

过敏性胃肠病患儿血维生素 D 水平与嗜酸性粒细胞及 IgE 相关性研究

张 阳¹,何祖慧²,卓玉杰²,蔡心怡²,杨 光^{2*}

(¹南京医科大学附属南京儿童医院儿科研究所,²消化科,江苏 南京 210008)

[摘要] 目的:探讨过敏性胃肠病患儿血清维生素 D 水平及其与嗜酸性粒细胞和 IgE 之间的相关性。方法:以 25 例健康儿童为对照,酶联免疫法测定 41 例过敏性胃肠病患儿血清 25 羟维生素 D₃[25(OH)D₃]水平,用化学荧光法和免疫印迹法分别测定总 IgE 和过敏原特异性 IgE(sIgE)。结果:过敏性胃肠病患儿外周血 25(OH)D₃ 水平与对照组无差别($P > 0.05$),但维生素 D 不足[25(OH)D₃<75 nmol/L]的比率高($P < 0.05$)。虽然维生素 D 不足和维生素 D 水平正常[25(OH)D₃≥75 nmol/L]的患儿外周血嗜酸性粒细胞计数在过敏食物回避前无显著差别($P > 0.05$),维生素 D 正常患儿嗜酸性粒细胞比率和绝对计数在过敏食物回避 1 周后显著下降($P < 0.05$),而维生素 D 不足患儿过敏食物回避后嗜酸性粒细胞比率和绝对计数与回避前比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。并且维生素 D 不足患儿血清总 IgE 水平、总 IgE>180 U/L 比率和 sIgE 阳性率均高于维生素 D 正常组。结论:维生素 D 水平状态与过敏性胃肠病患儿嗜酸性粒细胞和 IgE 升高有关。

[关键词] 过敏性胃肠病;维生素 D;嗜酸性粒细胞

[中图分类号] R725.9

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2015)11-1649-03

doi:10.7655/NYDXBNS20151132

过敏性胃肠病是由食物蛋白等过敏原引起的胃肠道不同部位不同程度的嗜酸性粒细胞浸润和炎症反应并导致消化道功能紊乱的一组疾病^[1],不仅是引起儿童生长发育迟缓的重要原因,而且还由于临床表现无特异性而致使误诊和诊断困难,给患儿和家属造成严重的精神和经济负担。但过敏性胃肠病的病理机制还不清楚。嗜酸性粒细胞是参与机体过敏反应并且具有多种功能的主要细胞,并常在过敏性胃肠病患者外周血一过性或持续性升高,其影响因素还不清楚。近来研究报道,维生素 D 对机体免疫具有重要的调节作用并与过敏性疾病密切相关^[2]。在本研究中,我们检测了过敏性胃肠病患儿外周血维生素 D 水平,并分析了维生素 D 水平与外周血嗜酸性粒细胞、总 IgE 和过敏原特异性 IgE(sIgE)的相关性。

1 对象与方法

1.1 对象

选择南京医科大学附属南京儿童医院消化专科门诊考虑为过敏性胃肠病患儿共 41 例,年龄 1~11 岁,平均年龄(4.27 ± 2.94)岁,男 25 例,女 16 例,病程均>2 个月,主要临床表现为食欲不振、腹痛、腹

泻、呕吐、腹胀等消化道症状,且外周血嗜酸性粒细胞百分比>5%,临床表现及病史、实验室、B 超等检查排除了其他原因引起的嗜酸性粒细胞增多,并且常见的过敏性食物(牛奶、鸡蛋、鱼/虾、花生等)回避后患儿消化道症状好转或消失。记录患儿过敏性食物回避 1 周前后的临床症状并采用全自动血液分析仪计数外周血嗜酸性粒细胞变化。同时选择 25 例健康儿童为对照组,均无过敏性疾病史及家族史,男 14 例,女 11 例;年龄 1~12 岁,平均(4.44 ± 3.37)岁。两组年龄、性别差异无统计学意义。所有标本的收集,均经受试者监护人知情同意及医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 样本采集及处理

抽取 2 mL 静脉血置于有分离胶的真空管,待凝固后分离血清。

1.2.2 血清 25(OH)D₃ 检测

用酶联免疫法(ELISA)测定血清 25(OH)D₃,检测试剂盒购自英国 IDS 公司,严格按照试剂盒说明书操作。

1.2.3 血清总 IgE 和过敏原 sIgE 检测

采用 Robase601 电化学发光免疫分析系统及原装配套试剂盒测定血清总 IgE;用欧蒙印迹自动操作仪(EUROBLotMaster)及原装配套试剂盒以免疫印迹法检测血清中吸入性和食物过敏原 sIgE。吸入

[基金项目] 南京市医学科技发展重点项目(ZKX13039)

*通信作者(Corresponding author),E-mail:gyangnj@qq.com

性过敏原包括户尘螨、屋尘、狗毛皮屑、苜、桑树、豚草组合、柏榆组合及真菌组合,食入性过敏原包括鸡蛋蛋白、牛奶、虾、蟹、贝。严格按照试剂盒说明书操作。儿童外周血总 IgE<180 U/mL 为正常值。

1.3 统计学方法

采用 SPSS19.0 软件进行统计分析。计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,经方差齐性检验后,组间差异比较采用 *t* 检验,率的比较采用 χ^2 检验,以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 过敏性胃肠病患儿外周血维生素 D 水平变化

25(OH)D₃ 浓度用于评价机体维生素 D 营养状况。过敏性胃肠病患儿和对照组外周血 25(OH)D₃ 水平见表 1。与同龄正常儿相比,过敏性胃肠病患儿外周血 25(OH)D₃ 水平为(82.64 ± 30.14)nmol/L,尽管低于对照组(83.15 ± 31.11)nmol/L,但两组差异无统计学意义($P > 0.05$)。在 41 例过敏性胃肠病患儿中血清 25(OH)D₃<75 nmol/L 即维生素 D 不足的患儿 23 例,占过敏性胃肠病儿童的 56.1%,25 例正常对照组中维生素 D 不足 7 例,维生素 D 不足比率为 28.0%,经统计分析,两者差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组在性别、年龄方面比较,差异无统计学意义。

表 1 过敏性胃肠病患儿和正常对照组血清 25(OH)D₃ 水平比较

组别	例数	性别 (男/女)	年龄(岁)	25(OH)D ₃ (nmol/L)	维生素 D 不 足比率(%)
患儿组	41	25/16	4.27 ± 2.94	82.64 ± 30.145	56.1*
对照组	25	14/11	4.44 ± 3.37	83.15 ± 31.11	28.0

与对照组比较,* $P < 0.05$ 。

2.2 维生素 D 水平与患儿外周血嗜酸性粒细胞和 IgE 的相关性分析

维生素 D 不足的过敏性胃肠病患儿血清 25(OH)D₃ 为(61.51 ± 9.60)nmol/L,显著低于维生素 D 水平正常[25(OH)D₃ ≥ 75 nmol/L]患儿(109.64 ± 23.27)nmol/L($P < 0.01$,表 2)。如表 2 结果所示,维生素 D 不足的患儿多为年龄偏大的儿童,两组年龄比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。维生素 D 不足组小于 2 岁[平均年龄(1.63 ± 0.45 岁)]的患儿血清 25(OH)D₃ 水平为(63.00 ± 9.16)nmol/L,显著低于维生素 D 正常组年龄小于 2 岁[平均年龄(1.48 ± 0.23)岁]患儿的 25(OH)D₃ 水平 [(113.80 ± 23.09)nmol/L, $P < 0.01$],同时维生素 D 不足组年龄大于 2 岁[平均年龄(6.24 ± 2.32)岁]患儿 25(OH)D₃ 水平为(61.10 ±

9.91)nmol/L,也显著低于维生素 D 正常组年龄大于 2 岁[平均年龄(4.90 ± 2.98)岁]患儿的 25(OH)D₃ 水平 [(103.67 ± 23.31)nmol/L, $P < 0.01$]。

我们进一步分析了维生素 D 不足和维生素 D 正常的过敏性胃肠病患儿在过敏食物回避 1 周前后外周血嗜酸性粒细胞百分比和绝对计数。如表 2 结果所示,维生素 D 不足患儿食物回避前嗜酸性粒细胞百分比(8.76 ± 3.04)%高于维生素 D 正常患儿的百分比(7.04 ± 1.52)%($P < 0.05$),但两组嗜酸性粒细胞绝对计数差异无统计学意义($P > 0.05$)。维生素 D 不足的患儿在过敏食物回避后,嗜酸性粒细胞百分比和绝对计数与回避前相比,差异无统计学意义($P > 0.05$),而维生素 D 正常的患儿在食物回避后嗜酸性粒细胞百分比和绝对计数均显著下降($P < 0.05$)。

维生素 D 不足组患儿血清总 IgE 为(653.19 ± 974.01)U/L,明显高于维生素 D 正常患儿血清总 IgE(191.28 ± 245.01)U/L($P < 0.05$)。维生素 D 不足组总 IgE>180 U/L 所占比率为 56.52%(13/23),sIgE 阳性率 39.12%(9/23),均高于维生素 D 正常患儿。

表 2 维生素 D 不足与维生素 D 正常的过敏性胃肠病患儿外周血免疫指标比较 [n(%)]

参数	维生素 D 不足组	维生素 D 正常组
例数	23	18
年龄(岁)	5.43 ± 2.80	2.69 ± 2.38**
25(OH)D ₃ (nmol/L)	61.51 ± 9.60	109.64 ± 23.27**
过敏食物回避前嗜酸性细胞		
百分比(%)	8.76 ± 3.04	7.04 ± 1.52*
绝对计数(10 ⁹ 个/L)	0.70 ± 0.35	0.61 ± 0.20
回避 1 周后嗜酸性粒细胞		
百分比(%)	7.14 ± 3.15	4.02 ± 2.99#
绝对计数(10 ⁹ 个/L)	0.64 ± 0.40	0.30 ± 0.21#
总 IgE(U/L)	653.19 ± 974.01	191.28 ± 245.01*
总 IgE>180 U/L 的比率(%)	56.52	27.78
sIgE 阳性率(%)	39.12	33.33

与维生素 D 不足组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与过敏食物回避前比较,# $P < 0.05$ 。

3 讨论

维生素 D 是一种脂溶性类固醇衍生物,研究证实维生素 D 不仅调节体内钙磷代谢平衡,还具有调节机体免疫的作用。近来的观察和研究表明,维生素 D 水平的变化是过敏性疾病发病率增加的重要因素^[2]。有许多研究报道,哮喘、特异性皮炎等过敏性疾病患者血清维生素 D 水平显著下降,并与

疾病病理状态密切相关^[3]。在本研究中,我们发现,虽然食物相关的过敏性胃肠病患儿血清维生素 D 总体水平无明显下降,但维生素 D 不足的发生率却显著增加;而且在维生素 D 不足患儿,不仅外周血嗜酸性粒细胞增多、血清总 IgE 水平升高和 sIgE 阳性率增加,而且患儿回避过敏食物前后,嗜酸性粒细胞差异无统计学意义。这些结果表明,维生素 D 水平状态与过敏性胃肠病嗜酸性粒细胞和 IgE 变化有关。

嗜酸性粒细胞和 IgE 是参与 Th2 介导的过敏性反应的主要成分。嗜酸性粒细胞来自骨髓造血干细胞,正常生理状态下外周血嗜酸性粒细胞在外周血滞留时间短,很快迁移器官组织,而消化道(除食管外)是嗜酸性粒细胞在正常生理状态下寄居的主要场所。胃肠道正常寄居的嗜酸性粒细胞在肠道黏膜免疫和维持胃肠道平衡中起关键作用。嗜酸性粒细胞通过表达激活受体、存储和释放预先合成的细胞毒性因子、重新合成多种细胞因子或炎症介导因子,并与多种细胞直接或间接相互作用,发挥识别和中和病原、启动和放大免疫反应等功能。如最新研究报道嗜酸性粒细胞不仅能够促进花生诱导的过敏动物肠道抗原递呈树突状细胞激活和向肠系膜淋巴结迁移而诱导 Th2 介导的过敏反应^[4],而且还与 B 细胞存活和扩增以及免疫球蛋白型别转换和肠道分泌型 IgA 产生密切相关^[5]。维生素 D 不足的过敏性胃肠病患儿外周血嗜酸性粒细胞持续升高,提示维生素 D 不足可能通过影响嗜酸性粒细胞功能而促进了过敏性胃肠病的病理过程。

嗜酸性粒细胞等多种免疫细胞,组成性表达维生素 D 受体和维生素 D 代谢所需的 1-羟化酶,能将 25(OH)D₃ 转化为具有生物学活性的 1,25-羟维生素 D₃,并与细胞内的维生素 D 受体结合。研究发现,1,25-羟维生素 D₃ 能上调嗜酸性粒细胞趋化因子受体表达^[6],而且维生素 D 不足通过损伤肠道内皮细胞和增加消化道黏膜通透性等诱导异常胃肠道黏膜免疫反应^[7]。如维生素 D 不足还能上调内皮细胞表达和分泌嗜酸性粒细胞趋化因子-1(eoxatin-1),而 eoxatin-1 在嗜酸性粒细胞向组织迁移中起重要作用;25(OH)D₃ 能剂量依赖性地抑制促炎症性的辅助性 T 细胞 17(Th17) 的分化和树突状细胞分泌白介

素-17,从而降低 Th17 反应和哮喘患者呼吸道嗜酸性细胞浸润^[8]。在断奶小鼠饲料中加入维生素 D 能显著降低过敏原诱导的血清 IgE 水平和肺部嗜酸性细胞浸润^[9]。

本研究结果表明,维生素 D 不足与过敏性胃肠病免疫紊乱密切相关,但维生素 D 对过敏性胃肠病免疫调控的作用机制,尤其是对嗜酸性粒细胞生存、活化、迁移等生理功能的调节机制,以及纠正维生素 D 不足是否改变过敏性胃肠病免疫紊乱状况,具体补充的剂量、疗程及时机有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Aceves S, Hirano I, Furuta GT, et al. Eosinophilic gastrointestinal diseases--clinically diverse and histopathologically confounding[J]. *Semin Immunopathol*, 2012, 34(5):715-731
- [2] Mirzakhani H, Al-Garawi A, Weiss ST, et al. Vitamin D and the development of allergic disease; how important is it? [J]. *Clin Exp Allergy*, 2015, 45(1):114-125
- [3] 李如霞, 李孟荣. 维生素 D 对儿童过敏性疾病的免疫调节作用[J]. *中华儿科杂志*, 2015, 53(3):232-234
- [4] Bordon Y. Mucosal immunology: eosinophils get the party started[J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(9):580-581
- [5] Sutherland DB, Fagarasan S. Gut reactions: Eosinophils add another string to their bow[J]. *Immunity*, 2014, 40(4):455-457
- [6] Hiraguchi Y, Tanida H, Sugimoto M, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ upregulates functional C-x-C chemokine receptor type 4 expression in human eosinophils[J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2012, 158(Suppl 1):51-57
- [7] Kuehne H, Schutkowski A, Weinholz S, et al. Vitamin D receptor regulates intestinal proteins involved in cell proliferation, migration and stress response[J]. *Lipids Health Dis*, 2014, 13:51
- [8] Hamzaoui A, Berraies A, Hamdi B, et al. Vitamin D reduces the differentiation and expansion of Th17 cells in young asthmatic children[J]. *Immunobiology*, 2014, 219(11):873-879
- [9] Vasiliou JE, Lui S, Walker SA, et al. Vitamin D deficiency induces Th2 skewing and eosinophilia in neonatal allergic airways disease[J]. *Allergy*, 2014, 69(10):1380-1389

[收稿日期] 2015-08-10