

· 临床研究 ·

超短波治疗对 COPD 患者诱导痰中炎症细胞及 IL-8 和 TNF- α 的影响

徐少华 王伟 邵红艳 张琰

【摘要】 目的 研究超短波对慢性阻塞性肺疾病(COPD)患者气道炎症细胞及细胞因子的影响。**方法** 将 74 例急性发作期 COPD 患者分为超短波治疗组(治疗组)42 例和对照组 32 例。治疗组除常规治疗外行超短波治疗 10~14 d,对照组仅行常规治疗。2 组患者均在治疗前、后分别计算诱导痰液中中性粒细胞占白细胞的百分比(Neu/Leu%),检测诱导痰液中白介素 8(IL-8)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)以及肺通气功能指标用力肺活量(FVC)和第一秒用力呼气量(FEV_{1.0})。**结果** 与对照组比较,治疗组治疗后痰液 Neu/Leu%、IL-8、TNF- α 均显著降低($P < 0.05$),FVC 的实测值占预计值的百分比(FVC% pred)、FEV_{1.0}的实测值占预计值的百分比(FEV_{1.0}% pred)明显升高($P < 0.05$)。Neu/Leu% 与 IL-8 呈正相关($P < 0.05$),Neu/Leu%、IL-8、TNF- α 含量与 FEV_{1.0}均呈负相关($P < 0.05$)。**结论** 超短波治疗 COPD 具有减轻气道炎症、提高肺通气功能的作用。

【关键词】 超短波; 慢性阻塞性肺疾病; 细胞因子; 诱导痰

Clinical study of change of cytokines in induced sputum of patients with chronic obstructive pulmonary disease treated with ultrashortwave diathermy XU Shao-hua, WANG-wei, SHAN Hong-yan, ZHANG Long. the 2nd Hospital of Shandong University, Ji'nan 250033, China

【Abstract】 Objective To investigate the effect of ultrashortwave diathermy on the airway inflammation in patients with chronic obstructive pulmonary disease(COPD). **Methods** Seventy-four cases of COPD were divided into 2 groups, a treatment group with 42 cases treated with both ultrashortwave and conventional treatment and a control group with 32 cases treated with conventional treatment. The induced sputum samples were obtained and pulmonary function parameters such as FVC and FEV_{1.0} were tested before and after 10 to 14 days of treatment, respectively. The interleukin-8 (IL-8), tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in induced sputum were determined by immunoassay, and the neutrophil / leucocyte ratio (Neu/Leu%) in sputum was calculated. The relationship between IL-8, TNF- α and FEV_{1.0} were analysed. **Results** Compared with those of the control group, the Neu/Leu%, IL-8, TNF- α induced sputum were significantly decreased after the treatment with ultrashortwave ($P < 0.05$). The FVC, FEV_{1.0} increased in the treatment group more significantly than those in control group($P < 0.05$). There was obviously positive correlation between the Neu/Leu% and IL-8 ($P < 0.05$). FEV_{1.0} was negatively correlated to Neu/Leu% ($r = -0.89, P < 0.05$) and IL-8($r = -0.88, P < 0.05$) and TNF- α ($r = -0.75, P < 0.05$). **Conclusion** Ultrashortwave diathermy is beneficial for COPD patients to improve their ventilation by antiinflammation in airway.

【Key words】 Ultrashort wave; COPD; Cytokine; Induced sputum

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种具有气流受限特征的疾病。气流受限不完全可逆且进行性进展,现认为与肺部对有害气体和颗粒的异常炎症反应有关。在整个炎症反应中,多种炎症细胞和炎症介质共同参与并发挥作用,其中中性粒细胞及白介素 8(interleukin-8, IL-8)和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor-alpha, TNF- α) 在 COPD 发病中起重要作用^[1,2]。因此治疗气道炎症十分重要^[3]。临床上应用超短波辅助治疗 COPD 常有较

好疗效,但是超短波对 COPD 患者诱导痰内炎症细胞和炎症因子的影响鲜见报道。我们检测了超短波治疗后 COPD 患者诱导痰液中炎症细胞及 IL-8 和 TNF- α 的变化,并对此进行探讨。

资料与方法

一、对象

选取 74 例急性发作期 COPD 患者,分为超短波治疗组(治疗组)42 例,对照组 32 例。所有患者均符合 2002 年 COPD 诊治指南的诊断标准^[4],第 1 秒用力呼气量(first second forced expiratory volume, FEV_{1.0})变异率 $< 10\%$ 。治疗组 42 例中,男 26 例,女 16 例;年龄

作者单位:250033 济南,山东大学第二医院呼吸科(徐少华、王伟、邵红艳),康复科(张琰)
通讯作者:王伟

38~69 岁,平均 44.9 岁;病程 5~20 年;肺功能 I 级 8 例,II 级 28 例,III 级 6 例。对照组 32 例中,男 17 例,女 15 例;年龄 34~63 岁,平均 47.3 岁;病程 3~18 年;肺功能 I 级 6 例,II 级 21 例,III 级 5 例。2 组患者年龄、性别、病程、病情严重程度比较差异无统计学意义。另选取本院无吸烟史的门诊查体人员 13 名(健康组)进行相应肺功能及诱导痰检查,年龄 43~65 岁,平均 49.2 岁。

二、方法

1. 入院后第一天采取外周血检测血常规,并进行诱导痰检查。同时检查肺通气功能,包括用力肺活量(forced vital capacity, FVC)、第一秒用力呼气量(first second forced expiratory volume, FEV_{1.0})等。肺通气功能以实测值占预计值的百分率,即 FVC 的实测值占预计值的百分比(FVC percentage predicted, FVC% pred)和 FEV_{1.0}的实测值占预计值的百分比(FEV_{1.0} percentage predicted, FEV_{1.0}% pred)表示。之后对照组给予祛痰、抗感染、平喘等常规治疗,治疗组给予超短波和常规治疗。所有患者于治疗 10~14 d 病情缓解后,重复上述检查。

超短波治疗应用上海产 LDT-CD31 型落地式超短波电疗机,频率为 40.68 MHz,波长为 7.3 m,最大输出功率为 200 W,2 个 20 cm × 29 cm 电极,胸背部对置,间隙 2~3 cm,微热量,每日 1 次,每次 20 min,疗程 2 周。

2. 诱导痰的采集及处理^[5]:晨起嘱受检人员咳嗽后反复漱口,以避免唾液污染诱导痰液。导痰前所有对象进行肺功能检查,然后吸入喘康速 200 μg。以 3% 高渗盐水 20 ml 超声雾化 20 min,雾化过程中鼓励患者咳出 3~4 口痰至塑料平皿后即停止。如出现喘息则停止导痰。

将痰液以等量的 1% 二硫苏糖醇混合,螺旋震荡器上混匀,行总细胞计数,然后涂片行瑞氏-姬姆萨染色进行细胞分类检查。剩余痰液加入 0.1% 的三氟乙酸溶液,超声粉碎机粉碎,2 000 rpm 离心 20 min。取上清液置于 -20℃ 冻存备测 IL-8 和 TNF-α。记录细胞总数及中性粒细胞占白细胞的百分比(Neu/Leu%)值。

3. IL-8 和 TNF-α 的测定:使用北京北方生物技术研究所提供的试剂盒,以 ELISA 法分别检测上清液中 IL-8、TNF-α 的含量,操作按试剂盒说明书进行。

4. 肺功能检测:所有观察对象均使用肺功能仪测定 FEV_{1.0},并计算出 FEV_{1.0}占预计值的百分数(FEV_{1.0}% pred)等。

三、统计学分析

计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,治疗前、后比较及组间

比较应用 *t* 检验。采用 *t* 检验比较治疗前、后痰液炎症细胞及细胞因子的变化,采用单因素相关分析探讨炎症细胞比例、痰液各细胞因子与 FEV_{1.0}% pred 的关系。

结 果

一、2 组患者治疗前、后肺通气功能的比较

治疗后治疗组 FVC% pred、FEV_{1.0}% pred 增加,与治疗前比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),而对照组虽有增加倾向,但与治疗前比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。2 组治疗后比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

二、2 组患者治疗前、后痰液细胞因子的比较

对照组治疗后 IL-8 明显降低,与治疗前比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),TNF-α 虽有下降趋势,但变化不显著,与治疗前比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);而治疗组治疗后 IL-8、TNF-α 均显著降低,与治疗前比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。2 组治疗后比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 2 组患者及健康组肺功能和痰液细胞因子水平的比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	FVC% pred	FEV _{1.0} % pred	IL-8 (pg/ml)	TNF-α (pg/ml)
治疗组				
治疗前	73.80 ± 10.16	69.95 ± 9.21	28.40 ± 10.10	14.80 ± 5.10
治疗后	82.10 ± 9.37 ^{**}	78.96 ± 9.81 ^{**}	6.30 ± 2.20 ^{**}	6.40 ± 4.90 ^{**}
对照组				
治疗前	74.80 ± 11.73	70.20 ± 8.96	25.70 ± 8.60	14.50 ± 5.80
治疗后	76.20 ± 11.25	72.60 ± 10.77	10.70 ± 2.40 [*]	11.40 ± 6.70
健康组	81.90 ± 4.60	82.80 ± 5.90	2.10 ± 1.10	4.20 ± 1.70

注:与治疗前相比,^{*} $P < 0.05$;与对照组相应时点相比,^{**} $P < 0.05$

三、2 组患者治疗前、后痰液中炎症细胞总数及中性粒细胞计数(Neu)、中性粒细胞占白细胞百分数(Neu/Leu%)的比较

2 组患者治疗后痰液细胞总数均下降,与治疗前比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),2 组下降程度比较,差异无统计学意义。2 组患者治疗后 Neu、Neu/Leu% 均明显降低,与治疗前比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),2 组间比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

四、痰液炎症细胞计数及 Neu/Leu%、细胞因子等与肺功能的相关性分析

经统计学分析发现:痰液中 Neu/Leu% 与 IL-8 水平呈正相关($r = 0.87, P < 0.05$),与 FEV_{1.0}呈负相关($r = -0.89, P < 0.05$)。痰液 IL-8 含量与 FEV_{1.0}呈负相关($r = -0.88, P < 0.05$)。TNF-α 含量与 FEV_{1.0}呈负相关($r = -0.75, P < 0.05$)。结果提示痰液中 Neu/Leu%、IL-8、TNF-α 与 COPD 气道炎症及肺功能降低

有密切联系,是引起 COPD 发病的重要因素。

表 2 2 组患者及健康组痰液炎症细胞总数、Neu 及 Neu/Leu% 的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	细胞总数 (10^9 个/L)	Neu (10^9 个/L)	Neu/Leu%
治疗组			
治疗前	1.64 $\pm$ 0.51	1.22 $\pm$ 0.18	75.00 $\pm$ 10.00
治疗后	1.34 $\pm$ 0.43 *	0.80 $\pm$ 0.09 *#	60.00 $\pm$ 7.00 *#
对照组			
治疗前	1.62 $\pm$ 0.59	1.21 $\pm$ 0.20	74.00 $\pm$ 11.00
治疗后	1.36 $\pm$ 0.54 *	0.86 $\pm$ 0.11 *	64.00 $\pm$ 6.00 *
健康组	1.21 $\pm$ 0.47	0.39 $\pm$ 0.21	31.00 $\pm$ 10.00

注:与治疗前相比,* $P < 0.05$;与对照组相应时点相比,# $P < 0.05$

讨 论

COPD 为多种炎症细胞和炎症介质参与的气道炎症,但由于 COPD 患者大多伴有中-重度的肺功能障碍,难以接受有创性的检查,故 COPD 气道炎症的研究不如支气管哮喘深入。近年来有些作者通过检测 COPD 患者外周血液、支气管肺泡灌洗液、痰液中细胞分类与细胞因子的变化来探讨气道炎症的改变。高渗盐水诱导的痰液由于安全、稀释度小、可靠等优点,更适合于 COPD 局部气道炎症的研究。

与支气管哮喘嗜酸性粒细胞气道浸润不同,COPD 气道浸润主要以中性粒细胞为主。其中诱导痰 Neu/Leu%、IL-8 在 COPD 中的作用越来越引起人们的重视,许多研究发现痰液中二者明显升高^[2,6]。已经证实^[7]:超短波可利用高频电场使治疗部位均匀受热,增加气道纤毛活动能力;增强肺部组织的血液循环和淋巴回流,促进炎性产物的清除;提高局部组织的药物浓度;还可使气道平滑肌痉挛缓解。多种生物学效应有机地相叠加可起到增效作用。我们的结果显示,超短波治疗可降低 COPD 患者诱导痰内中性粒细胞含量及比值,证实超短波可减轻 COPD 患者中性粒细胞的气道浸润,从而改善局部气道炎症,改善 COPD 患者的通气功能。

IL-8 是细胞趋化因子家族中的主要组成成分,是气道炎症形成的重要介质,其作用是促进炎症过程中中性粒细胞和 T 淋巴细胞的聚集和活化,从而参与炎症反应和调节免疫功能^[8],使 COPD 患者气道粘膜大量的中性粒细胞及 T 淋巴细胞浸润。中性粒细胞弹性蛋白酶的释放又能诱导气道上皮细胞 IL-8 基因的表达,引起 IL-8 的进一步分泌,形成恶性循环,增强了炎症反应,导致气道慢性炎症和持续损伤^[9]。TNF- α 是具有广泛生物活性的炎前细胞因子,可作为强有力的诱导剂使 IL-8 合成和释放增加。TNF- α 还可刺激气道平滑肌细胞分泌内皮素,收缩气道平滑肌,使气

道细胞增殖,引起气道重建。本文结果显示,COPD 急性发作期 IL-8、TNF- α 明显高于缓解后水平,且 IL-8 含量与 Neu/Leu% 呈正相关,IL-8、TNF- α 与 FEV_{1.0} 呈负相关,提示 IL-8、TNF- α 均参与 COPD 的发病过程,而且二者水平升高与肺通气功能恶化密切相关,中性粒细胞分泌 IL-8、TNF- α 是导致 COPD 气道炎症和呼气受限的重要原因,与文献报道一致^[10]。我们的研究结果表明:治疗组患者治疗后诱导痰中细胞因子 IL-8、TNF- α 水平较对照组明显降低,肺通气功能 FVC、FEV_{1.0} 明显增高,表明超短波辅助治疗可使细胞因子分泌减少、气道炎症减轻及肺通气功能增加。细胞因子与肺功能相关性分析结果表明,超短波辅助治疗改善 COPD 患者肺通气功能,其机制是通过减少中性粒细胞分泌 IL-8、TNF- α 等细胞因子,从而减轻气道炎症,促进气道重建,减轻炎性介质引发的进一步的炎性细胞浸润,阻断气道炎症的级联放大而完成的。总之,超短波治疗急性发作期 COPD 安全、有效,是 COPD 治疗的重要辅助方法之一。

参 考 文 献

- 1 Kanazawa H, Kurihara N, Otsuka T, et al. Clinical significance of serum concentration of interleukin 8 in patients with bronchial asthma or chronic pulmonary emphysema. *Respiration*, 1996, 63: 236-402.
- 2 Aaron SD, Angel JB, Lunau M, et al. Granulocyte inflammatory markers and airway infection during acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, 163: 349-355.
- 3 De Boer W. Cytokines and therapy in COPD. *Chest*, 2002, 121: 209-218.
- 4 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南. *中华结核和呼吸杂志*, 2002, 25: 453-460.
- 5 Isabelle P, Peter GG, Roxanne K, et al. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax*, 1992, 47: 25-29.
- 6 Hill AT, Bayley D, Slockley RA, et al. The interrelationship of sputum inflammatory markers in patients with chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med*, 1999, 160: 893-898.
- 7 南登崑,主编. 康复医学. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 107.
- 8 Smith WB, Gamble JR, Clark Lewisi, et al. Interleukin-8 induces neutrophil transendothelial migration. *Immunology*, 1991, 72: 65.
- 9 Keatings VM. Differences in interleukin-8 and tumor necrosis factor- α in induced Sputum from patients with chronic obstructive pulmonary disease or asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 1996, 153: 530-534.
- 10 Martin J, Tobin MJ. Chronic obstructive pulmonary disease, pollution, pulmonary vascular disease, transplantation, pleural disease, and lung cancer in AJRCCM 2002. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 167: 356-370.

(修回日期: 2004-09-20)

(本文编辑: 郭正成)