

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.01.010

IL-6、IL-8、TNF- α 在矽肺的表达及 CIK 治疗的意义*戴 军, 闵奇萍, 朱传武 Δ , 胥 萍

(江苏省苏州市第五人民医院 215000)

摘 要:目的 探讨白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 在矽肺患者体内的表达及其在自体免疫细胞(CIK) 治疗后水平变化的意义。方法 选取 2012 年 1 月至 2016 年 12 月该院确诊为矽肺 1 期的患者 49 例为观察组, 同期选取 49 例体检健康者为对照组。对两组研究对象行 IL-6、IL-8、TNF- α 及肺功能检测, 对比分析两组检测结果。有 3 例矽肺 1 期患者接受了 CIK 治疗, 观察患者 CIK 治疗前后 IL-6、IL-8、TNF- α 及肺功能的变化。结果 观察组 IL-6、IL-8、TNF- α 水平明显高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 观察组用力肺活量(FVC)、1 秒用力呼气量(FEV1)、FEV1/FVC 指标明显低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。3 例矽肺 1 期患者经 CIK 治疗后 IL-6、IL-8、TNF- α 水平有明显改善, 肺功能较前明显好转。结论 矽肺 1 期患者 IL-6、IL-8、TNF- α 水平普遍更高, 具有较高诊断价值; 3 例矽肺 1 期患者经 CIK 治疗后 IL-6、IL-8、TNF- α 水平有明显改善, 肺功能较前明显好转, 值得进一步深入研究, 也为职业性矽肺的治疗提供了新的思路。

关键词: 矽肺; 白细胞介素-6; 白细胞介素-8; 肿瘤坏死因子- α ; 自体免疫细胞

中图分类号: R563.9

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2018)01-0034-04

The expression of IL-6, IL-8 and TNF- α in silicosis and the significance of CIK treatment*DAI Jun, MIN Qiping, ZHU Chuanwu Δ , XU Ping

(Suzhou Fifth People's Hospital, Suzhou, Jiangsu 215000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in silicosis and its changes after cytokine-induced killer (CIK) significance. **Methods** 49 cases of silicosis phase diagnosed patients in the hospital from January 2012 to December 2016 were selected as the observation group, and 49 healthy subjects were selected in the same period. IL-6, IL-8, TNF- α and lung function were measured in both groups. The results of the two groups were compared and analyzed. There are 3 cases of silicosis in 1 stage patients treated with CIK. The changes of IL-6, IL-8, TNF- α and lung function before and after CIK treatment were observed and compared. **Results** The levels of IL-6, IL-8 and TNF- α in the observation group were higher than those in the control group, the difference were statistically significant ($P < 0.05$); The forced vital capacity (FVC), 1s expiratory volume (FEV1) and FEV1/FVC in the observation group were lower than those in the control group, the difference were statistically significant ($P < 0.05$). IL-6, IL-8 and TNF- α levels in 3 patients with silicosis in 1 stage were significantly improved after CIK treatment. Pulmonary function significantly improved. **Conclusion** The levels of IL-6, IL-8 and TNF- α in patients with silicosis phase are generally higher. IL-6, IL-8 and TNF- α levels were significantly improved in 3 patients with silicosis phase after CIK treatment. Pulmonary function results was significantly improved. Those were worth of further study. It also provides a new way of thinking for the treatment of occupational silicosis.

Key words: silicosis; interleukin-6; interleukin-8; tumor necrosis factor- α ; cytokine-induced killer

作为一种以肺部弥漫性纤维化为主的全身性疾病, 长时间吸入游离二氧化硅粉尘是矽肺发生的主要原因, 易引发肺结核等多种并发症, 加重患者病情发展, 影响患者预后^[1]。矽肺发病早期, 机体对二氧化硅的刺激具有较高的敏感性, 易引发较为强烈的应激

反应, 持续、过度激活单核细胞及巨噬细胞, 增加致纤维化因子及细胞因子分泌量, 引发肺组织损伤及纤维化, 进而影响患者肺功能^[2]。因此, 及时采取有效措施诊断并实施有效的治疗方式可有效改善患者预后。自体免疫细胞(CIK) 治疗是目前治疗矽肺的方法, 可

* 基金项目: 2015 年度苏州市科学技术局市科技发展计划(应用基础研究-医疗卫生第二批)项目(SYSD2015133)。

作者简介: 戴军, 男, 副主任医师, 主要从事内科呼吸系疾病、高压氧舱康复治疗的研究。 Δ 通信作者, E-mail: zhuchw@126.com。

有效改善患者病情,故寻找有效的诊断方法是目前研究的重点问题^[3]。本研究探讨白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)在矽肺患者体内的表达及其在 CIK 治疗后的水平变化,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 1 月至 2016 年 12 月在本院确诊的职业性矽肺 1 期患者 49 例为观察组,均符合《尘肺病诊断标准》^[4]中矽肺的高千伏胸片诊断标准,排除恶性肿瘤、风湿免疫系统疾病、血液系统、1 型/2 型糖尿病、原发性高血压及冠状动脉性心脏病者。并选择同期 49 例体检健康者为对照组。对照组:男 45 例,女 4 例;年龄 50~71 岁,平均(59.23±4.91)岁。观察组:男 48 例,女 1 例;年龄 50~73 岁,平均(59.27±4.94)岁。两组研究对象年龄、性别差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究已通过本院伦理委员会审核。

1.2 方法 (1)CIK 治疗:从患者外周血中采集单个核细胞,在体外经抗 CD3 单抗(CD3mAb)、干扰素(IFN)- γ 及 IL-1 α 、IL-2 等多种细胞因子刺激、增殖、培养,达到一定标准后,再回输到患者体内^[5]。在本次研究中,由于 CIK 治疗的部分项目为完全自费,且金额较大,故在取得患者知情同意后,实际只成功开展了 3 例。(2)细胞因子检测:在含有乙二胺四乙酸的干燥试管中放置两组研究对象 5 mL 空腹外周静脉

血,混匀。离心(2 500 r/min)10 min,取上清液存储于一 80 ℃ 环境下。使用美国 R&D 公司提供的试剂盒及美国 Biotek 公司生产的酶标仪及洗板机通过酶联免疫吸附试验(ELISA)测量 IL-6、IL-8 水平,所有操作均严格根据操作说明进行;使用德国西门子公司 immulite 1000 化学发光仪及试剂盒,通过免疫荧光法检测 TNF- α 水平^[6]。(3)采用意大利科时迈公司肺功能仪,型号 Pony FX,测量两组研究对象用力肺活量(FVC)、1 秒用力呼气量(FEV1),并计算 FEV1/FVC^[7]。

1.3 统计学处理 采用 SPSS21.0 统计学软件处理数据,非正态分布的计量资料以 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示,组间比较采用秩和检验;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组研究对象 IL-6、IL-8、TNF- α 水平及肺功能比较 与对照组比较,观察组 IL-6、IL-8、TNF- α 水平均较高,差异有统计学意义($P<0.05$);观察组 FVC、FEV1、FEV1/FVC 指标均较低,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 CIK 治疗前后患者 IL-6、IL-8、TNF- α 水平及肺功能变化 3 例矽肺 1 期患者经 CIK 治疗后 IL-6、IL-8、TNF- α 水平有明显改善,肺功能较前明显好转。由于本次试验样本量少,现作个案报告。见表 2。

表 1 两组研究对象 IL-6、IL-8、TNF- α 水平及肺功能对比 [$M(P_{25} \sim P_{75})$]

组别	<i>n</i>	IL-6(pg/mL)	IL-8(pg/mL)	TNF- α (pg/mL)	FVC(mL)	FEV1(mL)	FEV1/FVC(%)
对照组	49	2.25(1.90~2.62)	5.21(4.68~5.52)	4.19(3.80~4.72)	81.17(80.86~81.70)	84.29(83.86~84.72)	91.02(90.60~91.52)
观察组	49	11.42(10.88~11.84)	18.12(17.62~18.44)	11.13(10.82~11.70)	73.27(72.80~73.78)	60.13(59.80~60.74)	78.03(77.60~78.48)

表 2 接受 CIK 治疗的 3 例患者在治疗前后 IL-6、IL-8、TNF- α 和肺功能对比

患者	时间	IL-6(pg/mL)	IL-8(pg/mL)	TNF- α (pg/mL)	FVC(mL)	FEV1(mL)	FEV1/FVC(%)
病例 1	治疗前	10.82	16.00	15.00	75.18	65.21	78.30
	治疗后	5.06	15.00	9.00	85.20	84.20	90.20
病例 2	治疗前	9.08	10.01	9.00	73.60	62.40	72.60
	治疗后	4.06	8.02	8.00	80.30	80.20	80.20
病例 3	治疗前	11.02	20.10	10.00	78.20	64.30	76.40
	治疗后	6.20	6.00	7.00	86.42	75.20	82.30

3 讨 论

矽肺是一种较为严重的尘肺类型,具有较高的发病率,以肺间质改变为主要特征,二氧化硅含量较为丰富的粉尘为其发生的主要原因^[8]。虽然很早之前矽肺就被发现,但因其形成机制较为复杂,目前仍存在较大的争议。脂质过氧化学说、炎症刺激学说、细胞基质学说、细胞因子网络学说等是目前公认的矽肺发生机制,但均难以完整阐述矽肺的机制,故多认为

是多种因素共同作用的结果^[9-10]。在矽结节和纤维化的形成过程中,将激活肺泡巨噬细胞,之后在多种炎症介质的作用下,将促进致纤维化因子及细胞因子释放,造成重构肺组织结构,最终形成肺间质纤维化^[11]。而在此过程中炎症介质起到了较为重要的作用,故在矽肺患者诊断中检测炎症介质有助于判断患者病情。

本研究结果显示,观察组 IL-6、IL-8、TNF- α 水平均明显高于对照组,表明 IL-6、IL-8、TNF- α 水平升高

可反映矽肺发生情况,对诊断矽肺的发生有较为重要的意义。IL-6 主要由单核细胞、淋巴细胞、肺成纤维细胞、肺巨噬细胞、内皮细胞等分泌,具有较为广泛的生物学效应,在炎症趋化及免疫过程中有较为重要的作用,亦是肺纤维化中较为重要的一种炎症因子,与肺纤维化的发生和发展关系较为密切^[12]。梁宇等^[13]研究表明,IL-6 主要通过延缓纤维母细胞凋亡实现肺纤维化发展的目的。IL-8 是一种前炎症细胞因子,单核细胞、组织细胞、巨噬细胞为其主要来源,中性粒细胞趋化因子较强,在肺组织局部损伤的炎性反应中有较为重要的作用,可促使肺部结构及纤维细胞增殖^[14-15]。IL-8 可通过趋化中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞等,造成过度的炎性反应,进而有促进中性粒细胞黏附、渗出作用。而当 IL-8 介导的炎性反应过强时,肺泡中性粒细胞大量、持续地聚集在肺部,造成广泛肺损伤,引起肺纤维化^[16]。TNF- α 是一种由激活的单核巨噬细胞和活化的 T 细胞产生的细胞因子,具有介导多向性炎性反应和免疫调节反应的作用,生物学活性较为广泛。同时 TNF- α 可诱导 IL-1、IL-6 及 IL-8 表达,进而增加肺纤维化发生的风险性。此外, TNF- α 还可通过激发其他促纤维化因子的活性而发挥致纤维化的作用,如:转化生长因子- β_1 (TGF- β_1) 是目前发现的最重要的促纤维化细胞因子^[17-18],不仅可以刺激成纤维细胞内胶原表达增加,促进胶原合成,还可以促使成纤维细胞向肌成纤维细胞转化,导致细胞外基质过度沉积,而形成 IPF。TNF- α 虽然不能直接激活 TGF- β_1 ,但可通过激活 ERK 特异的 MARK 信号转录通路,导致 TGF- β_1 稳定表达,促进纤维细胞的增殖和胶原形成,最终促进肺纤维化的发展^[19]。CIK 治疗时将单核细胞中的多种因子在体外刺激、增殖及培养,满足标准后输入患者体内,进而可有效调节患者体内 IL-6 等各项因子水平^[2],控制病情发展,改善患者预后。

本研究中,观察组 FVC、FEV1、FEV1/FVC 指标均明显低于对照组,提示存在阻塞性通气功能障碍,这结果虽然与矽肺机制所致的限制性通气功能障碍不一致,是因为患者普遍年龄偏大,且既往肺部各种矽肺并发症多,肺部病情反复,导致目前矽肺 1 期的病情在相对稳定时,结果呼气延长所致,而实际上在临床观察中矽肺的肺功能障碍是以混合性通气功能障碍居多,这也进一步提示了矽肺的发生将严重影响患者肺功能,增加多种并发症发生率,且肺纤维化倾向越高其肺功能越差,矽肺病患者 IL-6、IL-8、TNF- α 水平普遍更高,具有较高诊断价值。3 例矽肺患者经 CIK 治疗后,IL-6、IL-8、TNF- α 水平有明显改善,肺功能较前明显好转。但因部分 CIK 项目需患者完全自费等原因,故实际 CIK 治疗的研究例数较少,且针对 CIK 治疗后 IL-6、IL-8、TNF- α 水平变化的具体情况,以及这 3 个细胞因子相互之间的关系等,还需进

一步研究。

综上所述,IL-6、IL-8、TNF- α 水平升高可有效预测矽肺的发生及发展,同时还可对肺功能损伤进行判断。3 例矽肺 1 期患者经 CIK 治疗后 IL-6、IL-8、TNF- α 水平有显著改善,肺功能较前明显好转,值得进一步深入研究,也为职业性矽肺的治疗提供了新的思路。

参考文献

- [1] 肖芸,夏海玲,朱丽瑾,等. 汉防己甲素和乙酰半胱氨酸联合用药对实验性矽肺的疗效观察[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2015, 33(7): 519-522.
- [2] 郭嘉丽,崔秀青,荣烽,等. 白细胞介素-1 β 在石英致小鼠肺纤维化中的作用[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2013, 31(7): 481-486.
- [3] LAKSHMANAN A P, HARIMA M, SUZUKI K, et al. The hyperglycemia stimulated myocardial endoplasmic reticulum(ER) stress contributes to diabetic cardiomyopathy in the transgenic non-obese type 2 diabetic rats: a differential role of unfolded protein response(UPR) signaling proteins[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2013, 45(2): 438-447.
- [4] 中华人民共和国卫生部. 尘肺诊断标准: BZ70-2009[S]. 北京: 人民卫生出版社, 2009.
- [5] 于颐光,王瑞,潘志锋,等. 不同期别矽肺患者诱导痰中细胞因子的变化[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2015, 33(5): 332-336.
- [6] RAGHU G, COLLARD H R, EGAN J J, et al. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2011, 183(6): 788-824.
- [7] OZCAN L, TABAS I. Role of endoplasmic reticulum stress in metabolic disease and other disorders[J]. Annu Rev Med, 2012, 63(11): 317-328.
- [8] 李敏,王祖蕊,王莉,等. 桔梗皂苷对烟雾致矽肺患者血清 IL-8 和 TNF- α 水平的影响[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(26): 5080-5082.
- [9] 金玉兰,袁聚祥,姚三巧,等. 矽肺患者肺灌洗液巨噬细胞自噬与凋亡分析[J]. 环境与职业医学, 2012, 29(12): 757-759.
- [10] YANG Z F, KLIONSKY D J. Mammalian autophagy: core molecular machinery and signaling regulation[J]. Curr Opin Cell Biol, 2010, 22(2): 124-131.
- [11] LEE J H, KWON E J, KIM D H. Calumenin has a role in the alleviation of ER stress in neonatal rat cardiomyocytes[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 439(3): 327-332.
- [12] 王莉,常小红. 小容量肺灌洗治疗矽肺合并慢性阻塞性肺疾病的临床研究[J]. 疑难病杂志, 2016, 15(3): 221-224.
- [13] 梁宇,蒋令修,秦文婧,等. 特发性肺纤维化患者血清 IL-13、TGF- β_1 、IL-8 水平及与肺功能的相关性[J]. 中国现代医生, 2015, 53(11): 313-316.

(下转第 39 页)

疗前,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

3 讨 论

ICS 是临床 CVA 首选的治疗药物,通过吸入进入患者体内,与糖皮质激素受体结合后发挥抗炎作用^[7-8]。有报道指出,积极使用 ICS 能有效预防 CVA 向典型哮喘转变,但长期使用 ICS 治疗对患者机体的影响尚未可知^[9]。本次试验表明,经过长期 ICS 治疗的 CVA 患者,随着用药时间的推移,其 PD20-FEV1 值逐渐增加,当用药达 1 年时,CVA 患者反应阈值与健康人群基本一致,说明长期 ICS 治疗有助于降低气道敏感性。比较两组观察者诱导痰 IL-5、IL-10 水平及 EOS%发现,治疗前 CVA 患者 IL-5、EOS%明显高于健康组,IL-10 水平低于健康组,随着治疗时间的延长,CVA 患者诱导痰内 IL-5、IL-10 水平及 EOS%趋于正常,说明 CVA 患者慢性气道炎性反应与 EOS 密切相关,而 ICS 则能有效抑制 IL-5 的分泌及 EOS 数量,增加 IL-10 水平,进而调节患者免疫功能,改善气道炎性反应^[10]。IL-6 属于炎症相关因子,参与炎症反应过程,与 CVA 的发生密切相关;TNF- α 则能增加局部血管通透性,参与 CVA 发生、发展的免疫过程^[11]。本次试验显示,治疗组经治疗后 IL-6 及 TNF- α 水平较治疗前明显降低,说明 ICS 有助于减轻 CVA 患者机体炎性反应,改善炎性状态。

CVA 的发生机制离不开免疫调节系统,T 淋巴细胞则是其中的重要因素之一。T 淋巴细胞又可分为 CD3⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞及 CD8⁺T 细胞亚群。CD3⁺T 细胞在一定程度上反映成熟 T 淋巴细胞的水平,CD4⁺T 细胞又可称为辅助性 T 淋巴细胞,CD8⁺T 细胞亚群则具有抑制免疫功能的作用^[12]。在本次试验中,治疗组治疗后 CD3⁺T 细胞百分比、CD4⁺T 细胞百分比、CD8⁺T 细胞百分比及 CD4⁺/CD8⁺比值均明显提高,说明 ICS 有助于提高患者免疫功能。

综上所述,布地奈德粉吸入剂治疗 CVA 有助于改善患者肺功能,减轻气道高反应性,降低炎症因子水平,提高免疫功能,临床上值得推广。

参考文献

[1] 杨京华,刘泽英,徐洁,等.布地奈德/福莫特罗干粉吸入

剂治疗成人咳嗽变异性哮喘的临床研究[J]. 心肺血管病杂志,2012,31(6):678-680.

- [2] 陈宽塘.孟鲁司特钠联合沙美特罗/氟替卡松治疗咳嗽变异性哮喘的疗效观察[J]. 吉林医学,2014,35(3):530.
- [3] 杨波,黄开明,黄文洁.特布他林雾化剂联合布地奈德混悬液治疗咳嗽变异性哮喘研究[J]. 临床肺科杂志,2013,18(5):854-856.
- [4] 戚宇飞,刘甚红,王莉,等.沙美特罗丙酸氟替卡松联合孟鲁司特钠治疗咳嗽变异性哮喘的疗效观察[J]. 中国医药,2012,7(9):1069-1071.
- [5] 董微,康平,钟祥柱,等.沙美特罗/氟替卡松联合酮替芬和联合孟鲁司特钠治疗支气管哮喘的疗效观察[J]. 实用心脑血管病杂志,2013,21(5):30-31.
- [6] 李晓琳,贾芳,彭敏.孟鲁司特钠联合沙美特罗替卡松治疗咳嗽变异性哮喘的疗效观察[J]. 实用心脑血管病杂志,2014,22(6):80-81.
- [7] 辛长顺,周长慧.布地奈德混悬液联合孟鲁斯特钠治疗小儿咳嗽变异性哮喘的临床观察[J]. 中国实用医药,2013,8(8):149-151.
- [8] 万小华,周治球,徐淑娟,等.孟鲁司特钠联合布地奈德对小儿咳嗽变异性哮喘的临床分析[J]. 当代医学,2015,21(29):144-145.
- [9] 丁妮娜,王航娜.孟鲁司特钠联合布地奈德治疗小儿咳嗽变异性哮喘的疗效观察[J]. 中国伤残医学,2014,22(18):154-155.
- [10] 姜增凯,贾萍,叶晓歌.孟鲁司特钠联合沙美特罗替卡松粉吸入剂治疗支气管哮喘的临床疗效及其对炎性因子、肺功能、免疫功能的影响研究[J]. 实用心脑血管病杂志,2016,24(4):49-52.
- [11] 许芳.孟鲁司特钠联合布地奈德治疗儿童咳嗽变异性哮喘的临床疗效和安全性评价[J]. 中国现代医生,2014,52(7):68-69.
- [12] 李玲,苟洪波,亚娜,等.孟鲁司特钠联合布地奈德治疗小儿咳嗽变异性哮喘的疗效研究[J]. 重庆医学,2013,42(34):4198-4199.

(收稿日期:2017-07-12 修回日期:2017-09-19)

(上接第 36 页)

- [14] WANG F, WANG Q, ZHOU Z W, et al. Plumbagin induces cell cycle arrest and autophagy and suppresses epithelial to mesenchymal transition involving PI3K/Akt/mTOR-mediated pathway in human pancreatic cancer cells[J]. Drug Des Devel Ther, 2015, 9(10):537-560.
- [15] 李春红,王飞.百令胶囊联合呼吸康复训练对矽肺合并慢阻肺患者白细胞介素-6 及肺功能的影响[J]. 中国生化药物杂志,2016,36(5):139-141.
- [16] Rube C E, Uthe D, Wilfert F, et al. The bronchiolar epithelium as a prominent source of pro-inflammatory cytokines after lung irradiation[J]. Int J Radiat Oncol Biol

Phys, 2005, 61(5):1482-1492.

- [17] 田浩,韩卓越,代景友,等.调节内质网应激反应抑制肿瘤细胞自噬的研究进展[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2012,19(4):452-455.
- [18] 姚三巧,陈志远,卢遥,等.矽肺病患者肺泡巨噬细胞死亡受体表达及意义[J]. 中国职业医学,2013,40(2):91-94.
- [19] 刘锐敏.早期矽肺患者血清 IL-8 及支气管灌洗液 IL-6 含量的测定及与肺功能相关性研究[J]. 临床肺科杂志, 2015,20(9):1673-1675.

(收稿日期:2017-07-02 修回日期:2017-10-31)