

慢性阻塞性肺疾病痰白细胞介素-16的测定及其意义

Significance of Detecting Interleukin-16 in Induced Sputum from Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease

钟小宁 柳广南 陆光润 邓静敏 邓家珍

Zhong Xiaoning Liu Guangnan Lu Guangrun Deng Jingmin Deng Jazhen

(广西医科大学第一附属医院呼吸内科 南宁市滨湖路6号 530021)

(Department of Respiratory, First Affiliated Hospital,

Guangxi Medical University, 6 Binhulu, Nanning, Guangxi, 530021, China)

摘要 收集 19例急性慢性阻塞性肺疾病(COPD)患者,6例 COPD缓解期患者以及 10例正常对照者的痰液,以酶联免疫吸附法(ELISA)测定其痰液白细胞介素-16(IL-16)水平,以探讨 IL-16在 COPD发病机制中的作用及其对 COPD气道炎症的临床意义。结果, COPD患者急性发作期痰 IL-16水平($1\ 233\pm\ 492.44\ \text{ng/L}$)和缓解期($1\ 232\pm\ 513.53\ \text{ng/L}$)均明显高于正常对照者($660.77\pm\ 312.11\ \text{ng/L}$)($P < 0.05$)。此外, COPD患者痰液 IL-16水平与 FEV1呈负相关($r = -0.43, P < 0.05$)。以上结果表明, IL-16参与了 COPD气道炎症的发病过程,其机制可能与激活 T淋巴细胞有关。

关键词 慢性阻塞性肺疾病 白细胞介素-16 气道炎症

中图分类号 R 563

Abstract In order to explore the role of interleukin-16 (IL-16) in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease (COPD), and to evaluate the clinical values of IL-16 in the airway inflammation of COPD, IL-16 levels of induced sputum from 19 patients with acute COPD, 6 patients with stable COPD and 10 normal subjects were detected by ELISA method. The results showed that IL-16 levels of induced sputum in patients with acute COPD ($1\ 233\pm\ 492.44\ \text{ng/L}$) and with stable COPD ($1\ 232\pm\ 513.53\ \text{ng/L}$) were much higher than that in normal subjects ($660.77\pm\ 312.11\ \text{ng/L}$) ($P < 0.05$). In addition, there was a negative correlation between IL-16 of induced sputum and FEV1 ($r = -0.43, P < 0.05$). Our findings indicate that IL-16 could be involved in the airway inflammation process of COPD by activating T lymphocytes.

Key words chronic obstructive pulmonary disease, interleukin-16, airway inflammation

近年来人们已开始重视对慢性阻塞性肺疾病(COPD)气道病变的研究,认为小气道炎症是 COPD发病的主要动因^[1],并对有关炎症细胞及细胞因子、炎症介质在 COPD发病中的作用以及与气道炎症的关系作了一些探讨^[2,3],但尚缺乏系统研究,而且其研究远未像支气管哮喘那样广泛和深入。本文测定 COPD患者及正常对照者痰 IL-16水平,旨在探讨 IL-16在 COPD气道炎症中的作用。

1 对象与方法

1.1 检测对象

COPD急性期组: 19例,男 16例,女 3例,年龄 52岁~ 76岁,均为急性发作期住院病人,符合

1997年中华医学会 COPD诊治规范^[1]。该组平均 FEV1为 $29.6\% \pm 5.7\%$ 。COPD缓解期组: 6例,均为男性,年龄 58岁~ 66岁,均为 COPD急性期治疗后症状缓解达 4周以上者。正常对照组: 10例,男 7例,女 3例,年龄 39岁~ 67岁,均为无吸烟史健康成年人,其平均 FEV1为 $87.1\% \pm 8.6\%$ 。上述检测对象均经 3.5%高渗盐水雾化后取痰液 2 mL,置 -30°C 以下保存备用。

1.2 试剂

IL-16检测试剂盒为美国 Genzyme公司产。

1.3 检测方法

IL-6的检测方法严格按试剂盒所附的操作说明书进行。具体步骤为:(1)用洗液洗反应板 2次;(2)加入已按要求倍数稀释好的 IL-16标准液化 100 μL (复孔);(3)加 80 μL 稀释液到反应孔,然后加 20 μL L样

本到反应孔,每个样本均加复孔;(4)加 50 μ L已稀释好的酶联复合物到上述反应孔,置 20 $^{\circ}$ C~ 25 $^{\circ}$ C反应 2 h;(5)用洗液洗 3次,加入 200 μ L TMB底物到每个反应孔,置 20 $^{\circ}$ C~ 25 $^{\circ}$ C并避光作用 5 min~ 20 min;(6)用 2 mol/L的硫酸终止反应;(7)用美国 Σ 960酶标测定样本的吸光度,画出标准曲线,由标准曲线算出样本的 IL-16水平。

1.4 统计学处理

各数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,统计学方法先做方差分析、齐性分析,然后做两样本的 t 或 t' 检验和直线相关分析。

2 结果

2.1 COPD组和正常对照组痰液 IL-16水平的表达情况

结果见表 1 由表 1可见, COPD急性发作期及缓解期痰液 IL-16水平均明显高于正常对照组 ($P < 0.05$)。COPD急性发作期痰液 IL-16水平变化范围为 536 ng/L~ 2071 ng/L,缓解期为 607 ng/L~ 1 857 ng/L,正常对照组为 250 ng/L~ 1 179 ng/L。

表 1 各组痰液 IL-16水平改变 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 Group | 例数 No. cases | 痰 IL-16 IL-16 of sputum (ng/L) |
|-----------------------|--------------------|--------------------------------------|
| COPD急性期 Acute COPD | 19 | 1 233 \pm 492.44 |
| COPD缓解期 Stable COPD | 6 | 1 232 \pm 513.53 |
| 正常对照组 Normal subjects | 10 | 660.77 \pm 312.11 |

与正常对照组比较: * $P < 0.05$. Compared with normal subjects group* $P < 0.05$.

2.2 痰液 IL-16水平与 FEV1的相关性分析

经直线相关分析,发现痰液 IL-16水平与 FEV1呈负相关关系, $r = -0.43, P < 0.05$

3 讨论

气道慢性炎症是 COPD和哮喘的主要病变基础,但两者各有不同特点,现认为 COPD气道炎症特征是管腔内以中性粒细胞聚集为主,而管壁则以淋巴细胞浸润为主^[2]。而目前有关炎症介质、细胞因子与 COPD气道炎症的关系及其作用已开始引起人们的重视^[5]。IL-16又称淋巴细胞趋化素,由 CD8+ T淋巴细胞产生,具有活化 T淋巴细胞的功能,有报道 IL-16与哮喘发病有关^[4],但有关 IL-16在 COPD中的作用则未见报道。

本研究结果显示 COPD急性发作期痰液 IL-16水平较正常对照组显著增高 ($P < 0.05$),且其中 6例经治疗后达缓解期的患者痰液 IL-16水平仍未见明显

下降,显然 IL-16直接参与了 COPD的气道慢性炎症过程,其作用可能与趋化、活化 T淋巴细胞,引起气道管壁 T淋巴细胞浸润有关。O'shaughnessy等^[5]报道 COPD患者支气管活检组织标本 T淋巴细胞明显增高,特别是 CD8+ 淋巴细胞增加明显,这可解释 COPD患者痰液 IL-16增高的原因。

本文发现 IL-16与反映气流阻塞的指标 FEV1呈一定程度的负相关 ($r = -0.43, P < 0.05$),这与文献[5]报道 COPD患者 CD8+ T淋巴细胞与 FEV1下降呈一定的负相关 ($r = -0.42$)相符合,以上提示 IL-16和 T淋巴细胞在 COPD慢性气道炎症和气流阻塞中起着相当重要的作用。但我们同时亦注意到, T淋巴细胞及 IL-16不如中性粒细胞及其相关的细胞因子白介素-8 (IL-8)与 FEV1的相关性明显(有关 IL-8在 COPD中的作用将另文发表)。据有关文献报道, COPD患者痰液中性粒细胞与 FEV1呈明显负相关 ($r = -0.62$)^[2], COPD患者痰液 IL-8与 FEV1的相关性则高达 -0.78 ^[3]。这提示在 COPD气道炎症和气流阻塞中,中性粒细胞和 T淋巴细胞以及相关的细胞因子 IL-8、IL-16均共同发挥主要作用,而中性粒细胞和 IL-8在气流阻塞中的作用似乎更明显,它们之间的关系以及相互间的作用如何,尚有待于今后的深入研究。虽然 IL-16在 COPD急性发作期及缓解期均明显增高,但我们亦发现其变动范围较大,与正常对照者亦有部分重叠,故仅依靠痰液 IL-16作为临床诊断 COPD的作用有限,但 IL-16作为反映 COPD气道慢性炎症的指标之一,还是有一定的临床意义,并有助于对 COPD发病机制的了解,值得进一步深入研究。

参考文献

- 中华医学会呼吸系病学会.慢性阻塞性肺疾病诊治规范(草案).中华结核和呼吸杂志,1997,20:199~203.
- Keatings V M, Barnes P J. Granulocyte activation markers in induced sputum: comparison between chronic obstructive pulmonary disease, asthma and normal subjects. Am J Respir Crit Care Med, 1997, 155: 449~453.
- Yamamoto C, Yoneda T, Yoshikawa M et al. Airway inflammation in COPD assessed by sputum levels of interleukin-8. Chest, 1997, 112 (2): 505~510.
- Cruikshank W W, Long A, Rarpy R E et al. Early identification of interleukin-16 (lymphocyte chemoattractant factor) and macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α) in bronchoalveolar lavage fluid of antigen-challenged asthmatics. Am J Respir Cell Mol Biol. 1995, 13: 738~747.
- O'shaughnessy T C, Ansari T W, Barnes N C et al. Inflammation in bronchial biopsies of subjects with chronic bronchitis: inverse relationship of CD8+ T lymphocytes with FEV1. Am J Respir Crit Care Med, 1997, 155: 852~857.

(责任编辑:蒋汉明)