·临床研究·

支气管哮喘婴幼儿血清 Ezrin 蛋白水平及临床意义

徐丽丹，季秀梅，陈熙泼，林玛丽，王凯旋

【摘要】目的　探讨 Ezrin 蛋白在支气管哮喘婴幼儿血清中的表达水平及临床意义。**方法**　61 例支气管哮喘婴幼儿按哮喘轻重分级标准分为轻度组（n=34）和重度组（n=27），并同时纳入同期于儿童保健科门诊体检的健康婴幼儿 35 例作为对照组。采用酶联免疫吸附测定法检测各组血清中 Ezrin 蛋白及白介素-13（IL-13）水平。**结果**　对照组血清 Ezrin 蛋白水平均高于轻度组、重度组（均 $P<0.05$）；轻度组 Ezrin 蛋白高于重度组（$P<0.05$）。重度组 IL-13 水平均高于轻度组、对照组（均 $P<0.05$），轻度组与对照组差异无统计学意义（$P>0.05$）。Ezrin 蛋白水平与 IL-13 在血清中的表达呈负相关（r=–0.61，$P<0.05$）。当血清 Ezrin 蛋白截断水平为 1.38 ng/ml 时，其诊断哮喘的敏感度为 98.50%，特异度为 91.30%，受试者工作特征曲线下面积为 0.998（95%*CI*：0.946 ～ 1.000）。**结论**　血清 Ezrin 蛋白水平可用于辅助诊断婴幼儿支气管哮喘并评估病情的严重程度。

【关键词】 Ezrin 蛋白；婴幼儿；支气管哮喘；生物标志物
doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.10.009
【中图分类号】 R725.6　**【文献标志码】** A　**【文章编号】** 1671-0800(2024)10-1297-03

支气管哮喘（简称哮喘）是儿童时期最常见的慢性气道疾病，若控制不佳将严重影响儿童的身心健康，也给家庭和社会带来沉重的精神压力和经济负担[1]。但婴幼儿缺乏可靠的、可量化的客观哮喘诊断指标，容易出现漏诊。我国目前哮喘儿童超过 600 万，却有近 30%的患儿没有得到及时诊断治疗，诊断不足是我国儿童哮喘诊治中的一个重要问题[2]。哮喘与气道上皮损伤密切相关[3]。Ezrin 蛋白由肺泡上皮细胞分泌，能连接细胞膜与细胞骨架，保护上皮细胞[4]。白介素-13（intereukin-13，IL-13）通过 JAK2/STAT6 途径下调 Ezrin 蛋白表达，增加气道上皮细胞通透性[5-7]。虽然动物实验证实 Ezrin 蛋白在哮喘中的重要性，但在人体尤其是儿童中的相关研究仍较少。本研究通过检测哮喘婴幼儿血清 Ezrin 蛋白的表达水平，并与健康婴幼儿进行比较，探讨 Ezrin 蛋白的临床意义，现报道如下。

1　资料与方法

1.1　一般资料　选择 2022 年 1 月至 2023 年 6 月金华市中心医院儿科病房收治的 61 例婴幼儿哮喘患儿，其中轻度哮喘 34 例（轻度组）、重度哮喘 27 例（重度组）。并纳入同期于儿童保健科门诊体检的同年龄阶段健康儿童 35 例为对照组。本研究获得金华市中心医院医学伦理委员会批准，所有研究对象均由法定代理人同意并签署书面知情同意书。

1.2　纳入及排除标准

1.2.1　纳入标准　（1）年龄 1 ～ 6 岁，性别不限；（2）哮喘患儿及分组标准参照《儿童支气管哮喘诊断与防治指南（2016 年版）》[8]，由 2 位主治医师以上职称呼吸专科医生评估病史、临床表现及辅助检查；（3）对照组既往无反复肺炎或喘息病史，无过敏性疾病史。

1.2.2　排除标准　（1）存在生长发育迟滞、喂养困难、先天性心脏病、神经系统发育异常、免疫缺陷病及肺部基础疾病患儿；（2）研究者认为不宜参与临床试验者。

1.3　方法　哮喘患儿收住入院的初始 2 h 内收集静脉血 2 ml，对照组留存体检时的血液样本，采用酶联免疫吸附测定（ELISA）法，对血清 Ezrin 蛋白、IL-13 水平水平进行检测。检测试剂盒分别为人细胞绒毛蛋白/Ezrin 蛋白（cytovillin/Ezrin）酶联免疫试剂盒（武汉华美生物工程有限公司，批号：A231488）；人 IL-13 酶联免疫试剂盒（杭州联科生物技术股份有限

基金项目： 浙江省卫生健康科技计划（2022RC287）；金华市科技计划项目（2022-3-129）
作者单位： 321000 浙江省金华，金华市中心医院
通信作者： 徐丽丹，Email：980944058@qq.com

公司，A11320821）。标本检测过程及步骤均严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 统计方法 采用SPSS 23.0统计软件进行数据分析。计量资料以均数±标准差表示，采用单因素方差分析和LSD-t检验；计数资料采用χ^2检验；绘制工作特征（ROC）曲线，并计算曲线下面积（*AUC*），根据约登指数最大原则，确定血清IL-13、Ezrin蛋白诊断哮喘患儿的最佳临界值，并计算其敏感度和特异度；相关性分析采用Pearson相关性分析。$P<0.05$表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料比较 3组受试儿年龄、性别差异均无统计学意义（均$P>0.05$），见表1。

2.2 3组血清Ezrin蛋白水平、IL-13水平比较 对照组血清Ezrin蛋白水平均高于轻度组、重度组（t=2.42、3.11，均$P<0.05$），轻度组高于重度组（t=20.01，$P<0.05$）。重度组IL-13水平均高于轻度组、对照组（t=10.48、9.91，均$P<0.05$），轻度组与对照组差异无统计学意义（t=0.56，$P>0.05$），见表2。

2.3 血清Ezrin蛋白水平与IL-13的相关性 以血清IL-13为横坐标，Ezrin蛋白水平为纵坐标，进行相关性分析，结果显示哮喘儿童Ezrin蛋白水平与IL-13成负相关（r=–0.61，$P<0.05$），见图1。

2.4 血清Ezrin蛋白水平对哮喘的诊断价值 ROC曲线显示，血清Ezrin蛋白的*AUC*为0.998（95%*CI*：0.946～1.000）。根据约登指数最大原则，Ezrin蛋白的截断水平为1.38 ng/ml时，其诊断哮喘的敏感度达98.50%，特异度达91.30%。血清IL-13的*AUC*为0.834（95%*CI*：0.668～1.000），根据约登指数最大原则，IL-13因子的截断水平为5.42 pg/ml时，其诊断哮喘的敏感度达87.10%，特异度达90.20%，见图2。

3 讨论

研究表明，肌动蛋白细胞骨架的变化导致气道结构性细胞病理性收缩，进而引发哮喘[9]。膜连接蛋白（ERM）家族通过连接跨膜蛋白与肌动蛋白细胞骨架，维持上皮屏障功能[10]。Ezrin蛋白作为ERM家族成员之一，是膜蛋白与肌动蛋白细胞骨架的关键连接分子，影响气道上皮修复和支气管平滑肌细胞收缩，在哮喘的发生与发展中起重要作用[11-13]。

本研究发现哮喘患儿血清Ezrin蛋白水平显著低于对照组（$P<0.05$），且重度组较轻度组水平更低（$P<0.05$）。虽然Ezrin蛋白在儿童哮喘中未有相关研究，但这与成人哮喘的研究结果一致，表明Ezrin蛋白水平与哮喘病情严重程度相关[6]。本研究还发现，血清Ezrin蛋白对诊断婴幼儿哮喘ROC曲

表1 3组一般资料比较

组别	例数	年龄（岁）	性别[例（%）]	
			男	女
对照组	35	3.4±0.6	18（51.4）	17（48.6）
轻度组	34	3.6±0.7	15（44.1）	19（55.9）
重度组	27	2.9±0.7	14（51.9）	13（48.1）
F（χ^2）值		1.37	（0.36）	
P值		＞0.05	＞0.05	

表2 3组血清Ezrin蛋白及白介素13水平比较

组别	例数	Ezrin蛋白（ng/ml）	白介素13（pg/ml）
对照组	35	3.59±2.24	5.02±0.16
轻度组	34	1.18±0.14	5.58±0.21
重度组	27	0.48±0.13	16.48±27.61
F值		42.58	5.29
P值		＜0.05	＜0.05

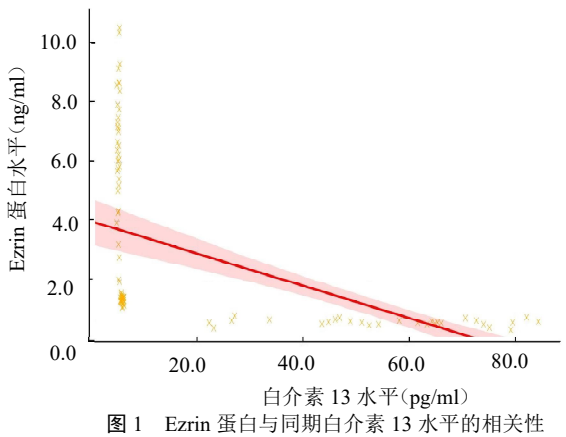


图1 Ezrin蛋白与同期白介素13水平的相关性

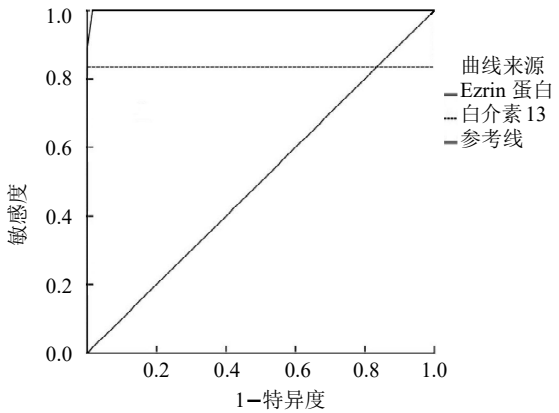


图2 Ezrin蛋白、白介素13诊断支气管哮喘ROC曲线

线下面积值为 0.998，取截断值时，其诊断哮喘的敏感度达 98.50%，特异度达 91.30%，可作为预测儿童哮喘的潜在血清生物标志物。

IL-13 参与哮喘的病理生理过程，包括气道炎症[14]、黏液过度分泌[15]和气道重塑[14]。既往研究表明，哮喘儿童血清和气道中的 IL-13 水平显著高于对照组，可用于预测哮喘儿童对抗炎治疗的反应[16]。哮喘小鼠模型中发现[17-18]，血清 Ezrin 蛋白表达下降，与 IL-13 水平呈负相关，IL-13 通过 JAK2/STAT6 信号途径下调 Ezrin 蛋白表达，导致气道上皮通透性增加，这可能是气道屏障受损及气道重塑的潜在机制。本研究进一步补充了上述研究的临床数据，发现 Ezrin 水平与哮喘血清标志物 IL-13 水平呈负相关。在正常组和轻度组儿童中，IL-13 水平无显著性差异，而 Ezrin 水平在两者之间存在显著差异。此外，血清 IL-13 *AUC* 小于 Ezrin 蛋白，诊断哮喘的敏感度和特异度均低于 Ezrin 蛋白。因此，Ezrin 蛋白在诊断和评估婴幼儿哮喘病情上，或许可以成为优于 IL-13 的重要生物标志物。

综上所述，婴幼儿期支气管哮喘诊断困难，亟需客观的临床实验指标指导其诊断及为进一步治疗，Ezrin 作为一种新的生物标志物，监测血清 Ezrin 水平可用于评估婴幼儿哮喘及判断病情严重程度，将为儿童哮喘诊断及严重度评估提供了一种新的思路，具有重要的理论意义及应用价值。今后拟进行更大样本量及更广年龄范围检测血清 Ezrin 浓度范围，为儿童支气管哮喘诊断提供新的依据与方法。

利益冲突　所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明　徐丽丹：论文撰写、经费支持；陈熙泼：实验操作；林玛丽：数据整理、统计学分析；季秀梅：研究指导；王凯旋：论文修改

参 考 文 献

[1] ZHOU J X, GUO Y F, TENG Y Z, et al. Maternal anxiety during pregnancy and children's asthma in preschool age: The Ma'anshan birth cohort study[J]. J Affect Disord, 2023, 340: 312-320.

[2] 全国儿科哮喘协作组, 中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所.第三次中国城市儿童哮喘流行病学调查[J].中华儿科杂志,2013,51(10):729-735.

[3] NOUREDDINE N, CHALUBINSKI M, WAWRZYNIAK P. The role of defective epithelial barriers in allergic lung disease and asthma development[J]. J Asthma Allergy, 2022, 15: 487-504.

[4] DENG F, YU C H, ZHONG S B, et al. Store-operated calcium entry enhances the polarization and chemotaxis of neutrophils in the peripheral venous blood of patients with bronchial asthma by upregulating ERM protein[J]. J Thorac Dis, 2023, 15(4): 2051-2067.

[5] WU Q, EICKELBERG O. Ezrin in asthma: A first step to early biomarkers of airway epithelial dysfunction[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2019, 199(4): 408-410.

[6] JIA M, YAN X Y, JIANG X Y, et al. Ezrin, a membrane cytoskeleton cross-linker protein, as a marker of epithelial damage in asthma[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2019, 199(4): 496-507.

[7] KUMAR R K, HERBERT C, YANG M, et al. Role of interleukin-13 in eosinophil accumulation and airway remodelling in a mouse model of chronic asthma[J]. Clin Exp Allergy, 2002, 32(7): 1104-1111.

[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] CHEN G Y, ZHENG Y L, WU N, et al. Human beta defensin 3 knockdown inhibits the proliferation and migration of airway smooth muscle cells through regulating the PI3K/AKT signaling pathway[J]. Mol Immunol, 2024, 168: 38-46.

[10] MILLER R L, GRAYSON M H, STROTHMAN K. Advances in asthma: New understandings of asthma's natural history, risk factors, underlying mechanisms, and clinical management[J]. J Allergy Clin Immunol, 2021, 148(6): 1430-1441.

[11] ZHANG X L, FLORES L R, KEELING M C, et al. Ezrin phosphorylation at T567 modulates cell migration, mechanical properties, and cytoskeletal organization[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(2): 435.

[12] YIN L M, SCHNOOR M. Modulation of membrane-cytoskeleton interactions: Ezrin as key player[J]. Trends Cell Biol, 2022, 32(2): 94-97.

[13] ZHAO S M, LUO J Q, HU J, et al. Role of ezrin in asthma-related airway inflammation and remodeling[J]. Mediators Inflamm, 2022, 2022: 6255012.

[14] SCOTT G, ASRAT S, ALLINNE J, et al. IL-4 and IL-13, not eosinophils, drive type 2 airway inflammation, remodeling and lung function decline[J]. Cytokine, 2023, 162: 156091.

[15] WINKELMANN V E, THOMPSON K E, NEULAND K, et al. Inflammation-induced upregulation of P2X4 expression augments mucin secretion in airway epithelia[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2019, 316(1): L58-L70.

[16] ZHANG J H, ZHANG M, WANG Y N, et al. Correlation between IL-4 and IL-13 gene polymorphisms and asthma in Uygur children in Xinjiang[J]. Exp Ther Med, 2019, 17(2): 1374-1382.

[17] KALINAUSKAITE-ZUKAUSKE V, JANULAITYTE I, JANUSKEVICIUS A, et al. Serum levels of epithelial-derived mediators and interleukin-4/interleukin-13 signaling after bronchial challenge with Dermatophagoides pteronyssinus in patients with allergic asthma[J]. Scand J Immunol, 2019, 90(5): e12820.

[18] NUR HUSNA S M, SHUKRI N M, MOHD ASHARI N S, et al. IL-4/IL-13 axis as therapeutic targets in allergic rhinitis and asthma[J]. PeerJ, 2022, 10: e13444.

收稿日期：2024-06-12

（本文编辑：吴迪汉）