

## 呼吸系统疾病多学科研究专题

## 阿奇霉素联合大剂量维生素 C 治疗儿童肺炎支原体肺炎的临床效果及对外周血 T 淋巴细胞亚群、炎症因子及相关蛋白的影响

丁杰<sup>1</sup>, 张冰<sup>2</sup>, 宋爱琴<sup>1</sup>

(1. 青岛大学附属医院 儿童重症医学科, 山东 青岛, 266003;

2. 山东省威海市立医院 儿科, 山东 威海, 264200)

**摘要:** **目的** 探讨阿奇霉素联合大剂量维生素 C(VC)治疗儿童肺炎支原体肺炎(MPP)的临床效果及对外周血 T 淋巴细胞亚群、血清白细胞介素(IL)-17、超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)及外周血单个核细胞 E2 相关因子 2(Nrf2)蛋白和咽拭子 P1 蛋白的影响。**方法** 选取 2020 年 6 月—2023 年 6 月收治的 240 例 MPP 患儿作为观察对象,随机分为大剂量 VC 组、小剂量 VC 组 and 对照组,每组 80 例。对照组予以阿奇霉素治疗,小剂量 VC 组予以阿奇霉素 + 小剂量 VC 治疗,大剂量 VC 组予以阿奇霉素 + 大剂量 VC 治疗,3 组均治疗 2 周。记录 3 组患儿临床疗效、临床症状持续时间。采集 3 组治疗前后空腹静脉血和咽拭子。采用流式细胞术检测外周血 T 淋巴细胞亚群(CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>) ; 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 IL-17、hs-CRP、VC; 采用实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)检测外周血单个核细胞 Nrf2 蛋白和咽拭子 P1 蛋白 mRNA 表达水平。记录并对比 3 组治疗期间不良反应发生情况。**结果** 治疗后,大剂量 VC 组和小剂量 VC 组发热、咳嗽咯痰、肺部湿啰音持续时间和住院时间均短于对照组,大剂量 VC 组退热、咳嗽咯痰、肺部湿啰音持续时间和住院时间均短于小剂量 VC 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。3 组患儿外周血 T 淋巴细胞亚群 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 水平均较治疗前升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 大剂量 VC 组 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 水平均高于小剂量 VC 组和对照组,小剂量 VC 组 CD4<sup>+</sup> 水平高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。3 组血清 IL-17、hs-CRP 水平均较治疗前下降,大剂量 VC 组血清 IL-17、hs-CRP 水平均低于小剂量 VC 和对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 小剂量 VC 组 IL-17、hs-CRP 水平与对照组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。大剂量 VC 组和小剂量 VC 组血清 VC 水平较治疗前上升,且大剂量 VC 组血清 VC 水平高于小剂量 VC 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。小剂量 VC 组 IL-17、hs-CRP 水平与对照组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。3 组外周血单个核细胞 Nrf2、咽拭子 P1 蛋白 mRNA 表达水平均较治疗前下降,且大剂量 VC 组 Nrf2 mRNA 表达水平高于小剂量 VC 组和对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。3 组 P1 蛋白 mRNA 表达水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。3 组患儿治疗期间均未出现明显不良反应。**结论** 阿奇霉素联合大剂量 VC 可有效改善 MPP 患儿临床症状,提高免疫力,降低 IL-17、hs-CRP 水平,维持 Nrf2 mRNA 水平,提高临床疗效,且安全性较高。

**关键词:** 儿童肺炎支原体肺炎; 阿奇霉素; 大剂量维生素 C; T 淋巴细胞亚群; 炎症因子; E2 相关因子 2 蛋白; 咽拭子 P1 蛋白

中图分类号: R 364.5; R 720.5; R 816.41 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2024)14-054-06 DOI: 10.7619/jcmp.20240477

Effects of azithromycin combined with high-dose vitamin C in children with *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia and its influences on peripheral blood T lymphocyte subsets, inflammatory factors and related proteinsDING Jie<sup>1</sup>, ZHANG Bing<sup>2</sup>, SONG Ai-qin<sup>1</sup>

(1. Department of Pediatric Critical Care Medicine, the Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao, Shandong, 266003; 2. Department of Pediatrics, Weihai Municipal Hospital of Shandong Province, Weihai, Shandong, 264200)

**Abstract: Objective** To explore the clinical curative effect of azithromycin combined with high-dose vitamin C (VC) in children with *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia (MPP) and its influences

on peripheral blood T lymphocyte subsets, serum interleukin (IL) -17, high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), E2-associated factor 2 (Nrf2) in peripheral blood mononuclear cells and P1 proteins in throat swab. **Methods** A total of 240 children with MPP confirmed in the hospital were enrolled as observation objects between June 2020 and June 2023. They were randomly divided into high-dose VC group, low-dose VC group and control group, with 80 cases in each group. The control group was treated with azithromycin, low-dose VC group was treated with azithromycin plus low-dose VC, and high-dose VC group was treated with azithromycin plus high-dose VC, the three groups all treated for 2 weeks. The clinical curative effect and duration of clinical symptoms in the three groups were recorded. Before and after treatment, fasting venous blood and throat swabs were collected in the three groups. T lymphocyte subsets ( $CD3^+$ ,  $CD4^+$ ,  $CD8^+$ ,  $CD4^+/CD8^+$ ) in peripheral blood were detected by flow cytometry. The levels of serum IL-17, hs-CRP and VC were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The mRNA levels of Nrf2 protein in peripheral blood mononuclear cells and P1 protein in throat swabs were detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR). The adverse reactions during treatment in the three groups were recorded and compared. **Results** After treatment, time of fever, cough, expectoration and lung moist rale, and length of hospital stay were shorten in high-dose VC group and low-dose VC group when compared with those in the control group ( $P < 0.05$ ), and were shorten in the high-dose VC group when compared with those in the low-dose VC group ( $P < 0.05$ ). After treatment, levels of peripheral blood T lymphocyte subsets ( $CD3^+$ ,  $CD4^+$ ,  $CD4^+/CD8^+$ ) were increased when compared with those before treatment in the three groups ( $P < 0.05$ ). The levels of  $CD3^+$ ,  $CD4^+$  and  $CD4^+/CD8^+$  in the high-dose VC group were higher than those in the low-dose VC group and control group ( $P < 0.05$ ), and  $CD4^+$  level in the low-dose VC group was higher than that in the control group ( $P < 0.05$ ). After treatment, levels of serum IL-17 and hs-CRP were decreased as compared with those before treatment in the three groups ( $P < 0.05$ ). The levels of serum IL-17 and hs-CRP in the high-dose VC group were lower than those in the low-dose VC and control group, but there was no difference between low-dose VC group and control group ( $P > 0.05$ ). After treatment, levels of serum VC were increased as compared with that before treatment in high-dose VC group and low-dose VC group, and it was higher in the high-dose VC group than low-dose VC group ( $P < 0.05$ ). There were no differences in IL-17 and hs-CRP between low-dose VC group and control group ( $P > 0.05$ ). After treatment, mRNA levels of Nrf2 protein in peripheral blood mononuclear cells and P1 protein in throat swabs were decreased compared with those before treatment in the three groups ( $P < 0.05$ ). The expression level of Nrf2 mRNA in the high-dose VC group was higher than that in the low-dose VC group and control group ( $P < 0.05$ ), but there was no significant difference in mRNA expression of P1 protein among the three groups ( $P > 0.05$ ). There were no obvious adverse reactions in any group during treatment. **Conclusion** Azithromycin combined with high-dose VC can effectively improve clinical symptoms, enhance immunity, reduce IL-17 and hs-CRP levels, maintain Nrf2 mRNA level and improve clinical curative effect in MPP children, and has higher safety.

**Key words:** *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children; azithromycin; high-dose vitamin C; T lymphocyte subset; inflammatory factors; E2-associated factor 2 protein; P1 protein in throat swab

肺炎支原体肺炎(MPP)是由支原体感染引起的肺部急性炎症疾病,好发于学龄期儿童,临床

以持续性干咳、发热、肺部湿啰音为主要表现,具有一定传染性<sup>[1-2]</sup>。近年来,5岁以下幼儿MPP

发病率呈逐年上升趋势,因幼儿免疫力相对低下,疾病发展急且病情重,以肺部体征为主要表现,易发展为危重呼吸衰竭,对患儿健康生长不利,因而合理治疗、提高临床疗效尤为重要。既往大环内酯类药物是治疗 MPP 的首选药物,以阿奇霉素最为常见。然而,该药物的广泛应用导致耐大环内酯类药物 MPP 发生率逐渐增高,部分患儿可能发展为难治性 MPP<sup>[3]</sup>,进而可能引发严重肺内外并发症,对其预后产生不利影响。因此,为 MPP 患儿寻找新的治疗方案是临床研究的重点课题。既往研究<sup>[4-5]</sup>表明,免疫失衡和呼吸道上皮细胞屏障功能下降是 MPP 的发病机制之一。因此,增强患儿免疫功能、提高呼吸道上皮细胞屏障功能可能是辅助临床治疗的关键。维生素 C(VC)是一种天然还原剂,不仅具有抗氧化和保护细胞屏障功能,还具有提高免疫力的作用<sup>[6]</sup>。既往研究<sup>[7-8]</sup>也将 VC 应用于感染性疾病的辅助治疗中,并取得了较好的辅助效果。T 淋巴细胞亚群与机体免疫有关,在感染性疾病中具有异常改变,与感染程度具有相关性<sup>[9]</sup>。白细胞介素-17(IL-17)是与 MPP 预后相关的指标<sup>[10]</sup>,超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)是敏感的炎性因子。外周血单个核细胞 E2 相关因子 2(Nrf2)蛋白作为氧化还原中的重要转录因子,具有抗氧化作用。P1 蛋白的黏附作用可对呼吸道黏膜进行直接性的破坏。本研究以外周血 T 淋巴细胞亚群、血清 IL-17、hs-CRP 及 Nrf2、P1 蛋白水平为临床观察指标,观察阿奇霉素联合大剂量 VC 治疗 MPP 患儿的临床疗效。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2020 年 6 月—2023 年 6 月收治确诊的 240 例 MPP 患儿作为观察对象。纳入标准:①符合 MPP 诊断标准<sup>[11]</sup>,且经咽拭子检测 MP 肺炎支原体抗原阳性(+;试剂盒为雅培诊断产品销售有限公司产出);②发病至就诊时间 < 7 d 者;③轻症和重症 MPP 者;④无交流障碍者;⑤患儿家属对研究内容了解且同意参与,签署知情同意书者。排除标准:①危重症、难治性和大环内酯类药物无反应性 MPP 者;②存在先天性免疫缺陷障碍患儿;③存在先天性或慢性呼吸系统疾病者;④反复呼吸道感染患儿;⑤有其他病原体感染或合并严重肝肾功能障碍者;⑥

治疗前接受过同等治疗者;⑦对本研究所用药物有禁忌证者。随机将患儿分为大剂量 VC 组、小剂量 VC 组和对照组,每组 80 例。

### 1.2 方法

3 组患儿均予吸氧、体温管理、止咳化痰、解痉平喘等基础对症治疗。对照组予以阿奇霉素注射液 10 mg/(kg·d) 静脉滴注,1 次/d,连续使用 5 d 后停用 3 d,再换成阿奇霉素干混悬剂口服,用量仍为 10 mg/(kg·d),1 次/d,口服 3 d 后停用 3 d。小剂量 VC 组在对照组基础上联合小剂量 VC 治疗,用法为 50 mg/(kg·d) VC 注射液 + 100 mL 10% 葡萄糖溶液 100 mL 静脉滴注,1 次/d,连续使用 5 d 停用 3 d,更换为 VC 片口服,每次 20 mg/(kg·d),3 次/d,连续使用 6 d。

大剂量 VC 组在对照组基础上联合大剂量 VC 治疗,用法为 100 mg/(kg·d) VC 注射液 + 100 mL 10% 葡萄糖溶液 100 mL 静脉滴注,1 次/d,连续使用 5 d 停用 3 d,更换为 VC 片口服,每次 40 mg/(kg·d),3 次/d,连续使用 6 d。3 组患儿均治疗 2 周,根据患儿治疗情况酌情延长治疗时间。

3 组患儿治疗所需阿奇霉素注射液、维生素 C 注射液等药物为江苏吴中医药集团有限公司苏州制药厂生产。阿奇霉素干混悬剂、维生素 C 片为苏州东瑞制药有限公司生产。

### 1.3 观察指标

临床症状改善情况及住院时间:记录 3 组患儿发热、咳嗽咯痰、肺部湿啰音持续时间、住院时间。

实验室指标:治疗前、治疗后(治疗后 2 周)分别抽取患儿空腹静脉血 5 mL,并分为 3 份(1、1、3 mL),采集患儿咽拭子,咽拭子管内加入 2 mL Trizol 溶液保存待检。取血液样本,采用流式细胞术(流式细胞仪:贝克曼 CytoFLEX)检测外周血 T 淋巴细胞亚群(CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>)。取血液样本,分离血清(3 000 r/min, 15 min, 半径 8 cm),采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 IL-17、hs-CRP、VC(试剂盒均采自深圳子科生物科技有限公司)。取 3 mL 血液样本,首先提取外周血单个核细胞,采用磷酸盐缓冲液(PBS)按照 1:1 比例进行稀释,采用移液枪吹打混匀,在 15 mL 离心管内加入制备好的 Ficoll 液(密度 1.077, 3 mL),后将稀释好的血液沿管壁缓慢加入,可见分层清晰,转至离心机(离心力 500 g,持续离心 25 min),舍弃上层黄色液体,毛细管吸取

中间层白色薄膜层,尽可能吸出所有单个核细胞,移至另 1 个离心管中,后采用 PBS(10 mL)混匀后离心(离心力 250 g,持续离心 10 min),弃上清,重复此步骤 2 次,洗净淋巴细胞分离液,2 次离心后弃上清液,收集细胞,去除残留 PBS 重悬细胞备用。采用实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)检测外周血单个核细胞 E2 相关因子 2(Nrf2)蛋白和咽拭子 P1 蛋白 mRNA 表达水平。以 GAPDH 为内参,2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup>法计算外周血单个核细胞 Nrf2、咽拭子 P1 蛋白 mRNA 表达水平。引物序列: Nrf2 上游引物 5'-TCGCAGGTCTCTCTCTCATCC-3';下游引物 5'-TGCAGGTCAACTGGTGTCCGT-3'。P1 上游引物 5'-TCAGTGC GGCTGGATTTT-3';下游引物 5'-ACAGGTGCCAAGGAGGTC-3'。GAPDH 上游引物: 5'-TCCCCATCACCATCTTCCAGG-3',下游引物 5'-GATGACCCTTTTGGCTCCC-3'。

观察 3 组患儿治疗期间不良反应发生情况。

#### 1.4 统计学处理

双人核对进行数据整理,利用 SPSS 22.0 统计学软件对数据进行处理,满足正态分布且方差齐的计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,行独立样本 *t* 检验

和配对 *t* 检验,计数资料采用[n(%)]表示,行 $\chi^2$ 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 3 组患儿临床基本资料比较

3 组患儿入院时基本资料比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。

### 2.2 3 组患儿临床症状改善情况及住院时间比较

治疗后,大剂量 VC 组和小剂量 VC 组发热、咳嗽咯痰、肺部湿啰音持续时间和住院时间均短于对照组,大剂量 VC 组退热、咳嗽咯痰、肺部湿啰音持续时间和住院时间均短于小剂量 VC 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 2。

### 2.3 3 组患儿外周血 T 淋巴细胞亚群水平比较

治疗后,3 组患儿外周血 T 淋巴细胞亚群 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>水平均较治疗前升高,大剂量 VC 组 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>水平均高于小剂量 VC 组和对照组,且小剂量 VC 组 CD4<sup>+</sup>水平高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。3 组治疗前后 CD8<sup>+</sup>水平比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 3。

表 1 3 组患儿临床基本资料比较( $\bar{x} \pm s$ )[n(%)]

| 指标                        | 大剂量 VC 组(n=80) | 小剂量 VC 组(n=80) | 对照组(n=80)      |
|---------------------------|----------------|----------------|----------------|
| 年龄/岁                      | 4.12 ± 2.37    | 4.17 ± 2.21    | 3.96 ± 2.13    |
| 性别                        |                |                |                |
| 男                         | 39(48.75)      | 42(52.50)      | 34(42.50)      |
| 女                         | 41(51.25)      | 38(47.50)      | 46(57.50)      |
| 体质指数/(kg/m <sup>2</sup> ) | 19.89 ± 1.12   | 20.14 ± 1.31   | 19.97 ± 1.29   |
| MPP 为轻症                   | 37(46.25)      | 42(52.50)      | 39(48.75)      |
| MPP 为重症                   | 43(53.75)      | 38(47.50)      | 41(51.25)      |
| 发病至就诊时间/d                 | 3.16 ± 1.17    | 2.99 ± 1.26    | 3.21 ± 1.31    |
| 入院时谷丙转氨酶/(μ/L)            | 15.30 ± 2.61   | 14.67 ± 3.44   | 14.94 ± 3.19   |
| 入院时肌酐/(μmol/L)            | 27.52 ± 5.38   | 28.17 ± 4.29   | 27.83 ± 5.16   |
| 入院时尿酸/(μmol/L)            | 278.14 ± 42.47 | 282.29 ± 44.72 | 281.36 ± 43.23 |

表 2 3 组患儿临床症状改善情况及住院时间比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别       | n  | 发热持续时间                    | 咳嗽咯痰持续时间                  | 肺部湿啰音持续时间                 | 住院时间                      |
|----------|----|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 大剂量 VC 组 | 80 | 2.54 ± 1.25 <sup>*#</sup> | 4.52 ± 0.97 <sup>*#</sup> | 5.41 ± 1.12 <sup>*#</sup> | 5.54 ± 1.37 <sup>*#</sup> |
| 小剂量 VC 组 | 80 | 2.98 ± 1.12 <sup>#</sup>  | 4.89 ± 0.69 <sup>#</sup>  | 5.84 ± 1.13 <sup>#</sup>  | 5.95 ± 1.15 <sup>#</sup>  |
| 对照组      | 80 | 3.48 ± 1.34               | 5.24 ± 0.86               | 6.37 ± 1.23               | 6.45 ± 1.21               |

与小剂量 VC 组比较, \* $P < 0.05$ ; 与对照组比较, # $P < 0.05$ 。

表 3 3 组患儿外周血 T 淋巴细胞亚群水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 指标                                 | 时点  | 大剂量 VC 组(n=80)                                | 小剂量 VC 组(n=80)                               | 对照组(n=80)                 | F      | P      |
|------------------------------------|-----|---|--|---------------------------|--------|--------|
| CD3 <sup>+</sup> /%                | 治疗前 | 63.24 ± 5.92                                  | 63.15 ± 6.13                                 | 64.12 ± 6.37              | 0.609  | 0.545  |
|                                    | 治疗后 | 70.52 ± 4.58 <sup>*#<math>\Delta</math></sup> | 69.16 ± 3.26 <sup>*</sup>                    | 68.74 ± 4.12 <sup>*</sup> | 4.277  | 0.015  |
| CD4 <sup>+</sup> /%                | 治疗前 | 30.54 ± 4.12                                  | 30.42 ± 3.67                                 | 30.63 ± 3.94              | 0.058  | 0.944  |
|                                    | 治疗后 | 37.14 ± 3.67 <sup>*#<math>\Delta</math></sup> | 35.69 ± 4.12 <sup>*<math>\Delta</math></sup> | 34.28 ± 3.16 <sup>*</sup> | 12.140 | <0.001 |
| CD8 <sup>+</sup> /%                | 治疗前 | 27.84 ± 0.71                                  | 27.64 ± 0.62                                 | 27.66 ± 0.83              | 1.846  | 0.160  |
|                                    | 治疗后 | 27.96 ± 1.65                                  | 27.84 ± 1.26                                 | 27.82 ± 2.13              | 0.156  | 0.856  |
| CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> | 治疗前 | 1.09 ± 0.15                                   | 1.10 ± 0.18                                  | 1.11 ± 0.17               | 0.286  | 0.751  |
|                                    | 治疗后 | 1.33 ± 0.17 <sup>*#<math>\Delta</math></sup>  | 1.28 ± 0.14 <sup>*</sup>                     | 1.24 ± 0.16 <sup>*</sup>  | 6.586  | 0.002  |

与治疗前比较, \* $P < 0.05$ ; 与小剂量 VC 组比较, # $P < 0.05$ ; 与对照组比较,  $\Delta P < 0.05$ 。

### 2.4 3 组患儿血清 IL-17、hs-CRP、VC 水平比较

3 组血清 IL-17、hs-CRP 水平均较治疗前下降,大剂量 VC 组血清 IL-17、hs-CRP 水平均低于小剂量 VC 和对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );小剂量 VC 组 IL-17、hs-CRP 水平与对照

组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。大剂量 VC 组和小剂量 VC 组血清 VC 水平较治疗前上升,且大剂量 VC 组血清 VC 水平高于小剂量 VC 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 4。

表 4 3 组患儿血清白细胞介素-17、超敏 C 反应蛋白、维生素 C 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别       | n  | 白细胞介素-17/(pg/mL)   |                              | 超敏 C 反应蛋白/(mg/L) |                           | 维生素 C/( $\mu$ mol/L) |                            |
|----------|----|--------------------|------------------------------|------------------|---------------------------|----------------------|----------------------------|
|          |    | 治疗前                | 治疗后                          | 治疗前              | 治疗后                       | 治疗前                  | 治疗后                        |
| 大剂量 VC 组 | 80 | 325.69 $\pm$ 78.49 | 225.69 $\pm$ 76.54* $\Delta$ | 15.16 $\pm$ 2.37 | 9.61 $\pm$ 1.98* $\Delta$ | 19.57 $\pm$ 4.98     | 28.96 $\pm$ 5.16* $\Delta$ |
| 小剂量 VC 组 | 80 | 327.68 $\pm$ 80.65 | 259.65 $\pm$ 77.18*          | 15.26 $\pm$ 2.15 | 10.38 $\pm$ 2.06*         | 19.63 $\pm$ 5.06     | 24.58 $\pm$ 6.15 $\Delta$  |
| 对照组      | 80 | 331.74 $\pm$ 81.36 | 262.31 $\pm$ 82.19*          | 15.21 $\pm$ 2.64 | 10.56 $\pm$ 2.11*         | 19.49 $\pm$ 5.12     | 20.65 $\pm$ 8.54           |

与治疗前比较, \* $P < 0.05$ ; 与小剂量 VC 组比较, # $P < 0.05$ ; 与对照组比较,  $\Delta P < 0.05$ 。

### 2.5 3 组患儿外周血单个核细胞 Nrf2、咽拭子

#### PI 蛋白 mRNA 表达水平比较

治疗后,3 组外周血单个核细胞 Nrf2、咽拭子 PI 蛋白 mRNA 表达水平均较治疗前下降,但大剂量 VC 组 Nrf2 mRNA 表达水平高于小剂量 VC 组

和对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );小剂量 VC 组 Nrf2 mRNA 表达水平与对照组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。3 组 PI 蛋白 mRNA 表达水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 5。

表 5 3 组患儿外周血单个核细胞 Nrf2、咽拭子 PI 蛋白 mRNA 表达水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别       | n  | Nrf2 mRNA 表达    |                           | PI 蛋白 mRNA 表达   |                  |
|----------|----|-----------------|---------------------------|-----------------|------------------|
|          |    | 治疗前             | 治疗后                       | 治疗前             | 治疗后              |
| 大剂量 VC 组 | 80 | 1.03 $\pm$ 0.34 | 0.75 $\pm$ 0.29* $\Delta$ | 1.02 $\pm$ 0.21 | 0.71 $\pm$ 0.16* |
| 小剂量 VC 组 | 80 | 1.06 $\pm$ 0.31 | 0.68 $\pm$ 0.14*          | 1.02 $\pm$ 0.23 | 0.74 $\pm$ 0.18* |
| 对照组      | 80 | 1.05 $\pm$ 0.30 | 0.65 $\pm$ 0.21*          | 1.03 $\pm$ 0.34 | 0.76 $\pm$ 0.21* |

与治疗前比较, \* $P < 0.05$ ; 与小剂量 VC 组比较, # $P < 0.05$ ; 与对照组比较,  $\Delta P < 0.05$ 。

### 2.6 3 组不良反应比较

3 组患儿治疗期间均未出现严重不良反应。

## 3 讨论

肺炎支原体是造成小儿呼吸道感染的常见病原体,是引发社区获得性肺炎的常见病因之一,尽管多数患儿可经药物干预后缓解和痊愈,但仍有患儿出现肺内肺外并发症,尤其是婴幼儿,严重者可涉及其他系统病变,诱发多器官功能衰竭,对患儿预后不利<sup>[12]</sup>。因此,临床需严密关注 MPP 患儿,合理治疗,改善预后。阿奇霉素是临床常用的大环内酯类抗生素,相较于其他大环内酯类抗生素具有较好的生物利用率,临床效果好,且不良反应少,对 MPP 的治疗效果已得临床证实<sup>[13-14]</sup>。VC 是临床有效的抗氧化剂,可有效清除炎症反应产生的氧自由基,同时也具有促进胶原蛋白生成的作用,可有效促进细胞质和细胞膜新生,增强细胞功能,提高细胞免疫力,对疾病恢复具有较好的辅助作用。研究<sup>[15-16]</sup>显示,VC 在小儿感染性疾病中的效果较好且具有安全性。本研究观察阿奇

霉素联合大剂量 VC 应用于 MPP 的临床效果。

本研究结果显示,联合 VC 患儿发热、咳嗽咯痰、肺部湿啰音持续时间及住院时间均短于单独使用阿奇霉素患儿,且联合大剂量 VC 患儿的上述时间更短,与既往研究<sup>[17]</sup>部分相似,提示联合大剂量 VC 患儿的总病程较短,大剂量 VC 的辅助应用可更好地改善患儿临床症状,缩短病程。此外,本研究还显示,3 组患儿治疗后外周血 T 淋巴细胞亚群 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 水平均较治疗前升高,而 CD8<sup>+</sup> 未见显著变化,说明治疗后 3 组患儿外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> 水平提高,纠正了细胞免疫紊乱,而联合 VC 治疗的患儿的 CD4<sup>+</sup> 水平更高,原因可能为当细胞免疫功能受到抑制时,机体抵抗病原菌的能力减弱,而 VC 作为机体不可或缺的营养物质,起着调节细胞免疫、维持机体正常生理功能等作用。一项体外实验<sup>[18]</sup>也表明,VC 可通过调控表观遗传来增强 T 淋巴细胞的增殖、分化,促进其成熟,以维持细胞免疫平衡。本研究显示,大剂量 VC 组较小剂量 VC 组的 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 水平更高,说明大剂量

VC 对细胞免疫紊乱的纠正效果更好。

IL-17 主要是由活化的 T 细胞产生的致炎细胞因子,可促进 T 细胞活化、刺激上皮细胞、内皮细胞、成纤维细胞产生多种细胞因子,如 IL-6、IL-8、粒细胞-巨噬细胞刺激因子和细胞黏附分子 1 等,介导局部组织炎性反应的发生,在呼吸道感染中具有重要地位,与 MPP 预后也具有相关性<sup>[19-20]</sup>。hs-CRP 是临床敏感的非特异性炎症标志物,可反映机体的炎症状态。本研究结果显示,3 组患儿治疗后血清 IL-17、hs-CRP 均有一定程度降低,说明治疗后 MPP 患儿机体炎性反应均减轻,但大剂量 VC 组的 IL-17、hs-CRP 水平更低,说明阿奇霉素联合大剂量 VC 治疗方案可进一步改善患儿炎性反应,可能与 VC 的抗氧化作用有关,大剂量 VC 可通过有效清除自由基的抗脂质过氧化作用调节炎症因子,抑制炎症细胞浸润,保护内皮功能,改善微循环,减少炎症因子分泌,减轻炎性反应<sup>[21]</sup>。既往研究<sup>[22-23]</sup>也提到,大剂量 VC 辅助治疗可有效降低炎症因子。此外,本研究也显示,3 组患儿治疗前血清 VC 水平大约为 19  $\mu\text{mol/L}$ ,处于边缘性缺乏状态,提示 MPP 患儿体内 VC 储备不足,可能与 MPP 发生后损伤消化及泌尿系统从而影响 VC 的吸收和重吸收有关,予以大剂量 VC 辅助治疗后,大剂量 VC 组患儿血清 VC 水平显著上升,可见 VC 对于疾病的恢复具有重要意义,但小剂量 VC 摄入对于降低炎性反应作用不大。

Nrf2 蛋白作为氧化还原中的重要转录因子,在机体多种组织器官中表达,当机体遭受病原体感染时,病原体释放大量的氧自由基进入人体,引发过度氧化应激反应,此时 Nrf2 蛋白被大量激活启动下游抗氧化基因表达,以进行抗氧化作用<sup>[24-25]</sup>。本研究显示,3 组患儿治疗后 Nrf2 蛋白水平均降低,说明病原体清除有效,氧化应激反应减轻,而大剂量 VC 组患儿的 Nrf2 蛋白水平仍较高,可能是由于大剂量 VC 补充可能对 Nrf2 蛋白激活的阻遏物 Ke1h 样 ECH 相关蛋白进行修饰,上调 Nrf2 蛋白表达,可协同对抗肺炎支原体感染所产生的残余氧化应激反应。小剂量 VC 组与对照组比较无显著差异,可能与 VC 剂量过少、无法发挥更好的修饰作用有关。P1 蛋白的黏附作用可对呼吸道黏膜产生直接性破坏,研究<sup>[26]</sup>显示,治疗后 MPP 患儿的 P1 蛋白表达均有所降低,可能与疾病恢复有关。VC 可通过促进胶原蛋白

的生成修复呼吸道上皮细胞屏障,增加连接蛋白的表达,从而增强肺屏障功能,稳定肺屏障结构,减少肺炎支原体在呼吸道的黏附。本研究结果显示,3 组治疗后 P1 蛋白 mRNA 表达水平比较差异无统计学意义,推测可能与 P1 蛋白黏附呼吸道上皮的特殊方式有关,或受观察时间过短、样本量小等因素影响,其具体机制仍需进一步探究。此外,本研究还显示,3 组均无明显不良反应发生,提示阿奇霉素联合大剂量 VC 在提高临床疗效的同时仍具有良好的安全性。

综上所述,阿奇霉素联合大剂量 VC 可有效改善 MPP 患儿的临床症状和免疫状态,降低 IL-17、hs-CRP 水平,且安全性较高。然而,本研究存在一定局限性:样本来源于同一中心,且仅选取轻症和重症 MPP 患儿,对于危重症、难治性和大环内酯类药物无反应性的 MPP 是否有效尚不明确,未来需进行大样本、多中心研究以进一步验证。

#### 参考文献

- [1] TSAI T A, TSAI C K, KUO K C, *et al.* Rational stepwise approach for Mycoplasma pneumoniae pneumonia in children[J]. Wei Mian Yu Gan Ran Za Zhi, 2021, 54(4): 557-565.
- [2] KRAFFT C, CHRISTY C. Mycoplasma pneumonia in children and adolescents[J]. Pediatr Rev, 2020, 41(1): 12-19.
- [3] AHN J G, CHO H K, LI D H, *et al.* Efficacy of tetracyclines and fluoroquinolones for the treatment of macrolide-refractory Mycoplasma pneumoniae pneumonia in children: a systematic review and meta-analysis[J]. BMC Infect Dis, 2021, 21(1): 1003.
- [4] 卓佳佳, 苏晓霖, 张晨宇, 等. 两种儿童肺炎早期部分免疫指标的变化及临床价值[J]. 贵州医科大学学报, 2021, 46(9): 1101-1106.
- [5] 石娟, 马春骥, 郝秀静, 等. Dickkopf 相关蛋白 1 抑制肺炎支原体 P1-C 诱导小鼠肺上皮细胞过度分泌 MUC5AC[J]. 生物工程学报, 2023, 39(1): 248-261.
- [6] LI Y R, ZHU H. Vitamin C for sepsis intervention: from red-ox biochemistry to clinical medicine[J]. Mol Cell Biochem, 2021, 476(12): 4449-4460.
- [7] AMMAR M A, AMMAR A A, CONDANI M S, *et al.* Vitamin C for sepsis and septic shock[J]. Am J Ther, 2021, 28(6): e649-e679.
- [8] 陈意, 马骥, 陈丽娟, 等. 大剂量维生素 C 在支气管哮喘大鼠肺部感染中的疗效及对肺功能的影响研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(19): 2905-2909.
- [9] 张问霞, 庄健海, 吕微风, 等. 成年病毒性肺炎患者 T 淋巴细胞亚群的水平变化及临床意义[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(24): 3601-3603.
- [10] 卢虹霞, 黄晗, 郭燕军, 等. 儿童难治性支原体肺炎白细胞介素-8、白细胞介素-17、CD4-CD8 比值与病情及预后的相关性研究[J]. 安徽医药, 2021, 25(12): 2411-2415.

(下转第 66 面)

- [12] HIGANO N S, BATES A J, GUNATILAKA C C, *et al.* Bronchopulmonary dysplasia from chest radiographs to magnetic resonance imaging and computed tomography: adding value[J]. *Pediatr Radiol*, 2022, 52(4): 643–660.
- [13] 荣辉, 毛国顺, 高敏, 等. 微创肺表面活性物质治疗早产儿呼吸窘迫综合征对发育结局的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2022, 32(24): 6–12.
- [14] GE H Y, QIAO Y X, GE J, *et al.* Effects of early vitamin D supplementation on the prevention of bronchopulmonary dysplasia in preterm infants[J]. *Pediatr Pulmonol*, 2022, 57(4): 1015–1021.
- [15] 刘浩, 方圆, 潘天岳, 等. 外周血单个核细胞与纯化 CD34 + 细胞移植在治疗血栓闭塞性脉管炎导致重度肢体缺血的长期疗效比较[J]. *上海医学*, 2022, 45(10): 679–685.
- [16] SHIN S H, SHIN J S, KIM E K, *et al.* Capillary partial pressure of carbon dioxide for predicting rehospitalization in preterm infants under noninvasive respiratory support with severe bronchopulmonary dysplasia[J]. *Pediatr Pulmonol*, 2021, 56(12): 3863–3869.
- [17] MATHEW R. Signaling pathways involved in the development of bronchopulmonary dysplasia and pulmonary hypertension[J]. *Children*, 2020, 7(8): 100.
- [18] LV Y Y, LI Y, WANG J Y, *et al.* MiR-382-5p suppresses M1 macrophage polarization and inflammatory response in response to bronchopulmonary dysplasia through targeting CDK8: involving inhibition of STAT1 pathway[J]. *Genes Cells*, 2021, 26(10): 772–781.
- [19] ARELLANO-ORDEN E, CALERO ACUÑA C, SÁNCHEZ-LÓPEZ V, *et al.* Cellular mechanisms involved in the pathogenesis of airway remodeling in chronic lung disease[J]. *Eur Clin Respir J*, 2022, 9(1): 2097377.
- [20] XUE M S, ZHANG T, LIN R P, *et al.* Clinical utility of heparin-binding protein as an acute-phase inflammatory marker in interstitial lung disease[J]. *J Leukoc Biol*, 2022, 112(4): 861–873.
- [21] 陈玉婷, 朱丽娟, 卓佳佳, 等. 血清淀粉样蛋白 A 水平与肺炎合并呼吸窘迫综合征预后的关系[J]. *中华肺部疾病杂志: 电子版*, 2021, 14(4): 484–485.
- [22] KAUR S, BANSAL Y, KUMAR R, *et al.* A panoramic review of IL-6: structure, pathophysiological roles and inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem*, 2020, 28(5): 115327.
- [23] HIRANI D, ALVIRA C M, DANOPOULOS S, *et al.* Macrophage-derived IL-6 trans-signalling as a novel target in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia[J]. *Eur Respir J*, 2022, 59(2): 2002248.
- [24] 李静. 血清 25 羟维生素 D、白细胞介素-6 水平与早产儿支气管肺发育不良的关系[J]. *中国临床医生杂志*, 2020, 48(3): 361–363.
- [25] ZHANG L N, WANG P, SHEN Y H, *et al.* Mechanism of lncRNA H19 in regulating pulmonary injury in hyperoxia-induced bronchopulmonary dysplasia newborn mice[J]. *Am J Perinatol*, 2022, 39(10): 1089–1096.
- (本文编辑: 陆文娟 钱锋; 校对: 索晓灿)

## (上接第 59 面)

- [11] 中华医学会儿科学分会呼吸学组. 儿童肺炎支原体肺炎诊治专家共识(2015 年版)[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2015, 30(17): 1304–1308.
- [12] 盛江吟, 李昌崇. 婴幼儿肺炎支原体肺炎临床特征及预后分析[J]. *儿科学杂志*, 2020, 26(8): 16–19.
- [13] 李真. 阿奇霉素序贯疗法对儿童肺炎支原体肺炎的疗效及对相关炎症因子的影响[J]. *儿科药理学杂志*, 2019, 25(2): 29–31.
- [14] 朱雷. 观察阿奇霉素序贯疗法用于小儿肺炎支原体肺炎(MPP)临床治疗的效果: 评《小儿呼吸系统疾病诊疗与护理》[J]. *中国辐射卫生*, 2022, 31(2): 259–259.
- [15] 喻法明. 小儿病毒性心肌炎应用磷酸肌酸钠配合大剂量维生素 C 的治疗价值[J]. *中国妇幼保健*, 2020, 35(24): 4785–4787.
- [16] 麻丽平. 喜炎平注射液联合维生素 C 注射液治疗儿童上呼吸道感染的效果及可行性分析[J]. *中国药物与临床*, 2021, 21(8): 1361–1363.
- [17] 黄晓静, 葛蔚华. 大剂量维生素 C 辅助治疗儿童支原体肺炎的临床疗效观察[J]. *中国全科医学*, 2019, 22(S1): 45–47.
- [18] CHEN H Y, ALMONTE-LOYA A, LAY F Y, *et al.* Epigenetic remodeling by vitamin C potentiates plasma cell differentiation[J]. *Elife*, 2022, 11: e73754.
- [19] RITZMANN F, LUNDING L P, BALS R, *et al.* IL-17 cytokines and chronic lung diseases[J]. *Cells*, 2022, 11(14): 2132.
- [20] FAN H F, LU B T, YANG D Y, *et al.* Distribution and expression of IL-17 and related cytokines in children with Mycoplasma pneumoniae pneumonia[J]. *Jpn J Infect Dis*, 2019, 72(6): 387–393.
- [21] 袁婷, 曾俊, 江华. 静脉高剂量维生素 C 用于脓毒症治疗: 从分子机制到临床应用[J]. *实用医院临床杂志*, 2023, 20(5): 201–204.
- [22] 熊学敏, 邵荣昌, 彭瑞, 等. 大剂量维生素 C 联合罗红霉素对小儿肺炎支原体肺炎的疗效[J]. *西北药学杂志*, 2020, 35(1): 121–125.
- [23] 余丽霞, 郑佳佳. 维生素 C 辅助阿奇霉素治疗小儿支原体肺炎的疗效及对 C-反应蛋白肿瘤坏死因子- $\alpha$  及降钙素原水平的影响[J]. *中国妇幼保健*, 2022, 37(15): 2815–2818.
- [24] BAIRD L, YAMAMOTO M. The molecular mechanisms regulating the KEAP1-NRF2 pathway[J]. *Mol Cell Biol*, 2020, 40(13): e00099–e00020.
- [25] HE F, ANTONUCCI L, KARIN M. NRF2 as a regulator of cell metabolism and inflammation in cancer[J]. *Carcinogenesis*, 2020, 41(4): 405–416.
- [26] 展磊, 王晓红. 肺炎支原体表面黏附蛋白的研究进展[J]. *微生物学免疫学进展*, 2023, 51(4): 76–81.
- (本文编辑: 周冬梅 钱锋; 校对: 索晓灿)