

慢性阻塞性肺疾病患者治疗前后血清相关指标检测的临床意义

马建国¹, 姚加平², 赵兴国¹, 茆春红¹ (1. 江苏省沭阳县中心医院检验科 223600; 2. 江苏省灌云县人民医院检验科 222200)

【摘要】 目的 探讨了慢性阻塞性肺疾病(COPD)患者治疗前后血清一氧化氮(NO)、一氧化氮合成酶(NOS)、白细胞介素-10(IL-10)、白细胞介素-18(IL-18)和粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)水平的变化及临床意义。**方法** 分别采用放免法和化学法对 38 例 COPD 患者进行了治疗前后血清 NO、NOS、IL-10、IL-18 和 GM-CSF 水平检测, 并与 35 例健康人作比较。**结果** COPD 患者在治疗前血清 NO、NOS、IL-10、IL-18 和 GM-CSF 水平均非常显著地高于健康对照组($P<0.01$), 经综合治疗后 2 周, 除 NO 水平与健康对照组比较无差异外, NOS、IL-10、IL-18 和 GM-CSF 水平与健康人比较差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** NO、NOS、IL-10、IL-18 和 GM-CSF 可能以不同的方式参与了 COPD 的发病, 其水平的检测对了解病情, 指导治疗均具有重要的临床价值。

【关键词】 慢性阻塞性肺疾病; 一氧化氮; 白细胞介素; 粒细胞巨噬细胞集落刺激因子
DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2012. 24. 036 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)24-3113-02

Clinical Significance of determinations of Serum NO, NOS, IL-10, IL-18 and GM-CSF levels after treatment in patients with chronic obstructive pulmonary diseases MA Jian-guo¹, YAO Jia-ping², ZHAO Xin-guo¹, MAO Chun-hong¹ (1. Department of Clinical Laboratory, Shuyang County Central Hospital, Shuyang, Jiansu 223600, China; 2. 1. Department of Clinical Laboratory, Peoples's Hospital of Guanyun County, Jiangsu 222200, China)

【Abstract】 Objective To explore the significance of changes of Serum NO, NOS, IL-10, IL-18 and GM-CSF levels after treatment in patients with chronic obstructive pulmonary diseases. **Methods** Serum IL-10, IL-18, GM-CSF levels were determined by RIA and Serum NO, NOS levels were determined by chemical methods both before and after treatment in 38 patients with COPD as well as in 35 controls. **Results** Before treatment the Serum NO, NOS, IL-10, IL-18 and GM-CSF levels were significantly higher than those in controls ($P<0.01$). After 2 weeks of treatment, the NO, NOS, IL-10, IL-18 and GM-CSF levels were significantly higher than those in controls ($P<0.05$) except NO level. **Conclusion** NO, NOS, IL-10, IL-18 and GM-CSF could take part in the pathogenesis of COPD in various ways and determinations of these levels are clinically important.

【Key words】 chronic obstructive pulmonary diseases; nitric oxide; interleukin; granulocyte-macrophage; colony-stimulating factor

一氧化氮(NO)是一种具有多种生物学活性的物质,它具有松弛血管平滑肌、舒张血管、抑制血小板聚集以及抑制内皮细胞繁殖的作用^[1]。近年的研究表明,慢性阻塞性肺疾病(COPD)的发生与发展可能与一些细胞因子的调节紊乱有关^[2]。目前有关对 COPD 患者进行治疗前后血清 NO、一氧化氮合成酶(NOS)、白细胞介素-10(IL-10)、白细胞介素-18(IL-18)和粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)水平变化的报道甚少,为此,作者进行了探讨,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 患者组 38 例,均为本院 2010 年 1 月至 2011 年 12 月在本院收治,经临床明确诊断的 COPD 患者,其诊断标准符合中华医学会诊断标准^[3]。

1.1.2 健康对照组 35 例,均为本院体检中心经健康体检合格的健康人,无心、肝、肺、肾等重要脏器疾患,肝、肾功能检测

正常,家属中无 COPD 史。

1.2 方法

1.2.1 血清 NO、NOS 水平测定 采用化学法进行检测。试剂由伊利康生物技术有限公司提供,操作按说明书。

1.2.2 血清 IL-10、IL-18、GM-CSF 水平测定 放射免疫分析法进行检测。试剂由北方免疫试剂研究所提供,操作按说明书。

1.2.3 统计学处理 采用 SPSS11.0 软件进行统计学分析,所测数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,相关分析采用直线回归。

2 结 果

2.1 健康人和 COPD 患者治疗前后血清 NO、NOS、IL-10、IL-18 和 GM-CSF 含量测定结果 见表 1。

2.2 COPD 患者血清 NO 水平与 NOS、IL-10、IL-18 和 GM-CSF 水平相关分析 分析结果呈明显的正相关($r=0.592\ 3$ 、 $0.601\ 8$ 、 $0.498\ 2$ 、 $0.583\ 3$ 、 $P<0.01$)。

表 1 健康人和 COPD 患者治疗前后血清 NO、NOS、IL-10、IL-18 和 GM-CSF 含量

组别	<i>n</i>	NO(μmol/L)	NOS(μmol/L)	IL-10(μg/L)	IL-18(μg/L)	GM-CSF(μg/L)
健康对照组	35	52.8±10.2	28.5±4.5	32.2±7.4	51.8±15.2	0.45±0.15
患者组治疗前	38	81.4±31.4 ^b	45.6±10.5 ^b	54.6±10.8 ^b	201.8±55.2 ^b	1.40±0.51 ^b
患者组治疗后	38	54.2±9.2	36.4±12.6 ^a	40.4±9.5 ^a	60.4±10.8 ^a	0.54±0.21 ^a

注:与健康对照组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$ 。

3 讨 论

NO 作为生物活性分子参与了许多疾病的发生和发展过

程,在缺氧性肺动脉高压及肺损伤中起着十分重要的作用^[4]。本文检测的结果表明了 COPD 患者在治疗前血清 NO 水平非

常显著地高于健康对照组($P < 0.01$),经中西医结合治疗 2 周后则与健康对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),其升高的机制,初步认为是:(1)由于 COPD 是一种慢性病,常伴有免疫调节的紊乱,T、B 细胞比例失衡,造成 NO 水平升高。(2)患者常伴有血管张力提高和支气管管挛而引起缺氧和心功能障碍。(3)患 COPD 时机体在炎症介质刺激下激活了 NOS 从而产生较多的 NO。(4)由于患者受细菌或病毒的侵犯,其内毒素及多种细胞因子诱导器官及血管壁内的诱导型 NOS 合酶基因表达及蛋白质合成,继而催化合成并产生了过多的 NO 之故。NOS 在一些感染性疾病、休克等情况下活性增加,合成大量的 NO,参与对各种器官的损伤。本文检测结果表明,COPD 患者在治疗前血清 NOS 水平非常显著地高于健康对照组($P < 0.01$),经治疗 2 周后则与健康对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),其升高的机制可能是由于炎症等刺激引起的应激反应之故。

IL-10 是一种与免疫反应有密切关系的细胞因子,具有重要的抗炎作用,抑制巨噬细胞的活化,防止过度活化的巨噬细胞对宿主组织产生损伤,降低免疫活性 T 淋巴细胞的增殖^[5]。本文检测结果表明,COPD 患者在治疗前血清 IL-10 水平非常显著地高于健康对照组($P < 0.01$),经治疗 2 周后与健康对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。这一结果证实:血清 IL-10 可能抑制上述炎性细胞因子对 COPD 患者的炎性反应,参与了疾病的发生与发展。

IL-18 是具有多种免疫调节功能的细胞因子,能够促进 Th1 细胞增殖和 Th1 型免疫应答^[6]。本文检测结果表明,COPD 患者在治疗前 IL-18 水平非常显著地高于健康对照组($P < 0.01$),治疗 2 周后与健康对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),这一现象可以证明 IL-18 参与了 COPD 患者的免疫抑制损伤过程。

GM-CSF 是在炎症反应过程中由损伤内皮细胞释放的一种多肽类激素样造血生长因子^[7]。本文检测的结果表明,

COPD 患者在治疗前血清 GM-CSF 水平非常显著地高于健康对照组($P < 0.01$),经治疗 2 周后与健康对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),其升高的机理可能是患者体内淋巴细胞处于活化状态而使表达增多之故。

总之,作者认为,血清 NO、NOS、IL-10、IL-18 和 GM-CSF 可能以不同的方式参与了 COPD 的发病,其水平检测对了解病情、指导临床治疗具有重要的临床价值。

参考文献

- [1] 刘冀,刘伟,朱建忠,等.一氧化氮、一氧化氮合酶与肝性脑病关系的研究进展[J].现代中西医结合杂志,2011,20(19):2455-2457.
- [2] Eid AA, Lonsescu AA, Nixon LS. Inflammatory response and body Composition in chronic obstructive pulmonary diseases[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2004, 164(8): 1414-1418.
- [3] 中华医学会呼吸病分会.慢性阻塞性肺疾病诊治指南[J].中华结核和呼吸杂志,2002,25(8):453.
- [4] Griffithow, Stuehy DJ. Nitric oxide Synthesis properties and Catalytic mechanism[J]. Ann Rev physical, 1995, 57: 77-78.
- [5] 郭锦锦,孙万邦. IL-10 受体及其信号转导研究进展[J]. 临床医学工程, 2012, 19(1): 135-137.
- [6] 陈志芬,邓长生. IL-15、IL-18 的生物活性及其抗肿瘤机制的研究[J]. 医学新知杂志, 2011, 21(5): 372-373.
- [7] 田静,谢欣,周毅成,等.泛发性脓疱型银屑病皮损处 IL-8 及 GM-CSF 的检测[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2011, 27(12): 847-849.

(收稿日期:2012-10-11)

(上接第 3112 页)

往往进行经验性治疗。目前荧光定量 PCR 已经应用于真菌的早期诊断^[5-6],很多检测方法是根据真菌的保守序列设计的引物,如真菌的 18S rDNA、ITS 区段等,本研究选取的是常用的真菌通用引物 ITS86 和 ITS4,此对引物扩增的是 5.8S rDNA 和 28S rDNA 之间的 ITSⅡ 区的保守序列,具有较大的种属变异性,且种内变异性较低,可以识别更多的菌种^[7-8]。

荧光定量 PCR 操作简单,与普通 PCR 相比,无须进行琼脂糖凝胶电泳,通过扩增曲线就可观察结果。反应的敏感性和特异性高,最低检测限达到 fg 级别,与细菌、病毒和人类基因组 DNA 均无交叉反应。而且整个反应过程是在密闭的反应管中进行,极大地减少了反应产物的污染,整个过程仅需 2~3 h 即可完成。

本实验直接选用临床分离菌株提取基因组 DNA 进行扩增,能扩增出所选的所有菌株,说明这一方法可以直接应用于临床标本的检测。通过分析融解曲线发现,念珠菌属和曲霉属的 T_m 值差别比较大,在临床检测中可以进行菌属的鉴别,热带念珠菌和近平滑念珠菌与其他念珠菌可以粗略鉴别,有利于临床医生作出更详细的治疗措施。本研究所建立的荧光定量 PCR 可以快速的检测临床常见致病性真菌,为病原菌的早期诊断提供了帮助。

参考文献

- [1] 贺晨,孙鸿燕,邵丽筠,等.多重 PCR 结合基因芯片技术检测 11 种致病菌方法的建立[J].中国实验诊断学,

2011,15(4):45-46.

- [2] 赵林,张繁友.反转录 PCR 在真菌性角膜溃疡快速诊断中的价值[J].国际眼科杂志,2011,11(10):1758-1759.
- [3] 李丽丽,赵作涛,万喆,等.聚合酶链反应结合反向点杂交技术在检测及鉴定真菌性鼻窦炎常见致病曲霉菌中的应用[J].中华病理学杂志,2012,41(1):24-25.
- [4] Turenne CY, Sanche SE, Hoban DJ, et al. Rapid identification of Fungi by Using the ITS2 Genetic Region and an Automated Fluorescent Capillary Electrophoresis System[J]. J Clin Micro, 1999, 37(6): 1846-1851.
- [5] Soeta N, Terashima M, Gotoh M, et al. An improved rapid quantitative detection and identification method for a wide range of fungi[J]. J Med Micro, 2009, 58(8): 1037-1044.
- [6] Metwally L, Fairley DJ, Coyle PV, et al. Improving molecular detection of Candida DNA in whole blood: comparison of seven fungal DNA extraction protocols using real-time PCR[J]. J Med Micro, 2008, 57(3): 296-303.
- [7] 郭强,高志祥,张军东,等.实时荧光定量 PCR 快速鉴定五种常见念珠菌[J].中华皮肤科杂志,2010,43(3): 205-206.
- [8] 金敏,黄爱华,陈照立,等.常见致病真菌通用引物 PCR 检测技术研究[J].环境与健康杂志,2009,26(11):25-27.

(收稿日期:2012-11-14)