

老年慢性阻塞性肺疾病患者运动能力与气道炎症因子相关性研究*

吴纪珍¹ 马利军¹ 赵丽敏^{1,2} 刘豹¹ 齐咏¹ 刘笑春¹

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种常见的气道慢性炎症疾病。目前公认COPD的慢性炎症不仅局限于肺部,还可造成远隔组织损伤,包括全身性的炎症反应、营养代谢异常、体重减轻、骨骼肌功能障碍,以及其他如心脏、神经系统等方面的变化^[1]。其中活动受限是COPD患者的常见主诉,也是影响患者生活质量的重要原因,尤其在老年患者中更为明显。气道慢性炎症所致的呼吸困难和骨骼肌肉的功能障碍是活动受限的主要原因,但其具体机制尚未阐明^[2]。本研究采用6min步行距离评估患者的运动能力,并通过检测血清因子探讨气道炎症因子表达水平与老年COPD患者运动能力的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择2011年10月—2013年11月在我院门诊就诊的老年COPD稳定期患者30例,男23例,女7例;年龄63—82岁,平均(72.71±9.82)岁。诊断、分级标准按慢性阻塞性肺疾病全球倡议(GOLD)2010版:根据患者的吸烟史、临床症状、体征及肺功能检查,以及吸入支气管舒张剂后FEV₁/FVC<70%及FEV₁<80%预计值确诊。纳入标准:①中、重度COPD稳定期患者,临床稳定期被限定为4周内无急性发作和未改变治疗方案;②年龄60岁以上,可以配合完成肺功能检查。③能够在不吸氧情况下独立完成6min步行试验;④自愿参加研究计划者。排除标准:①活动性肺结核、肺癌、明显支气管扩张、尘肺及其他限制性通气功能障碍的患者;②其他严重的各系统疾病患者:如心血管、神经、内分泌、血液系统及肝脏、肾脏疾患和恶性肿瘤患者;③不愿意配合和完全不能交流的患者。

正常对照组30例,均来自门诊健康体检者。其中男22例,女8例;年龄70.93±11.35岁。两组患者在性别、年龄方面差异无显著性,具有可比性(表1)。

1.2 血清肿瘤坏死因子TNF- α 、IL-8、IL-6、IL-1浓度的检测

采血后分离血清,采用ELISA法测定TNF- α 、IL-8、IL-6、IL-1的含量。试剂为美国RB公司产品,按照说明书操作。

表1 两组患者一般资料比较

	COPD组	正常对照组	P值
例数	30	30	
性别(男/女)	23/7	22/8	0.786
年龄(岁)	72.71±9.82	70.93±11.35	0.514
体温(°C)	36.47±0.27	36.49±0.25	0.732
心率(次/分)	78.30±6.32	78.21±5.86	0.935
呼吸(次/分)	19.92±1.60	19.25±1.61	0.118

1.3 外周血NF- κ B检测

脂多糖(LPS)可刺激免疫细胞释放NF- κ B因子。密度梯度离心法分离单个核细胞,受试者均于上午8—9时空腹取肘静脉血6ml,肝素抗凝,用淋巴细胞分离液密度梯度离心法常规分离外周血单个核细胞(PBMCs),将细胞调至 1×10^6 /ml。将样本分离至两试管并做标记,一管中加入30 μ l LPS,另一管中加入同量的双蒸水,后放入37°C水浴箱中温浴45min。

提取核蛋白分离出淡黄色层单核细胞,分别移入另一离心管,加入10ml磷酸盐缓冲液(PBS),离心3000r/min,5min;吸除上清液,将洗过的细胞移至1.5ml Ependorff管,再悬浮于1ml PBS,在高速离心机中离心10000r/min \times 30s;仔细吸除上清液,加入0.4ml缓冲液A,放在冰上膨胀15min;加入10%的壬基酸聚氧乙烯醚(NP-40)25 μ l,强涡处理10s,离心12000r/min \times 30s;吸除上清液,加缓冲液B 200 μ l,4°C强烈振荡15min;4°C离心 1×10^4 r/min \times 5min,上清液即为核蛋白,每份样品分装5个1ml EP管中,-70°C贮存备用。

NF- κ B活性水平检测:试剂盒购于美国RB公司。用ELISA法检测NF- κ B在波长595nm处的吸光度值(OD值)。根据标准品绘制浓度曲线,再根据OD值在标准曲线上查出NF- κ B活性水平。

1.4 6min步行距离(6MWD)

测定在室内一条长50m的道路进行。操作规程符合6min步行距离试标准^[3]。

1.5 统计学分析

应用SPSS14.0软件处理,数据采用均数 \pm 标准差表示,

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2015.12.021

*基金项目:河南省科技厅重点公关项目(82102310026)

1 郑州大学人民医院、河南省人民医院呼吸与危重医学科,郑州 450003;2 通讯作者

作者简介:吴纪珍,女,主任医师;收稿日期:2014-10-09

所用统计学分析方法为成组 *t* 检验及直线相关分析。

2 结果

2.1 各组间 NF-κB 的含量

COPD 组经 LPS 刺激后 NF-κB 活性水平为 (720.41 ± 265.62) pg/ml, 高于未经 LPS 刺激组 (457.14 ± 227.95) pg/ml, 但差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。正常对照组经 LPS 刺激后 NF-κB 活性水平为 (252.82 ± 74.23) pg/ml, 明显高于未经 LPS 刺激组 (87.22 ± 33.41) pg/ml ($P < 0.05$)。试验数据表明, 是否经 LPS 刺激, COPD 组 NF-κB 活性水平均明显高于正常对照组 ($P < 0.05$), 提示在稳定期 COPD 患者体内 NF-κB 被激活。

2.2 各组间血清 TNF-α、IL-8、IL-6、IL-1 浓度的变化

COPD 组患者稳定期血清 TNF-α、IL-8、IL-6、IL-1 的浓度分别为 60.41 ± 13.04 、 45.23 ± 4.03 、 49.01 ± 6.12 、 32.41 ± 6.52 , 正常对照组 TNF-α、IL-8、IL-6、IL-1 的浓度分别为 23.20 ± 5.83 、 18.82 ± 5.14 、 38.53 ± 8.52 、 20.30 ± 5.54 , 上述炎症因子浓度含量 COPD 组较正常对照组比较均显著增高 ($P < 0.05$)。

2.3 炎症介质与 6min 步行距离的相关关系

直线相关分析表明, 稳定期 COPD 患者各炎症因子均与 6min 步行距离呈负相关, 其中 NF-κB 与 6min 步行距离呈显著性负相关 ($r = -0.465$, $P < 0.02$), 且 IL-8 与 6min 步行距离也呈负相关趋势, 具有统计学意义 ($r = -0.418$, $P < 0.05$), 而 TNF-α、IL-6、IL-1 与 6min 步行距离虽呈负相关趋势, 但未达到统计学显著性水平 ($r = -0.225$; $r = -0.313$; $r = -0.303$); 稳定期 COPD 患者各炎症因子水平越高, 相关性越强。

3 讨论

COPD 在世界范围内是发病率和死亡率很高的疾病, 造成严重的经济和社会负担, 且这种负担还在不断增加^[4]。近年来, 随着中国社会逐渐进入老龄化及环境污染日益严重, 老年 COPD 患者的数量不断增加, 患病率及病死率呈逐年上升趋势^[5], 严重影响患者的生活质量, 同时也给社会带来了沉重的医疗负担。

气道炎症和运动受限是 COPD 患者的基本特征。对气道炎症、运动受限的本质进行深入探讨, 可以加深对疾病本质的认识, 为 COPD 的早期干预打下基础。因此, 本研究观察了气道内炎症因子水平与 6min 步行距离之间的关系, 探讨气道炎症与运动能力的相关性。

本实验室先前研究发现老年人 COPD 急性发作期和稳定期免疫功能均显著降低, 体液免疫亢进, T 细胞免疫调节网络平衡失调, 炎症细胞因子, IL-8、TNF-α 过度分泌, 在 COPD 的发展过程中起着重要作用^[6]。研究还发现细胞因子 IL-8 和 NF-κB 在 COPD 缓解期诱导痰中有较高水平, 表明 IL-8 在 COPD 气道炎症、气道阻塞发生发展过程中起着重要

作用^[7]。Ilumets 等^[8]研究发现 IL-6 是反映呼吸困难及肺功能分型的较好的全身炎症反应细胞因子。NF-κB 由 1986 年 Sen 和 Baltimore 首先在成熟 B 淋巴细胞中提出的^[9]。NF-κB 对炎症分子转录的调控是其最主要的功能, 细胞因子中如 TNF-α、IL-1β 和 NF-κB 可互相诱导和激活, 这就构成了炎症细胞-细胞因子之间的瀑布式放大反应, 促使炎症慢性化, NF-κB 则是这个网络的焦点。

本研究发现在 COPD 患者中, COPD 稳定期患者组核蛋白转录因子 NF-κB 水平显著高于正常组, 且 NF-κB 浓度水平与血清中炎症因子浓度呈正相关, 提示在稳定期患者体内 NF-κB 被激活, 其活性增强, 致多种炎症介质的转录活性增强, 分泌增加。COPD 稳定期患者血清 TNF-α、IL-8、IL-6、IL-1 浓度水平较正常组显著升高, 提示 COPD 的炎症不仅局限于肺部, 同时存在轻度的全身炎症反应。

6min 步行试验可以评价运动过程中所有系统全面完整的反应, 包括肺、心血管系统、体循环、外周循环、血液、神经肌肉单元和肌肉代谢; 同时, 它还评价了大量功能代偿能力。由于日常生活中多数活动需要在较大运动量水平完成, 所以近年来, 6min 步行试验被越来越广泛的应用于慢性心肺疾病的病情评估和预后判断^[11-12], Spruit MA 等研究 6min 步行试验与肺功能的关系探讨, 研究表明 6min 步行试验能较好地反映 COPD 患者完成日常体力活动的功能代偿能力水平, 也可作为客观试验来评估疾病对患者的肺外效应^[13]。

本研究发现, 随着气道内炎症因子水平的提高, 患者的运动能力下降。这种运动能力的下降与 NF-κB、IL-8 呈现有统计学意义的负相关, 但与单独的炎症因子如 TNF-α、IL-6、IL-1, 仅呈现出相关的趋势, 并未显示统计学差异。Manetsch 等^[14]的研究更深入地了解与呼吸道系统感染与气道炎症的关系, 可能导致疾病加重, 并确定关键分子调节 ASM 细胞炎症反应的重要因素。这一方面可能是由于 NF-κB 是炎症因子释放的上游因子, 另一方面说明导致老年 COPD 患者运动能力下降的因素是多方面的, 是炎症因子网络综合作用的结果。

综上所述, 气道炎症的综合作用可能导致了患者运动能力的下降, 6min 步行距离可以在一定程度上反映老年 COPD 患者的气道炎症情况。鉴于 6min 步行试验简便易行, 因此更适合在基层医疗单位推广, 特别是社区医疗中心。

参考文献

- [1] Hogg JC. A brief review of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Can Respir J, 2012, 19(6): 381—384.
- [2] Donaldson AV, Maddocks M, Martolini D, et al. Muscle function in COPD: a complex interplay[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2012, 7: 523—535.
- [3] ATS Committee on Proficiency Standards for Clinical Pulmonary Function Laboratories. ATS statement: guidelines for

- the six-minute walk test[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002,166(1):111—117.
- [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(2013年修订版) [J]. 中国医学前沿杂志(电子版),2014,6(2):67—80.
- [5] 周玉民,王辰,姚婉贞,等. 中国七省市慢性阻塞性肺疾病患者的生命质量现况调查[J]. 中华结核和呼吸杂志,2009,32(4):248—252.
- [6] 吴纪珍,张罗献,马利军,等. 老年人慢性阻塞性肺病患者免疫功能测定及其意义[J]. 医药论坛杂志,2004,25(23):10—12.
- [7] 吴纪珍,齐咏,马利军,等. IL-8和NF- κ B在慢性阻塞性肺疾病缓解期气道炎症中的作用[J]. 中国实用内科杂志,2006,26(10):752—754.
- [8] Ilumets H1, Ryttilä P, Demedts I, et al. Matrix metalloproteinases -8, -9 and -12 in smokers and patients with stage 0 COPD[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2007, 2(3):369—379.
- [9] Sen R, Baltimore D. Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein NF-kappa B by a posttranslational mechanism[J]. *Cell*, 1986, 26, 47(6): 921—928.
- [10] Lee KY, Ho SC, Chan YF, et al. Reduced nuclear factor- κ B repressing factor: a link toward systemic inflammation in COPD[J]. *Eur Respir J*, 2012, 40(4): 863—873.
- [11] Antonello Nicolini, Federico Merliak, Cornelius Barlascini, et al. Use of positive expiratory pressure during six minute walk test: results in patients with moderate to severe chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Multidiscip Respir Med*, 2013, 8(1): 19—25.
- [12] 陈秀丽,刘扣英,孙培莉,等. 稳定期COPD患者CAT评分与6min步行距离相关性研究[J]. 护士进修杂志,2013,28(10):869—871.
- [13] Spruit MA, Watkins ML, Edwards LD, et al. Determinants of poor 6-min walking distance in patients with COPD: the ECLIPSE cohort[J]. *Respir Med*,2010,104(6):849—857.
- [14] Manetsch M, Seidel P, Heintz U, et al. TLR2 ligand engagement upregulates airway smooth muscle TNF α -induced cytokine production[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2012, 302(9):838—845.

· 病例报告 ·

1例幼儿嵌合型48,XXYY综合征报告

张珊珊¹ 王楚怀^{1,3} 洪琦² 李晓晔²

1 临床资料

患儿男,2岁10个月,因“发现运动及语言发育落后1年余”就诊。患儿自幼运动及智力发育行为较同龄儿落后。10个月会独坐,1岁5个月会走。2岁时才开始有意识叫妈妈,2岁8个月才会叫爸爸、奶奶。患儿系足月剖宫产,出生时无窒息史。生后1个月内反应迟钝,不会主动吸吮;1岁3个月曾因隐睾行睾丸固定术(左侧)。爷爷奶奶属近亲婚配(姨表亲),父母非近亲婚配,生育患者年龄分别为34岁及31岁,无化学药物接触史。母孕时未有患病、流产等特殊情况出现,有一哥哥已6岁,无异常。查体:体重14kg,身高93cm,神志清楚,眼神呆滞,对外界反应淡漠,与人有对视,对呼名有反应,能理解简单指令并执行,喜欢模仿他人动作。头围48cm,眼距宽,鼻梁低平,腭弓高尖,后发际较低,通贯掌(-)。牙齿排列齐。儿童体型,第二性征未发育,阴茎无明显异常,左侧睾丸较小,质稍韧。心肺腹未见异常。四肢肌力、感觉正常,巴氏征未引出。会独走,步态稳。实验室检查:

0—6岁发育筛查测验(developmental screening test, DST, 2岁4个月):发育商(DQ) < 47,智力指数(MI) < 49(运动相当于21月龄,智力相当于18月龄),属于发育延迟。脑电图(2岁4个月):正常范围。基因DNA芯片(2岁7个月):Xp22.3q28发生拷贝数重复,该区域代表了整条X染色体;Yp11.3q12发生拷贝数重复,该区域代表了整条Y染色体;提示多了1条X染色体和1条Y染色体。见图1。外周血细胞染色体核型分析:48,XXYY/47,XXY。见图2。

处理:给予磁疗、感应电治疗及音乐治疗等综合康复治疗。磁疗的部位为前额部、双侧颞部、枕部,采用小剂量,频率1Hz,20min/次,1次/日,20次为1个疗程,休息1周,共3个疗程。感应电治疗部位选取智三针、颞三针、四神聪、脑空穴等,频率2.5Hz,40min/次,1次/日,1个月为1个疗程,共3个疗程。音乐治疗利用两个实景画面和一个虚拟画面,以动态的图画、动物及生活场景为背景,配合声音和灯光,在受过专业训练的音乐治疗师的指导下,运用音乐特有的生理、心理

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2015.12.022

1 中山大学附属第一医院康复医学科,广州,510080; 2 深圳市宝安区妇幼保健院智力科; 3 通讯作者
作者简介:张珊珊,女,住院医师; 收稿日期:2014-09-23