

· 论 著 ·

血清 1-甲基-2-吡啶酮-5-羧酰胺、5,6-二氢胸腺嘧啶、胆绿素水平与哮喘儿童肺功能的相关性*

张称心, 李琳琳[△], 张艳波

内蒙古医科大学附属医院儿科, 内蒙古呼和浩特 010050

摘要:目的 探讨血清 1-甲基-2-吡啶酮-5-羧酰胺(2PY)、5,6-二氢胸腺嘧啶(DHT)、胆绿素(BV)水平与哮喘儿童肺功能的相关性。方法 纳入 2018 年 11 月至 2021 年 4 月该院收治的哮喘儿童 100 例为哮喘组,同时期行健康体检的健康儿童 100 例为对照组。检测两组研究对象血清 2PY、DHT、BV 水平和肺功能。采用 Pearson 相关分析 2PY、DHT、BV 水平与肺功能的相关性。采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析血清 2PY、DHT、BV 水平对儿童哮喘的诊断价值。结果 哮喘组用力肺活量(FVC)、第 1 秒用力呼气容积(FEV₁)、75%呼气中期流量(MEF75%)、50%呼气中期流量(MEF50%)、25%呼气中期流量(MEF25%)和最大呼气流量(PEF)均低于对照组($P < 0.05$)。哮喘组血清中 2PY、DHT、BV 水平均高于对照组($P < 0.05$)。血清 2PY、DHT、BV 水平与 FVC、FEV₁、MEF75%、MEF50%、MEF25%、PEF 均呈负相关($P < 0.05$)。高水平 2PY、DHT、BV 是儿童哮喘发生的危险因素($P < 0.05$)。血清 2PY、DHT、BV 诊断儿童哮喘的灵敏度分别为 92.0%、89.0%、97.0%,特异度分别为 94.0%、90.0%、91.0%。结论 血清 2PY、DHT、BV 水平与肺功能具有相关性,其可作为诊断儿童哮喘的潜在标志物。

关键词:1-甲基-2-吡啶酮-5-羧酰胺; 5,6-二氢胸腺嘧啶; 胆绿素; 肺功能; 儿童; 哮喘

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.12.005

中图法分类号:R725.6

文章编号:1673-4130(2022)12-1430-04

文献标志码:A

Correlation of serum levels of 1-methyl-2-pyridinone-5-carboxylamide, 5,6-dihydrothymine and biliverdin with lung function in children with asthma*

ZHANG Chenxin, LI Linlin[△], ZHANG Yanbo

Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia 010050, China

Abstract: Objective To explore the correlation of serum levels of 1-methyl-2-pyridone-5-carboxamide (2PY), 5,6-dihydrothymine (DHT) and biliverdin (BV) levels with lung function in children with asthma. **Methods** A total of 100 children with asthma admitted to our hospital from November 2018 to April 2021 were included in the asthma group, and 100 healthy children were included in the control group. The levels of 2PY, DHT, BV in serum and lung function of the two groups were tested. Pearson correlation coefficient was used to analyze the correlation between 2PY, DHT, BV levels and lung function. Receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze serum 2PY, DHT, BV levels in the diagnosis of childhood asthma. **Results** The forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume in the first second (FEV₁), 75% of mid expiratory flow (MEF75%), MEF50%, MEF25% and maximum expiratory flow (PEF) of the subjects in the asthma group were lower than those in the control group ($P < 0.05$). The serum levels of 2PY, DHT, and BV in the subjects in the asthma group were higher than those in the control group ($P < 0.05$). 2PY, DHT, BV levels were negatively correlated with FVC, FEV₁, MEF75%, MEF50%, MEF25% and PEF ($P < 0.05$). In addition, higher levels of 2PY, DHT, and BV were risk factors for childhood asthma. The sensitivities of 2PY, DHT, and BV in the diagnosis of childhood asthma in the serum were 92.0%, 89.0%, and 97.0%, respectively, and the specificities were 94.0%, 90.0%, and 91.0%, respectively. **Conclusion** The levels of 2PY, DHT, and BV in serum are correlated with lung function, which can be used as potential signs of childhood asthma.

Key words: 1-methyl-2-pyridinone-5-carboxylamide; 5,6-dihydrothymine; biliverdin; lung function; childhood; asthma

* 基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目(2018MS08074)。

作者简介: 张称心, 男, 主任医师, 主要从事小儿内科血液系统疾病方面的研究。△ 通信作者, E-mail: 1135315688@qq.com。

哮喘是一种慢性呼吸系统疾病,各年龄段人群均有发病,其特征是气喘、胸闷、呼吸短促和咳嗽的发作^[1]。根据美国疾病控制与预防中心 2016 年的报告,5~11 岁和 12~17 岁儿童的哮喘患病率分别为 9.6%和 10.5%^[2]。在中国,哮喘是儿童中常见的慢性疾病,给家庭带来了严重的负担^[3]。许多物质已经被确定为哮喘的影响因素,但这些物质如何影响疾病仍不清楚^[4]。代谢组学是对生物系统中所有代谢物(包括碳水化合物、肽、氨基酸、有机酸、核苷酸和脂类)进行系统分析的学科,它已成为诊断疾病新生物标志物的有效工具,并可能帮助识别与复杂疾病相关的新途径^[5]。与转录、翻译或翻译后的变化相比,代谢物可能是更准确的疾病标志物,因为它们水平的变化代表了一种整合的病理生理学特征,是遗传和环境相互作用的结果^[6]。已有研究发现,哮喘儿童血清中 1-甲基-2-吡啶酮-5-羧酰胺(2PY)、5,6-二氢胸腺嘧啶(DHT)、胆绿素(BV)水平异常^[7],但是这种异常是否与肺功能相关仍然未知。基于此,本研究探讨哮喘儿

童血清 2PY、DHT、BV 水平与肺功能的关系,以及 3 种指标对哮喘的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2018 年 11 月至 2021 年 4 月本院收治的哮喘儿童 100 例为哮喘组,选择同时期体检的健康儿童 100 例为对照组。纳入标准:(1)哮喘患儿符合《儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016 年版)》^[8]。具体表现如下:①多于每月 1 次的频繁发作性喘息;②活动诱发的咳嗽或喘息;③非病毒感染导致的间歇性夜间咳嗽;④喘息症状持续至 3 岁以后;⑤抗哮喘治疗有效,但停药后又复发。(2)哮喘患儿家属知情同意并签订知情同意书。排除标准:(1)早产儿;(2)无法配合完成本研究检测者;(3)先天性呼吸道疾病者。对照组与哮喘组一般资料的比较见表 1,两组性别比例、年龄和母乳喂养比例差异无统计学意义($P > 0.05$),但有家族过敏史比例、用力肺活量(FVC)比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。本研究经过本院伦理委员会批准。

表 1 两组一般资料比较

组别	n	男/女(n/n)	年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	母乳喂养[n(%)]	有家族过敏史[n(%)]	FVC(% , $\bar{x} \pm s$)
对照组	100	53/47	5.2 ± 1.7	44(44.0)	33(33.0)	93.2 ± 5.6
哮喘组	100	58/42	5.1 ± 1.5	52(52.0)	11(11.0)	75.9 ± 6.6
χ^2/t		0.506 1	0.441 1	1.282 0	14.100 0	19.990 0
P		0.476 8	0.659 6	0.257 5	0.000 2	<0.000 1

1.2 方法 入院时检测两组受试者的 FVC、第 1 秒用力呼气容积(FEV₁)、75%呼气中期流量(MEF75%)、50%呼气中期流量(MEF50%)、25%呼气中期流量(MEF25%)和最大呼气流量(PEF)。采集哮喘组入院时治疗前及对照组体检时的肘前静脉血 4 mL 后分离血清。依据标准品 2PY(RH125152, BIORULER)、DHT(T0532, TOPSCIENCE)、BV(RH106781, BIORULER)使用质谱检测血清中各指标水平。质谱检测的主要步骤如下:将 100 μL 的样品与 100 μL 水和 800 μL 甲醇混合,并在 -20 °C 下孵育 10 min 脱蛋白。以 13 000 × g 离心 10 min 后,将脱蛋白的上清液转移到干净的塑料离心管中。使用真空 SpeedVac 蒸发器在 45 °C 下蒸发溶剂 3 h。将干燥的残留物溶解在 100 μL 95%乙腈中,并加入 0.1%甲酸。然后使用 Bandelin RM 40UH 清洗机对样品进行超声处理 5 次,每次持续 30 s,以更好地溶解残留物。然后将样品以 13 000 × g 离心 10 min,所得上清液用于质谱分析。使用配备电喷雾电离源的 MicroTOF-Q 混合四极杆飞行时间质谱仪进行质谱分析。质谱仪设置为优先检测质荷比(m/z)为 50~1 000 的离子,质量准确度为(2~4)ppm。在正负离子电荷检测模式下记录光谱。使用连接到注射泵的

玻璃注射器将样品注入电喷雾电离源。样品到电离源的流速为 180 μL/h,样品以随机顺序注射。使用 DataAnalysis 程序从质谱峰确定离子代谢物的质量。选择所有高于噪音水平的峰值。如果两个峰的相对分子质量差异不超过 0.01,则认为两个峰与同一代谢物相关所得质谱数据的二元矩阵用于进一步分析。使用 Matlab v. 12 程序进行质谱处理。

1.3 统计学处理 使用 Prism 7.0 软件进行统计学分析。正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料采用百分数表示,采用 χ^2 检验。2PY、DHT、BV 水平与肺功能的相关性采用 Pearson 相关分析。采用 Logistic 回归分析儿童哮喘发生的相关因素。采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析血清中 2PY、DHT、BV 水平对儿童哮喘的诊断价值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 哮喘组和对对照组肺功能指标比较 哮喘组 FVC、FEV₁、MEF75%、MEF50%、MEF25%、PEF 均低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

2.2 哮喘组和对对照组血清 2PY、DHT、BV 水平比较 哮喘组血清 2PY、DHT、BV 水平均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

2.3 血清 2PY、DHT、BV 水平与肺功能指标的相关性 采用 Pearson 相关对 2PY、DHT、BV 水平与肺功能指标的相关性进行分析,发现 2PY、DHT、BV 水平

与 FVC、FEV₁、MEF75%、MEF50%、MEF25%、PEF 均呈负相关($P < 0.05$),见表 4。

表 2 哮喘组 and 对照组肺功能指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	FVC(%)	FEV ₁ (%)	MEF75%(mL)	MEF50%(mL)	MEF25%(mL)	PEF(%)
对照组	100	93.2±5.6*	92.4±3.9*	111.3±9.4*	96.0±7.6*	91.3±7.0*	99.4±10.2*
哮喘组	100	75.9±6.6	68.9±6.0	70.1±5.6	56.9±5.9	48.5±5.1	72.5±8.3

注:与哮喘组比较,* $P < 0.05$ 。

表 3 哮喘组 and 对照组血清 2PY、DHT、BV 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	2PY ($\mu\text{mol/L}$)	DHT ($\mu\text{mol/L}$)	BV ($\mu\text{g/mL}$)
对照组	100	8.99±2.32*	4.56±1.24*	25.65±3.43*
哮喘组	100	25.60±4.58	26.43±5.72	56.23±6.05

注:与哮喘组比较,* $P < 0.05$ 。

2.4 影响儿童哮喘发生的多因素 Logistic 回归分析 以是否发生儿童哮喘为因变量(是=1,否=0),以年龄、性别、体质量指数(BMI)、2PY、DHT、BV 水

平、婴幼儿期使用抗菌药物、母乳喂养、有家族过敏史为自变量进行 Logistic 回归分析。结果显示,2PY 高水平儿童的发病风险是低水平的 8.145 倍,DHT 高水平儿童的发病风险是低水平的 7.258 倍,BV 高水平儿童的发病风险是低水平的 8.617 倍,婴幼儿期使用抗菌药物的发病风险是未使用的 2.477 倍,有家族过敏史的发病风险是无家族过敏史的 3.405 倍,而年龄、性别、BMI、母乳喂养并不是儿童哮喘发生的风险因素,见表 5。

表 4 血清 2PY、DHT、BV 水平与肺功能指标的相关性(r)

指标	FVC	FEV ₁	MEF75%	MEF50%	MEF25%	PEF
2PY	-0.531	-0.356	-0.835	-0.375	-0.330	-0.318
DHT	-0.401	-0.597	-0.452	-0.465	-0.241	-0.458
BV	-0.715	-0.585	-0.401	-0.311	-0.636	-0.776

表 5 影响儿童哮喘发生的多因素 Logistic 回归分析

因素	β	SE	Wald χ^2	P	OR	95%CI
2PY 高水平	2.234	0.279	58.161	<0.001	8.145	6.014~10.489
DHT 高水平	1.967	0.173	133.481	<0.001	7.258	5.157~9.987
BV 高水平	2.560	0.283	69.493	<0.001	8.617	6.577~11.678
婴幼儿期使用抗菌药物	0.894	0.398	5.431	0.023	2.477	0.149~0.792
有家族过敏史	0.692	0.539	4.992	0.007	3.405	0.338~0.950

2.5 血清 2PY、DHT、BV 水平对儿童哮喘的诊断价值 ROC 曲线分析结果显示,2PY 诊断儿童哮喘的曲线下面积(AUC)为 0.94(95%CI: 0.915 2~0.990 4);DHT 诊断儿童哮喘的 AUC 为 0.93(95%CI: 0.920 4~0.973 5);BV 诊断儿童哮喘的 AUC 为 0.95(95%CI: 0.921 7~0.989 4)。见表 6。

表 6 血清中 2PY、DHT、BV 水平诊断儿童哮喘的价值分析

指标	灵敏度 (%)	特异度 (%)	约登指数	AUC	AUC 的 95%CI	P
2PY	92.0	94.0	0.86	0.94	0.915 2~0.990 4	<0.000 1
DHT	89.0	90.0	0.83	0.93	0.920 4~0.973 5	<0.000 1
BV	97.0	91.0	0.88	0.95	0.921 7~0.989 4	<0.000 1

3 讨论

本研究通过检测血清 2PY、DHT、BV 水平与肺功能的相关性,发现 2PY、DHT、BV 水平与 FVC、FEV₁、MEF75%、MEF50%、MEF25%、PEF 均呈负相关($P < 0.05$),并且 2PY、DHT、BV 高水平是儿童哮喘发生的风险因素。血清 2PY、DHT、BV 诊断儿童哮喘的灵敏度分别为 92.0%、89.0%、97.0%,特异度分别为 94.0%、90.0%、91.0%。提示血清 2PY、DHT、BV 水平可作为诊断儿童哮喘的潜在标志物。

本研究结果显示,哮喘组中烟酰胺途径代谢产物 2PY 水平高于对照组($P < 0.05$)。相关研究显示,烟酰胺和烟酰胺代谢途径与哮喘表型有关^[9]。一项对人类气道平滑肌的体外研究表明,来自哮喘供体的细胞烟酰胺腺嘌呤二磷酸(NADPH)氧化酶的表达增加,

从而促进氧化应激和平滑肌细胞的收缩^[10]。另有研究结果显示,中性粒细胞性哮喘患者 NADPH 氧化酶表达增加,同时支气管上皮纤毛功能降低^[11]。这些体外模型为本研究观察到的血浆烟酰胺代谢物与当前哮喘之间的关系提供了生物学基础。

本研究发现,哮喘组血清 BV 水平均高于对照组 ($P < 0.05$)。BV 是哮喘儿童中产生的一种代谢物,是胆汁的成分之一^[12]。相关研究表明,血红素加氧酶(血红素中产生 BV 的酶)的活性可能会对呼吸道的黏液分泌产生影响^[13]。对健康人支气管上皮细胞的研究结果显示,血红素加氧酶的过表达与白细胞介素(IL)-13 诱导的杯状细胞减少和黏蛋白 MUC5 分泌减少有关^[14]。哮喘患者血清 BV 水平的降低可能反映血红素加氧酶的活性降低,这可能有助于气道黏液分泌的增加。

与对照组相比,哮喘组血清 DHT 水平升高提示哮喘患儿的嘧啶代谢可能发生改变,这可能与哮喘的病理生理学有关。一项针对哮喘患儿的大型代谢组学研究表明,嘧啶代谢物与哮喘的 3 个表型(甲胆碱反应性、支气管扩张剂使用前 FEV₁/FVC 和支气管扩张剂使用后 FEV₁/FVC)之间存在关联^[15]。然而,嘧啶代谢与影响哮喘的生理过程之间的联系尚不清楚,值得进一步研究。

本研究发现婴幼儿期使用抗菌药物其哮喘的发病风险是未使用的 2.477 倍,有家族过敏史的发病风险是无家族过敏史的 3.405 倍。过敏可能是儿童哮喘发生的一个重要因素,因为与轻度哮喘患儿相比,患有更严重哮喘患儿更具有特异性,并且往往暴露于更高水平的过敏原中^[16]。家族过敏史是儿童哮喘的重要风险因素,越来越多的证据表明过敏具有遗传风险^[17]。因此,遗传因素确实在儿童哮喘风险中发挥重要作用,儿童哮喘与遗传关系密切。

综上所述,血清 2PY、DHT、BV 水平与肺功能具有相关性,其可作为诊断儿童哮喘的潜在标志物。

参考文献

- [1] KELLY R S, SORDILLO J E, LUTZ S M, et al. Pharmacometabolomics of Bronchodilator Response in Asthma and the Role of Age-Metabolite Interactions[J]. *Metabolites*, 2019, 9(9): 179.
- [2] LEE-SARWAR K A, LASKY-SU J, KELLY R S, et al. Gut microbial-derived metabolomics of asthma[J]. *Metabolites*, 2020, 10(3): 97.
- [3] OH J H, SUH-YOUNG L, CHO S H, et al. Novel Plasma Metabolite Markers From Arachidonic Acid Pathway For Distinguishing Refractory Asthma[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2019, 143(2): AB298.
- [4] 邹小青, 张秀峰. 重症哮喘的靶向治疗进展[J]. *中南医学科学杂志*, 2020, 48(1): 109-112.
- [5] ZHU Z, CAMARGO JR C A, HASEGAWA K. Metabolomics in the prevention and management of asthma[J]. *Expert Rev Respir Med*, 2019, 13(12): 1135-1138.
- [6] HEGDE S. Does asthma make COVID-19 worse? [J]. *Nature Rev Immunol*, 2020, 20(6): 352.
- [7] KELLY R S, SORDILLO J E, LASKY-SU J, et al. Plasma metabolite profiles in children with current asthma[J]. *Clin Exp Allergy*, 2018, 48(10): 1297-1304.
- [8] 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. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016 年版)[J]. *中华儿科杂志*, 2016, 54(3): 167-181.
- [9] GUO S L, LIU F, REN C J, et al. Correlations of LT α and NQO1 gene polymorphisms with childhood asthma[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(17): 7557-7562.
- [10] LEE Y S, KIM J H, LIM D H. Urine microbe-derived extracellular vesicles in children with asthma[J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2021, 13(1): 75-87.
- [11] PAPANICHAEL M M, KATSARDIS C, SARANDI E, et al. Application of Metabolomics in Pediatric Asthma: Prediction, Diagnosis and Personalized Treatment[J]. *Metabolites*, 2021, 11(4): 251.
- [12] ZOU Z Y, LIU J, CHANG C, et al. Biliverdin administration regulates the microRNA-mRNA expressional network associated with neuroprotection in cerebral ischemia reperfusion injury in rats[J]. *Inter J Mol Med*, 2019, 43(3): 1356-1372.
- [13] BISHT K, CANESIN G, CHEYTAN T, et al. Deletion of biliverdin reductase A in myeloid cells promotes chemokine expression and chemotaxis in part via a complement C5a-C5aR1 pathway[J]. *J Immunol*, 2019, 202(10): 2982-2990.
- [14] SANJEEWA K K A, JAYAWARDENA T U, LEE H G, et al. The protective effect of *Sargassum horneri* against particulate matter-induced inflammation in lung tissues of an in vivo mouse asthma model[J]. *Food Funct*, 2019, 10(12): 7995-8004.
- [15] LIANG D, LADVA C N, GOLAN R, et al. Perturbations of the arginine metabolome following exposures to traffic-related air pollution in a panel of commuters with and without asthma[J]. *Enviro Int*, 2019, 127: 503-513.
- [16] BONNER K, ROBERTS G. Does allergy explain why some children have severe asthma? [J]. *Clin Exp Allergy*, 2018, 48(12): 1594-1605.
- [17] ASAI Y, MARTINO D, EIWEGER T, et al. Phenotype consensus is required to enable large-scale genetic consortium studies of food allergy[J]. *Allergy*, 2020, 75(9): 2383-2387.