

• 论 著 •

支气管哮喘患者支气管肺泡灌洗液中 IL-17、TGF- β 1 水平变化陈昌达¹, 杨培文², 李就文³, 陈超群¹, 黄丽冰¹

(东莞市东部中心医院:1. 检验科;2. 呼吸内科;3. 输血科, 广东东莞 523573)

摘要:目的 探讨支气管哮喘患者支气管肺泡灌洗液(BALF)中白细胞介素-17(IL-17)和转化生长因子- β 1(TGF- β 1)水平变化。方法 选取该院收治的支气管哮喘急性发作患者 153 例为观察组,根据病情严重程度分为轻度组(31 例)、中度组(75 例)和重度组(47 例),选取同期体检健康者 40 例作为对照组。入院时(急性期)及治疗后(恢复期)采集患者 BALF,检测 IL-17、TGF- β 1、IL-17 mRNA、TGF- β 1 mRNA 表达。结果 急性期,观察组 IL-17、TGF- β 1 水平高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);中、重度组 IL-17、TGF- β 1 水平高于轻度组,重度组 TGF- β 1 水平高于中度组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。急性期,观察组 IL-17 mRNA、TGF- β 1 mRNA 明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);中、重度组 IL-17 mRNA、TGF- β 1 mRNA 表达高于轻度组,重度组 TGF- β 1 mRNA 表达高于中度组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。恢复期,重度组 IL-17 水平仍高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),而轻、中度组与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);中、重度组 TGF- β 1 水平仍高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),而轻度组与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 支气管哮喘急性发作患者 IL-17、TGF- β 1 水平升高,且与病情严重程度有关。恢复期,轻、中度患者 IL-17 水平恢复正常,轻度患者 TGF- β 1 水平恢复正常,重度患者 IL-17、TGF- β 1 水平仍明显高于健康者。

关键词:支气管哮喘; 白细胞介素-17; 转化生长因子- β 1; 急性期; 恢复期

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.13.023

中图法分类号:R446.19

文章编号:1673-4130(2020)13-1632-04

文献标识码:A

Changes of IL-17 and TGF- β 1 levels in bronchoalveolar lavage fluid of patients with bronchial asthmaCHEN Changda¹, YANG Peiwen², LI Juwen³, CHEN Chaoqun¹, HUANG Libing¹

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Respiratory Medicine; 3. Department of Blood Transfusion, Dongguan East Central Hospital, Dongguan, Guangdong 523573, China)

Abstract: **Objective** To investigate the changes of interleukin-17 (IL-17) and transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of patients with bronchial asthma. **Methods** Totally 153 patients with acute attack of bronchial asthma admitted to the hospital from April 2016 to December 2018 were selected as the observation group. According to the severity of the disease, they were divided into mild group (31 cases), moderate group (75 cases) and severe group (47 cases), 40 healthy people in the same period were selected as the control group. BALF was collected at admission (acute stage) and after treatment (convalescent stage). IL-17 and TGF- β 1 were detected by ELISA, and IL-17 mRNA and TGF- β 1 mRNA were detected by fluorescence quantitative PCR. **Results** In the acute phase, the levels of IL-17, TGF- β 1 in the observation group were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The levels of IL-17 and TGF- β 1 in moderate and severe group were higher than those in mild group and the difference were statistically significant, while those in severe group were higher than those in moderate group and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). In the acute phase, the IL-17 mRNA and TGF- β 1 mRNA in the observation group were significantly higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The mRNA expression of IL-17 and TGF- β 1 in moderate and severe group were higher than those in mild group, and TGF- β 1 in severe group was higher than that in moderate group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). During convalescence, the levels of IL-17 in severe group were still higher than that in control group and the differences were statistically significant ($P < 0.05$), but there was no significant difference between mild and moderate group and control group ($P > 0.05$). The levels of TGF- β 1 in moderate and severe group were still higher than that in control

作者简介:陈昌达,男,副主任技师,主要从事医学检验方向的研究。

本文引用格式:陈昌达,杨培文,李就文,等.支气管哮喘患者支气管肺泡灌洗液中 IL-17、TGF- β 1 水平变化[J].国际检验医学杂志,2020,41(13):1632-1635.

group and the differences were statistically significant ($P<0.05$), but there was no significant difference between mild group and control group ($P>0.05$). **Conclusion** The levels of IL-17 and TGF- β 1 in patients with acute attack of bronchial asthma increased, which was related to the severity of the disease. In convalescent stage, the levels of IL-17 and TGF- β 1 in mild and moderate patients returned to normal, while the levels of IL-17 and TGF- β 1 in severe patients were still significantly higher than those in healthy people.

Key words: bronchial asthma; interleukin-17; transforming growth factor- β 1; acute phase; recovery phase

支气管哮喘是一种常见的呼吸系统疾病,其主要的病理特征为气道炎症、气道重塑和气道高反应性^[1],涉及嗜酸性粒细胞、肥大细胞和嗜中性粒细胞等各种炎症细胞^[2-3]。流行病学调查显示,目前全球约有 1 亿例支气管哮喘患者,其中中国约 2 千万例^[4]。支气管哮喘已对人类的健康造成严重威胁,预防和控制支气管哮喘一直是医学研究的重点^[5]。支气管哮喘确切的发病机制目前仍尚不清楚,近来实验研究表明,细胞因子网络功能失衡可能是哮喘发病机制中的重要环节,其中白细胞介素-17(IL-17)和转化生长因子- β 1(TGF- β 1)是其中的关键因子,两者均在气道慢性炎症与气道重塑的发生发展过程中起重要作用^[6]。本文选取 2016 年 4 月至 2018 年 12 月在本院接受治疗的 153 例支气管哮喘急性发作患者为研究对象,旨在分析患者支气管肺泡灌洗液(BALF)中 IL-17、TGF- β 1 水平的变化。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 4 月至 2018 年 12 月本院收治的支气管哮喘急性发作患者 153 例为观察组。纳入标准:符合 2016 年中华医学会呼吸病学分会哮喘学组制定的《支气管哮喘防治指南(2016 年版)》中有关支气管哮喘诊断标准^[7];急性发作(患者胸闷、气急、喘息、咳嗽等症状骤然发生或者加剧,伴呼气流量下降、呼吸困难等)。排除标准:对研究药物有过敏史或使用禁忌;合并精神疾病、心肝肾功能障碍、呼吸道感染等;存在激素抵抗、长期使用激素治疗或近期接受影响呼吸功能治疗;妊娠、哺乳期。观察组 153 例患者,其中男 91 例,女 62 例,年龄 21~59 岁,平均(39.7 $\pm$ 9.3)岁。另选择本院体检健康者 40 例作为对照组,其中男 21 例,女 19 例,年龄 24~58 岁,平均(38.9 $\pm$ 6.3)岁。两组患者一般资料比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。参考《支气管哮喘急性发作评估及处理中国专家共识》^[8]中有关病情严重程度的分级标准,将观察组患者分为轻、中、重度 3 组,其中轻度组 31 例,中度组 75 例,重度组 47 例。本次研究经医院伦理委员会批准通过,且受试者均知情并自愿签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 患者住院后均接受呼吸内科基础疗法:包括祛痰、吸氧、抗感染、纠正酸碱平衡和电解质紊乱,所有患者禁烟酒,饮食清淡,远离花粉、尘埃

等过敏原。同时,接受 β 2 受体激动剂(沙丁胺醇、硫酸特布他林)、抗胆碱能药物(异丙托溴铵)和激素类药物(布地奈德)。

1.2.2 标本采集 入院时(急性期)及治疗后(恢复期),按照中华医学会呼吸病学分会 2002 年发布的《支气管肺泡灌洗液细胞学检测技术规范(草案)》^[9]中的方法采集所有受试者的 BALF,2 000 r/min 离心 5 min 后,沉渣及上清液分别于-20℃环境下保存待检。

1.2.3 IL-17、TGF- β 1 水平测定 采用酶联免疫吸附试验检测 BALF 上清液中 IL-17、TGF- β 1 水平,试剂盒购自上海联硕生物科技有限公司,所有操作按照试剂盒说明进行。

1.2.4 IL-17 mRNA、TGF- β 1 mRNA 测定 采用 Trizol 法提取 BALF 沉渣中细胞总 RNA,并对 RNA 进行定性及定量分析。采用逆转录试剂盒逆转录成 cDNA。IL-17、TGF- β 1 引物购自上海生工生物工程有限公司,以 GAPDH 为参照基因,SYBR Green 法检测 IL-17 mRNA、TGF- β 1 mRNA 表达水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 21.0 版软件进行数据统计分析,服从正态分布计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,进一步两两比较采用 LSD- t 检验,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 观察组急性期患者与对照组 BALF 中 IL-17、TGF- β 1 水平比较 观察组急性期患者 IL-17、TGF- β 1 水平明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。中、重度组患者 IL-17、TGF- β 1 水平明显高于轻度组,差异有统计学意义($P<0.05$)。重度组患者 TGF- β 1 水平明显高于中度组,差异有统计学意义($P<0.05$),中、重度组患者 IL-17 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 观察组急性期患者与对照组 BALF 中 IL-17、TGF- β 1 水平比较($\bar{x}\pm s$, ng/L)			
组别	<i>n</i>	IL-17	TGF- β 1
观察组	153	79.4 $\pm$ 4.2 ^a	607.9 $\pm$ 34.8 ^a
重度组	47	85.3 $\pm$ 2.1 ^b	821.0 $\pm$ 21.3 ^{bc}
中度组	75	80.6 $\pm$ 4.3 ^b	605.9 $\pm$ 50.2 ^b
轻度组	31	69.2 $\pm$ 8.6	290.4 $\pm$ 39.6
对照组	40	37.5 $\pm$ 6.9	50.4 $\pm$ 9.2

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与轻度组比较,^b $P<0.05$;与中度组比较,^c $P<0.05$ 。

2.2 观察组急性期患者与对照组 BALF 中 IL-17

mRNA、TGF-β1 mRNA 表达量 观察组急性期患者 IL-17 mRNA、TGF-β1 mRNA 表达量明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。中、重度组患者 IL-17 mRNA、TGF-β1 mRNA 表达量明显高于轻度组,差异有统计学意义($P<0.05$)。重度组患者 TGF-β1 mRNA 表达量明显高于中度组,差异有统计学意义($P<0.05$),中、重度组患者 IL-17 mRNA 表达量比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 观察组急性期患者与对照组 BALF 中 IL-17 mRNA、TGF-β1 mRNA 表达量($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-17 mRNA	TGF-β1 mRNA
观察组	153	4.1±1.3 ^a	4.5±1.4 ^a
重度组	47	5.8±1.2 ^b	6.0±1.7 ^{bc}
中度组	75	3.3±1.1 ^b	4.8±1.0 ^b
轻度组	31	2.9±0.7	2.3±0.5
对照组	40	1.6±0.4	1.2±0.4

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与轻度组比较,^b $P<0.05$;与中度组比较,^c $P<0.05$ 。

2.3 观察组恢复期患者与对照组 BALF 中 IL-17、TGF-β1 水平比较 重度组恢复期患者 IL-17 水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),而轻、中度组患者 IL-17 水平与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。中、重度组恢复期患者 TGF-β1 水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),而轻度组患者 TGF-β1 水平与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 3 观察组恢复期患者与对照组 BALF 中 IL-17、TGF-β1 水平比较($\bar{x}\pm s$,ng/L)

组别	<i>n</i>	IL-17	TGF-β1
重度组	47	63.2±9.1 ^a	369.3±47.2 ^a
中度组	75	40.3±6.9	236.8±56.3 ^a
轻度组	31	38.7±7.3	52.5±10.1
对照组	40	37.5±6.9	50.4±9.2

注:与对照组比较,^a $P<0.05$ 。

3 讨论

支气管哮喘是一种慢性炎症性气道疾病,气道炎症的持续存在是其主要病理特征的发生基础。支气管哮喘常常很难完全治愈,亦与其伴随的慢性气道炎症及由此引起的炎性黏液分泌堵塞气道密切相关^[10]。该病的发病机制非常复杂,目前的相关研究证实炎症介质和细胞因子所构建的复杂网络结构,可通过人体内多条信号通路诱导支气管哮喘患者出现气道高反应性,并导致气道炎症状态的持续发生,从而使气道重塑,引起一系列的症[11]。

TGF-β1 具有广泛的生物学活性,相关研究表明其直接参与了气道炎症、肺间质纤维化的病理过程,并与体内免疫和内分泌功能调节等存在关联^[12-13]。

嗜酸性粒细胞和支气管上皮细胞是气道中 TGF-β1 产生的主要来源,局部所产生的 TGF-β1 主要作为促炎因子,可将嗜酸性粒细胞、淋巴细胞、中性粒细胞和肥大细胞等聚集于气道,从而加强炎症细胞的活力,促进炎症细胞增殖、分化,因此,在气道慢性炎症中发挥重要作用^[14]。此外,TGF-β1 与气道重塑也有着密切的联系,TGF-β1 可与其Ⅱ型受体结合形成二聚体,在构象改变后,即可被Ⅰ型受体识别并再次组合形成三聚体,通过放大信号将其传送到下游受体蛋白,从而引起气道平滑肌的增生,导致气道重塑的发生与发展^[15]。

IL-17 是 T 细胞诱导炎症反应的早期启动因子,对炎症细胞有强大的化学趋化作用。有研究发现,IL-17 表达的转录因子 RORγt mRNA 在支气管哮喘患者中明显增加^[16],再通过 IL-17 抗体的治疗,可明显减轻支气管哮喘患者的临床症状,并对其再次发作有着预防作用^[17]。MIZUTANI 等^[18]的研究也发现,血清免疫球蛋白 E 所介导的哮喘发作可能与 IL-17 分泌之间存在一定关联,血清免疫球蛋白 E 通过补体 C3 产生数量众多的 Th17 细胞,该细胞通过其受体信号传导促进树突状细胞、单核细胞和巨噬细胞产生 IL-23,而这些级联反应的最终结果是导致更多的 IL-17 产生,IL-17 可促使机体中性粒细胞趋化使支气管哮喘频繁发作。

本次研究发现,观察组急性期患者 IL-17、TGF-β1 水平明显高于对照组,中、重度组患者 IL-17、TGF-β1 水平明显高于轻度组,重度组患者 TGF-β1 水平明显高于中度组,说明 IL-17、TGF-β1 可能与支气管哮喘急性发作有关,而且本研究也证实了 IL-17、TGF-β1 与病情严重程度有关,或可作为支气管哮喘急性发作严重程度的判断指标。这与蒋鲲等^[19]学者的研究结果基本一致。此外,TGF-β1 水平在轻、中、重度患者间均存在显著差异,而 IL-17 水平在中、重度患者之间的差异不明显。进一步研究发现,重度组恢复期 IL-17 水平高于对照组,而轻、中度组 IL-17 水平与对照组比较差异无统计学意义;中、重度组 TGF-β1 水平高于对照组,而轻度组 TGF-β1 水平与对照组比较差异无统计学意义。以上结果提示,与 IL-17 比较,TGF-β1 可能与支气管哮喘急性发作的病情程度关系更加密切。究其原因,笔者认为这与 TGF-β1 的多种生物功能有关,一方面 TGF-β1 作为促炎因子,参与气道慢性炎症反应;另一方面 TGF-β1 还能够导致气道平滑肌重塑。

4 结 论

综上所述,支气管哮喘急性发作患者 IL-17、TGF-β1 水平升高,且与病情严重程度有关。恢复期的轻、中度患者 IL-17 水平恢复正常,轻度患者 TGF-β1 水平恢复正常,重度患者 IL-17、TGF-β1 水平仍明显高于健康者。

参考文献

- [1] SHAN L, KANG X, LIU F, et al. Epigallocatechin gallate improves airway inflammation through TGF β 1 signaling pathway in asthmatic mice[J]. Mol Med Rep, 2018, 18(2):2088-2096.
- [2] SAMAH M E, SOHA S E, MONA A H, et al. Modulation of the IL-23/IL-17 axis by fenofibrate ameliorates the ovalbumin/lipopolysaccharide-induced airway inflammation and bronchial asthma in rats [J]. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 2018, 391(3):309-321.
- [3] IERODIAKONOU D, POSTMA D S, KOPPELMAN G H, et al. TGF- β 1 polymorphisms and asthma severity, airway inflammation, and remodeling[J]. J Allergy Clin Immunol, 2013, 131(2):582-585.
- [4] KOSHAK A, KOSHAK E, HEINRICH M. Medicinal benefits of Nigella sativa in bronchial asthma: A literature review[J]. Saudi Pharm J, 2017, 25(8):1130-1136.
- [5] 张荣, 陈亮. 多索茶碱与氨茶碱在支气管哮喘患者中的疗效对比观察及对肺功能的影响研究[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2017, 14(4):167-169.
- [6] WILSON R H, WHITEHEAD G S, NAKANO H, et al. Allergic sensitization through the airway primes Th17-dependent neutrophilia and airway hyperresponsiveness[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2009, 180(8):720-730.
- [7] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南(2016 年版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2016, 39(9):675-697.
- [8] 华医学会呼吸病学分会, 哮喘学组中国哮喘联盟. 支气管哮喘急性发作评估及处理中国专家共识[J]. 中华内科杂志, 2018, 57(1):4-14.
- [9] 中华医学会呼吸病学分会. 支气管肺泡灌洗液细胞学检测技术规范(草案)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2002, 25(7):390-391.
- [10] ADAMEK-GUZIK T, CZERNIAWSKA-MYSIK G, GUZIK T. Bronchial asthma-a chronic inflammatory disorder[J]. Przegl Lek, 1996, 53(1):12-19.
- [11] ZAKHARYAN R, BOYAJYAN A. Inflammatory cytokine network in schizophrenia[J]. World J Biol Psychiatry, 2014, 15(3):174-187.
- [12] MESSLER S, KROPP S, EPISKOPOU V, et al. The TGF- β signaling modulators TRAP1/TGFBRAP1 and VPS39/Vam6/TLP are essential for early embryonic development[J]. Immunobiology, 2011, 216(3):343-350.
- [13] TRAVIS M A, SHEPPARD D. TGF- β activation and function in immunity[J]. Annu Rev Immunol, 2014, 32(10):51-82.
- [14] HALWANI R, AL-MUHSEN S, AL-JAHDALI H, et al. Role of transforming growth factor- β in airway remodeling in asthma[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2011, 44(2):127-133.
- [15] KAMATO D, BURCH M L, PIVA T J, et al. Transforming growth factor-beta signalling: role and consequences of Smad linker region phosphorylation[J]. Cell Signal, 2013, 25(10):2017-2024.
- [16] ZOU X L, CHEN Z G, ZHANG T T, et al. Th17/Treg homeostasis, but not Th1/Th2 homeostasis, is implicated in exacerbation of human bronchial asthma[J]. Ther Clin Risk Manag, 2018, 14(8):1627-1636.
- [17] ZHAO J, LLOYD C M, NOBLE A. Th17 responses in chronic allergic airway inflammation abrogate regulatory T-cell-mediated tolerance and contribute to airway remodeling[J]. Mucosal Immunol, 2013, 6(2):335-346.
- [18] MIZUTANI N, GOSHIMA H, NABE T. Complement C3a-induced IL-17 plays a critical role in an IgE-mediated late-phase asthmatic response and airway hyperresponsiveness via neutrophilic inflammation in mice[J]. J Immunol, 2012, 188(11):5694-5705.
- [19] 蒋鲲, 陈和斌, 王莹, 等. IL-17 和 TGF- β 1 在支气管哮喘患儿血清及支气管肺泡灌洗液中的变化及临床意义[J]. 中国当代儿科杂志, 2013, 15(8):604-608.
- [9] BASTIDA J M, LÓPEZ-GODINO O, VICENTE-SINCHEZ A, et al. Hidden myelodysplastic syndrome (MDS): a prospective study to confirm or exclude MDS in patients with anemia of uncertain etiology[J]. Int J Lab Hematol, 2019, 41(1):109-117.
- [10] 张兴桥, 张雄, 王金松. MCV 和 RDW 对骨髓增生异常综合征鉴别诊断价值的研究[J]. 临床血液学杂志(输血与检验版), 2007, 20(4):161-162.
- [11] 佟广辉, 佟威威. MCV/RDW 在骨髓增生异常综合征 WHO 分型中的诊断意义[J]. 中国医科大学学报, 2003, 32(6):564-565.
- [12] TAKAHASHI N, KAMEOKA J, YOSHIKO T, et al. Causes of macrocytic anemia among 628 patients: mean corpuscular volumes of 114 and 130 fL as critical markers for categorization[J]. Int J Hematol, 2016, 104(3):344-357.
- [13] 赵丽, 毛志刚, 江虹, 等. MCV/RDW 结合网织红细胞参数在多种贫血中的鉴别诊断作用[J]. 中国实验血液学杂志, 2015, 23(6):1662-1666.
- [14] BABA Y, SAITO B, SHIMADA S, et al. Association of red cell distribution width with clinical outcomes in myelodysplastic syndrome[J]. Leuk Res, 2018, 67(4):56-59.
- [15] RAESS P W, NJO T L, KLOP B, et al. Automated screening for myelodysplastic syndromes through analysis of complete blood count and cell population data parameters[J]. Am J Hematol, 2014, 89(4):369-374.

(收稿日期:2019-12-18 修回日期:2020-02-02)

(上接第 1631 页)

(收稿日期:2020-01-02 修回日期:2020-04-14)