

## · 论著 ·

DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2024.07.005

## 中性粒细胞胞外诱捕网在儿童重症肺炎支原体肺炎中的意义

董庆华<sup>1</sup>, 尹建运<sup>1</sup>, 苏杭<sup>1</sup>, 黄莉<sup>2</sup>, 倪倩<sup>3</sup>✉

(1. 兰州大学第二临床医学院, 甘肃 兰州 730001; 2. 兰州大学第二医院小儿肾病科, 甘肃 兰州 730001; 3. 兰州大学第二医院小儿呼吸科, 甘肃 兰州 730001)

**【摘要】** **目的** 探讨中性粒细胞胞外诱捕网 (NETs) 在儿童重症肺炎支原体肺炎 (SMPP) 发生、发展中的作用, 并评价其对 SMPP 的预测价值。**方法** 选择 2023 年 10 月至 12 月兰州大学第二医院收住院的肺炎支原体肺炎 (MPP) 患儿为研究对象, 分为非重症组 (MPP 组,  $n = 45$  例) 和重症组 (SMPP 组,  $n = 39$ )。采用 ELISA 检测 2 组患儿血清中 NETs 质量浓度。分别收集 SMPP 组患儿的患侧肺及健侧肺肺泡灌洗液 (BALF), 采用 ELISA 检测 BALF 中 NETs 质量浓度。**结果** MPP 与 SMPP 患儿血清中 NETs 质量浓度比较差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。SMPP 组患侧肺 BALF 中的 NETs 质量浓度高于健侧肺 ( $P < 0.001$ )。SMPP 组血清中 NETs 质量浓度高于 BALF ( $P < 0.001$ )。血清中 NETs 质量浓度预测 SMPP 的受试者操作特征曲线下面积 (ROC AUC) 为 0.892 (95%CI 0.810~0.963,  $P < 0.001$ ), 灵敏度为 0.821, 特异度为 0.875, 截断值为 17.24 ng/mL; 血清中 NETs 联合 C-反应蛋白 (CRP)、乳酸脱氢酶 (LDH) 预测 SMPP 的 ROC AUC 为 0.974 (95%CI 0.946~1.000,  $P < 0.001$ ), 灵敏度为 0.923, 特异度为 0.950。**结论** MPP 患儿中过度激活的 NETs 可能与 SMPP 的发生及 SMPP 的局部肺损伤有关。检测 MPP 患儿血清中 NETs、CRP、LDH 水平可有效预测 SMPP, 其中以联合预测的效能最优。

**【关键词】** 儿童; 中性粒细胞胞外诱捕网; 重症肺炎支原体肺炎; 肺泡灌洗液; C-反应蛋白; 乳酸脱氢酶

### Significance of neutrophil extracellular traps in severe *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children

DONG Qinghua<sup>1</sup>, YIN Jianyun<sup>1</sup>, SU Hang<sup>1</sup>, HUANG Li<sup>2</sup>, NI Qian<sup>3</sup>✉

(1. The Second Clinical Medical College, Lanzhou University, Lanzhou 730001, China; 2. Department of Pediatric Nephrology, the Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730001, China; 3. Department of Pediatric Respiratory, the Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730001, China)

Corresponding author: NI Qian, E-mail: ery\_niq@lzu.edu.cn

**【Abstract】** **Objective** To investigate the pathogenic role of neutrophil extracellular traps (NETs) in the pathogenesis and progression of severe *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia (SMPP) in children and to assess their predictive value for SMPP. **Methods** Children with *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia (MPP) admitted to the Second Hospital of Lanzhou University from October to December 2023 were selected as the study subjects. They were divided into the non-severe group (MPP group,  $n = 45$ ) and severe group (SMPP group,  $n = 39$ ). The levels of NETs in the serum and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of all children were measured using ELISA. Additionally, BALF from both the affected and contralateral sides was collected from children in the SMPP group, and the content of NETs in BALF was determined using ELISA. **Results** A significant difference was observed in the serum concentration of NETs between MPP and SMPP patients ( $P < 0.01$ ). In the SMPP group, the level of NETs in the BALF of the affected lung was significantly higher than those of the contralateral side ( $P < 0.001$ ). Serum NETs levels were significantly higher than those in BALF in SMPP group ( $P < 0.001$ ). The area under the ROC curve (AUC) for predicting SMPP based on serum NETs levels was 0.892 (95%CI 0.810-0.963,  $P < 0.001$ ), with a sensitivity of 0.821 and specificity of 0.875, and a cut-off value of 17.24 ng/mL, respectively. The AUC of the combination of serum NETs with C-reactive protein (CRP) and lactate dehydrogenase (LDH) levels for predicting SMPP was 0.974 (95%CI 0.946-1.000,  $P < 0.001$ ), with a sensitivity of 0.923 and specificity of 0.950, respectively.

收稿日期: 2024-03-09

基金项目: 甘肃省自然科学基金 (22JR5RA1006); 兰州市科技发展指导性计划项目 (2020-ZD-98); 兰州大学第二医院“萃英科技创新”计划项目 (CY-2020-MS13)

作者简介: 董庆华, 硕士研究生, 研究方向: 儿童呼吸系统疾病, E-mail: dongqh21@lzu.edu.cn; 倪倩, 通信作者, 主任医师, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 儿童呼吸系统疾病, E-mail: ery\_niq@lzu.edu.cn

**Conclusions** Excessive activation of NETs may contribute to the incidence of SMPP and localized lung injury in children with MPP. Monitoring the serum levels of NETs, CRP and LDH can effectively predict the incidence of SMPP. The combination of NETs, CRP, and LDH yields the best predictive performance.

**[ Key words ]** Children; Neutrophil extracellular traps; Severe *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia; Bronchoalveolar lavage fluid; C-reactive protein; Lactate dehydrogenase

肺炎支原体肺炎 (*Mycoplasma pneumoniae* pneumonia, MPP) 是儿童常见社区获得性肺炎。近两年, 伴随着新型冠状病毒感染 (COVID-19) 大流行的结束, MPP 的患病率和门诊患儿中耐药肺炎支原体分离株的比例从最初的较低水平, 到现在已经出现反弹的趋势<sup>[1]</sup>。门诊患儿的大规模增加使得临床医师要对疾病的诊断和严重程度进行快速地识别。研究表明, 随着大环内酯类药物的耐药的发展, 重症肺炎支原体肺炎 (severe *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia, SMPP) 的发病率也在逐年攀升, 而 SMPP 患儿容易合并多种肺外并发症, 更容易出现多器官功能障碍综合征, 从而危及患儿生命<sup>[1-2]</sup>。因此, 临床医师需要寻找更多的诊断和分类诊断方法, 避免对疾病的误诊和对疾病严重程度的误判, 从而减少药物滥用和耐药的发生。既往的研究显示, 中性粒细胞可以通过形成中性粒细胞胞外诱捕网 (neutrophil extracellular traps, NETs) 的方式参与机体的抗菌机制, 但越来越多的研究表明这种机制在参与抗菌的同时还可能参与机体多项炎症反应, 在多种感染性和自身免疫性疾病甚至肿瘤转移中发挥重要作用<sup>[3-4]</sup>。因此, 本研究拟通过检测 MPP、SMPP 患儿血清及 SMPP 患儿肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 中 NETs, 探讨 NETs 与儿童 MPP 病情严重程度的关系, 以期为临床疾病监测提供一定参考依据。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

选择 2023 年 10 月至 12 月在兰州大学第二医院住院的 MPP 患儿为研究对象, 分为非重症组 (MPP 组,  $n = 45$ ) 和重症组 (SMPP 组,  $n = 39$ )。MPP 组未采集 BALF 标本; SMPP 组采集到 BALF 标本共 12 例, 且影像学检查表现为单侧肺受累, 收集其患侧肺和健侧肺的 BALF 标本。本研究方案经兰州大学第二医院医学伦理委员会批准 (批件号: 2023A-440), 入组患儿监护人均已签署知情同意书。

### 1.2 病例纳入及排除标准

纳入标准: ① 0~14 岁; ② 符合 MPP 和 SMPP 诊断标准 (参照《儿童肺炎支原体肺炎诊治专家共识 (2023 年版)》); ③ 病程在 14 d 以内; ④ 血培养或痰培养结果阴性、无明确病毒感染证据者<sup>[5]</sup>。排除标准: ① 有支气管哮喘和慢性阻塞性肺疾病等病史的患儿; ② 有血液系统疾病、严重先天性心脏病、严重肝肾功能不全、先天性支气管肺发育不良、遗传代谢性疾病、免疫缺陷疾病等严重基础疾病的患儿; ③ 长期使用糖皮质激素或免疫功能调节剂、免疫抑制剂治疗的患儿。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 临床资料收集及血液、BALF 标本采集

记录入组患儿的性别、年龄。于患儿入院后次日清晨采集空腹静脉血 2 mL, 在 4 °C 以 3 000 转 / 分离心 10 min 后, 分离血清于 -80 °C 冰箱保存备检。按照文献 [6] 的技术要求, 根据先健侧后患侧的原则行支气管肺泡灌洗, 并收集 BALF 各 5 mL; 健侧选择右肺中叶或左上叶舌段, 患侧选择病变段, 总回收率  $\geq 30\%$ , 红细胞比例低于 20%, 且无大气道分泌物混入为合格标本; 将新鲜 BALF 移取至 15 mL 锥形离心管中, 在相同条件下离心后, 分离上清液置于 -80 °C 冰箱保存备检。

#### 1.3.2 标本检测

采用全自动血细胞分析仪检测血常规和 C-反应蛋白 (C-reactive protein, CRP), 记录白细胞计数、中性粒细胞比例、CRP 质量浓度; 全自动乳胶凝集免疫比浊法检测 D-二聚体, 记录其质量浓度; ELISA 法检测乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH), 记录其水平。采用 ELISA 检测血清及 BALF 中 NETs 的含量, 试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司, 具体操作步骤严格按试剂盒说明书进行, 检测仪器为赛默飞世尔 Multiskan FC 酶标仪, 在 450 nm 波长处依序测量各孔 NETs 的吸光度并记录。

### 1.4 样本量估计

根据文献预计儿童社区获得性肺炎非重症组和重症组的 NETs 与细胞游离 DNA 比值的均值分

别为 228、286，标准差分别为 40、52<sup>[7]</sup>。要求双侧检验水准为 0.05，把握度（检验效能）为 90%。利用 G\*Power 15 软件计算得到每组至少需要纳入 12 例患儿。

### 1.5 统计学处理

采用 SPSS 26.0 和 GraphPad Prism 8.0 进行统计学分析。正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示，2 组间比较采用独立样本 *t* 检验，血清与 BALF 组内对比采用配对 *t* 检验；非正态分布的计量资料以 *M* (*P*<sub>25</sub>, *P*<sub>75</sub>) 表示，组间比较采用 Wilcoxon 秩和检验；计数资料以 *n* (%) 表示，组间比较采用  $\chi^2$  检验；SMPP 组 BALF 与血清 NETs 的关系采用 Pearson 相关性分析。结合单因素分析结果筛选出具有统计学意义的指标，进行多因素 Logistic 回归分析（逐步法）。采用 GraphPad Prism 8.0 绘制受试者操作特征（receiver operating characteristic, ROC）曲线分析血清中 NETs 质量浓度以及联合外周血常规指标在 SMPP 诊断预测中的价值，并用 DeLong 检验比较各 ROC 曲线的

预测性能。双侧 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 MPP 组和 SMPP 组患儿的一般人口学资料及实验室指标比较

MPP 组、SMPP 组患儿的年龄、性别比较差异均无统计学意义 (*P* 均 > 0.05)，但 SMPP 组的白细胞计数、中性粒细胞比例、CRP 质量浓度、D-二聚体质量浓度、LDH 水平均高于 MPP 组 (*P* 均 < 0.05)。见表 1。

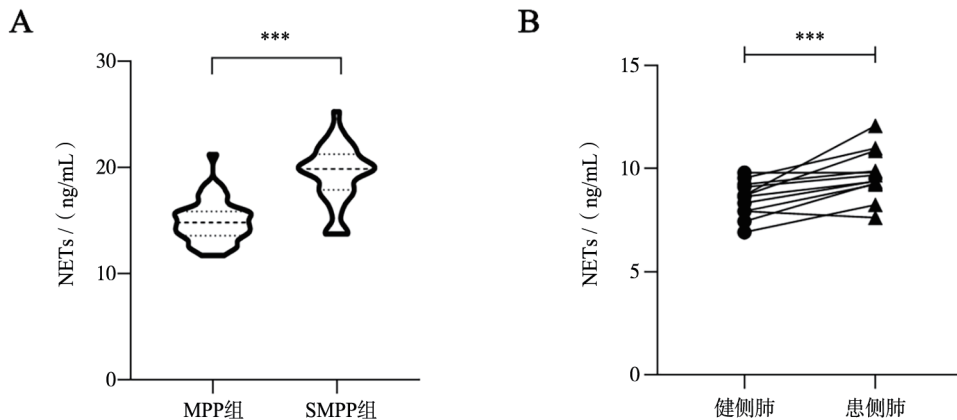
### 2.2 NETs 质量浓度在 MPP 组与 SMPP 组血清中的比较及在 SMPP 患儿健侧肺、患侧肺 BALF 中的比较

SMPP 组血清 NETs 质量浓度高于 MPP 组 (*t* = 82.00, *P* < 0.001)；SMPP 组患侧肺 BALF 的 NETs 质量浓度高于健侧肺 BALF (*t* = -2.79, *P* < 0.001)。见图 1。

表 1 MPP 组和 SMPP 组患儿的一般人口学资料及实验室指标比较

Table 1 Comparison of general demographic data and laboratory indicators in children between the MPP and SMPP groups

项目	MPP 组 ( <i>n</i> =45)	SMPP 组 ( <i>n</i> =39)	$\chi^2/t/Z$ 值	<i>P</i> 值
性别 (男/女) / <i>n</i>	21/24	20/19	0.18	0.670
年龄 / 岁	6.02 ± 3.00	6.38 ± 2.75	-0.57	0.570
白细胞 / ( $\times 10^9/L$ )	7.91 ± 2.55	11.33 ± 5.53	-3.54	<0.001
中性粒细胞 / %	62 (55, 69)	72 (66, 76)	-4.23	<0.001
CRP / (mg/L)	9.16 (4.49, 12.97)	27.97 (15.68, 50.34)	-6.00	<0.001
D-二聚体 / (mg/L)	0.55 (0.36, 0.75)	1.17 (0.68, 2.91)	-4.75	<0.001
LDH / (U/L)	300.69 ± 68.95	369.67 ± 119.86	-3.17	0.002



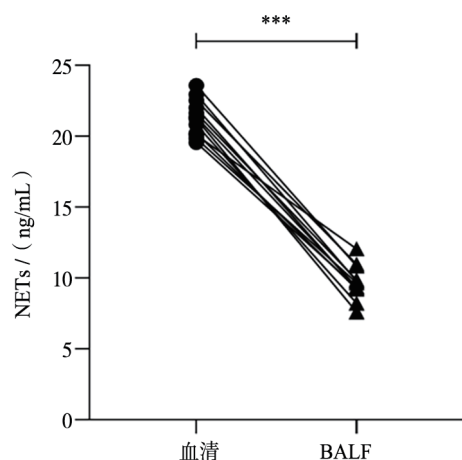
注：A 为 MPP 组、SMPP 组患儿血清 NETs 质量浓度比较；B 为 SMPP 组患儿的健侧肺、患侧肺 NETs 质量浓度比较；\*\*\**P* < 0.001。

图 1 NETs 质量浓度在 MPP 组与 SMPP 组血清中及在 SMPP 患儿健侧肺、患侧肺 BALF 中的比较

Figure 1 Comparison of NETs mass concentrations in serum between the MPP group, SMPP group and those in BALF between the healthy lung and affected lung of children with SMPP

### 2.3 SMPP组患儿BALF与血清中的NETs质量浓度差异及相关性分析

SMPP组患儿血清中NETs质量浓度高于BALF中NETs质量浓度( $t = 25.546, P < 0.001$ ); 两者相关性弱( $r = 0.192, P = 0.551$ )。见图2。



注: \*\*\* $P < 0.001$ 。

图2 SMPP组BALF与血清NETs质量浓度比较

Figure 2 Comparison of mass concentrations of BALF and serum NETs in SMPP group

### 2.4 SMPP影响因素的Logistic回归分析

将白细胞计数、中性粒细胞比例、CRP质量浓度、D-二聚体质量浓度、LDH水平、血清NETs质量浓度的具体值纳入多因素Logistic回归分析(逐步法), 结果显示CRP、LDH、血清NETs是SMPP的影响因素。利用三者建立Logistic回归模型, 得出回归方程为:  $\text{Logit } P = -21.103 + 0.155 \times \text{CRP} + 0.014 \times \text{LDH} + 0.863 \times \text{NETs}$ 。对上述模型行似

然比检验, 具有统计学意义( $\chi^2 = 2\,662.44, P < 0.001$ ), 对各回归系数的Wald $\chi^2$ 检验显示, CRP、LDH、血清NETs的 $P$ 均 $< 0.05$ 。见表2。

### 2.5 血清NETs质量浓度对SMPP的预测价值分析

利用血清NETs、CRP、LDH建立预测SMPP的ROC曲线, 3个单一参数及回归模型的灵敏度、特异度、ROC曲线下面积(area under curve, AUC)及鉴别临界点见表3和图3, 血清NETs、CRP与LDH构建的联合预测模型ROC AUC大于血清NETs、CRP、LDH任一单独指标, 通过DeLong法两两比较发现联合预测模型与单一数据ROC AUC比较差异均有统计学意义( $P$ 均 $< 0.05$ ), 见表4。

## 3 讨论

MPP是一种具有自限性的传染性疾病, 主要通过呼吸道传播, 潜伏期通常为2~4周。该病全年活跃, 有证据显示其可引起地方性流行, 并在中国大部分地区每隔2~3年发生一次大规模流行<sup>[8]</sup>。肺炎支原体可引起上呼吸道和下呼吸道感染, 大多数病例的临床症状是非特异性的<sup>[2]</sup>。虽然大多数MPP病例的病情并不严重, 但有些病例可能发展为重症肺炎和难治性肺炎, 伴有胸腔积液、多器官功能障碍综合征和严重的长期后遗症, 包括闭塞性细支气管炎和支气管扩张; 在严重情况下, SMPP患者可能会出现呼吸衰竭和低氧血症, 需使用机械通气、体外膜肺氧合等技术进行生命支持, 病情危重者甚至可能会死亡<sup>[6]</sup>。在SMPP高发生率的情况下, 早期诊断和治疗显得尤为关键。

既往的研究表明, NETs在细菌、病毒、真菌

表2 SMPP影响因素的Logistic回归分析

Table 2 Logistic regression analysis of the influencing factors of SMPP

指标	$\beta$	SE	Wald $\chi^2$ 值	$P$ 值	OR	95%CI
CRP	0.155	0.063	6.030	0.014	1.168	1.032~1.321
LDH	0.014	0.006	5.284	0.022	1.014	1.002~1.026
血清NETs	0.863	0.253	11.684	0.001	2.371	1.445~3.891

表3 血清NETs、CRP、LDH及三者联合预测SMPP的ROC分析结果

Table 3 ROC curve analysis results of serum NETs, CRP, LDH and their combined for prediction of SMPP

指标	AUC	95%CI	截断值	约登指数	灵敏度	特异度	$P$ 值
血清NETs	0.892	0.810~0.963	17.24	0.696	0.821	0.875	$< 0.001$
CRP	0.892	0.712~0.907	15.10	0.645	0.795	0.850	$< 0.001$
LDH	0.684	0.567~0.800	318.00	0.374	0.641	0.733	0.010
血清NETs+CRP+LDH	0.974	0.946~1.000	0.54	0.873	0.923	0.950	$< 0.001$

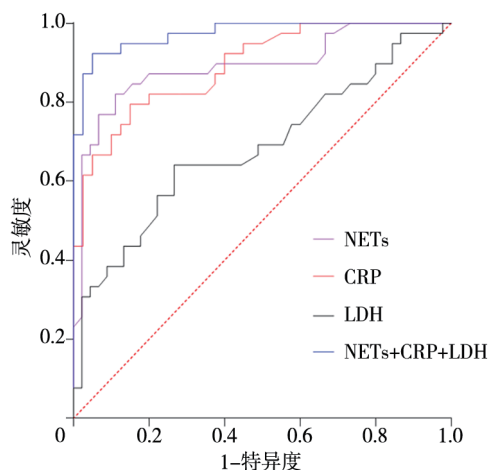


图3 血清 NETs、CRP、LDH 及三者联合预测 SMPP 的 ROC 曲线

Figure 3 ROC curves of serum NETs, CRP, LDH and their combined for prediction of SMPP

早期感染过程中均具有一定积极作用,随着研究的深入,这些疾病的炎症进程中同样发现 NETs 的参与<sup>[9]</sup>。针对 COVID-19 患者肺泡和内皮损伤机制的研究表明,严重 COVID-19 病例中 IL-1 $\beta$  和 NETs 可能会形成前馈环直接激活和损伤内皮细胞,削弱内皮屏障完整性<sup>[10]</sup>。肺炎链球菌甚至可以通过促进中性粒细胞向 NETs 的转换,从而实现中性粒细胞的免疫逃避<sup>[11]</sup>。铜绿假单胞菌作为下呼吸道感染常见致病菌之一,其慢性感染患者的痰液中也发现了 NETs,并且 NETs 与痰液黏稠度的增加以及肺功能的下降相关<sup>[12]</sup>。NETs 作为一种肺部炎症的促炎因子已被越来越多的研究者所认识,探究其在肺部感染性疾病中的作用可能为疾病的治疗提供新的思路。

本研究结果显示,SMPP 组外周血中的多种因子水平以及血清 NETs 质量浓度均高于 MPP 组,提示 MPP 患儿病情加重可能与上述因素有关,进一步

的 Logistic 回归分析结果显示,NETs、CRP、LDH 均为 MPP 患儿疾病进展的影响因素。NETs 是中性粒细胞的一种特殊形式,是最早到达损伤部位的炎症因子,能同时调节先天性和适应性免疫反应,并具有较强的杀菌作用和促炎作用<sup>[13]</sup>。有研究表明,NETs 可以激活浆细胞样树突状细胞(plasmacytoid dendritic cell, pDC),以一种依赖于 DNA 和 Toll 样受体 9 (toll like receptor 9, TLR9) 的方式产生高水平的干扰素- $\alpha$  (interferon- $\alpha$ , IFN- $\alpha$ )<sup>[14]</sup>。NETs 还可以通过调节核苷酸结合寡聚结构域样受体蛋白 3 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3) 的去泛素化修饰,激活肺泡巨噬细胞的焦亡过程,加重脓毒症引起的肺损伤<sup>[15]</sup>。本课题组之前发现,肺炎支原体可能通过 pDC-TLR7/9-IFN- $\alpha$  和 NLRP3/IL-1 $\beta$ 、IL-18 通路参与 SMPP 的发病机制<sup>[16-18]</sup>。因此,本研究旨在探究对 NETs 在 SMPP 中的作用,为 SMPP 发病机制的研究提供参考依据。

众所周知,MPP 向 SMPP 转变最主要的特征就是炎症风暴的进一步发展,以及多种肺内及肺外并发症的发生。本研究显示,CRP、LDH 是影响 MPP 患儿疾病进展的因素,这与 2023 年更新的新版 MPP 诊疗指南中提出的 CRP 和 LDH 对于疾病严重程度诊断具有价值一致<sup>[6]</sup>。D-二聚体是交联纤维蛋白的降解产物,与血液高凝及急性血栓密切相关<sup>[19]</sup>。但由于出现明显血栓的病例极少,临床缺乏对微血栓形成的检验及认识,笔者团队收集到的相关血栓形成的临床数据极少,无法对其进行验证。随着认识水平的提高,笔者团队发现 SMPP 中的血栓形成并不罕见,北京儿童医院的一项研究表明,D-二聚体质量浓度的升高,即超过 11.1 mg/L 或者大于 5.0 mg/L 已可提示体内血栓的形成<sup>[20]</sup>。Cesta 等<sup>[21]</sup>提出,NETs 是 COVID-19 免疫血栓形成的关键驱动因素,并证明通过监测

表4 NETs、CRP、LDH 及三者联合诊断的 ROC AUC 比较

Table 4 Comparison of ROC AUC of NETs, CRP, LDH and their combined for SMPP diagnosis

诊断指标	Z 值	P 值	AUC 差异	标准误	95% CI
血清 NETs vs. CRP	-0.103	0.918	-0.005	0.272	-0.109~0.098
血清 NETs vs. LDH	2.520	0.012	0.199	0.318	0.044~0.354
血清 NETs vs. 联合	-2.369	0.018	-0.088	0.231	-0.160~0.015
CRP vs. LDH	3.039	0.002	0.204	0.308	0.073~0.336
CRP vs. 联合	-2.663	0.008	-0.082	0.220	-0.143~0.022
LDH vs. 联合	-4.922	<0.001	-0.287	0.273	-0.401~0.173

注:联合指血清 NETs、CRP 与 LDH 联合诊断。

NETs 可以早期预测患者体内血栓的形成。因此, NETs 与 D-二聚体的联合可能是监测 SMPP 中的血栓甚至微血栓形成的新方向, 希望后期随着病例数的增加可以通过开展更多的临床试验来验证这一观点。

目前, 对于肺局部损伤的机制仍无明确定论。本研究结果显示, SMPP 患儿患侧肺 BALF 中 NETs 的质量浓度高于健侧肺, 提示 NETs 的过度激活可能参与了 SMPP 患儿的局部肺损伤。康妍萌等<sup>[22]</sup>的研究提示, SMPP 患儿 BALF 中存在严重的 1 型与 2 型辅助性 T 细胞 (T helper cell, Th) 比值失衡, 结合 Zheng 等<sup>[23]</sup>所报道的 NETs 参与了 Th2 介导信号转导和转录激活因子 6 (signal transducer and activator of transcription 6, STAT6) 依赖性方式的补体 C3 高表达, 提示了 NETs 参与介导的 Th2-STAT6-C3-NETs 的级联反应可能是 SMPP 患儿局部肺损伤的重要致病通路。

本研究对 BALF 的收集严格遵循相关指南操作<sup>[6]</sup>。研究结果显示, SMPP 患儿血清 NETs 质量浓度高于其在 BALF 中的质量浓度。NETs 的肺外高表达表明, 患者正经历的感染过程可能是一种强烈的系统性炎症反应, 但肺炎支原体是否可入血形成肺炎支原体血症尚未明确, 普遍的观点认为肺炎支原体感染后的肺外并发症与异常的免疫炎症反应有关, 但对于异常的免疫炎症反应来源尚无定论<sup>[24-25]</sup>。SMPP 患者血清 NETs 的高表达可能解释了这一原因, 这也与其较其他社区获得性肺炎更易出现肺外并发症相符<sup>[26]</sup>。因此, 监测 NETs 在血清与 BALF 中的含量, 有利于临床医师对 SMPP 患儿全身炎症反应程度的评估以及病情严重程度判断, 但由于收集的样本量较少, 本研究无法得出其与肺外并发症的关联, 期望后续可以通过进一步扩大样本量, 阐明 NETs 在 SMPP 肺外炎症中的作用。

本研究中, 外周血 NETs 联合 CRP、LDH 检测对预测 MPP 患儿疾病进展的 ROC AUC 为 0.974, 诊断效果优于 NETs、CRP 这些指标的单独检测, 提示联合检测对预测 SMPP 的发生具有较高的价值, 其诊断的灵敏度和特异度分别为 0.923、0.950。临床医师可根据该模型对 MPP 患儿进行预测, 对于可能发生 SMPP 的患儿予以早期诊断并采取积极的治疗及监测方案, 以改善患儿预后。

综上所述, MPP 患儿中过度激活的 NETs 可能与 SMPP 的发生及 SMPP 的局部肺损伤有关。外周

血 NETs、CRP、LDH 可作为 MPP 患儿疾病进展的预测因子, 指导治疗方案的制定。

## 参 考 文 献

- [1] CHEN J, ZHANG J, LU Z, et al. *Mycoplasma pneumoniae* among Chinese outpatient children with mild respiratory tract infections during the coronavirus disease 2019 pandemic [J]. *Microbiol Spectr*, 2022, 10 (1): e0155021. DOI: 10.1128/spectrum.01550-21.
- [2] 彭献华, 李冰冰, 李晓琳, 等. 2021—2022 年某医院呼吸道感染患儿肺炎支原体感染流行特征 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2023, 33 (18): 2851-2854. DOI: 10.11816/cn.ni.2023-230116.  
PENG X H, LI B B, LI X L, et al. Epidemiological characteristics of *Mycoplasma pneumoniae* in children with respiratory tract infection from 2021 to 2022 [J]. *Chin J Nosocomiology*, 2023, 33 (18): 2851-2854. DOI: 10.11816/cn.ni.2023-230116.
- [3] MUTUA V, GERSHWIN L J. A review of neutrophil extracellular traps (NETs) in disease: potential anti-NETs therapeutics [J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2021, 61 (2): 194-211. DOI: 10.1007/s12016-020-08804-7.
- [4] FANG Q, STEHR A M, NASCHBERGER E, et al. No NETs no TIME: crosstalk between neutrophil extracellular traps and the tumor immune microenvironment [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1075260. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1075260.
- [5] 赵顺英, 钱素云, 陈志敏, 等. 儿童肺炎支原体肺炎诊疗指南 (2023 年版) [J]. *中国实用乡村医生杂志*, 2023, 30 (2): 2-8. DOI: 10.3969/j.issn.1672-7185.2023.02.002.  
ZHAO S Y, QIAN S Y, CHEN Z M, et al. Diagnosis and treatment guidelines for mycoplasma pneumonia in children (2023 edition) [J]. *Chin Pract J Rural Dr*, 2023, 30 (2): 2-8. DOI: 10.3969/j.issn.1672-7185.2023.02.002.
- [6] 国家卫生健康委员会人才交流服务中心儿科呼吸内镜诊疗技术专家组, 中国医师协会儿科医师分会内镜专业委员会, 中国医师协会内镜医师分会儿科呼吸内镜专业委员会, 等. 中国儿科可弯曲支气管镜术指南 (2018 年版) [J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2018, 33 (13): 983-989. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2018.13.006.  
Experts Group of Pediatric Respiratory Endoscopy of Talent Exchange Service Center of National Health Commission, Endoscopy Committee of Pediatric Section of Chinese Medical Doctor Association, Pediatric Respiratory Endoscopy Committee of Endoscopists Section of Chinese Medical Doctor Association, et al. Guideline of pediatric flexible bronchoscopy in China (2018 version) [J]. *Chin J Appl Clin Pediatr*, 2018, 33 (13): 983-989. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2018.13.006.
- [7] 陈丹, 杨晓林, 沈照波, 等. 中性粒细胞胞外网陷阱及相关标志物对儿童社区获得性肺炎诊断的价值 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2019, 21 (9): 868-875. DOI: 10.7499/j.issn.1008-8830.2019.09.005.

- CHEN D, YANG X L, SHEN Z B, et al. Significance of neutrophil extracellular trap and its markers in the early diagnosis of community-acquired pneumonia in children [J]. Chin J Contemp Pediatr, 2019, 21 (9): 868-875. DOI: 10.7499/j.issn.1008-8830.2019.09.005.
- [8] GAO L W, YIN J, HU Y H, et al. The epidemiology of paediatric *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in North China: 2006 to 2016 [J]. Epidemiol Infect, 2019, 147: e192. DOI: 10.1017/S0950268819000839.
- [9] 姜慧华, 李宁, 徐磊, 等. 中性粒细胞胞外诱捕网在病原感染中的作用研究进展 [J]. 畜牧兽医学报, 2023, 54 (3): 889-899. DOI: 10.11843/j.issn.0366-6964.2023.03.004.
- JIANG H H, LI N, XU L, et al. Research progress on the role of neutrophil extracellular traps in pathogenic infection [J]. Acta Vet Et Zootech Sin, 2023, 54 (3): 889-899. DOI: 10.11843/j.issn.0366-6964.2023.03.004.
- [10] AL-KURAI SHY H M, AL-GAREEB A I, AL-HUSSANIY H A, et al. Neutrophil extracellular traps (NETs) and COVID-19: a new frontiers for therapeutic modality [J]. Int Immunopharmacol, 2022, 104: 108516. DOI: 10.1016/j.intimp.2021.108516.
- [11] RÍOS-LÓPEZ A L, GONZÁLEZ G M, HERNÁNDEZ-BELLO R, et al. Avoiding the trap: mechanisms developed by pathogens to escape neutrophil extracellular traps [J]. Microbiol Res, 2021, 243: 126644. DOI: 10.1016/j.micres.2020.126644.
- [12] KEIR H R, SHOEMARK A, DICKER A J, et al. Neutrophil extracellular traps, disease severity, and antibiotic response in bronchiectasis: an international, observational, multicohort study [J]. Lancet Respir Med, 2021, 9 (8): 873-884. DOI: 10.1016/S2213-2600 (20) 30504-X.
- [13] TAN C, AZIZ M, WANG P. The vitals of NETs [J]. J Leukoc Biol, 2021, 110 (4): 797-808. DOI: 10.1002/JLB.3RU0620-375R.
- [14] KOTOV D I, LEE O V, FATTINGER S A, et al. Early cellular mechanisms of type I interferon-driven susceptibility to tuberculosis [J]. Cell, 2023, 186 (25): 5536-5553.e22. DOI: 10.1016/j.cell.2023.11.002.
- [15] CUI Y, YANG Y, TAO W, et al. Neutrophil extracellular traps induce alveolar macrophage pyroptosis by regulating NLRP3 deubiquitination, aggravating the development of septic lung injury [J]. J Inflamm Res, 2023, 16: 861-877. DOI: 10.2147/JIR.S366436.
- [16] 燕江雪, 曹囡囡, 丁霞, 等. Toll 样受体 9 在呼吸系统疾病中的作用机制研究进展 [J]. 新医学, 2022, 53 (4): 234-237. DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2022.04.002.
- YAN J X, CAO N N, DING X, et al. Research progress on the mechanism of Toll-like receptor 9 in respiratory diseases [J]. J New Med, 2022, 53 (4): 234-237. DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2022.04.002.
- [17] 燕江雪, 丁霞, 焦琼杰, 等. 儿童重症肺炎支原体肺炎中 TLR7、TLR9 和 IFN-I 的变化及意义 [J]. 新医学, 2023, 54 (3): 177-181. DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2023.03.004.
- YAN J X, DING X, JIAO Q J, et al. Changes and significance of TLR7/9 and IFN-I levels in children with severe *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia [J]. J New Med, 2023, 54 (3): 177-181. DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2023.03.004.
- [18] 曹囡囡, 黄莉, 焦琼杰, 等. 基于 NLRP3/IL-1 $\beta$ 、IL-18 通路探讨 CARDS Tx 在儿童重症肺炎支原体肺炎中的作用 [J]. 医学研究杂志, 2023, 52 (1): 61-65. DOI: 10.11969/j.issn.1673-548X.2023.01.015.
- CAO N N, HUANG L, JIAO Q J, et al. Explore the role of CARDS tx in children with severe *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia based on NLRP3/IL-1 $\beta$  and IL-18 pathway [J]. J Med Res, 2023, 52 (1): 61-65. DOI: 10.11969/j.issn.1673-548X.2023.01.015.
- [19] GOTTA J, GRUENEWALD L D, GEYER T, et al. Indicators for hospitalization in acute pulmonary embolism: uncover the association between D-dimer levels, thrombus volume and radiomics [J]. Acad Radiol, 2024: S1076-S6332 (23) 00724-9. DOI: 10.1016/j.acra.2023.12.045.
- [20] LIU J, HE R, WU R, et al. *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia associated thrombosis at Beijing Children's hospital [J]. BMC Infect Dis, 2020, 20 (1): 51. DOI: 10.1186/s12879-020-4774-9.
- [21] CESTA M C, ZIPPOLI M, MARSIGLIA C, et al. Neutrophil activation and neutrophil extracellular traps (NETs) in COVID-19 ARDS and immunothrombosis [J]. Eur J Immunol, 2023, 53 (1): e2250010. DOI: 10.1002/eji.202250010.
- [22] 康妍萌, 丁明杰, 韩玉玲, 等. 重症肺炎支原体肺炎患儿肺泡灌洗液中 Th1/Th2 细胞免疫应答状况的研究 [J]. 中国当代儿科杂志, 2011, 13 (3): 188-190. DOI: 10.1007/s12583-011-0153-1.
- KANG Y M, DING M J, HAN Y L, et al. Th1/Th2 immune response in bronchoalveolar lavage fluid in children with severe *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia [J]. Chin J Contemp Pediatr, 2011, 13 (3): 188-190. DOI: 10.1007/s12583-011-0153-1.
- [23] ZHENG Z, LI Y N, JIA S, et al. Lung mesenchymal stromal cells influenced by Th2 cytokines mobilize neutrophils and facilitate metastasis by producing complement C3 [J]. Nat Commun, 2021, 12 (1): 6202. DOI: 10.1038/s41467-021-26460-z.
- [24] HU J, YE Y, CHEN X, et al. Insight into the pathogenic mechanism of *Mycoplasma pneumoniae* [J]. Curr Microbiol, 2022, 80 (1): 14. DOI: 10.1007/s00284-022-03103-0.
- [25] NARITA M. Classification of extrapulmonary manifestations due to *Mycoplasma pneumoniae* infection on the basis of possible pathogenesis [J]. Front Microbiol, 2016, 7: 23. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00023.
- [26] BIAGI C, CAVALLO A, ROCCA A, et al. Pulmonary and extrapulmonary manifestations in hospitalized children with *Mycoplasma pneumoniae* infection [J]. Microorganisms, 2021, 9 (12): 2553. DOI: 10.3390/microorganisms9122553.

(责任编辑: 林燕薇)