; NK cell; Bone mineral density

Chinese Library Classification(CLC): R56; R725.6; Q56 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)23-4545-04

* 基金项目:安徽省政府妇儿工委办公室政策研究项目(2015-1201)

作者简介:杨倩文(1989-),女,硕士,主治医师,从事小儿肾脏及呼吸系统疾病方向的研究,

E-mail: yangyang19890301@163.com

(收稿日期:2021-04-07 接受日期:2021-04-30)

前言

反复呼吸道感染(recurrent respiratory tract infection, RRTI)是儿科的常见病之一,好发于学龄前儿童,约 10%~15%的儿童经历过 RRTI, RRTI 可能会增加成年后慢性呼吸道疾病的发病率,甚至导致永久性肺部病变^[1,2]。现有研究发现免疫系统发育不成熟,特异性或非特异性免疫功能障与 RRTI 发生密切相关, RRTI 患儿普遍存在细胞免疫、体液免疫功能异常^[3,4]。RRTI 导致患儿体内过度应激反应,新陈代谢和体内消耗增加,加之反复使用抗生素影响消化功能,导致钙摄入减少,流失增多,可引起骨密度下降^[5]。维生素是人体维持正常生理功能所必须的有机物质,参与人体生长发育,营养代谢,维生素缺乏与社区获得性肺炎、小儿呼吸系统疾病和呼吸道合胞病毒感染等多种疾病有关^[6-8],维生素 A 是一种异戊二烯衍生的微量营养素,参与免疫功能调节,维生素 A 缺乏可导致 T 细胞和 B 细胞对多种病原体的反应减弱,引起单核细胞、NK 细胞和树突状细胞亚群功能的改变^[9]。维生素 E 是一种有效的脂溶性抗氧化剂,免疫细胞中维生素 E 含量丰富,维生素 E 缺乏会损害免疫系统的正常功能^[10]。为此,本研究拟探讨血清维生素 A、E 水平与 RRTI 患儿免疫球蛋白、T 淋巴细胞亚群、NK 细胞及骨密度的关系,以期为临床治疗提供指导。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究已经获得我院伦理委员会批准。选择 2018 年 2 月至 2020 年 12 月我院儿科收治的 107 例 RRTI 患儿(感染组),纳入标准:① 参考《反复呼吸道感染的临床概念和处理原则》中诊断标准^[11];② 患儿监护人知情同意签署同意书。排除标准:① 先天性或器质性病变,原发性免疫缺陷;② 近 1 个月内有免疫抑制剂应用史;③ 入组前已经接受抗生素治疗。另外选择同期于我院进行体检的 83 例健康儿童(对照组),均排除呼吸道感染、哮喘、过敏性鼻炎等疾病。感染组:男 63 例,女 44 例,年龄 3~5 岁,平均(3.59±0.39)岁,体质量 13~20 kg,平均(17.42±2.19)kg,病程 6~18 个月,平均(12.54±3.07)个月。对照组:男 47 例,女 36 例,年龄 3~6 岁,平均(3.66±0.31)岁,体质量 10~29 kg,平均(18.50±6.36)kg。两组性别、年龄、体质量均

衡可比($P>0.05$),均衡可比。

1.2 实验室指标检测

所有患儿入院后当日(对照组受试儿童体检当日)采集静脉血 4~6 mL,分别注于干燥试管和抗凝试管。干燥试管标本待血液凝固后取上层液,采用购自长沙湘智离心机仪器有限公司的 TDZ4-WS 低速自动平衡离心机以 4℃, 3 000 r/min, 半径 10 cm 的条件离心处理 15 min,分离血清 -30℃保存待测。采用雅培 i2000 全自动电化学发光免疫分析仪(江苏天瑞精准医疗科技有限公司)经化学发光法检测血清维生素 A、维生素 E 水平;采用 DR-200Bn 酶标仪(济南好来宝医疗器材有限公司)经免疫透射比浊法检测血清免疫球蛋白(Ig)A、IgG、IgM、IgE,试剂盒购自美国 Epitope Diagnostics 公司。抗凝试管血标本加入红细胞裂解液(上海力敏实业有限公司)混匀,室温下避光孵育 15 min,加入 CD3-PE/CD4-FITC、CD3-PE/CD8-FITC、CD3-PE/CD56-FITC/CD16-APC 抗体(北京四正柏生物科技有限公司),洗涤 2 次加入 500 μ L 磷酸盐缓冲液重悬细胞,采用 Attune NxT 型流式细胞仪(美国赛默飞世尔科技公司)检测 CD3⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、NK 细胞(CD3⁺CD56⁺NK 细胞)及其亚群[CD56brightNK 细胞(CD3⁺CD56⁺CD16⁺)、CD56dimNK 细胞(CD3⁺CD56⁺CD16⁻)]所占百分比。

1.3 骨密度测量

所有患儿入院后当日(对照组受试儿童体检当日)采用 GK-7000 超声骨密度分析仪(山东枣庄国康实业有限公司)测量桡骨、胫骨骨密度值,取 3 次测量的平均值。

1.4 统计学分析

以 SPSS 25.00 进行数据分析。维生素 A、维生素 E、T 淋巴细胞亚群等计量资料经 Shapiro-Wilk 检验符合正态分布以($\bar{x}\pm s$)表示,采用 Student-t 检验。计数资料以例表示,采用 χ^2 检验。Pearson 相关性分析维生素 A、维生素 E 与 Ig、NK 细胞、T 淋巴细胞亚群、骨密度之间相关性。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 两组血清维生素 A、维生素 E 水平比较

感染组血清维生素 A、维生素 E 水平均低于对照组($P<0.05$),见表 1。

表 1 两组血清维生素 A、维生素 E 水平差异($\bar{x}\pm s$, μ mol/L)

Table 1 Difference of serum vitamin A and vitamin E levels between the two groups($\bar{x}\pm s$, μ mol/L)

Groups	n	Vitamin A	Vitamin E
Infection group	107	1.04±0.16	20.56±5.06
Control group	83	1.76±0.29	35.94±8.17
t		-21.773	-15.934
P		0.000	0.000

2.2 两组 Ig、NK 细胞、T 淋巴细胞亚群、NK 细胞及骨密度

感染组外周血 CD8⁺T 细胞百分比均高于对照组($P<0.05$),血清 IgG、IgA、IgM 水平,外周血 CD3⁺T 细胞百分比、CD4⁺T 细胞百分比、CD3⁺CD56⁺NK 细胞百分比、CD56brightNK 细胞百分比、CD56dimNK 细胞百分比,桡骨和

胫骨骨密度均低于对照组($P<0.05$),两组 IgE 比较无统计学差异($P>0.05$),见表 2。

2.3 血清维生素 A、维生素 E 水平与 Ig、T 淋巴细胞亚群、NK 细胞及骨密度的相关性

血清维生素 A、维生素 E 水平与 CD8⁺T 细胞百分比呈负

相关($P<0.05$),与 IgG、IgA、IgM、CD3⁺T 细胞百分比、CD4⁺T 细胞百分比、CD56dimNK 细胞百分比、桡骨和胫骨骨密度呈正相关($P<0.05$),与 IgE 无相关性($P>0.05$),见表 3。

表 2 两组 Ig、NK 细胞、T 淋巴细胞亚群、NK 细胞及骨密度差异($\bar{x}\pm s$)Table 2 Differences of Ig, NK cells, T lymphocyte subsets, NK cells and Bone mineral density between the two groups($\bar{x}\pm s$)

Indicators	Infection group(n=107)	Control group(n=83)	t	P
IgG(g/L)	10.62±2.13	11.95±2.62	-3.859	0.000
IgA(g/L)	1.69±0.28	1.88±0.37	-4.030	0.002
IgM(g/L)	1.25±0.21	1.38±0.32	-3.371	0.001
IgE(mg/L)	162.12±38.72	162.45±40.63	-0.057	0.955
CD3 ⁺ T cells(%)	75.04±14.78	87.36±16.42	5.428	0.000
CD4 ⁺ T cells(%)	38.47±6.72	48.92±8.41	-9.521	0.000
CD8 ⁺ T cells(%)	35.53±9.12	30.74±8.65	3.672	0.000
CD3 ⁺ CD56 ⁺ NK cells(%)	13.02±3.43	17.56±4.79	-7.609	0.000
CD56brightNK cells(%)	10.12±2.47	13.79±3.35	-8.691	0.000
CD56dimNK cells(%)	4.32±0.95	6.41±1.73	-10.608	0.000
Bone mineral density of radius	0.39±0.12	0.72±0.27	-11.293	0.000
Bone mineral density of tibia	0.53±0.18	0.80±0.29	-7.875	0.000

表 3 血清维生素 A、维生素 E 水平与 Ig、T 淋巴细胞亚群、NK 细胞及骨密度的相关性(r,P)

Table 3 Correlation of serum vitamin A and vitamin E levels with Ig, T lymphocyte subsets, NK cells and bone mineral density(r,P)

Indicators	Vitamin A		Vitamin E	
	r	P	r	P
IgG	0.456	0.000	0.403	0.014
IgA	0.602	0.000	0.542	0.000
IgM	0.519	0.000	0.478	0.000
IgE	0.137	0.524	-0.126	0.671
CD3 ⁺ T cells	0.693	0.000	0.534	0.000
CD4 ⁺ T cells	0.573	0.000	0.508	0.000
CD8 ⁺ T cells	-0.419	0.009	-0.408	0.013
CD3 ⁺ CD56 ⁺ NK cells	0.423	0.008	0.415	0.012
CD56brightNK cells	0.603	0.000	0.537	0.000
CD56dimNK cells	0.421	0.009	0.402	0.015
Bone mineral density of radius	0.519	0.000	0.503	0.000
Bone mineral density of tibia	0.572	0.000	0.486	0.000

3 讨论

维生素 A 是指具有全反式视黄醇生物活性的一组视黄醇类物质,具有维持视力、促进生长发育、保护上皮结构完整性的作用,人体不能合成维生素 A,需要从食物中获得。维生素 A 主要储存于肝脏,以视黄醇的形式释放到外周血中,被醇脱氢酶和视黄醛脱氢酶等转化为具有生物活性形式的视黄酸。现有研究发现血清维生素 A 水平低下与儿童脓毒症发生和临床结局^[12],儿童感染性肺炎发生以及病情严重程度^[13],儿童肺炎支原体感染^[14]均有关。本研究结果显示感染组患儿血清维生素 A 水平明显低于对照组,维生素 A 水平低下可能与 RRTI 的发生有

关。Zhang 等人^[15]报道指出 RRTI 儿童血清维生素 A 水平明显降低,且维生素 A 水平与 RRTI 疾病活动度有关。Timoneda 等人^[16]报道指出维生素 A 缺乏可导致肺泡基底膜增厚和胶原蛋白 I 异位沉积,导致严重组织功能障碍和呼吸系统疾病。以上研究均可佐证本研究结论。进一步分析发现维生素 A 水平与 IgG、IgA、IgM、CD8⁺T 细胞呈负相关,与 CD3⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、CD3⁺CD56⁺NK 细胞、CD56brightNK 细胞、CD56dimNK 细胞呈正相关,说明维生素 A 缺乏与 RRTI 患儿细胞免疫和体液免疫功能异常有关。分析原因为:维生素 A 是免疫保护的重要调节剂,免疫细胞中含有丰富的维生素 A,维生素 A 能促进免疫细胞增殖分化和成熟,并调节机体细胞免疫和体液免疫反

应,发挥增强免疫防御功能和抗炎的作用^[17,18],维生素 A 缺乏影响免疫细胞分化成熟和免疫功能,可导致细胞免疫和体液免疫反应缺陷^[17]。本研究通过相关性分析发现维生素 A 水平与骨密度呈正相关,提示维生素 A 缺乏与 RRTI 患儿骨密度下降有关。维生素 A 参与骨骼形成和骨细胞分化过程,维生素 A 可通过调节视黄酸受体信号传导和骨细胞 / 成骨细胞相关骨肽表达,促使成骨细胞分化,抑制骨矿化,摄入足够的维生素 A 被证明可以保持骨骼健康^[19],维生素 A 缺乏可影响骨代谢,导致骨密度下降。

维生素 E 是一种抗氧化剂,可调节体内氧化还原平衡,在氧化应激下维生素 E 可清除过氧自由基并终止多不饱和脂肪酸氧化,减轻氧化损伤^[20,21]。维生素 E 还可调节炎症信号通路,脂质稳态和动脉粥样硬化斑块稳定性,具有预防心血管疾病的作用^[22]。维生素 E 缺乏可引起肥胖、代谢综合征、神经系统疾病和认知障碍等多种疾病发生和进展^[23]。现有研究发现维生素 E 缺乏与儿童急性呼吸道感染和腹泻有关^[24],脓毒症和脓毒症休克患儿亦普遍存在维生素 E 缺乏。本研究发现 RRTI 患儿血清维生素 E 水平较健康儿童明显下降,表明血清维生素 E 水平降低可能在 RRTI 发病机制中发挥关键作用。叶冬梅等人^[25]也指出血清维生素 E 水平对 RRTI 存在显著影响,维生素 E 缺乏是儿童 RRTI 的独立危险因素。本研究 Pearson 分析结果显示维生素 E 水平与 Ig、T 淋巴细胞亚群均存在不同程度相关性,说明维生素 E 缺乏可能抑制 RRTI 患儿体液免疫和细胞免疫功能。维生素 E 是已知可调节免疫功能的最有效营养素之一,可通过调节免疫细胞膜脂筏迁移影响细胞表面信号分子转导影响免疫细胞功能,还可通过促使幼稚 CD4⁺T 淋巴细胞和抗原呈递细胞之间突触的形成直接活化 T 细胞,促使 T 细胞分化和细胞因子产生,亦可通过调节炎症细胞因子和前列腺素 E₂ 等炎症介质间接调节 T 细胞免疫反应,维生素 E 缺乏可影响免疫细胞增殖分化,导致机体免疫功能障碍。本研究发现维生素 E 缺乏与 RRTI 患儿骨密度降低有关,现有报道显示维生素 E 可通过巨噬细胞集落刺激因子和核因子 κ B 受体活化因子 / 核因子 κ B 受体活化因子配体 / 骨保护素信号通路参与骨细胞信号转导和骨代谢、重塑过程,补充维生素 E 可改善骨代谢,提高骨密度。

综上所述,RRTI 患儿血清维生素 A、维生素 E 水平明显降低,维生素 A、维生素 E 缺乏与 RRTI 发生以及体液和细胞免疫功能障碍、骨密度减少有关。临床治疗 RRTI 患儿应注意补充维生素 A、维生素 E,以提高患儿机体免疫力,预防骨量减少。

参考文献(References)

- Pasternak G, Lewandowicz-Uszyńska A, Królak-Olejnik B. Recurrent respiratory tract infections in children[J]. *Pol Merkur Lekarski*, 2020, 49(286): 260-266
- Li KL, Wang BZ, Li ZP, et al. Alterations of intestinal flora and the effects of probiotics in children with recurrent respiratory tract infection[J]. *World J Pediatr*, 2019, 15(3): 255-261
- 王薇, 孙雪, 赵鸿斌. 反复呼吸道感染儿童血 CRP, 免疫球蛋白和 T 细胞亚群的相关研究[J]. *河北医药*, 2018, 40(10): 16-19, 24
- 杨剑敏, 高原, 姜林林, 等. 反复呼吸道感染患儿血清微量元素及体液免疫水平测定及临床意义 [J]. *现代生物医学进展*, 2018, 18(2): 293-296, 338
- 罗新辉, 许文萍. 反复呼吸道感染婴幼儿与健康婴幼儿骨密度测定对比研究[J]. *中国儿童保健杂志*, 2010, 18(8): 717-719
- Zhou YF, Luo BA, Qin LL. The association between vitamin D deficiency and community-acquired pneumonia: A meta-analysis of observational studies[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(38): e17252
- Cepeda SJ, Zenteno AD, Fuentes SC, et al. Vitamin D and pediatric respiratory diseases[J]. *Rev Chil Pediatr*, 2019, 90(1): 94-101
- McGill JL, Kelly SM, Guerra-Maupome M, et al. Vitamin A deficiency impairs the immune response to intranasal vaccination and RSV infection in neonatal calves[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 15157
- Debelo H, Novotny JA, Ferruzzi MG. Vitamin A[J]. *Adv Nutr*, 2017, 8(6): 992-994
- Gu YH, Kang KM, Yamashita T, et al. Effects of Vitamin E on the immune system and tumor growth during radiotherapy [J]. *J Cancer Res Ther*, 2021, 17(1): 211-217
- 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. 反复呼吸道感染的临床概念和处理原则 [J]. *中华儿科杂志*, 2008, 46(2): 108-110
- Zhang X, Yang K, Chen L, et al. Vitamin A deficiency in critically ill children with sepsis[J]. *Crit Care*, 2019, 23(1): 267
- 李欣, 邵庆亮, 由军. 血清维生素 A、锌水平与儿童感染性肺炎的相关性研究[J]. *医学研究杂志*, 2020, 49(9): 94-97
- 王纯花, 王翠萍, 冯娇梅. 维生素 A 水平与儿童肺炎支原体感染的关系研究[J]. *中国医师杂志*, 2018, 20(10): 1551-1553
- Zhang J, Sun RR, Yan ZX, et al. Correlation of serum vitamin A, D, and E with recurrent respiratory infection in children[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(18): 8133-8138
- Timoneda J, Rodríguez-Fernández L, Zaragoza R, et al. Vitamin A Deficiency and the Lung[J]. *Nutrients*, 2018, 10(9): 1132
- Huang Z, Liu Y, Qi G, et al. Role of Vitamin A in the Immune System[J]. *J Clin Med*, 2018, 7(9): 258
- Roche FC, Harris-Tryon TA. Illuminating the Role of Vitamin A in Skin Innate Immunity and the Skin Microbiome: A Narrative Review [J]. *Nutrients*, 2021, 13(2): 302
- Yee MMF, Chin KY, Ima-Nirwana S, et al. Vitamin A and Bone Health: A Review on Current Evidence [J]. *Molecules*, 2021, 26(6): 1757
- Miyazawa T, Burdeos GC, Itaya M, et al. Vitamin E: Regulatory Redox Interactions[J]. *IUBMB Life*, 2019, 71(4): 430-441
- Birringer M, Lorkowski S. Vitamin E: Regulatory role of metabolites [J]. *IUBMB Life*, 2019, 71(4): 479-486
- Sozen E, Demirel T, Ozer NK. Vitamin E: Regulatory role in the cardiovascular system[J]. *IUBMB Life*, 2019, 71(4): 507-515
- Traber MG. Vitamin E inadequacy in humans: causes and consequences[J]. *Adv Nutr*, 2014, 5(5): 503-514
- Qi YJ, Niu QL, Zhu XL, et al. Relationship between deficiencies in vitamin A and E and occurrence of infectious diseases among children[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(23): 5009-5012
- 叶冬梅, 刘晓梅, 李明, 等. 基于倾向性评分匹配法探讨血清维生素 A、E 对反复呼吸道感染患儿的影响[J]. *中国医师杂志*, 2020, 22(6): 830-833