

· 临床研究 ·

## IPAH患者血浆IL-8水平表达变化与病情严重程度相关性研究

杨 辉<sup>1</sup>,冯启凡<sup>1</sup>,章敬水<sup>1</sup>,胡学俊<sup>1</sup>,张 娟<sup>2</sup>,陈 亮<sup>2</sup>,林 松<sup>2\*</sup><sup>1</sup>宣城市人民医院心内科,安徽 宣城 242000;<sup>2</sup>南京医科大学附属南京医院(南京市第一医院)心内科,江苏 南京 210006

**[摘要]** 目的:探讨特发性肺动脉高压(idiopathic PAH, IPAH)患者血浆中白介素-8(interleukin-8, IL-8)的表达水平及其与患者病情严重程度的关系。方法:入选2014年5月—2016年3月在南京市第一医院确诊为IPAH的患者63例,20例健康志愿者作为正常对照。采集IPAH患者和健康志愿者的血浆,检测血浆IL-8的表达水平。同时收集患者人口学特征、血流动力学、超声心动图指标、常规实验室检查指标等基线数据,并且进行电话或门诊随访,随访终点为全因死亡。结果:IPAH患者血浆中IL-8浓度较正常对照组显著升高[(7.9 ± 4.3)pg/mL vs. (4.6 ± 1.8)pg/mL,  $P=0.001$ ]。以IL-8浓度7.44 pg/mL作为界值,将患者分为两组:高IL-8组(IL-8 > 7.44 pg/mL,  $n=31$ )和低IL-8组(IL-8 ≤ 7.44 pg/mL,  $n=32$ )。高IL-8组患者病情严重程度更高,表现为心指数和混合静脉氧饱和度更低,而血浆尿酸更高。Pearson相关性分析显示,血浆IL-8水平与IPAH患者肌酐( $r=0.311$ ,  $P=0.013$ )、N末端脑钠肽前体(N-terminal pro-brain natriuretic peptide, NT-ProBNP)( $r=0.294$ ,  $P=0.020$ )、尿酸( $r=0.296$ ,  $P=0.019$ )和右心室舒张末径( $r=0.329$ ,  $P=0.008$ )呈正相关。相反,IL-8与混合静脉氧饱和度( $r=-0.453$ ,  $P<0.001$ )和心指数( $r=-0.371$ ,  $P=0.003$ )呈负相关。按照目前肺血管扩张试验阳性标准,63例中10例为阳性,其余53例为阴性,所有阳性患者接受钙离子拮抗剂治疗。10例阳性患者血浆IL-8浓度为(7.5 ± 4.0)pg/mL,而阴性患者为(8.0 ± 4.4)pg/mL,两者没有统计学差异。结论:肺动脉高压患者血浆IL-8表达水平明显升高,与患者病情严重程度密切相关。

**[关键词]** 肺动脉高压;IL-8;生物标志物**[中图分类号]** R544.1**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2019)01-084-04**doi:** 10.7655/NYDXBNS20190115

肺动脉高压(pulmonary artery hypertension, PAH)是以肺动脉内膜增生、中膜肥厚及特征性丛样病变为特征的一种疾病,其发病机制尚不完全明了<sup>[1]</sup>。近年来许多研究显示免疫炎症因素在肺动脉高压发病机制中起着重要的作用,提示其可能成为治疗肺动脉高压的新靶点<sup>[2-4]</sup>。白介素-8(interleukin-8, IL-8)是一种趋化性细胞因子,属于CXC- $\alpha$ 亚家族,是体内炎性反应应答的主要介质之一,可由单核巨噬细胞、成纤维细胞及内皮细胞分泌,参与体内许多疾病的炎症和免疫反应过程。Soon等<sup>[5]</sup>发现特发性肺动脉高压(idiopathic PAH, IPAH)患者血清IL-8水平明显升高,并且IL-8越高的患者5年生存率越低。Zabini等<sup>[6]</sup>同样发现慢性血栓栓塞性肺动脉高压患者血清中IL-8表达水平明显上调。金红芳等<sup>[7]</sup>在左向右分流致肺动脉高压大鼠中发现PAH大鼠血浆和肺组织中IL-8水平要明显高于对照组,IL-8具有促进血

管生成、诱导平滑肌细胞增殖和迁移等作用。此外,最近的研究发现,靶向给予IL-8受体过表达的肺动脉内皮细胞可以减轻肺动脉高压大鼠肺血管重构<sup>[8]</sup>。因此,IL-8在肺动脉高压肺血管重塑中起着关键的作用,它的拮抗剂可能具有一定的临床应用前景;同时血清IL-8作为一个生物标志物,可能应用于临床中评估PAH患者疾病的严重程度和预后。

## 1 对象和方法

## 1.1 对象

本研究纳入自2014年5月—2016年3月在南京市第一医院初次确诊的IPAH患者63例,平均年龄(34.6 ± 10.9)岁,其中女性50例(75.8%)。IPAH的诊断依据2015年欧洲心脏病学会肺动脉高压诊治指南。排除有合并下列情况的患者:①其他类型的肺动脉高压;②合并左心疾病,如冠状动脉粥样硬化性心脏病;③急性心力衰竭;④慢性呼吸系统疾病;⑤结缔组织疾病;⑥糖尿病;⑦既往接受过靶向药物治疗;⑧其他疾病,如慢性炎症性疾病、肾功能

**[基金项目]** 南京市卫生局重点项目(ZKX16049)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: linsong19711991@si-na.com

衰竭或肝功能衰竭等。20例健康志愿者外周血标本作为正常对照。对照组平均年龄为(30.4±7.5)岁,其中15例(75.0%)为女性。所有受试者均签署知情同意书。

## 1.2 方法

### 1.2.1 基线资料采集

患者入院后收集的基线资料包括:人口学特征、6 min步行距离、WHO功能分级、实验室检查指标、超声心动图参数、血流动力学参数及临床用药。6 min步行试验是按照美国胸科协会2002年颁布的6 min步行试验的指南实施<sup>[9]</sup>。右心导管检查记录患者的血流动力学数据包括:平均右房压(mean right atrial pressure, mRAP)、肺动脉平均压(mean pulmonary arterial pressure, mPAP)、右心室收缩压(right ventricle systole pressure, RVSP)、肺毛细血管楔压(pulmonary capillary wedge pressure, PCWP)、肺小动脉阻力(pulmonary vascular resistance, PVR)和心指数(cardiac index, CI)等;超声心动图检查记录右心室舒张末期前后径和左心室舒张末期前后径;常规实验室检查指标包括N末端脑钠肽前体(N-terminal pro-brain natriuretic peptide, NT-ProBNP)、大内皮素(big endothelin-1, Big ET-1)、尿酸和肌酐等。所有患者入选后通过电话或门诊随访,末次随访时间为2016年6月,随访终点为全因死亡。

### 1.2.2 血流动力学测量

患者清醒条件下进行右心导管检查。基本步骤为穿刺右颈内静脉,将Swan-Ganz导管顺着血流依次送入右心房、右心室、肺动脉主干、左右肺动脉,直至肺小动脉末梢,各部位进行取血和测压,记录平均右房压、肺动脉平均压和肺毛细血管楔压。根据Fick法<sup>[10]</sup>计算肺循环血流量,肺小动脉阻力计算公式为:肺小动脉阻力=(平均肺动脉压-肺毛细血管楔压)/肺循环血流量,心指数计算公式为:心指数=肺循环血流量/体表面积。本课题组使用伊洛前列素进行急性肺血管反应试验,阳性标准定义为:肺动脉平均压下降幅度>10 mmHg,并且绝对值下降至40 mmHg以下,同时心输出量保持不变或增加<sup>[1]</sup>。

### 1.2.3 血浆IL-8浓度检测

所有入选患者均于清晨空腹时采集外周静脉血5 mL,加入含抑肽酶的EDTA抗凝管中,置于冰上。30 min内予以离心(3 000 r/min, 15 min, 4 ℃),吸取血浆,分装后保存于-80 ℃备用。采用酶联免疫吸附法IL-8蛋白检测试剂盒(R&D Systems, 美国)检测血浆IL-8含量。该试剂盒测量范围为1.0~64.0 pg/mL,测

试中变异系数<4.0%,测试间变异系数小于8.0%,最小可检测浓度为0.02~0.40 pg/mL。所有操作步骤按照产品说明书进行。

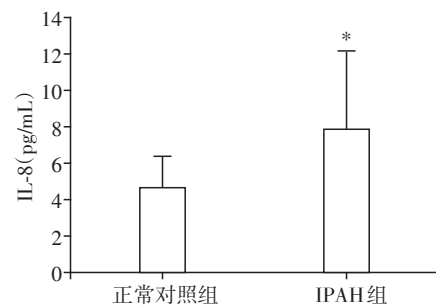
## 1.3 统计学方法

临床数据分布以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )或绝对数(百分数)表示。采用独立样本 $t$ 检验和卡方检验来比较两组间各指标的差别;Pearson相关性分析评估血浆IL-8水平和肺动脉高压患者临床指标的相关性。所有统计分析均采用SPSS 16.0统计分析软件, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 患者基本特征

研究共纳入63例IPAH患者及20例健康志愿者作为正常对照组。ELISA结果显示IPAH患者血浆IL-8浓度较正常对照组显著升高[(7.9±4.3)pg/mL vs.(4.6±1.8)pg/mL,  $P=0.001$ ,图1]。所有入选研究对象在采集外周血样本时,均未服用肺动脉高压靶向药物。患者诊断明确后,10例(15.9%)因肺血管扩张试验阳性接受钙离子拮抗剂治疗,47例(74.6%)接受靶向药物治疗,其中西地那非30例,波生坦4例,安立生坦9例及伊洛前列素4例;所有患者均采用单药治疗。6例因为经济原因没有接受靶向药物治疗。



与正常对照组相比, $P < 0.05$ 。

图1 IPAH患者和正常对照组血浆中IL-8的表达水平

### 2.2 IL-8与患者病情严重程度的相关性分析

以IL-8中位数浓度7.44 pg/mL(1.86~24.68 pg/mL)作为界值,将患者分为高IL-8组(IL-8>7.44 pg/mL,  $n=31$ )和低IL-8组(IL-8≤7.44 pg/mL,  $n=32$ )。比较两组患者临床资料,高IL-8组患者病情严重程度更高,表现为心指数和中心静脉血氧饱和度更低,而血浆尿酸更高(表1)。Pearson相关性分析显示,血浆IL-8水平与IPAH患者肌酐( $r=0.311$ ,  $P=0.013$ )、NT-proBNP( $r=0.294$ ,  $P=0.020$ )、尿酸( $r=0.296$ ,  $P=0.019$ )和右心室舒张末径( $r=0.329$ ,  $P=0.008$ )呈正相

表1 IPAH患者基线特征和相关性分析

| 指标                           | 总体(n=63)        | 低IL-8组(n=32)    | 高IL-8组(n=31)    | P值    | Pearson相关性分析 |        |
|------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------|--------------|--------|
|                              |                 |                 |                 |       | r值           | P值     |
| 年龄(岁)                        | 34.6 ± 10.9     | 34.4 ± 11.5     | 34.7 ± 10.6     | 0.905 | 0.140        | 0.274  |
| 女性[n(%)]                     | 50(76)          | 27(84)          | 23(74)          | 0.318 | -            | -      |
| WHO III~IV级[n(%)]            | 26(41.7)        | 12(37.5)        | 14(45.1)        | 0.537 | -            | -      |
| 6 min步行距离(m)                 | 442.3 ± 89.3    | 446.6 ± 86.6    | 439.7 ± 93.7    | 0.834 | 0.185        | 0.856  |
| 肌酐(μmol/L)                   | 64.9 ± 12.8     | 61.9 ± 10.7     | 68.1 ± 14.2     | 0.056 | 0.311        | 0.013  |
| NT-proBNP(pg/mL)             | 1 396.5 ± 814.7 | 1 345.0 ± 721.1 | 1 451.5 ± 913.3 | 0.611 | 0.294        | 0.020  |
| 尿酸(μmol/L)                   | 416.9 ± 116.9   | 379.3 ± 99.4    | 455.6 ± 122.4   | 0.009 | 0.296        | 0.019  |
| 大内皮素(fmol/mL)                | 0.57 ± 0.49     | 0.46 ± 0.37     | 0.69 ± 0.57     | 0.057 | 0.149        | 0.250  |
| 左心室舒张末径(mm)                  | 36.9 ± 5.1      | 37.2 ± 5.0      | 36.6 ± 5.3      | 0.646 | -0.107       | 0.403  |
| 右心室舒张末径(mm)                  | 31.6 ± 6.7      | 30.2 ± 6.1      | 33.1 ± 7.1      | 0.081 | 0.329        | 0.008  |
| 中心静脉血氧饱和度(%)                 | 71.9 ± 5.6      | 73.9 ± 4.8      | 69.7 ± 5.6      | 0.003 | -0.453       | <0.001 |
| 平均右房压(mmHg)                  | 4.1 ± 3.9       | 3.3 ± 2.9       | 5.0 ± 4.7       | 0.088 | 0.126        | 0.323  |
| 心指数[L/(min·m <sup>2</sup> )] | 2.8 ± 0.7       | 3.0 ± 0.8       | 2.6 ± 0.7       | 0.012 | -0.371       | 0.003  |
| 肺动脉平均压(mmHg)                 | 56.7 ± 17.7     | 57.9 ± 19.2     | 55.6 ± 16.2     | 0.612 | 0.087        | 0.496  |
| 肺小动脉阻力(Woods)                | 12.0 ± 5.6      | 11.5 ± 5.7      | 12.4 ± 5.5      | 0.521 | 0.215        | 0.090  |
| 肺血管扩张试验阳性[n(%)]              | 10(15.8)        | 6(18.7)         | 4(12.9)         | 0.525 | -            | -      |
| 靶向治疗[n(%)]                   | 47(74.6)        | 23(71.8)        | 24(77.4)        | 0.613 | -            | -      |

关,与中心静脉血氧饱和度( $r=-0.453, P < 0.001$ )和心指数( $r=-0.371, P=0.003$ )呈负相关,与WHO分级、6 min步行距离和肺动脉平均压等指标没有相关性。

### 2.3 IL-8和肺血管扩张试验

按照目前肺血管扩张试验阳性标准,63例患者中10例为阳性,其余53例为阴性,所有的阳性患者接受钙离子拮抗剂治疗。10例阳性患者血浆IL-8浓度为( $7.5 \pm 4.0$ )pg/mL,而阴性患者为( $8.0 \pm 4.4$ )pg/mL,两者没有统计学差异。同时比较肺血管扩张试验阳性和阴性患者的其他临床资料,阳性患者肺动脉平均压[( $46.1 \pm 6.4$ )mmHg]较阴性患者[( $58.8 \pm 18.5$ )mmHg]显著降低;而其他临床指标如肺血管阻力、心指数及6 min步行距离等两者之间无明显差异。

### 2.4 IL-8和患者临床预后

所有患者电话或门诊随访至2016年6月份,其中3例死亡(包括1例肺部感染,1例右心衰竭,1例肺移植术后),53例存活,另外7例失访;死亡的3例患者血浆IL-8平均浓度为( $8.5 \pm 5.1$ )pg/mL,其他60例的IL-8平均浓度为( $7.9 \pm 4.3$ )pg/mL,两组之间没有统计学差异。

## 3 讨论

本研究发现IPAH患者血浆中IL-8的表达水平较正常对照组显著升高,这与既往Soon<sup>[5]</sup>及Zabini

等<sup>[6]</sup>在IPAH和慢性血栓栓塞性肺动脉高压中的研究结果一致。本文推测PAH患者血浆中IL-8升高的原因可能与以下因素有关:①重构的肺动脉周围炎症细胞浸润明显,包括肥大细胞、巨噬细胞、T淋巴细胞、B淋巴细胞及树突状细胞;这些炎症细胞激活后可能会释放IL-8,进而导致肺血管内皮细胞损伤和平滑肌细胞增殖<sup>[11]</sup>;②肺动脉高压患者合并右心衰竭,而慢性心力衰竭状态下,心肌组织中有大量炎症细胞浸润,这些炎症细胞也可以分泌多种炎症递质参与心衰的发展<sup>[12-13]</sup>。

临床上对肺动脉高压病情评估主要通过运动耐量、超声心动图和右心导管检查。近年来,生物标志物,如NT-proBNP已经逐渐成为PAH病情评估的一种重要的无创手段<sup>[14]</sup>。这些生物标志物可以真实反映患者病情严重程度,预测预后,并且在高危人群中早期诊断PAH患者。然而,由于PAH发病机制的复杂性,目前没有任何单一标志物能够全面反映肺动脉高压发病的病理生理过程,病情评估可能需要联合多种生物标志物<sup>[15]</sup>。本研究发现IPAH患者血浆中IL-8的表达水平和NT-proBNP、尿酸和右心室舒张末径呈正相关,而与中心静脉血氧饱和度和心指数呈负相关,从而一定程度上反映PAH患者病情严重程度。Soon等<sup>[5]</sup>同样发现IL-8和患者心指数呈轻度相关性,而与6 min步行距离没有相关性。但他们的研究发现IL-8水平可以预测PAH患



者的预后,IL-8 $\leq$ 30 pg/mL患者1年、5年生存率分别为94.6%和57.6%;而IL-8 $>$ 30 pg/mL患者1年、5年生存率分别为70.0%和32.0%。而在本研究中,由于随访时间比较短,临床结局事件偏少,我们不能得出类似的结论,有待于进一步的研究来证明。

本研究有许多不足之处。首先,PAH患者样本量较少,平均随访时间短,失访率高,导致临床终点事件少;而且只纳入了IPAH患者,并没有纳入其他类型的PAH患者。其次,只检测了基线水平的IL-8,并没有检测治疗后IL-8的变化,因此,并不清楚IL-8是否可以用来评价疗效。因此,仍然需要进一步的研究来证实IL-8在PAH预后判断中的价值。

本研究发现肺动脉高压患者血浆IL-8表达水平明显升高,并且与病情严重程度密切相关。因此,IL-8可能成为评估肺动脉高压病情的新型生物标志物。

#### [参考文献]

[1] Galie N, Humbert M, Vachiery JL, et al. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension[J]. *Eur Heart J*, 2015, 37(1):67-119

[2] Price LC, Wort SJ, Perros F, et al. Inflammation in pulmonary arterial hypertension[J]. *Chest*, 2012, 141(1):210-221

[3] 郑亚国,熊长明. 肺动脉高压免疫炎症机制研究进展[J]. *中国循环杂志*, 2013, 28(6):469-471

[4] Voelkel NF, Tamosiuniene R, Nicolls MR. Challenges and opportunities in treating inflammation associated with pulmonary hypertension [J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2016, 14(8):939-951

[5] Soon E, Holmes AM, Treacy CM, et al. Elevated levels of inflammatory cytokines predict survival in idiopathic and familial pulmonary arterial hypertension [J]. *Circulation*, 2010, 122(9):920-927

[6] Zabini D, Heinemann A, Foris V, et al. Comprehensive analysis of inflammatory markers in chronic thromboem-

bollic pulmonary hypertension patients [J]. *Eur Respir J*, 2014, 44(4):951-962

[7] 金红芳,梁晨,梁嘉敏,等. 硫化氢对高肺血流性肺动脉高压大鼠血管炎症反应的调节作用[J]. *中华医学杂志*, 2008, 88(32):2235-2239

[8] Fu J, Chen YF, Zhao X, et al. Targeted delivery of pulmonary arterial endothelial cells overexpressing interleukin-8 receptors attenuates monocrotaline-induced pulmonary vascular remodeling [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(7):1539-1547

[9] 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

[10] Hoeper MM, Maier R, Tongers J, et al. Determination of cardiac output by the Fick method, thermodilution, and acetylene rebreathing in pulmonary hypertension [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1999, 160(2):535-541

[11] Savai R, Pullamsetti SS, Kolbe J, et al. Immune and inflammatory cell involvement in the pathology of idiopathic pulmonary arterial hypertension [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2012, 186(9):897-908

[12] Nymo SH, Hulthe J, Ueland T, et al. Inflammatory cytokines in chronic heart failure: interleukin-8 is associated with adverse outcome [J]. *Eur J Heart Fail*, 2014, 16(1):68-75

[13] Shetelig C, Limalanathan S, Hoffmann P, et al. Association of IL-8 with infarct size and clinical outcomes in patients with STEMI [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 72(2):187-198

[14] McMahon TJ, Bryan NS. Biomarkers in pulmonary vascular disease: gauging response to therapy [J]. *Am J Cardiol*, 2017, 120(8S):S89-S95

[15] Anwar A, Ruffenach G, Mahajan A, et al. Novel biomarkers for pulmonary arterial hypertension [J]. *Respir Res*, 2016, 17(1):88

[收稿日期] 2018-02-11