

慢性阻塞性肺疾病合并肺高压患者血清及呼出气冷凝液中炎症因子变化及意义

马 航,何海艳,邱海艳,陶一江*

(南通市第一人民医院呼吸科,江苏 南通 226001)

[摘要] **目的:** 通过检测慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease,COPD) 伴和不伴肺高压(pulmonary hypertension,PH) 患者血清及呼出气冷凝液(exhaled breath condensate,EBC) 中高敏 C-反应蛋白(hypersensitive C-reactive protein,hs-CRP)及白介素(interleukin,IL)-6 等炎症因子的水平,探讨全身及肺部局部炎症反应与 COPD 继发 PH 的关系。**方法:** 收集 COPD 合并 PH 患者(37 例)、单纯 COPD 患者(48 例)的血清及 EBC 标本,并常规行肺功能、动脉血气分析及超声心动图检查,ELISA 方法检测血清及 EBC 中 IL-6 水平,采用乳胶增强透射免疫比浊法检测血清及 EBC 中 hs-CRP 水平。**结果:**①COPD 合并 PH 组血清 hs-CRP 浓度为(17.16 ± 6.25)mg/L,IL-6 浓度为(79.67 ± 18.72)ng/L,均明显高于单纯 COPD 组的 hs-CRP(12.32 ± 7.91)mg/L 和 IL-6(47.38 ± 14.94) ng/L(P 均 < 0.05);②COPD 合并 PH 组 EBC 中 hs-CRP 浓度为(2.03 ± 0.46)mg/L,IL-6 浓度为(8.75 ± 2.03)ng/L,均明显高于单纯 COPD 组的 hs-CRP(1.72 ± 0.65)mg/L 和 IL-6(5.42 ± 1.58)ng/L(P 均 < 0.05);③COPD 合并 PH 组血清及 EBC 中 hs-CRP 及 IL-6 水平均与肺动脉压呈正相关(r 为 0.415~0.875, P 均 < 0.001)。**结论:** 全身及肺部局部炎症反应可能参与了 COPD 继发的 PH 形成过程。

[关键词] 肺高压;慢性阻塞性肺疾病;炎症反应;呼出气冷凝液;C-反应蛋白;白介素-6

[中图分类号] R563

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2013)01-097-05

doi:10.7655/NYDXBNS20130121

Changes and implications of inflammatory mediators in serum and exhaled breath condensate in patients with pulmonary hypertension associated with COPD

Ma Hang, He Haiyan, Qiu Haiyan, Tao Yijiang*

(Department of Respiratory, the First People's Hospital of Nantong, Nantong 226001, China)

[Abstract] **Objective:** To estimate the relationship between inflammation and pulmonary hypertension in patients with chronic obstructive pulmonary disease, we investigate the levels of C-reactive protein(CRP) and interleukin-6(IL-6) in serum and exhaled breath condensate(EBC) in chronic obstructive pulmonary disease(COPD) with or without pulmonary hypertension. **Methods:** EBC and serum of 37 cases in PH associated with COPD and 48 cases in single COPD were collected. Lung function, arterial blood gases and echocardiography were assayed in all cases. ELISA was used for detecting the levels of IL-6 in EBC and serum. Particle-enhanced turbidimetric immunoassay was used for analyses the levels of hs-CRP in EBC and serum. **Results:** ①The levels of CRP[(17.16 ± 6.25) mg/L] and IL-6 [(79.67 ± 18.72)ng/L] in serum in patients with pulmonary hypertension were significantly higher than those in patients without pulmonary hypertension(P < 0.001). ②The levels of CRP[(2.03 ± 0.46)mg/L mg/L] and IL-6[(8.75 ± 2.03)ng/L] in EBC in patients with pulmonary hypertension were significantly higher than those in patients without pulmonary hypertension(P < 0.05). ③PASP in the PH group was positively correlated with the levels of CRP and IL-6 both in serum and EBC(r = 0.415~0.875, P < 0.001). **Conclusion:** The inflammation reaction of system and local respiratory tracts plays an important role in the pathogenesis of pulmonary hypertension in COPD.

[Key words] pulmonary hypertension; chronic obstructive pulmonary disease; inflammation; exhaled breath condensate; C-reactive protein; interleukin-6

[Acta Univ Med Nanjing, 2013, 33(1): 097-101]

[基金项目] 南通市科技计划项目(HS2011038)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: taoyjdr@126.com

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是一种严重危害人类健康的常见病, 目前居全球死亡原因的第 4 位^[1]。肺高压 (pulmonary hypertension, PH) 是 COPD 的重要合并症, 是 COPD 发展为慢性肺源性心脏病的关键环节, 可增加 COPD 急性发作的风险及病死率^[2], 为影响 COPD 患者疾病进程的独立危险因素。虽然 PH 是 COPD 的重要合并症, 但对于 PH 的发病机制仍不清楚。既往认为慢性低氧致低氧性肺血管收缩及肺血管重塑是 COPD 继发 PH 的主要原因^[2]。但近年来的研究表明 COPD 的病变程度并不与肺动脉压力成正比, PH 与低氧程度也不成正比。研究发现不存在缺氧的轻中度 COPD 患者已出现肺动脉结构异常和功能改变^[3]。这意味着除缺氧外尚有其他因素参与 COPD 继发 PH 形成过程。炎症是 COPD 发病的核心环节, COPD 的慢性炎症广泛累及气道、肺实质和肺血管。多种因素特别是炎症反应可能参与 PH 的形成过程。本研究通过测定 COPD 合并 PH 患者、单纯 COPD 患者血清和呼出气冷凝液 (exhaled breath condensate, EBC) 中高敏 C-反应蛋白 (hypersensitive C-reactive protein, hs-CRP) 及白介素 (interleukin-6, IL)-6 水平, 探讨 COPD 继发的 PH 与肺局部及系统性炎症反应的相关性。

1 对象和方法

1.1 对象

所有患者的 COPD 诊断标准符合慢性阻塞性肺病全球倡议 (global initiative for chronic obstructive lung disease, GOLD) 指南诊断标准, 即使用支气管舒张剂后第 1 秒用力呼气容积 (forced expiratory volume in 1 second, FEV1)/用力肺活量 (forced vital capacity, FVC) $\leq 70\%$, 在此基础上超声心动图检查示肺动脉收缩压 (pulmonary arterial systolic pressure, PASP) > 45 mmHg 纳入 COPD 合并 PH 组^[6]。排除胸部 CT 明确提示有肺炎、合并呼吸系统以外感染、心脏瓣膜疾病、先天性心脏疾病, 排除有慢性肝肾疾病、哮喘、肺栓塞、变应性鼻炎、糖尿病、冠心病、自身免疫性疾病的患者。所有患者经伦理委员会同意, 并签署知情同意书。

取 2011 年 4 月~2012 年 6 月在南通市第一人民医院确诊的 COPD 合并 PH 患者 37 例, 其中男 29 例, 女 8 例, 平均年龄 (68.5 \pm 6.6) 岁。单纯 COPD 患者 48 例, 其中男 38 例, 女 10 例, 平均年龄 (69.2 \pm 6.4) 岁。两组患者在年龄、性别上差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 EBC 的收集及保存

采用德国 JAEGER 公司生产的 EBC 收集器 (HAAK EK20 EcoScreen) 收集 EBC。首先将收集器预冷 20 min, 检查前受试者需漱口清洁口腔。常规带鼻夹, 通过咬口器平静呼吸。收集 20 min 呼出气的冷凝物, 融化后用移液管移至收藏管内, -70°C 低温保存待测。

1.2.2 肺功能及血气分析检测

采用美国 Sensormedics 公司生产的肺功能仪测定 FEV1、FVC 等指标。于相同时间段呼吸空气条件下抽取动脉血进行动脉血气分析。

1.2.3 超声心动图测定

入院后由有经验的医生专人专机行心脏超声检查, 采用彩色多普勒超声心动图仪, 测定三尖瓣最大返流速度 (V), 据伯努利公式 $\Delta V = 4V^2$ (m/s) 计算收缩期右心室压与右心房压力差, 即跨瓣压 (ΔV), 据 ΔV 计算 PASP。右室增大时 $\text{PASP} = \Delta V + 10$, 右室正常时 $\text{PASP} = \Delta V + 5$, $\text{PASP} > 45$ mmHg 认为存在肺动脉高压。

1.2.4 血清及 EBC 中 IL-6 及 hs-CRP 水平的检测

取空腹肘静脉血 5 ml, 离心后留血清, -70°C 保存待测。采用 ELISA 法测定 EBC 及血清中 IL-6 浓度, 试剂盒为上海船夫生物科技有限公司产品。采用乳胶增强透射免疫比浊法在日本日立公司 7600 全自动生化分析仪上检测血清及 EBC 中 hs-CRP 水平, 试剂为上海申索佑福医学诊断用品有限公司产品。所有标本严格按照说明书操作。

1.3 统计学方法

采用 SPSS19.0 统计软件进行统计学分析, 计量资料用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。对样本先进行方差齐性检验, 方差齐时均数样本间两两比较采用独立样本 t 检验。相关性分析采用 Pearson 相关分析, 以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 COPD 合并 PH 组与单纯 COPD 组一般资料的比较

COPD 合并 PH 组患者 37 例, 平均 PASP (51.9 \pm 10.4) mmHg, 单纯 COPD 组 48 例, 平均 PASP (29.2 \pm 7.3) mmHg。两组间年龄、性别分布、吸烟情况均无差异, COPD 合并 PH 组 FEV1、FVC 及 PaO_2 低于单纯 COPD 组, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。COPD 合并 PH 组平均 PASP 高于单纯 COPD 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 表 1)。

表 1 2 组患者一般资料比较

Table 1 Comparison of basic information of the two groups

观察指标	COPD 合并 PH 组(n=37)	单纯 COPD 组(n=48)
年龄(岁)	68.5±6.6	69.2±6.4
性别(男/女)	29/8	38/10
吸烟史(包/年)	41±32	40±30
FEV1(L)	0.72±0.11	0.81±0.15
FVC(L)	1.26±0.29	1.43±0.32
PaO ₂ (mmHg)	62.50±8.43	65.54±5.72
PaCO ₂ (mmHg)	58.77±8.54	54.94±7.35
PASP(mmHg)	51.9±10.4*	29.2±7.3

与单纯 COPD 组相比, * $P < 0.05$ 。

2.2 COPD 合并 PH 组与单纯 COPD 组血清炎症指标比较

表 2 显示, COPD 合并 PH 组血清 hs-CRP 浓度为(17.16 ± 6.25)mg/L, 高于单纯 COPD 组(12.32 ± 7.91)mg/L, IL-6 浓度为(79.67 ± 18.72) ng/L, 高于单纯 COPD 组(47.38 ± 14.94) ng/L, 两组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$, 表 2)。

2.3 COPD 合并 PH 组与单纯 COPD 组 EBC 中炎症指标比较

COPD 合并 PH 组 EBC 中 hs-CRP 浓度为(2.03 ± 0.46)mg/L, 高于单纯 COPD 组(1.72 ± 0.65)mg/L, IL-6 浓度为(8.75 ± 2.03)ng/L, 高于单纯 COPD 组(5.42 ± 1.58) ng/L, 两组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$, 表 2)。

表 2 2 组患者血清及 EBC 中 hs-CRP 和 IL-6 水平的比较

Table 2 Comparison hs-CRP and IL-6 levels in serum and EBC of the two groups

组别	例数	血清		EBC	
		hs-CRP(mg/L)	IL-6(ng/L)	hs-CRP(mg/L)	IL-6(ng/L)
COPD 合并 PH 组	37	17.16±6.25	79.67±18.72	2.03±0.46	8.75±2.03
单纯 COPD 组	48	12.32±7.91	47.38±14.94	1.72±0.65	5.42±1.58
<i>t</i> 值		2.635	7.612	2.573	8.983
<i>P</i> 值		0.012	< 0.001	0.018	< 0.001

2.4 COPD 合并 PH 组相关指标与 PASP 相关性分析

Pearson 直线相关分析显示 FEV1、FVC、PaCO₂ 与 PASP 无相关性 ($r = -0.281 \sim -0.295, P > 0.05$),

PaO₂ 与 PASP 成线性负相关($r = -0.483, P < 0.001$)

血清及 EBC 中 hs-CRP 及 IL-6 水平均与 PASP 成线性正相关(r 为 0.415~0.875, P 均 < 0.001, 表 3)。

表 3 COPD 合并 PH 组相关指标与 PASP 相关性分析

Table 3 Correlation of related factors with PASP in COPD with PH group

相关指标	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
FEV1(L)	-0.273	0.069
FVC(L)	-0.281	0.062
PaO ₂ (mmHg)	-0.483	< 0.001
PaCO ₂ (mmHg)	0.295	0.061
血清 hs-CRP 水平(mg/L)	0.415	0.004
血清 IL-6 水平(ng/L)	0.862	< 0.001
EBC 中 hs-CRP 水平(mg/L)	0.482	< 0.001
EBC 中 IL-6 水平(ng/L)	0.875	< 0.001

3 讨论

COPD 在许多国家日益流行, 预测至 2020 年, COPD 将成为世界第 3 大死亡原因^[1]。PH 是 COPD

的重要合并症, 是 COPD 发展为慢性肺源性心脏病的关键环节, 及时发现和降低 PH, 对于延缓右心衰竭和降低 COPD 的病死率有重要意义。

PH 以肺血管内膜增厚、肺血管网狭窄及肺血

管阻力升高为特征。上述病理生理结果可能和低氧、内皮功能失调及炎症反应相关^[4]。既往认为慢性低氧在PH形成过程中起重要作用,但近年来发现不存在缺氧的轻中度COPD患者已出现肺动脉结构异常和功能改变。炎症在COPD气道病变中起重要作用,但炎症在血管疾病的发病机制中的作用近年来才受到关注。活检资料显示,无低氧血症的轻度COPD患者肺小动脉中亦存在炎症细胞的浸润和一氧化氮合成酶表达的降低。有实验研究显示,小气道炎症细胞浸润的程度与肺肌型动脉结构异常之间存在相关性;肺动脉壁炎症细胞浸润的数量与血管内皮功能之间存在负相关,以上均提示COPD伴发PH的始发因素并非完全由缺氧所致,炎症可能是COPD患者早期肺循环结构和功能改变的原因。

hs-CRP是一种重要的急性期炎症蛋白,其水平升高是各种原因引起的炎症和组织损伤的灵敏指标,是反映全身炎症反应的重要指标^[7]。以往有一些研究已证实在原发性肺动脉高压、慢性血栓性肺动脉高压、结缔组织病等疾病中hs-CRP等炎症蛋白水平与肺动脉压之间有相关性^[8]。然而,hs-CRP在COPD合并PH中是否也推动类似的病理过程目前尚不明确。最近有研究表明hs-CRP水平与COPD患者吸烟史有关,并可预测轻中度COPD患者全因病死亡率^[9]。在吸烟所致的大鼠肺动脉高压模型中hs-CRP水平与肺动脉压有直线相关性。本研究结果显示COPD合并PH患者血清中hs-CRP水平明显高于单纯COPD组,并与PASP呈线性正相关,提示全身炎症反应可能参与COPD继发的PH形成过程。Yong等^[10]研究也证实COPD患者血浆中hs-CRP水平与肺动脉压力相关,与本研究结果相符。hs-CRP具有促进炎症反应作用,它可诱导单核细胞在炎症反应部位释放细胞因子和组织因子。研究表明在人主动脉内皮细胞中,hs-CRP降低了一氧化氮合酶的表达及其生物活性。在隐静脉,hs-CRP增加了内皮素-1的释放^[11]。因此,hs-CRP可能通过促进内皮功能障碍及导致血管重塑、增加肺循环血管阻力,从而导致肺动脉高压。

IL-6是介导机体炎症反应的重要细胞因子。它具有显著的化学趋化作用,并能延缓中性粒细胞凋亡,促进中性粒细胞的氧化反应,使炎症处于持续状态。研究表明,IL-6在肺血管重构中起重要作用。过度表达IL-6可诱发肺动脉高压^[12]。IL-6可导致轻度肺动脉高压,并加重低氧诱导的大鼠肺动脉高压^[13]。

在野百合碱及低氧诱导的肺动脉高压动物模型中,血清IL-6水平明显升高。本研究中观察IL-6与PASP的关系,发现COPD合并PH组血清IL-6水平较单纯COPD组明显升高,差异具有统计学意义。相关性分析显示IL-6水平与PASP呈线性正相关,与Chaouat等^[14]研究结果相一致。组织学研究表明轻度COPD患者肺血管壁即有炎症因子浸润,结合本研究结果认为COPD系统性炎症反应在COPD继发PH中起重要作用。

COPD患者肺部的炎症广泛存在,以中性粒细胞、巨噬细胞特别是CD8⁺T细胞等炎症细胞增高为特征。而活检资料显示COPD患者肺小动脉外膜的炎性细胞主要是活化的CD8⁺T淋巴细胞^[15],提示COPD肺血管炎症与其气道及肺部炎症的性质一致。但目前对于肺脏局部的炎症反应与COPD继发PH的相关性仍有争议。陈国忠等^[16]研究表明COPD合并PH患者诱导痰中炎症细胞总数、中性粒细胞计数均明显高于单纯COPD组。但最近蒋延文等^[17]报道认为COPD合并PH组与单纯COPD组的诱导痰细胞总数及中性粒细胞计数比较均无统计学差异,肺动脉压力可能与局部炎症状态无关。与诱导痰相比,EBC检测是近年来新出现的呼吸道疾病炎症状态的检测方法。患者对着咬口平静呼吸,气体通过冷凝装置成为液态后收集。气道内衬液体中多种生化分子,平静呼吸时可随气体呼出,遇冷则随水蒸气凝结而进入EBC。它能更准确地实时反映气道的炎症状态,具有安全无创,简便易行和可多次重复的优点,为研究气道炎症的一种理想方法^[18]。本研究发现COPD合并PH患者EBC中hs-CRP及IL-6浓度较单纯COPD组明显升高,相关性分析示EBC中hs-CRP及IL-6水平与PASP均成正相关,提示除系统性炎症反应外,肺脏局部炎症反应在COPD相关PH中亦起重要作用。

综上所述,本研究证实COPD继发的PH与血清及EBC中高水平的hs-CRP及IL-6有关,且血清及EBC中hs-CRP与IL-6水平均与PASP呈显著正相关。这提示全身及肺脏局部炎症反应与COPD继发的PH密切相关,本研究由于样本量不大,尚存在一定局限性,有待于进一步扩大样本观察炎症反应在COPD继发的PH中的作用。

[参考文献]

- [1] Rabe KF, Hurd S, Anzueto A, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary

- [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2007, 176(6):532-555
- [2] Wright JL, Levy RD, Churg A. Pulmonary hypertension in chronic obstructive pulmonary disease: current theories of pathogenesis and their implications for treatment[J]. *Thorax*, 2005, 60(7):605-609
- [3] Fabbri LM, Luppi F, Beghe B, et al. Update in chronic obstructive pulmonary disease 2005[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006, 173(10):1056-1065
- [4] Jyothula S, Safdar Z. Update on pulmonary hypertension complicating chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2009, 4:351-363
- [5] Santos S, Peinado VI, Ramírez J, et al. Characterization of pulmonary vascular remodelling in smokers and patients with mild COPD[J]. *Eur Respir J*, 2002, 19(4):632-638
- [6] Ekkehard G, Andreas B, Michael B, et al. Non-invasive diagnosis of pulmonary hypertension; ESC/ERS Guidelines with Updated Commentary of the Cologne Consensus Conference 2011[J]. *Int J Cardiol*, 2011, 154(Suppl 1):S3-S12
- [7] Antoneseu-Tureu AL, Tomic R. C-reactive protein and copeptin: prognostic predictors in chronic obstructive pulmonary disease exacerbations[J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2009, 15(2):120-125
- [8] Quarck R, Nawrot T, Meyns B, et al. C-reactive protein: a new predictor of adverse outcome in pulmonary arterial hypertension[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 53(14):1211-1218
- [9] Man SF, Connett JE, Anthonisen NR, et al. C-reactive protein and mortality in mild to moderate chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Thorax*, 2006, 61(10):849-853
- [10] Yong SK, Su YC, Hong JS, et al. Plasma C-Reactive protein and Endothelin-1 level in patients with chronic obstructive pulmonary disease and pulmonary hypertension [J]. *J Korean Med Sci*, 2010, 25(10):1487-1491
- [11] Lakoski SG, Cushman M, Palmas W, et al. The relationship between blood pressure and C-reactive protein in the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA) [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 46(10):1869-1874
- [12] Steiner MK, Syrkina OL, Kolliputi N, et al. Interleukin-6 overexpression induces pulmonary hypertension[J]. *Circ Res*, 2009, 104(2):236-244
- [13] Golembeski SM, West J, Tada Y, et al. Interleukin-6 causes mild pulmonary hypertension and augments hypoxia-induced pulmonary hypertension in mice[J]. *Chest*, 2005, 128(suppl):572-573
- [14] Chaouat A, Savale L, Chouaid C, et al. Role for interleukin-6 in COPD-related pulmonary hypertension [J]. *Chest*, 2009, 136(3):678-687
- [15] Peinado VI, Barbera JA, Abate P, et al. Inflammatory reaction in pulmonary muscular arteries of patients with mild chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1999, 159(5):1605-1611
- [16] 陈国忠, 陈宏斌, 曹霞, 等. 慢性阻塞性肺疾病相关性肺动脉高压与炎症反应关系的研究[J]. *中国综合临床*, 2009, 25(6):614-617
- [17] 蒋延文, 庞莉, 马迎民, 等. 血清炎症因子水平与慢性阻塞性肺疾病继发肺动脉高压相关性研究[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2011, 12(34):904-907
- [18] Montuschi P. Analysis of exhaled breath condensate in respiratory medicine: methodological and potential clinical applications[J]. *Ther Adv Respir Dis*, 2007, 1(1):5-23

[收稿日期] 2012-10-14