

可溶性肿瘤发生抑制蛋白 2 和白细胞介素 33 联合检测在川崎病患儿心血管受损早期诊断中的应用

彭剑桥^{1,2}, 王宏波², 梁仙志², 黎村艳¹, 叶湘漓²

(1.湖南省人民医院 湖南师范大学第一附属医院检验科 急危重症代谢组学湖南省重点实验室, 湖南省长沙市 410005; 2.湖南师范大学医学院, 湖南省长沙市 410013)

[关键词] 川崎病; 心血管受损; 可溶性肿瘤发生抑制蛋白 2; 白细胞介素 33

[摘要] **目的** 评估可溶性肿瘤发生抑制蛋白 2 (sST2) 及白细胞介素 33 (IL-33) 在川崎病 (KD) 患儿心血管受损中的应用价值。**方法** 选择湖南省人民医院儿科 2013 年 12 月至 2017 年 1 月入院的 282 例 KD 患儿, 其中心血管受累组 35 例, 心血管未受累组 247 例, 另外随机选取 50 例健康儿童作为对照组。分别检测 3 组儿童的 sST2 和 IL-33 血浆水平, 分析 KD 患儿冠状动脉受损时 sST2、IL-33 和常规炎症指标 C-反应蛋白 (CRP)、红细胞沉降率 (ESR)、白细胞计数 (WBC) 的变化及相关性, 对数据进行统计学分析。**结果** 心血管受累组的 sST2 和 IL-33 血浆水平明显高于心血管未受累组和对照组 ($P < 0.05$)。心血管受累组、心血管未受累组 CRP、ESR 和 WBC 显著高于对照组 ($P < 0.05$), 但心血管受累组、心血管未受累组之间 CRP、ESR 和 WBC 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。静脉注射免疫球蛋白治疗后, 心血管受累组 sST2、IL-33 水平明显下降 ($P < 0.05$), 而心血管未受累组 sST2、IL-33 水平无明显变化 ($P > 0.05$)。Pearson 相关分析显示, KD 患儿的 sST2、IL-33 水平均与超声心动图 Z 值呈正相关。Logistic 回归分析显示, sST2、IL-33 均为 KD 患儿心血管损伤的独立危险因素 ($P < 0.05$)。ROC 曲线分析显示, sST2、IL-33 对 KD 心血管受损的预测具有较高的诊断价值。**结论** KD 患儿 sST2、IL-33 血浆水平与心血管受损的程度相关, 对 sST2 和 IL-33 水平进行分析有助于评估 KD 患儿的心血管损伤程度及判断预后。

[中图分类号] R446.1

[文献标识码] A

Application of combined detection of soluble suppression of tumorigenicity 2 and interleukin-33 in early diagnosis of cardiovascular impairment in children with Kawasaki's disease

PENG Jianqiao^{1,2}, WANG Hongbo², LIANG Xianzhi², LI Cunyan¹, YE Xiangli²

(1. Department of Clinical Laboratory, Key Laboratory of Metabonomics of Critical Patients, Hunan Provincial People's Hospital & the First Affiliated Hospital of Hunan Normal University, Changsha, Hunan 410005, China; 2. College of Medicine, Hunan Normal University, Changsha, Hunan 410013, China)

[KEY WORDS] Kawasaki's disease; cardiovascular impairment; soluble suppression of tumorigenicity 2; interleukin-33

[ABSTRACT] **Aim** To evaluate the value of soluble suppression of tumorigenicity 2 (sST2) and interleukin 33 (IL-33) in cardiovascular impairment in children with Kawasaki's disease (KD). **Methods** A total of 282 children with KD admitted to the Department of Pediatrics of Hunan Provincial People's Hospital from December 2013 to January 2017 were selected, including cardiovascular involvement group ($n=35$) and cardiovascular uninvolved group ($n=247$), and 50 healthy children were as control group. The levels of plasma sST2 and IL-33 were detected in 3 groups of children. Changes and correlations of sST2, IL-33 and conventional inflammatory markers C-reactive protein (CRP), erythrocyte sedimentation rate (ESR) and white blood cell count (WBC) were analyzed in KD children with coronary artery lesion.

[收稿日期] 2018-07-05

[修回日期] 2018-09-04

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81270291); 国家留学基金(201708430158); 湖南师范大学博士科研启动项目; 急危重症代谢组学湖南省重点实验室开放课题基金(2017TP1034)

[作者简介] 彭剑桥, 硕士, 主管技师, 研究方向为临床检验, E-mail 为 87513873@qq.com。通信作者叶湘漓, 博士, 教授, 研究方向为心脏发育的基因调控, E-mail 为 ye_xiangli@qq.com。

Statistical methods were used to analyze data. **Results** The levels of plasma sST2 and IL-33 in the cardiovascular involvement group were significantly higher than those in the cardiovascular uninvolved group and the control group ($P < 0.05$). CRP, ESR and WBC in cardiovascular involvement group and cardiovascular uninvolved group were significantly higher than those in control group ($P < 0.05$). However, there were no significant differences in CRP, ESR and WBC between the cardiovascular involvement group and the cardiovascular uninvolved group ($P > 0.05$). After intravenous immunoglobulin therapy, the levels of sST2 and IL-33 were decreased significantly in cardiovascular involvement group ($P < 0.05$), while the levels of sST2 and IL-33 did not change significantly in cardiovascular uninvolved group ($P > 0.05$). Pearson correlation analysis showed that the levels of sST2 and IL-33 in KD children were positively correlated with the Z value of echocardiography. Logistic regression analysis showed that sST2 and IL-33 were independent risk factors for cardiovascular injury in KD children ($P < 0.05$). ROC curve analysis showed that sST2 and IL-33 had high diagnostic value for predicting cardiovascular injury in KD. **Conclusions** The levels of plasma sST2 and IL-33 are correlated with the degree of cardiovascular injury in children with KD. The analysis of sST2 and IL-33 is helpful to evaluate the degree of cardiovascular injury and predict the prognosis of children with KD.

川崎病(Kawasaki's disease, KD)即皮肤黏膜淋巴结综合征,因日本 Tomisaku Kawasaki(川崎富作医生)于 1967 年率先报道而得名,好发于 5 岁以下的男性婴幼儿,属于病因不明的急性自身免疫性血管炎^[1];在发达国家, KD 是引起儿童获得性心脏病及儿童心血管并发症的主要原因,且发病率呈逐年上升的趋势^[2]。冠状动脉病变是 KD 最严重和最常见的并发症, KD 的诊断、急性期治疗以及远期管理等措施的最终目的就是预防冠状动脉病变的发生;静脉注射免疫球蛋白(intravenous immunoglobulin, IVIG)是目前临床上预防 KD 动脉损害较理想的方法之一,能有效的降低冠状动脉瘤的发病率^[3-5]。

白细胞介素 33(interleukin-33, IL-33)属于 IL-1 家族成员,具有细胞因子和核结合因子的双重作用,在心血管疾病、超敏反应性疾病、自身免疫性疾病等多种疾病或炎症中均发挥了重要作用。肿瘤发生抑制蛋白 2(suppression of tumorigenicity 2, ST2)是心肌细胞受到生物机械应力后产生的一种心肌蛋白,与炎症反应以及心血管疾病的发生密切相关。ST2 最早于 1989 年由日本学者 Shinichi Tomimaga 发现并报道,曾因长期未能发现其功能性配体而被误认为是孤儿受体,直至 2005 年 Schmitz 等证实 IL-33 是其配体。ST2 mRNA 前体经过选择性剪切后可形成 4 种异构体,分别是可溶性 ST2(soluble ST2, sST2)、ST2 配体(ST2 ligand, ST2L)、ST2 剪切变体(ST2 variant form, ST2V)和 ST2L 剪切变体(ST2L variant form, ST2LV)。其中 ST2L 属 I 型跨膜蛋白, ST2L 与 IL-33 结合后可募集下游的信号分子,激活下游信号通路,减少心肌纤维化,防止心肌细胞肥大,减少心肌细胞凋亡,改善心肌功能,从而发挥心脏保护作用。sST2 则不同, sST2 往往作为诱骗受体与 ST2L 竞争结合 IL-33,从而阻断 IL-33 与

ST2L 的结合,继而削弱 IL-33/ST2L 信号通路的心血管保护作用^[6-8]。已有的研究表明,在心肌受到过度牵拉造成损伤的过程中,大量 sST2 的生成可使心肌缺乏足够的 IL-33 的保护,从而加速心肌重构和心室功能障碍,最终导致死亡的风险增高。sST2 水平和心力衰竭分级直接相关,一年内的死亡率和 sST2 水平呈正相关; sST2 是诊断急性心力衰竭炎症介质和氧化应激的重要标志物^[9-10]。IL-33/ST2 通路与疾病的关系已成为目前的研究热点之一,可为临床疾病的诊断与治疗提供新的思路。

本研究通过对湖南省人民医院儿科 2013 年 12 月至 2017 年 1 月确诊的 282 例 KD 患儿血浆中的 sST2 进行检测,分析比较 sST2、IL-33 与 C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)、白细胞计数(white blood cell count, WBC)等常规炎症标志物以及超声心动图检查的相关性,以评估 sST2 在 KD 心血管受损患儿中的应用价值。

1 资料和方法

1.1 研究对象及分组

选择湖南省人民医院 2013 年 12 月至 2017 年 1 月住院治疗的 KD 患儿 282 例,入选率为 81%,同时随机选取 50 例健康体检儿童作为正常对照。所有入选儿童的家长或其法定监护人均签署了知情同意书。比较所有入选儿童的年龄、性别等, 2 组差异无统计学意义($P > 0.05$)。(1)KD 组:282 例 KD 患儿中,男童 174 例,女童 108 例,年龄 2 个月至 7 岁,平均 1.53 ± 0.91 岁。KD 诊断参照 2004 年版《川崎病的诊断、治疗及远期管理-美国心脏学会对医疗专业人员的科学声明》^[11],排除 EB 病毒感染、腺病毒

感染、药物过敏综合征、猩红热、Stevens-Johnson 综合征等发热性疾病以及 IVIG 耐受等状况的患儿。同时参照 KD 冠状动脉病变分级标准^[12], 根据超声心动图体表面积校正后的冠状动脉管腔内径 Z 值, 将 KD 组分为心血管受累组(包括仅冠状动脉扩张、小型冠状动脉瘤、中型冠状动脉瘤和巨大冠状动脉瘤等 4 类)和心血管未受累组; 其中, 心血管受累组 35 例, 约占 12.4%, 包含男童 20 例, 女童 15 例, 平均年龄 1.26 ± 0.81 岁; 心血管未受累组 247 例, 约占 87.6%, 包含男童 154 例, 女童 93 例, 平均年龄 1.58 ± 0.65 岁。(2) 对照组: 50 例, 其中男童 32 例, 女童 18 例, 年龄 3 个月至 8 岁, 平均 2.5 ± 0.8 岁。

1.2 血液标本采集及检测

分别收集各 KD 患儿入院后、使用药物治疗前以及经过 IVIG 治疗 1 周后的血液标本, EDTA-K2 抗凝, 1500 r/min 离心, 将血浆转入 EP 管, -80°C 冰箱冻存。采用长沙瑞森医疗科技有限公司提供的酶联免疫吸附测定 (ELISA) 试剂盒, 检测所有冻存血浆中的 sST2 和 IL-33, 所有操作均按照使用说明书规范进行。

1.3 数据分析

采用 SPSS 22.0 统计软件对数据进行分析。正态分布计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 非正态分布数据用中位数(四分位数间距)表示, 计量资料的多组间比较, 满足正态分布且方差齐的情况下采用单因素方差分析(如有统计学差异, 则进一步进行两两比较,

采用 LSD 法), 不满足正态分布或方差分析的则采用非参数检验 (Kruskal-Wallis 检验); 计数资料用例数及百分比表示, 组间比较采用 χ^2 检验。相关因素分析采用 Pearson 相关分析, 影响因素分析采用多因素 Logistic 回归进行分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 KD 患儿的年龄分布情况

本研究共纳入 KD 患儿 282 例, 其中年龄 ≤ 1 岁 48 例, 占 17.02%; 1~2 岁 81 例, 占 28.72%; 2~3 岁 80 例, 占 28.37%; 3~4 岁 41 例, 占 14.53%; 4~5 岁 24 例, 占 8.51%; > 5 岁 8 例, 占 2.85%。结果显示, KD 的发生年龄主要集中在 1~2 岁和 2~3 岁年龄段。

2.2 各组 sST2、IL-33 水平以及常规炎症性指标的比较

KD 患儿心血管受累组 sST2、IL-33 水平均显著高于心血管未受累组及对照组 ($P < 0.05$), 心血管未受累组 sST2、IL-33 水平均显著高于对照组 ($P < 0.05$)。心血管受累组、心血管未受累组常规炎症性指标 CRP、ESR 和 WBC 显著高于对照组 ($P < 0.05$), 但心血管受累组、心血管未受累组之间 CRP、ESR 和 WBC 差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (表 1)。

表 1. 各组 sST2、IL-33 及常规炎症性指标的比较

Table 1. Comparison of sST2, IL-33 and routine inflammatory markers in each group

分 组	n	sST2($\mu\text{g/L}$)	IL-33($\mu\text{g/L}$)	CRP(mg/L)	ESR(mm/h)	WBC($\times 10^{12}/\text{L}$)
KD 组						
心血管受累组	35	84.40 ± 24.99	466.44 ± 62.04	50.01 ± 14.91	68.47 ± 20.37	15.15 ± 5.73
心血管未受累组	247	49.36 ± 14.57	261.06 ± 53.38	46.31 ± 16.26	62.94 ± 16.93	14.34 ± 6.38
对照组	50	26.28 ± 10.36	182.24 ± 42.64	16.34 ± 7.27	17.23 ± 8.68	9.34 ± 4.62
P_1 值		0.020	0.010	0.020	< 0.001	< 0.001
P_2 值		< 0.001	< 0.001	0.350	0.710	0.230

P_1 值: 心血管未受累组与对照组比较; P_2 值: 心血管受累组与心血管未受累组比较。

2.3 IVIG 治疗前后 sST2、IL-33 水平比较及相关性分析

KD 患儿经过 IVIG 治疗 1 周后, 心血管受累组 sST2、IL-33 水平较治疗前有明显下降 ($P < 0.05$; 表 2); 而心血管未受累组 sST2、IL-33 治疗前后差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

筛选出其中满足正态分布的变量, 对 KD 患儿

IVIG 治疗 1 周测得的 sST2 和 IL-33 水平, 分析其与治疗后测得的 CRP、ESR、WBC 等炎症性指标的相关性。Pearson 相关分析结果提示, sST2 与 CRP ($r = 0.546, P = 0.022$)、ESR ($r = 0.241, P = 0.040$) 及 WBC ($r = 0.346, P = 0.042$) 呈正相关; IL-33 与 CRP ($r = 0.428, P = 0.039$)、ESR ($r = 0.342, P = 0.016$) 以及 WBC ($r = 0.463, P = 0.032$) 亦呈正相关。

表 2. IVIG 治疗前后 KD 患儿心血管受累组与心血管未受累组 sST2、IL-33 水平比较

Table 2. Comparison of sST2 and IL-33 levels between the cardiovascular involvement group and the cardiovascular uninvolved group before and after IVIG treatment

分 组	n	sST2(μg/L)		P 值	IL-33(μg/L)		P 值
		治疗前	治疗后		治疗前	治疗后	
心血管受累组	35	84.43±24.99	52.73±13.82	<0.001	466.44±62.04	282.64±40.38	<0.001
心血管未受累组	247	49.36±14.57	42.92±14.22	0.280	261.06±53.38	224.63±49.53	0.410

2.4 sST2、IL-33 水平与心血管损伤程度的相关性分析

对 KD 患儿 IVIG 治疗 1 周测得的 sST2 和 IL-33 水平,分析其与治疗后测得的心血管损伤程度指标

的相关性。Pearson 相关分析结果提示,KD 患儿的 sST2、IL-33 水平与超声心动图 Z 值呈正相关($r=0.746, P<0.001; r=0.641, P<0.001$;图 1)。

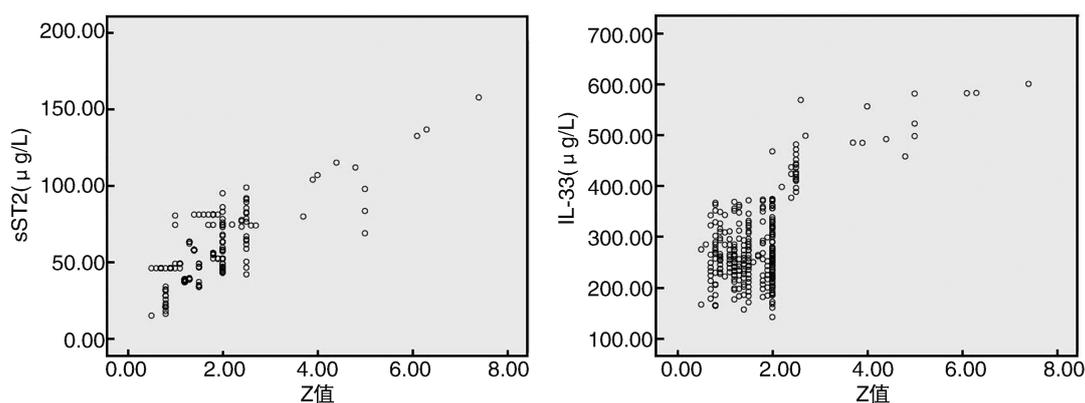


图 1. sST2、IL-33 水平与超声心动图 Z 值的相关性

Figure 1. Correlation between sST2 and IL-33 level and Z value of echocardiography

2.5 心血管损伤相关因素的 Logistic 回归分析

Logistic 回归分析以心血管损伤为因变量(1 代表心血管受累,0 代表心血管未受累),自变量纳入年龄、性别(1 为男童,2 为女童)、sST2 和 IL-33,采用逐步回归法拟合回归模型。结果显示,sST2、IL-33 均为 KD 患儿心血管损伤的独立危险因素($P<0.05$),其 OR 值分别为 1.065、1.026(表 3)。

表 3. KD 患儿心血管损伤相关因素的 Logistic 回归分析

Table 3. Logistic regression analysis of cardiovascular injury related factors in children with KD

影响因素	β	SE	Wald	P	OR	95%CI
年龄	1.144	1.517	1.360	0.312	5.538	0.295~12.065
性别	0.920	1404	0.495	0.630	2.670	0.176~19.229
sST2	0.411	0.201	6.556	0.012	1.065	1.021~1.362
IL-33	1.522	0.969	6.776	0.009	1.026	1.015~1.497

2.6 sST2、IL-33 预测 KD 急性期冠状动脉损伤的价值

ROC 曲线显示,sST2、IL-33 对 KD 心血管受损的预测具有较高的诊断价值(图 2),其作为检测指

标诊断 KD 急性期冠状动脉损伤的 ROC 曲线下面积、Cut-off 值、敏感度以及特异度等见表 4。

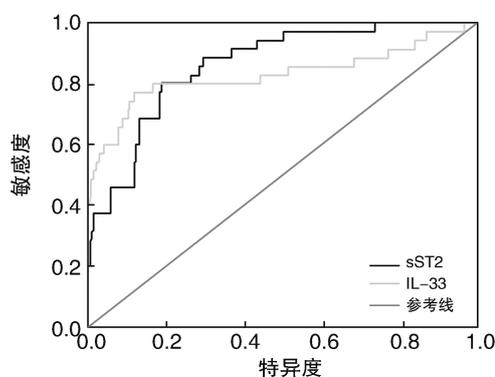


图 2. sST2、IL-33 预测 KD 心血管受损的 ROC 曲线

Figure 2. ROC curve of sST2 and IL-33 predicting KD cardiovascular damage

3 讨论

ST2 是心肌纤维化、心脏重构和心肌应激标志

表 4. sST2、IL-33 预测 KD 急性期冠状动脉损伤的价值
Table 4. Value of sST2 and IL-33 predicting acute coronary artery injury in KD

指标	曲线下面积	Cut-off 值	敏感度	特异度
sST2	0.863	62.46	0.924	0.807
IL-33	0.831	357.29	0.907	0.823

物,其浓度不受年龄、性别、种族、体质指数、肾功能等因素的干扰。在既往的研究中,ST2 主要用于评估急性心力衰竭和慢性心力衰竭病人的危险分级、预后并指导医师的药物治疗等。本研究发现 sST2、IL-33 联合检测在 KD 患儿心血管受损的早期诊断中亦具有重要的应用价值。

在调查的 282 例 KD 患儿中,KD 冠状动脉瘤发生率为 3%,KD 冠状动脉扩张率为 12%,与相关文献报道比例近似。KD 患儿并发症以心血管损害最为常见,损害的类型包括冠状动脉瘤、冠状动脉扩张、冠状动脉狭窄或闭塞等。冠状动脉瘤可单发或多发,大多可于 1~2 年内消退,但局部管壁的纤维化可促使内膜增生,导致冠状动脉不能有效扩张,可形成血栓,造成冠状动脉管腔狭窄、闭塞、心肌梗死等;有年轻人表现为冠状动脉粥样硬化性心脏病或者猝死,推测为儿童期 KD 继发的远期并发症^[13-16]。

本次研究中,sST2、IL-33 水平由高到低依次为 KD 心血管受累组、KD 心血管未受累组和对照组。Pearson 相关分析结果显示,sST2、IL-33 与超声心动图 Z 值呈正相关,表明 sST2、IL-33 水平与 KD 心血管受损程度呈正相关。KD 心血管受累组与 KD 心血管未受累组比较,sST2、IL-33 的增高较 CRP、ESR、WBC 等更为显著,表明 sST2 与 IL-33 在预测 KD 心血管受损的价值更高。多因素 Logistic 回归分析提示,sST2(OR=1.065,95%CI 1.021~1.362)、IL-33(OR=1.026,95%CI 1.015~1.497)是 KD 心血管受损的危险因素。KD 起病急,隐蔽性强,危害大,及早发现 KD 患儿并发心血管损害并及时干预,给予 IVIG 治疗,能有效降低或改善不良预后的发生。美国心脏协会指出,IVIG 治疗后,冠状动脉并发症发生率可由原来的 25%降至 5%~6%。本研究对比分析了 IVIG 治疗前后 sST2、IL-33 等指标的水平,发现 sST2 和 IL-33 的水平治疗后明显下降,表明 sST2、IL-33 的水平可用于监测 IVIG 的治疗效果。

有关 IL-33/ST2 通路与健康的相关性研究是目前基础医学与临床医学的热点之一。本研究提示 sST2、IL-33 联合检测可用于 KD 患儿心血管受损的早期诊

断,为 KD 的预防与临床治疗提供了新的思路。

[参考文献]

- [1] Sanada S, Hakuno D, Higgins LJ, et al. IL-33 and ST2 comprise a critical biomechanically induced and cardioprotective signaling system[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(6): 1538-1549.
- [2] Nakamura Y, Yanagawa H. The worldwide epidemiology of Kawasaki disease[J]. *Prog Pediatr Cardiol*, 2004, 19(2): 99-108.
- [3] Nakamura Y, Yashiro M, Uehara R, et al. Epidemiologic features of Kawasaki disease in Japan: results of the 2009-2010 nationwide survey[J]. *Epidemiol*, 2012, 22(3): 216-221.
- [4] Ma XJ, Yu CY, Huang M, et al. Epidemiologic features of Kawasaki disease in Shanghai from 2003 through 2007 [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2010, 123(19): 2629-2634.
- [5] McCrindle BW, Rowley AH, Newburger JW, et al. Diagnosis, treatment, and long-term management of Kawasaki disease: a scientific statement for health professionals from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2017, 135(17): e927-e999.
- [6] 赵文静, 陆爽. IL-33 及 ST2 与纤维化疾病的研究进展[J]. *贵州医药*, 2017, 41(9): 999-1001.
- [7] Sanada S, Hakuno D, Higgins LJ, et al. IL-33 and ST2 comprise a critical biomechanically induced and cardioprotective signaling system[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(6): 1538-1549.
- [8] Koca SS, Kara M, Deniz F, et al. Serum IL-33 level and IL-33 gene polymorphisms in Behçet's disease [J]. *Rheumatol Int*, 2015, 35(3): 471-477.
- [9] Sun Y, Zhang JY, Lv S, et al. Interleukin-33 promotes disease progression in patients with primary biliary cirrhosis[J]. *Tohoku J Exp Med*, 2014, 234(4): 255-261.
- [10] Manlhiot C, Millar K, Golding F, et al. Improved classification of coronary artery abnormalities based only on coronary artery Z-scores after Kawasaki disease [J]. *Pediatr Cardiol*, 2010, 31(2): 242-249.
- [11] Newburger JW, Takahashi M, Gerber MA, et al. Diagnosis, treatment, and long-term management of Kawasaki disease: a statement for health professionals from the Committee on Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease, Council on Cardiovascular Disease in the Young, American Heart Association[J]. *Pediatrics*, 2004, 114(6): 1708-1733.
- [12] Daniels LB, Gordon JB, Burns JC. Kawasaki disease: late cardiovascular sequelae[J]. *Curr Opin Cardiol*, 2012, 27(6): 572-577.
- [13] Chiang CY, Ho CH, Chu CC, et al. Coronary artery complications in pediatric patients with Kawasaki disease: A 12-year national survey[J]. *Acta Cardiologica Sinica*, 2013, 29(4): 357-365.
- [14] Kohanim S, Palioura S, Saeed HN, et al. Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis--A comprehensive review and guide to therapy I systemic disease[J]. *Ocul Surf*, 2016, 14(1): 2-19.
- [15] 马红利, 彭瑜, 李超, 等. sST2 参与急性心肌梗死后心肌纤维化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2017, 25(7): 715-718.
- [16] 湛瑾寰, 王跃群, 叶湘漓. 脉冲多普勒组织成像技术对尿毒症患者左心室舒张功能的评价[J]. *中国现代医学杂志*, 2014, 24(23): 98-100.

(此文编辑 曾学清)