

doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2020.01.019

· 综述 ·

促红细胞生成素在新生儿坏死性小肠结肠炎防治中的研究进展

王欢 综述,邓春 审校 (重庆医科大学附属儿童医院,儿童发育疾病研究教育部重点实验室,儿童发育重大疾病国家国际科技合作基地,儿科学重庆市重点实验室,重庆 400014)

[中图分类号]R722.1

[文献标识码]A

[文章编号]1672-108X(2020)01-0060-05

Advances of Erythropoietin in the Prevention and Treatment of Neonatal Necrotizing Enterocolitis

Wang Huan, Deng Chun (Children's Hospital of Chongqing Medical University, Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders, China International Science and Technology Cooperation Base of Child Development and Critical Disorders, Key Laboratory of Pediatrics in Chongqing, Chongqing 400014, China)

新生儿坏死性小肠结肠炎(necrotizing enterocolitis, NEC)是一种以肠道坏死为病理表现的危重症。近年来,医学技术不断更新、发展,早产儿、极低出生体质量儿存活率显著上升^[1]。NEC的发病率及病死率居高不下,全世界约2%~5%的新生儿因NEC收住新生儿重症监护室(NICU)^[2],其中85%以上发生在胎龄<32周早产儿^[3],病死率为20%~30%,而在极低出生体质量儿或经手术治疗的患儿中,病死率可高达40%~45%^[4-5]。目前,NEC的病因及发病机制仍处于探索阶段,最新观点认为NEC是多因素所致未成熟肠道的微生态环境失衡,从而启动免疫介导的炎症反应,大量炎症因子聚集,导致肠上皮细胞构成的黏膜防线被破坏,最终发生肠坏死的结果。且因NEC具有爆发性倾向,进展快、病情重,在治疗方面暂不太可能有新突破,所以从预防入手可能是降低NEC发病率、改善结局与远期预后最好的方法^[6]。早期母乳喂养可通过促进肠黏膜防御功能的成熟,增强肠道自然保护能力以达到防治NEC的效果^[7],因此母乳中以生长因子和免疫因子为主的大量生物活性物质成为当下研究的焦点。在探索NEC发病机制的同时,越来越多的研究致力于挖掘对NEC具有保护作用的小分子物质的作用机制,寻找特异性防治NEC的保护分子或药物,其中促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)、表皮生长因子、肝素-结合表皮生长因子、粒细胞集落刺激因子等在分子实验、动物实验及临床试验中展现出良好的发展前景。笔者现对EPO在NEC防治中的研究进展作一综述。

1 EPO及其受体

作为一种常见的造血因子,EPO通过与靶细胞表面的促红细胞生成素受体(erythropoietin receptor, EPOR)结合发挥作用,而外源性合成的重组人促红细胞生成素(recombinant human EPO, rhEPO)使其临床应用成为可能。EPO由位于第7号染色体的q21-q22区的单拷贝基因编码,包括165个氨基酸残基,由2个二硫键连接形成4个稳定的 α 螺旋结构,理论相对分子量为18 kDa,因其糖基化程度很高,实际相对分子量达30 kDa。作为一种糖基化蛋白质激素,EPO分子包括3个N'端和1个O'端的耐热(80℃)酸性低

聚糖侧链,是决定EPO生物学特点、抗原性及临床应用效果的关键组成部分。EPOR作为EPO的作用靶点,其基因的3'非翻译区包含有低氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)反应原件^[8]。在缺氧刺激下,HIF诱导EPO大量编码合成,一个EPO分子通过两个不同的位点与EPOR结合形成同源二聚体后,主要通过酪氨酸激酶-2/信号传导及转录因子(JAK-2/STAT)途径完成细胞内信息传递,发挥其生物学效应^[9]。作为细胞因子受体超家族的成员之一,EPOR优先在红系细胞中表达,受体数目随着红细胞的成熟而逐渐减少,与该细胞对EPO的依赖程度呈正相关。1985年EPO基因的cDNA成功被破解^[10],随后rhEPO在基因重组技术的支持下合成问世,并广泛应用于临床,通过外源性补充EPO来达到防治疾病的目的,这无疑是EPO发展史上的里程碑。

2 EPO与肠道发育

胎儿EPO主要来源于肝脏,出生后合成场所逐渐转变为肾脏,合成人体内大部分EPO,肾外组织如肝脏细胞、巨噬细胞、原始红细胞、星形胶质细胞等亦可合成分泌EPO,但仅占体内总量的10%~15%^[11]。EPO的主要效应为刺激造血、增加成熟红细胞数目、提高组织供氧。随着对EPOR的不断研究探索,除了红细胞,人体内许多其他组织细胞中也检测到EPOR的存在,包括神经细胞、心肌细胞、肠上皮细胞、血管内皮细胞、癌细胞等,为探索EPO的多效性提供了基础。EPO存在于羊水、初乳、母乳中,而器官特异性的EPOR的表达与血管的发生、组织细胞的生长发育和活性维持有关。在胎儿时期,EPOR高度表达在肠上皮细胞内,从胚胎第8周开始,持续至少4个月^[12],而在小鼠体内,小肠发育一直持续到断奶后^[13],因此,可以推测EPO与肠道发育有关。Juul S E等^[14]研究表明,EPO作为一种营养因子对小鼠肠道发育有着促进作用,能够增加小肠长度和绒毛面积。Ashley R A等^[15]在研究rhEPO对新生小鼠胃肠道黏膜、内皮细胞的影响时发现,充足的血液支持是肠道早期发育的基础,而肠系膜血管中也存在EPOR,EPO可促进肠道微循环的建立,但机制不明,随后有学者证实EPO在体内是通过诱导蛋白激酶B/内皮型一氧化氮合酶(Akt/eNOS)磷

酸化以及内皮祖细胞合成一氧化氮(nitric oxide, NO),以刺激血管因子生成以及血管内皮化^[16]。早产儿肠道发育未成熟,血浆中 EPO 水平较低。一项纳入 34 篇随机病例对照研究文献的 Meta 分析显示,在低出生体质量儿或早产儿中早期(生后 8 d 内)使用 rhEPO 可增强了胃肠道抵抗致病原的能力,促进肠道发育,降低 NEC 的发生率^[17]。

3 EPO 与 NEC

3.1 EPO 的肠黏膜屏障保护作用与 NEC

肠道上皮是一层动态的细胞层,它在维持水、营养物质和离子运输的同时,也作为血管内物质和深层免疫系统之间的屏障,由相邻细胞之间的紧密连接构成,具有防御功能。紧密连接则由跨膜蛋白组成,包括闭锁蛋白、claudin 蛋白、连接黏附分子以及细胞质接头蛋白[zonula occluden, ZO (包括 ZO-1、ZO-2、ZO-3)],这些蛋白共同形成细胞之间的桥梁并授予其基本屏障属性。细胞更新是保持肠黏膜屏障功能稳定性的关键,肠上皮细胞更新周期为 4~5 d^[18],其凋亡与增殖处于动态平衡。在疾病状态下,肠黏膜免疫系统激活增加导致炎症因子如 TNF- α 、IL-13 的产生,其中 TNF- α 通过激活细胞周期检查点激酶 1 (cell cycle checkpoint kinase1, Chk1) 诱导 claudin-5 表达,抑制肌球蛋白轻链激酶 (myosin light-chain kinase, MLCK) 的产生^[19-20], IL-13 则通过增加 claudin-2 的转录^[21]打破平衡,使紧密连接结构发生改变,从而导致屏障通透性增加。肠黏膜防御机制破坏使细菌移位、肠道内环境失衡、白细胞活化、炎症因子聚集以及肠道组织破坏是 NEC 发病过程中的重要环节。ZO-1 内含有与其他紧密连接蛋白的结合区域^[22],构成一座不同细胞间与肌动蛋白细胞骨架连接的桥梁,介导连接的开启与闭合,是维持肠道黏膜屏障功能的重要元件。Shiou S R 等^[23]学者在体外培养肠上皮细胞系 T84 时发现,ZO-1 基因沉默肠上皮细胞的跨膜电阻持续下降,提示紧密连接完整性显著受损。且在建立的小鼠模型上进行口服荧光示踪剂实验发现,EPO 治疗组血清中示踪剂浓度显著下降,ZO-1 的表达增加,NEC 发生率由 45% 下降至 23%,并认为 EPO 是通过胞内磷脂酰肌醇激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 通路来维持 H4 细胞(胎儿体内未成熟肠上皮细胞)ZO-1 的表达,以保证屏障的稳定性,减少 NEC 的发生。

3.2 EPO 的抗自噬、抗凋亡作用与 NEC

自噬作用是依赖溶酶体途径对老化及异常胞质蛋白和细胞器进行分解回收的一种方式,进化上具有高度保守性,用于蛋白质和细胞器的更新。在营养或生长因子剥夺下,自噬为细胞代谢供应生存燃料,是一种机体自我保护机制。然而,不断积累的实验数据表明,自噬机制也可以在特定条件下,通过半胱天冬酶(caspase)非依赖途径程序化细胞死亡。细胞自噬和凋亡相互独立又相互影响,在某些系统中,会触发细胞凋亡的蛋白或细胞因子同样被证实能刺激自噬发生,如 IFN- γ 、Fas 相关死亡域蛋白(fas-associated protein with death domain, FADD)、神经酰胺、死亡相关蛋白激酶(death associated protein kinase, DAPk)等,但目前机制尚不明确^[24]。肠坏死是 NEC 的终末阶段。Jiling T 等^[25]对新生小鼠采用配方奶喂养、寒冷/窒息刺激的方式建立 NEC 模型,与母乳喂养小鼠作对照试验,结果发现在发生 NEC 改变

的小肠切片中观察到大量 TUNEL 染色阳性的细胞,其细胞核 DNA 碎裂频率(评估肠组织坏死)、未发生明显组织坏死的细胞中 caspase3 活性(提示细胞凋亡)均高于母乳喂养组,用半胱天冬酶拮抗剂(BAF)抑制细胞凋亡后可降低小鼠组织学 NEC 的发生率,提示肠上皮细胞自噬与凋亡可能是肠坏死的一个起始事件。线粒体是自噬最突出的靶点之一,Bcl-2 家族作为基于线粒体的凋亡通路中的决定性调控点,是自噬和凋亡过程中的重要蛋白。Yu Y 等^[26]基于 EPO 可以减少早产儿肠上皮细胞自噬和凋亡的假设下进行了体内和体外实验,通过测定 NEC 小鼠体内自噬标志物(Beclin 1、LC3II)、caspase3 的活性来评估细胞自噬与凋亡,观察到它们在 NEC 细胞中的活动迅速增加,而且自噬出现在凋亡之前。体外研究则表明,补充 EPO 分别通过蛋白激酶 B/雷帕霉素靶蛋白(Akt/mTOR)和丝裂原活化蛋白激酶/胞外信号调节激酶(MAPK/ERK)途径上调 Bcl-2 基因的表达,从而显著减少细胞自噬和凋亡。国外一项应用小鼠肠上皮细胞(IEC-6)进行的研究^[27]报道,EPO 可通过 Xc-系统抑制细胞凋亡来保护肠上皮细胞,Xc-系统是一种由胱氨酸和谷氨酸组成的等分子交换器,其活性是谷胱甘肽合成过程中的限速环节,而谷胱甘肽可有效清除活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS),减少细胞凋亡的发生,在此研究中,学者们对 IEC-6 分别注入浓度为 5 ng/mL、10 ng/mL、50 ng/mL 的 rhEPO 后发现,随着浓度的增加,Xc-系统活性增加,细胞的生存率增加。

3.3 EPO 的抗氧化作用与 NEC

缺血再灌注损伤(ischemia/reperfusion, I/R)是导致 NEC 的重要机制之一,有文献报道早产儿输血后 48 h 内发生 NEC 的风险高于未输血组,考虑与输血所致再灌注损伤有关,故出现输血相关性 NEC 的说法^[28]。氧化应激在肠道 I/R 中起重要作用,在 I/R 压力下的肠组织中,活化的中性粒细胞通过产生与释放活性氧簇(ROS)、细胞毒性蛋白进入细胞外液,引发炎症瀑布效应,使肠道内丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平迅速增加,脂质过氧化,以致细胞组织损伤。EPO 在低氧环境下,通过缺氧诱导因子(HIF)介导产生,促进红细胞增殖、分化,提高组织供氧。Sayan H 等^[29]通过夹闭肠系膜上动脉 30 min 后再通 180 min 建立 I/R 模型,将小鼠随机分为非 I/R 组、I/R 组、rhEPO (1 000 U/kg)+I/R 组、rhEPO (3 000 U/kg)+I/R 组进行对照研究,与 I/R 组相比,rhEPO 组尤其 rhEPO (3 000 U/kg)+I/R 组肠组织中 MDA 水平、白细胞浸润程度均明显下降,还原型谷胱甘肽含量增加,说明 EPO 可以通过可降低脂质过氧化反应,起到直接抗氧化作用。与此同时,一些文献也报道 EPO 也可以增加抗氧化酶的活性,发挥间接抗氧化作用。随后又有研究发现 EPO 通过 PI3K/Akt 途径抑制转录因子- κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)的激活,减少肠道及血清中促炎因子如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β 、IL-1 β)、干扰素- γ (IFN- γ)的释放,以改善 I/R 引起的急性肠道损伤^[30]。

3.4 EPO 抑制 NO 生成作用与 NEC

NO 是一种多效应的自由活性分子,最初被定义为一种短效的血管舒张因子,后来的研究揭示它除了作为血管张力调节器外,还对多种生理病理过程如内环境稳态、信息传

递、炎症等起着调节作用。NO 是精氨酸在一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS) 的催化下生成的, NOS 有三个亚型, 其中诱导型一氧化氮合酶 (inducible NOS, iNOS) 为非钙依赖性, 在钙离子饱和的状态下, iNOS 对钙调蛋白具有高度亲和力, 因此, 在正常条件下, iNOS 一般不表达, 但在炎症状态下可被高度诱导, 从纳米到微摩尔浓度产生大量 NO^[31]。大量的 NO 在肠道内通过炎症刺激引起血管通透性增加和肠上皮细胞损伤, 与 NEC 的发生关系密切^[32]。Whitehouse J S 等^[33]的研究结果表明, 肠系膜血管内皮细胞中 NO/O₂ 的相互转换是依赖于 NOS 的, 在 NEC 发病过程中, 若 NOS 解耦联, NO/O₂ 平衡打破, 有利于 ROS 生成时, 就可能导致血管收缩, 最终造成肠组织缺血, 促进 NEC 的发生。有细胞实验发现, 在缺氧压力下, NO 可以通过刺激 p42/p44 MAPK 产生从而上调 EPOR 基因表达, 并阻止 EPO 激活内皮细胞 Akt 磷酸化, 引起细胞凋亡^[34]。另一方面, Kumral A 等^[35]用 rhEPO 预处理 NEC 小鼠, 方法为 rhEPO 750 U/kg 腹腔注射, 每周 3 次, 连续 2 周, 第 15 天提取肠道组织样本进行检验分析, 与对照组比较, rhEPO 干预组 NO 水平显著下降, 组织坏死局限。综上, 可以推测 EPO 可能通过其抗炎、抗氧化作用, 抑制 NOS 表达, 减少 NO 生成, 来达到防治 NEC 的目的。

3.5 EPO 的免疫保护作用与 NEC

免疫反应贯穿 NEC 发病始终。肠道内除了其他微生物、食物抗原和代谢废物外, 还有多达 4 万亿的共生细菌, 内环境复杂。上皮内淋巴细胞 (intraepithelial lymphocytes, IEL) 作为肠上皮免疫监视的一部分, 具有先天免疫和适应性免疫的特点, 有效的 IEL 是肠道自我保护的第一道防线, 在正常情况下, IEL 处于部分激活状态, 因此可以对上皮损伤或微生物入侵作出快速应答^[36]。EPO 具有免疫调节作用, 有学者在研究 EPO 与多发性骨髓瘤 (multiple myeloma, MM) 时发现 EPO 在动物实验中可以通过增强 CD8⁺ T 淋巴细胞的活性而产生抗肿瘤效应^[37], 由此假设 EPO 具有更广泛的免疫调节作用, 并进一步建立 3 种小鼠模型: (1) 5T2 MM 小鼠; (2) 二硝基苯基匙孔血蓝蛋白 (dinitrophenyl-keyhole limpet hemocyanin, DNP-KLH) 或乙型肝炎表面抗原 (HBsAg) 免疫后的 BALB/c 小鼠; (3) DNP-KLH 免疫后的超表达 EPO 的转基因小鼠 (transgenic mice overexpressing HuEpo, tg6), 分别对其注射 rhEPO 与稀释剂, 探索 EPO 对体液免疫的调节作用, 发现 EPO 可以延长 MM 小鼠寿命, 通过上调抗 HBsAg IgG2a、DNP IgG 的水平分别增加 BALB/c 小鼠中抗 HBsAg 抗体、初始阶段抗 DNP 抗体反应, 以及促进脂多糖的增殖、减少抗 CD3 反应, 证实了 EPO 可以增强 B 细胞的某些功能^[38]。Toll 样受体 (toll-like receptors, TLRs) 是先天免疫系统的一组识别受体, 其信号通路可激活炎症级联反应, 打破胃肠道免疫平衡, 参与 NEC 的病理过程。作为肠道先天免疫系统的重要转导因子, TLR4 不仅调节炎症因子产生, 还能介导肠上皮细胞的各种活动^[39]。一项国内对 94 例 NEC 患儿进行的前瞻性随机对照研究发现, 通过肌肉注射给予 EPO (200 U/kg, 每周 2 次) 治疗 1 周后的观察组患儿, 其血液中 TNF- α 和 IL-6 浓度、TLR-4 和 NF- κ B 的 mRNA 表达水平以及病死率均低于对照组, 差异有统计学意义, 提示 EPO 可能经启动负调控机制阻遏 TLR-4/NF- κ B 信号通路减少 TNF- α 、IL-6 的释放, 使机体炎症因

子表达适量, 尽快恢复免疫平衡, 从而减少肠黏膜损伤, 改善 NEC 患儿的预后^[40]。

4 EPO 在 NEC 的临床应用

对新生儿而言, EPO 的临床应用仍较局限, 现主要用于治疗新生儿贫血和缺氧缺血性脑病, 当前已有许多分子、动物实验及小样本临床试验证明 EPO 从多个方面对 NEC 起到防治作用。陈晓晴等^[41]在探究 EPO 对 NEC 小鼠肠道损伤和细菌易位的影响时发现, EPO 干预组 (添加 0.1 U/mL rhEPO 的代乳品喂养模拟母乳生理浓度 EPO) 肠组织病理学损伤评分、细菌易位率均明显低于 NEC 组, NEC 发生率由 57% 降至 25%, 提示在早产儿配方奶中添加生理浓度 EPO 可以预防或延缓 NEC 的发生。一项关于 EPO 对早产儿疾病相关影响的系统回顾和荟萃分析显示, 静脉使用 rhEPO 可以通过减少喂养不耐受来预防早产儿发生 NEC, 而其病死率、早产儿视网膜病变及支气管肺发育不良的发病率与对照组相比无显著差异^[42]。但 Holm M 等^[43]纳入 867 例极早早产儿, 分别检测其生后第 1、7、14 天 EPO 的血液浓度时却发现早产儿生后 2 周内 EPO 血液浓度越高, 发生肠道、肺部以及视网膜疾病的风险就越高。因此, EPO 对 NEC 的应用价值, 包括剂量、给药方式及时间、有效性和安全性还需要进一步的临床评价及大样本的数据支持。

综上所述, NEC 是新生儿特别是早产儿时期严重的肠道炎症疾病, 现目前 NEC 的治疗手段有限, 内科主要是抗感染、禁食、胃肠减压、营养支持等, 若发生穿孔、坏死则需外科干预, 主要是坏死肠段切除、穿孔修复, 而 NEC 术后的并发症很多, 存活患儿可能会发生继发性肠狭窄、短肠综合征、小肠失功能、生长发育落后等, 故预防才是关键。EPO 作为一种多系统的细胞保护因子除了促进红细胞分化和成熟以外还具有促进肠道发育、保护肠黏膜屏障、抗自噬、抗凋亡、抗氧化、抑制 NO 生成以及免疫保护等生物学效应, 在防治 NEC 方面有广阔的发展前景。当前 EPO 对 NEC 研究仍处于细胞、动物实验阶段, 体现了一定的临床应用价值, 其具体的安全性和有效性需更深入的研究探索。

参考文献:

- [1] 陈风云, 余加林. 超早产儿预后的研究进展[J]. 儿科药理学杂志, 2018, 24(7): 51-55.
- [2] HUNTER C J, UPPERMAN J S, FORD H R, et al. Understanding the susceptibility of the premature infant to necrotizing enterocolitis (NEC) [J]. *Pediatr Res*, 2008, 63(2): 117-123.
- [3] THOMPSON A M, BIZZARRO M J. Necrotizing enterocolitis in newborns: pathogenesis, prevention and managements [J]. *Drugs*, 2008, 68(9): 1227-1238.
- [4] QIAN T, ZHANG R, ZHU L, et al. Necrotizing enterocolitis in low birth weight infants in China: mortality risk factors expressed by birth weight categories [J]. *Pediatr Neonatol*, 2017, 58(6): 509-515.
- [5] HULL M A, FISHER J G, GUTIERREZ I M, et al. Mortality and management of surgical necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates: a prospective cohort study [J]. *J Am Coll Surg*, 2014, 218(6): 1148-1155.
- [6] HEMANSHOO S THAKKAR, KOKILA L. Necrotizing enterocolitis [J]. *J Paediatr Child H*, 2018, 28(5): 227-230.
- [7] KANTOROWSKA A, WEI J C, COHEN R S, et al. Impact of

- donor milk availability on breast milk use and necrotizing enterocolitis rates [J]. *Pediatrics*, 2016, 137(3): e20153123.
- [8] NAKANO D. Erythropoietin-producing cells [J]. *Nihon yakurigaku zasshi*, 2016, 148(5): 281.
- [9] IVAN M, KAELIN W G. The EGLN-HIF O₂-sensing system: multiple inputs and feedbacks [J]. *Molecular cell*, 2017, 66(6): 772-779.
- [10] KUERT D, WOJCHOWSKI D M. Emerging EPO and EPO receptor regulators and signal transducers [J]. *Blood*, 2015, 125(23): 3536-3541.
- [11] LIN F K, SUGGS S, LIN C H, et al. Cloning and expression of the human erythropoietin gene [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1985, 82(22): 7580-7584.
- [12] PRABHAKAR N R, KUMAR G K, NANDURI J. Intermittent hypoxia augments acute hypoxic sensing via HIF-mediated ROS [J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2010, 174(3): 230-234.
- [13] NOAH T K, DONAHUE B, SHROYER N F. Intestinal development and differentiation [J]. *Exp Cell Res*, 2011, 317(19): 2702-2710.
- [14] JUUL S E, LEDBETTER D J, JOYCE A E, et al. Erythropoietin acts as a trophic factor in neonatal rat intestine [J]. *Gut*, 2001, 49(2): 182-189.
- [15] ASHLEY R A, DUBUQUE S H, DVORAK B, et al. Erythropoietin stimulates vasculogenesis in neonatal rat mesenteric microvascular endothelial cells [J]. *Pediatr Res*, 2002, 51(4): 472-478.
- [16] URAO N, OKIGAKI M, YAMADA H, et al. Erythropoietin-mobilized endothelial progenitors enhance reendothelialization via Akt-endothelial nitric oxide synthase activation and prevent neointimal hyperplasia [J]. *Circ Res*, 2006, 98(11): 1405-1413.
- [17] OHLSSON A, AHER S M. Early erythropoiesis-stimulating agents in preterm or low birth weight infants [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2017, 11(1): CD004863.
- [18] WANG C, XI R. Keeping intestinal stem cell differentiation on the Tramtrack [J]. *Fly*, 2015, 9(3): 110-114.
- [19] WATARI A, SAKAMOTO Y, HISAIE K, et al. Rebeccamycin attenuates TNF- α -induced intestinal epithelial barrier dysfunction by inhibiting myosin light chain kinase production [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(5): 1924-1934.
- [20] WATARI A, HASEGAWA M, YAGI K, et al. Checkpoint kinase 1 activation enhances intestinal epithelial barrier function via regulation of claudin-5 expression [J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0145631.
- [21] HU C A, HOU Y, YI D, et al. Autophagy and tight junction proteins in the intestine and intestinal diseases [J]. *Anim Nutr*, 2015, 1(3): 123-127.
- [22] ODENWALD M A, TURNER J R. The intestinal epithelial barrier: a therapeutic target? [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2016, 14(1): 9-21.
- [23] SHIOU S R, YU Y, CHEN S, et al. Erythropoietin protects intestinal epithelial barrier function and lowers the incidence of experimental neonatal necrotizing enterocolitis [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(14): 12123-12132.
- [24] YONEKAWA T, THORBURN A. Autophagy and cell death [J]. *Essays Biochem*, 2013, 55(4): 105-117.
- [25] JILLING T, LU J, JACKSON M, et al. Intestinal epithelial apoptosis initiates gross bowel necrosis in an experimental rat model of neonatal necrotizing enterocolitis [J]. *Pediatr Res*, 2004, 55(4): 622-629.
- [26] YU Y, SHIOU S R, GUO Y, et al. Erythropoietin protects epithelial cells from excessive autophagy and apoptosis in experimental neonatal necrotizing enterocolitis [J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e69620.
- [27] MARTIN C, PATEL M, MELENDEZ-FERRO M, et al. Erythropoietin-induced cytoprotection in intestinal epithelial cells is linked to system Xc- [J]. *Exp Cell Res*, 2017, 352(2): 202-206.
- [28] WAN-HUEN P, BATEMAN D, SHAPIRO D M, et al. Packed red blood cell transfusion is an independent risk factor for necrotizing enterocolitis in premature infants [J]. *J Perinatol*, 2013, 33(10): 786-790.
- [29] SAYAN H, OZACMAK V H, SEN F, et al. Pharmacological preconditioning with erythropoietin reduces ischemia-reperfusion injury in the small intestine of rats [J]. *Life Sci*, 2009, 84(11-12): 364-371.
- [30] KAI-LAN W, SI Z. Pretreatment with erythropoietin attenuates intestinal ischemia reperfusion injury by further promoting PI3K/Akt signaling activation [J]. *Transplant Proc*, 2015, 47(6): 1639-1645.
- [31] CHOKSHI N K, HUNTER C J, GUNER Y S, et al. The role of nitric oxide in intestinal epithelial injury and restitution in neonatal NEC [J]. *Semin Perinatol*, 2008, 32(2): 92-99.
- [32] GRISHIN A, BOWLING J, BELL B, et al. Roles of nitric oxide and intestinal microbiota in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis [J]. *J Pediatr Surg*, 2016, 51(1): 13-17.
- [33] WHITEHOUSE J S, XU H, SHI Y, et al. Mesenteric nitric oxide and superoxide production in experimental necrotizing enterocolitis [J]. *J Surg Res*, 2010, 161(1): 1-8.
- [34] COKIC B B, COKIC V P, SURESH S, et al. Nitric oxide and hypoxia stimulate erythropoietin receptor via MAPK kinase in endothelial cells [J]. *Microvasc Res*, 2014, 92(3): 34-40.
- [35] KUMRAL A, BASKIN H, DUMAN N, et al. Erythropoietin protects against necrotizing enterocolitis of newborn rats by the inhibiting nitric oxide formation [J]. *Biol Neonate*, 2003, 84(4): 325-329.
- [36] HU M D, JIA L, EDELBLUM K L. Policing the intestinal epithelial barrier: innate immune functions of intraepithelial lymphocytes [J]. *Curr Pathobiol Rep*, 2018, 6(1): 35-46.
- [37] PRUTCHI-SAGIV S, GOLISHEVSKY N, OSTER H S, et al. Erythropoietin treatment in advanced multiple myeloma is associated with improved immunological functions; could it be beneficial in early disease? [J]. *Br J Haematol*, 2006, 135(5): 660-672.
- [38] KATZ O, GIL L, LIFSHITZ L, et al. Erythropoietin enhances immune responses in mice [J]. *Eur J Immunol*, 2010, 37(6): 1584-1593.
- [39] TIAN J, YANG Z, PENG L, et al. Toll-like receptors play a crucial role in the progress of necrotizing enterocolitis [J]. *European journal of biomedical research*, 2015, 1(1): 8-16.
- [40] QI W, SHEN Q, ZHANG L, et al. Study on the inflammatory intervention of erythropoietin on NEC [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 11(6): 2221-2224.
- [41] 陈晓晴, 罗小平. 促红细胞生成素对新生大鼠坏死性小肠结肠炎模型肠损伤及细菌易位的影响 [J]. *解放军医学杂志*, 2012, 37(5): 436-439.
- [42] ANANTHAN A, BALASUBRAMANIAN H, RAO S, et al. Clinical outcomes related to the gastrointestinal trophic effects of

erythropoietin in preterm neonates; a systematic review and meta-analysis [J]. Adv Nutr, 2018, 9(3): 238-246.

[43] HOLM M, SKRANES J, DAMMANN O, et al. Systemic endogenous erythropoietin and associated disorders in extremely

preterm newborns [J]. Arch Dis in Child Fetal Neonatal Ed, 2016, 101(5): F458-F463.

(编辑:刘雄志)

(收稿日期:2018-10-26 修回日期:2018-12-10)

doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2020.01.020

· 综述 ·

儿童慢性咳嗽主要病因研究进展

徐茂竹,刘静月 综述,符州 审校(重庆医科大学附属儿童医院,儿童发育疾病研究教育部重点实验室,儿童发育重大疾病国家国际科技合作基地,儿科学重庆市重点实验室,重庆 400014)

[中图分类号]R725.6

[文献标识码]A

[文章编号]1672-108X(2020)01-0064-03

Advances of Main Causes of Chronic Cough in Children

Xu Maozhu, Liu Jingyue, Fu Zhou (Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China)

咳嗽是儿童呼吸道疾病的主要症状之一,对患儿身心健康产生极为不利的影响,也受到了广大儿科医师的高度重视。儿童慢性咳嗽的唯一或主要临床症状是咳嗽,病程在4周以上,且胸部X线片基本正常,治疗此病的前提在于明确病因。大量研究证实,儿童慢性咳嗽的三大病因为咳嗽变异性哮喘(cough variant asthma, CVA)、上气道咳嗽综合征(upper airway cough syndrome, UACS)以及感染后咳嗽(post-infection cough, PIC)。本文系统综述了儿童慢性咳嗽主要病因的研究现状,从理论层面来辅助临床治疗。

1 儿童慢性咳嗽的概念及分类

儿童慢性咳嗽至今没有统一诊断标准,以2006年美国胸科医师协会制定的标准为基础^[1],中华医学会儿科学会呼吸学组联合《中华儿科杂志》编委会于2007年公布了适用于我国儿童的《慢性咳嗽诊断和治疗指南(试行)》^[2],并于2013年进行修订^[3]。该指南对儿童慢性咳嗽进行了界定,即咳嗽症状持续在4周以上,并分为特异性咳嗽、非特异性咳嗽两类。咳嗽是某种确诊疾病的症状之一,称为特异性咳嗽;咳嗽为唯一或主要症状,胸部X线片显示正常,即为非特异性咳嗽^[2]。

2 儿童慢性咳嗽的主要病因

咳嗽是一种复杂而精确的神经肌肉现象,在整个童年时期,呼吸系统、神经系统、免疫系统等多个系统结构和功能发育均能影响咳嗽^[4]。近年研究发现,在病因上,儿童慢性咳嗽和成人存在区别,且区域、年龄层不同,病因也有所区别^[5]。我国组建的相关研究协作组于2009年5月到2010年4月基于临床层面调研了19个省市,发现儿童慢性咳嗽病因构成中排名前三的是CVA(41.95%)、UACS(24.71%)和PIC(21.73%)。该研究结果还显示,在总合格病例中,由多病因引发的儿童慢性咳嗽达8.54%^[6]。

2.1 咳嗽变异性哮喘(CVA)

CVA属于支气管哮喘,但具备一定特殊性,无明显喘息表现,唯一或主要临床症状是咳嗽,Glaser于40多年前率先给出CVA概念^[7]。近年CVA的发病率日益攀升,我国通过对儿童慢性咳嗽病因的探究发现,CVA在其中所占的比例达47.0%,居于首位^[8]。CVA的发病机制尚不完全明确。目前多数研究表明,CVA在病理生理学特征及相关的免疫-炎症反应机制与典型哮喘(classic asthma, CA)具有相似性^[9]。最新研究表明,CVA是CA的早期阶段,不受控制的、反复发作的CVA可能进一步损伤小气道功能和肺功能,并最终发展为CA。据统计,30%~54%的CVA患者未得到早期诊断和充分治疗而进展为CA^[10]。CVA的基本病理改变为气道慢性炎症反应^[11-12],若此病理基础长时间存在,可使气道出现以下问题:黏膜受损、平滑肌结构功能改变、基底膜厚度提高、神经调节功能紊乱,进而引发气道重塑^[13],使得气道反应性增高。CVA仅有咳嗽而无明显喘息,目前认为主要原因有:(1)CVA咳嗽受体敏感性相对增高。近年来有学者使用吸入性化学刺激证实了咳嗽受体的高敏感性,报道了咳嗽受体高敏感性与CVA的关系^[14-15]。Hisako M等^[16]认为,CVA属于中央气道的过敏性炎症,此处富含大量咳嗽受体,因此主要症状是咳嗽。(2)CVA气道反应性较低。Zugic V等^[17]提出,CVA气道上皮下层增厚程度低于经典哮喘,故气道仅有轻微收缩,而发生喘息需要更明显的气道收缩,故仅表现为咳嗽。

我国儿童CVA的诊断标准^[7]:(1)主要是干咳,无喘息表现,持续4周以上,多发生于运动时、凌晨和(或)夜间;(2)较长时间抗生素治疗未见疗效;(3)诊断性治疗有效;(4)排除其他原因引起的慢性咳嗽;(5)支气管激发试验结果为阳性和(或)连续进行14d监测下PEF日间变异率在13%以上;(6)自身或一、二级亲属曾患过过敏性疾病。CVA的本质是哮喘,主要通过药物治疗,药物分为控制药物、缓