

· 临床研究 ·

# 慢阻肺急性加重期患者血浆肿瘤坏死因子- $\alpha$ 和可溶性肿瘤坏死因子受体 55、75 水平及功能意义\*

曾勉<sup>1</sup> 王辉<sup>1</sup> 谢灿茂<sup>1</sup> 刘凌云<sup>1</sup> 贺云鹏<sup>1</sup> 严英硕<sup>1</sup> 卢桂芳<sup>1</sup>

**摘要** 目的:观察慢性阻塞性肺疾病急性加重期(AECOPD)患者血浆中炎性介质与抗炎介质水平变化,阐明 COPD 全身炎症与肺功能的关系。方法:检测 62 例 COPD 急性加重期患者接受  $\beta$ -内酰胺类或喹诺酮类抗菌药物及平喘祛痰治疗及 30 例健康志愿者入院第 1 天和第 7 天血浆中的肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和可溶性肿瘤坏死因子受体 55、75(sTNF-R55, sTNF-R75)的水平及其肺功能(FEV<sub>1</sub>, FEV<sub>1</sub>%pre, FEV<sub>1</sub>/FVC 等)。结果:AECOPD 治疗后肺功能明显改善,但仍低于健康组( $P<0.05$ )。AECOPD 治疗前后血浆中 TNF- $\alpha$  和 sTNF-R55、sTNF-R75 的水平均高于健康组( $P<0.01$ )。而吸烟健康组 TNF- $\alpha$  水平高于不吸烟组。AECOPD 患者第 7 天血浆中的 TNF- $\alpha$  浓度较入院第 1 天明显下降( $822.7\pm 353$  pg/ml vs  $599.2 \pm 456.7$  pg/ml,  $P<0.01$ ); sTNF-R55 和 sTNF-R75 水平数值上有上升,但差异无显著性意义( $P>0.05$ );血 TNF- $\alpha$ 、sTNF-R55 和 sTNF-R75 水平与肺通气功能指标 FEV<sub>1</sub>、FEV<sub>1</sub>%pre、FEV<sub>1</sub>/FVC 皆无相关性( $P>0.05$ )。结论:AECOPD 患者血中炎性介质(TNF- $\alpha$ )及抗炎介质(sTNF-R55、sTNF-R75)的水平均高于健康志愿者,治疗后炎症介质水平降低,抗炎介质水平上升不明显。COPD 全身炎症反应与气流受限关系不大。

**关键词** 慢性阻塞性肺疾病;肿瘤坏死因子;可溶性肿瘤坏死因子受体

中图分类号:R562,R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2007)-05-0418-04

**Change of plasma TNF- $\alpha$  and sTNF-R55,75 levels in patients with acute exacerbations of COPD/ZENG Mian, WANG Hui, XIE Canmao, et al//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2007, 22(5):418-421**

**Abstract Objective:** To test the levels of plasma inflammatory and anti-inflammatory mediators of patients with acute exacerbations of COPD (AECOPD) and illuminate the relationship between these mediators and airflow limitation in AECOPD patients. **Method:** Levels of the plasma anti-inflammatory mediator soluble tumor necrosis factor receptor 55 and 75 (sTNF-R55 and sTNF-R75), and inflammatory mediator tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) were analyzed in 62 patients with AECOPD and 30 healthy volunteers on admission and the seventh day after treatment. And the lung function of all the subjects were also measured simultaneously. Changes of these mediators and lung functions were studied during the first 7 days. **Result:** The lung functions of AECOPD patients improved significantly after treatment but were still worse than healthy subjects ( $P<0.05$ ). The levels of plasma TNF- $\alpha$ , sTNF-R55 and sTNF-R75 in AECOPD patients were higher than those in healthy subjects before and after treatments ( $P<0.01$ ). The levels of TNF- $\alpha$  of smokers were higher than that of non-smokers in volunteers. On day 7, the plasma TNF- $\alpha$  levels of AECOPD patients reduced markedly compared with admission ( $822.7\pm 353$  pg/ml vs  $599.2\pm 456.7$  pg/ml,  $P<0.01$ ); levels of sTNF-R55 and sTNF-R75 increased compared with day 1, but there was no statistical difference ( $P>0.05$ ). There was no relationship between plasma TNF- $\alpha$ , sTNF-R55 and sTNF-R75 levels and the parameters of lung function such as FEV<sub>1</sub>、FEV<sub>1</sub>%pre and FEV<sub>1</sub>/FVC ( $P>0.05$ ) in both AECOPD patients and healthy subjects. **Conclusion:** These datum suggested an imbalance of pro-inflammatory and anti-inflammatory mediators in the plasma of patients with AECOPD. The levels of pro- and anti-inflammatory mediators increased markedly in AECOPD patients compared with those of healthy subjects. And pro-inflammatory levels markedly decreased after treatment, While anti-inflammatory levels were only slightly increased.

**Author's address** The First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou, 510080

**Key words** chronic obstructive pulmonary disease; tumor necrosis factor; soluble tumor necrosis factor receptor

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是一种气流受限为特征性疾病, 研究证实气道炎症尤其是小气道炎症是 COPD 的主要病变和发病的主要原因, 中性粒细胞及肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )

\* 基金项目:广东省自然科学基金项目(项目编号:04009385)广东省卫生厅基金项目(项目编号:A2004188)

1 中山大学附属第一医院呼吸内科, 广州中山二路, 510080

作者简介:曾勉,女,硕士,主任医师

收稿日期:2006-12-04

在气道局部炎症中起重要作用<sup>[1]</sup>。但目前为止,诱发和控制 COPD 急性加重期 (acute exacerbations COPD, AECOPD) 炎症的机制尚未清楚,可能与气道内炎症因子与抗炎介质的失衡,或内源性抗炎机制缺陷有关<sup>[2-3]</sup>。除了呼吸系统本身存在慢性炎症反应外,还发现稳定期和急性加重期的患者一样存在全身系统性的炎症反应。研究表明, COPD 患者血循环中可溶性肿瘤坏死因子受体 sTNF-R75 和 sTNF-R55 的水平增高<sup>[3]</sup>。血循环中 sTNF-R 可能是一种抗炎介质,高浓度时可以阻断 TNF- $\alpha$  的生物活性,减轻 TNF- $\alpha$  诱导的全身炎症,轻度升高则作为致炎状态的标志物<sup>[3-4]</sup>。全身性炎症反应严重影响 COPD 患者的生存质量,包括体重的下降、肌肉的萎缩都与全身性的炎症反应相关。引起 COPD 患者全身性炎症反应的因素还未完全阐明。AECOPD 患者血浆中 TNF- $\alpha$  和 sTNF-R55、sTNF-R75 的水平如何? 国内外报道不多,且存在矛盾和争议,为此,本研究通过测定 COPD 急性加重期以及治疗后患者血浆中 TNF- $\alpha$  和 sTNF-R55、sTNF-R75 的水平,探讨 COPD 急性加重期患者全身炎症介质与抗炎介质的变化,阐明 TNF- $\alpha$  系统及 TNF- $\alpha$ /sTNF-R 失衡在 COPD 炎症反应中的作用及对肺功能的影响。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

收集 2004 年 1 月—2006 年 3 月在我院呼吸科住院的 62 例中-极重度 COPD 急性加重期患者,均符合慢性阻塞性肺疾病全球倡议 (global initiative for chronic obstructive lung disease, GOLD) 的诊断标准 [支气管舒张试验后,第 1 秒用力呼气流量 (FEV<sub>1</sub>) < 80% 预计值,第 1 秒用力呼气流量与用力肺活量之比 (FEV<sub>1</sub>/FVC) < 70%]<sup>[5-6]</sup>。除外哮喘、支气管扩张、肿瘤、结缔组织病、糖尿病、甲状腺功能亢进等疾病。合并高血压病、严重左、右心功能衰竭 (心功能 III、IV 级) 者不纳入研究范围。

支气管舒张试验和 COPD 的诊断使用肺功能仪 (Sensor Medics Ltd, USA), 痰诱导过程中监测肺通气功能采用便携式肺功能仪。选择年龄匹配,非呼吸系统疾病的健康人群 30 例为对照组。其中分吸烟健康组和不吸烟健康组。

### 1.2 AECOPD 诊断标准<sup>[6-7]</sup>

AECOPD 的诊断需符合以下条件: 三种主要症状 (呼吸困难加重、痰变脓性、痰量增加) 中出现两种以上; 或至少一种主要症状加至少一种次要症状 (过去 5 天内出现上呼吸道感染, 没有其他原因的发热、

喘息加重、咳嗽加重、呼吸频率增快或心率较基础值增加 20%), 上述症状加重持续 2 天以上。

### 1.3 治疗方法和知情同意

入院后均使用  $\beta$ -内酰胺类或喹诺酮类抗菌药物及平喘祛痰治疗。对入选患者均告知本研究目的及试验方法, 并签署知情同意书。

### 1.4 检测方法

**1.4.1 标本采集与处理:** AECOPD 患者于入院当天和治疗第 7 天临床症状缓解时从肘静脉采血 5ml, 置于 EDTA 的干燥试管中, 立即混匀, 离心 (2500r/min) 10min, 分离血浆于 -80℃ 保存待测。

**1.4.2 TNF- $\alpha$  和 sTNF-R55、sTNF-R75 的测定:** 应用美国 BIOSOURCE 试剂盒, 用 ELISA 法分别检测其含量, 操作按试剂盒说明书进行。

**1.4.3 肺功能检测:** 所有观察对象均使用肺功能仪测定 FEV<sub>1</sub>, 并计算出 EFV<sub>1</sub> 占预计值百分数 (FEV<sub>1</sub>% pre) 等。

### 1.5 统计学分析

所测数据以均数  $\pm$  标准差表示。COPD 急性加重前后各项指标采用配对 *t* 检验, 与对照组比较采用独立样本 *t* 检验。各组均数比较采用单因素方差分析 (ANOVA)、组间两两比较用 SNK-*q* 检验, 血 TNF- $\alpha$ 、sTNF-R55、sTNF-R75 水平与肺通气功能指标的相关性采用 Pearson 相关分析。所有数据的计算、统计分析均用 SPSS13.0 软件处理, 以 *P* < 0.05 为有统计学差异。

## 2 结果

### 2.1 患者一般情况和肺功能状况

入选 48 例 AECOPD 患者 (AECOPD 组) 均符合 COPD 中-重度分级标准。健康对照组入选 28 例, 其中吸烟者 14 例 (吸烟健康组), 不吸烟者 14 例 (不吸烟健康组)。

48 例 AECOPD 患者入院当天和治疗第 7 天与痰诱导同步, 进行采血测定 TNF- $\alpha$ 、sTNF-R55、sTNF-R75 水平。男 41 例, 女 7 例, 平均年龄 71.79  $\pm$  7.2 岁, 均有吸烟史, 6 例仍吸烟, 戒烟 42 例, 平均吸烟指数 869 支/年。肺功能指标详见表 1。其中 COPD 严重程度分级为 COPD II 级 (50% < FEV<sub>1</sub> < 80%) 3 例 (6.25%), III 级 (30% < FEV<sub>1</sub> < 50%) 36 例 (75%), IV 级 (FEV<sub>1</sub> < 30%) 9 例 (18.75%)。

28 例对照者中, 吸烟者 14 例, 平均年龄 72.2 岁, 均有吸烟史, 9 例仍吸烟, 5 例戒烟, 吸烟指数 671 支/年。不吸烟者 14 例, 平均 65 岁。

各组年龄秩和检验  $\chi^2 = 5.788, P = 0.055$ ; 即各组

年龄无显著性差异。AECOPD组与吸烟健康组吸烟指数  $\chi^2=0.963, P=0.327$ , 无显著性差异。AECOPD治疗前后动脉血氧分压、肺功能各指标的比较差异有显著性意义,  $P<0.01$ , 治疗后, 肺功能明显改善, 但仍

低于吸烟健康组和不吸烟组,  $P<0.05$ ; 不吸烟组的肺功能比吸烟对照组好。3组间  $FEV_1$  和  $FEV_1$  占预计值%的差异有显著性意义 ( $P<0.05$ ), 而  $PaCO_2$  无明显差异, 见表1。

表1 AECOPD患者治疗前后一般情况比较

( $\bar{x}\pm s$ )

	例数	年龄(岁)	吸烟指数	性别(例)		$FEV_1(L)^{\text{②}}$	$FEV_1\%pre^{\text{②}}$	$FEV_1/FVC(\%)^{\text{②}}$	$PaO_2$ (mmHg)	$PaCO_2$ (mmHg)
				男	女					
<b>AECOPD组</b>										
入院第1天	48	71.79±7.2	869±501	41	7	0.86±0.27	36.5±7.4	53.1±10.4	62.9±10.2	47.2±7.2
治疗第7天	48	71.79±7.2	869±501	41	7	1.09±0.27 <sup>①</sup>	47.0±6.9 <sup>①</sup>	59.3±11.2 <sup>①</sup>	67.7±12.3 <sup>①</sup>	43.3±11.3
吸烟健康组	14	72.2±3.9	671±228	12	2	1.89±0.37	74.7±6.2	74.7±11.1	78.2±21.3	40.2±10.4
不吸烟健康组	14	64.9±10.6	0	11	3	2.16±0.43	94.3±4.9	84.0±5.4	82.8±23.2	39.9±12.8
$\chi^2$		5.788	0.963							
$P$		0.055	0.327							

①与入院第一天比较,  $P<0.01$ , ②3组间两两比较,  $P<0.05$

## 2.2 急性加重期与治疗前血中 TNF- $\alpha$ 和 sTNF-R55、sTNF-R75 的水平比较

治疗后急性加重期患者血中 TNF- $\alpha$  水平显著下降 ( $822.7 \pm 353\text{pg/ml}$  vs  $599.2 \pm 456.7\text{pg/ml}$ ,  $P<0.01$ ), sTNF-R55 和 sTNF-R75 水平数值上有上升, 但差异无显著性意义,  $P>0.05$ ; AECOPD 治疗前和治疗后血中 TNF- $\alpha$  和 sTNF-R55、sTNF-R75 的水平均高于健康吸烟组和不吸烟组,  $P<0.01$ 。而吸烟健康组 TNF- $\alpha$  水平高于不吸烟组, sTNF-R55 和 sTNF-R75 水平两组无显著性差异。见表2。

表2 急性加重期治疗前后和对照组血浆 TNF- $\alpha$  和 sTNF-R55、sTNF-R75 浓度的变化 ( $\bar{x}\pm s$ )

细胞因子	AECOPD组		吸烟健康组	不吸烟健康组
	入院第1天	治疗第7天		
<b>TNF-<math>\alpha</math></b> (pg/ml)	822.7±353	599.2±456.7 <sup>①</sup>	287.1±126.6	187.5±60.2 <sup>②</sup>
$t$ 值	2.999			2.658
$P$ 值	0.004			0.016
<b>sTNF-R55</b> (ng/ml)	4.64±1.6	5.05±1.6	1.15±0.53 <sup>③</sup>	1.51±0.55 <sup>③</sup>
$t$ 值	1.156			-1.74
$P$ 值	0.254			0.094
<b>sTNF-R75</b> (ng/ml)	4.76±1.2	5.28±2.0	2.07±0.47	1.75±0.58
$t$ 值	1.335			1.586
$P$ 值	0.188			0.125

①与 AECOPD 组入院第1天比较  $P<0.01$ ; ②与吸烟健康组比  $P<0.05$ ; ③分别与 AECOPD 组治疗前后比较  $P<0.01$

## 2.3 血 TNF- $\alpha$ 和 sTNF-R55、sTNF-R75 的水平与肺通气功能的关系

本研究共检测 48 例 COPD 急性加重期患者入院第1天及治疗第7天的肺通气功能, 总共检测 96 例次肺通气功能, 发现血 TNF- $\alpha$ 、sTNF-R55 和 sTNF-R75 水平与肺通气功能指标  $FEV_1$ 、 $FEV_1\%pre$ 、 $FEV_1/FVC$  皆无相关性 ( $P>0.05$ ), 而吸烟组健康组和不吸烟组与肺功能各指标也无相关性 ( $P>0.05$ )。  $PaO_2$  与 TNF- $\alpha$ 、sTNF-R55 和 sTNF-R75 水平无明显相关性, ( $P>0.05$ )。表明 COPD 加重时全身炎症反

应与气流阻塞关系不大, 血液炎症因子检测不能反映气道炎症变化。

## 3 讨论

本研究是关于中重度 AECOPD 患者治疗前后全身炎症反应与肺功能相关性的研究。COPD 的发展与患者肺部对有害气体或有害颗粒的异常炎症反应有关<sup>[5]</sup>, 这种炎症对易感者可引起不同程度的不完全可逆的气流受限。TNF- $\alpha$  是一种由活化的巨噬细胞、单核细胞和 T 细胞产生, 具有广泛生物活性的促炎细胞因子, 在 COPD 炎症反应中起核心作用, 还可刺激气道平滑肌细胞分泌内皮素-1 (ET-1), ET-1 能收缩气道平滑肌, 使气道细胞增殖, 引起气道重建。COPD 患者诱导痰和血浆中均发现 TNF- $\alpha$  水平较非 COPD 患者明显增高<sup>[8-9]</sup>。目前为止, 诱发 AECOPD 炎症机制尚未明确, 可能是由于致炎介质和抗炎介质的失衡所致<sup>[2]</sup>。机体具有精密的自身调节系统, 在 COPD 的发病过程中, 机体为维持自身的稳态, 必然发生一系列复杂的自身调节反应, 产生一些抗炎介质拮抗炎症介质, 抑制气道炎症的继续发展, 从而维持自身稳态。可溶性肿瘤坏死因子受体 (sTNF-R) 能阻断、减少 TNF- $\alpha$  与其靶细胞上的 TNF-R 结合从而拮抗 TNF- $\alpha$  生物学活性<sup>[4]</sup>。包括 sTNF-R55、sTNF-R75 两种。Dentener<sup>[3]</sup>认为 COPD 加重期患者治疗后血浆中抗炎介质可溶性白介素 1 受体 II (sIL-1R II) 增多, 而中性粒细胞和炎症介质 IL-8 减少, 故 COPD 患者急性加重与全身炎症介质和抗炎介质的失衡有关。

我们的结果显示 COPD 急性加重期入院第1天患者血 TNF- $\alpha$  水平明显增高 ( $822.7 \pm 353$ )pg/ml, 经过治疗后, TNF- $\alpha$  水平会明显下降 ( $599.2 \pm 456.7$ )pg/ml ( $P<0.05$ ), 但仍高于吸烟健康组和不吸烟组 ( $P<0.01$ ), TNF- $\alpha$  水平与反映气流受限程度的指标

FEV<sub>1</sub>、FEV<sub>1</sub>%pre 无相关( $P>0.05$ ),提示 COPD 加重期患者全身炎症反应与气流受限关系不大。而 sTNF-R55 水平则与之相反,急性加重期入院第一天患者血中 sTNF-R55 和 sTNF-R75 水平低,经治疗后 sTNF-R55、sTNF-R75 数值随之升高(分别从  $4.64\pm 1.6$  ng/ml 和  $4.76\pm 1.2$  ng/ml 升至  $5.05\pm 1.6$  ng/ml 和  $5.28\pm 2.0$  ng/ml),但治疗前后差异无显著性意义。sTNF-R55、75 水平与 FEV<sub>1</sub>、FEV<sub>1</sub>%pre 无相关( $P>0.05$ ),提示 COPD 急性加重期间,抗炎介质 sTNF-R55、sTNF-R75 水平低,经过治疗后有所恢复,但不足以抵抗 TNF- $\alpha$  水平的升高,存在全身炎症介质与抗炎介质的失衡,与气道气流受限无关联。Takemura<sup>[10]</sup>认为 sTNF-Rs 在各种炎性疾病中均有所增加,增加的 sTNF-Rs 可作为炎症过程的标志物。高浓度时可阻断 TNF 的生物活性,轻度升高时只作为致炎介质增强 TNF- $\alpha$  的活性。因此,本研究血中轻度的 sTNF-R55、sTNF-R75 水平增加可能是由于血 TNF- $\alpha$  升高而出现保护性升高,可能是一种致炎介质状态。此外,本研究结果显示,经治疗后的患者血 TNF- $\alpha$ 、sTNF-R55、sTNF-R75 水平均高于健康吸烟者和不吸烟健康者,提示 COPD 缓解期仍存在 TNF- $\alpha$  系统活化,内源性抗炎机制缺陷。有报道慢性缺氧、烟雾刺激会活化 TNF- $\alpha$  系统,PaO<sub>2</sub> 低于 60mmHg 的 COPD 患者血清 TNF- $\alpha$ 、sTNF-R55、sTNF-R75 水平显著高于 PaO<sub>2</sub>>60mmHg 的 COPD 患者,且 COPD 低氧血症与循环中 TNF- $\alpha$  及 sTNF-Rs 水平负相关<sup>[9]</sup>,而本研究入选的 COPD 患者平均 PaO<sub>2</sub>>60mmHg,经相关分析未发现 PaO<sub>2</sub> 与 TNF- $\alpha$  系统有关联。本研究发现吸烟健康者的血 TNF- $\alpha$  水平高于不吸烟者( $P<0.05$ ),sTNF-R55 和 sTNF-R75 水平两组无差别,表明吸烟会刺激气道多种炎症细胞分泌 TNF- $\alpha$ ,启动炎症反应,而与 sTNF-Rs 无关。

综上所述,本研究提示 COPD 患者急性加重与全身炎症介质和抗炎介质的失衡有关,进而促进

COPD 病情的进展。全身炎症反应与气流受限关系不大,血液炎症因子检测不能反映气道炎症变化。

#### 参考文献

- [1] Churg A, Dai J, Tai H, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  is central to acute cigarette smoke-induced inflammation and connective tissue breakdown [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 166(6): 849—854.
- [2] Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease [J]. *N Engl J Med*, 2000, 343(4): 269—280.
- [3] Dentener MA, Creutzberg EC, Schols AM, et al. Systemic anti-inflammatory mediators in COPD: increase in soluble interleukin 1 receptor II during treatment of exacerbations [J]. *Thorax*, 2001, 56(9):721—726.
- [4] Hale KK, Smith CG, Baker SL, et al. Multifunctional regulation of the biological effects of TNF- $\alpha$  by the soluble type I and type II TNF receptors [J]. *Cytokine*, 1995, 7(1): 26—38.
- [5] Fabbri LM, Hurd SS. GOLD Scientific Committee. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of COPD 2003 Update [J]. *Eur Resp J*, 2003, 22(1):1—2.
- [6] Celli BR, MacNee W. Standards for the diagnosis and treatment of patients with COPD: a summary of the ATS/ERS position paper [J]. *Eur Respir J* 2004, 23 (6):932—946.
- [7] Bach PB, Brown C, Gelfand SE, et al. Management of acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: A summary and appraisal of published evidence [J]. *Ann Intern Med*, 2001, 134(7): 600—620.
- [8] Vernooij JH, Kucukaycan M, Jacobs JA, et al. Local and systemic inflammation in patients with chronic obstructive pulmonary disease :Soluble tumor necrosis factor receptors are increased in sputum [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 166 (9) :1218—1224.
- [9] Takabatake N, Nakamura H, Abe S, et al. The relationship between chronic hypoxemia and activation of the tumor necrosis factor - $\alpha$  system in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, 161 (4pt1): 1179—1184.
- [10] Takemura M, Saito K, Seishima M. Soluble tumor necrosis factor receptor I, II [J]. *Nippon Rinsho*, 2005, 63 (Suppl 8): 158—160.