

血浆 IL-1Ra 水平与慢性阻塞性肺疾病急性加重的相关性

洗舒平¹, 陈敏^{2*}, 吴东², 黄丹² (1. 广东医科大学, 广东湛江 524023; 2. 广东医科大学附属医院, 广东湛江 524001)

摘要:目的 分析血浆白介素-1受体拮抗剂(IL-1Ra)水平与慢性阻塞性肺疾病急性加重(AECOPD)的关系。方法 采用酶联免疫吸附法检测25例AECOPD、25例稳定期COPD患者及25例健康体检者血浆IL-1Ra水平,分析IL-1Ra水平与COPD参数相关性。结果 AECOPD、稳定期COPD组IL-1Ra水平显著低于对照组($P<0.01$),特别是AECOPD组。COPD患者IL-1Ra水平与 $FEV_1\%$ pred、 FEV_1/FVC 呈正相关,而与吸烟指数、白细胞计数、中性粒细胞比例、慢性阻塞性肺疾病评估测试(CAT)、改良英国医学研究委员会呼吸问卷(mMRC)呈负相关($P<0.05$)。IL-1Ra的ROC曲线下面积(AUC)为0.946($P<0.01$)。IL-1Ra水平、中性粒细胞比例、 $FEV_1\%$ pred、CAT评分和mMRC评分均可作为评估AECOPD的辅助指标。结论 血浆IL-1Ra水平与COPD相关,可作为AECOPD的潜在标志物。

关键词: 慢性阻塞性肺疾病急性加重; IL-1Ra

中图分类号: R563

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2021)04-0413-05

Relationship between plasma IL-1Ra level and acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease

XIAN Shu-ping¹, CHEN Min^{2*}, WU Dong², HUANG Dan² (1. Guangdong Medical University, Zhanjiang 524023, China; 2. Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, China)

Abstract: Objective To analyze the relationship between plasma level of interleukin-1 receptor antagonist (IL-1Ra) and acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD). Methods Plasma IL-1Ra level in 25 AECOPD, 25 stable COPD patients and 25 healthy controls was detected by ELISA. The correlation between plasma IL-1Ra level and clinical parameters of COPD was analyzed. Results Plasma IL-1Ra level was lower in AECOPD and stable COPD patients than in controls ($P<0.01$), especially in AECOPD patients. IL-1Ra content in COPD patients was positively correlated with $FEV_1\%$ pred and FEV_1/FVC , but negatively with smoking index, leukocytes, neutrophil ratio, COPD assessment test (CAT), and modified British Medical Research Council Respiratory questionnaire (mMRC) ($P<0.05$). The area under ROC curve (AUC) of IL-1Ra was 0.946 ($P<0.01$). IL-1Ra level, neutrophil ratio, $FEV_1\%$ pred, CAT, and mMRC score were auxiliary for evaluation of AECOPD. Conclusion Plasma IL-1Ra level is related to COPD, and might serve as a potential biomarker for assessing AECOPD.

Key words: acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease; IL-1Ra

慢性阻塞性肺疾病(COPD)作为一种常见的慢性异质性疾病,既能够被预防,也能够被治疗,其以持续的呼吸道症状和气流受限为主要临床特征^[1]。急性加重是导致COPD患者预后不良的主要原因,相较于肌钙蛋白在心肌梗死与心绞痛中的鉴别作用,AECOPD的诊断仅基于临床特点,缺乏特异性,多年来,研究者们一直在寻找一个同样具有良好评估效能的AECO-

PD生物标记物^[2]。目前,临床上针对COPD的治疗方法很多,但患者肺功能的进行性下降依然是难以避免的问题^[3]。因此,寻找一种有效的靶向抗炎新方向也迫在眉睫。慢性阻塞性肺疾病的病因和发病机制尚未完全阐明,其中免疫和炎症是其核心机制,IL-1分子家族在COPD的炎症反应中起着重要作用^[4]。研究表明,作为IL-1的天然拮抗剂的IL-1Ra对关节炎、冷吡啉相关周期性综合征等炎症性疾病的治疗产生积极作用^[5]。然而,其与COPD的关系如何,目前国内外的相关研究尚少,Sapey等^[6]发现,稳定期COPD患者血浆中IL-1Ra表达水平低于健康人群,且与 FEV_1 、身体质量指数(BMI)和吸烟指数等临床疾病参数相关,

收稿日期: 2021-02-22; 修订日期: 2021-03-30

作者简介: 洗舒平(1993-),男,在读硕士研究生

通信作者: 陈敏(1976-),博士,主任医师,硕士研究生导师,

E-mail: 948299690@qq.com

这提示 IL-1Ra 可能参与了 COPD 的发生与发展。为提供更多相关证据,本研究通过检测外周血浆中 IL-1Ra 的表达水平,探索其与 AECOPD 的关系,为评估 AECOPD 提供新的理论依据以及为 COPD 靶向抗感染治疗提供新的方向。

1 资料和方法

1.1 对象和分组

随机选取 2019 年 12 月—2020 年 10 月在广东医科大学附属第一医院就诊并经肺功能及症状确诊为慢性阻塞性肺疾病患者 50 例,均符合以下纳入标准,纳入标准:符合 GOLD 指南(2019 版)中 COPD 诊断标准,即有慢性呼吸道症状,如咳嗽、咳痰、呼吸困难等,并曾有吸烟等其他危险因素暴露史,肺功能检查结果满足吸入支气管扩张剂后 $FEV_1/FVC < 70\%$;急性加重期(AECOPD)定义符合患者出现呼吸道症状的急剧恶化,常表现为咳嗽、呼吸困难加剧以及痰量增多等,加重程度超出了日常变异范围以至于必须调整原有的治疗方案。排除标准:(1)患有其他炎症性疾病;(2)除慢性阻塞性肺疾病外的其他严重疾病,严重肝功能不全,严重肾功能不全,慢性充血性心力衰竭影响检查者;(3)临床诊断肺癌、支气管扩张症、尘肺或其他单纯的限制性通气功能障碍者;(4)活动性肺结核、肺部真菌病患者;(5)纳入研究前 4 周内使用过全身(口服或静脉)激素或抗生素者;(6)免疫缺陷患者;(7)研究者认为存在不适合参加本试验的其他原因者。根据疾病分期将 50 例分为 AECOPD 组和稳定期组(SCOPD 组)各 25 例,随机选取同期来我院进行行体检且非吸烟并排除心、肺、肝、肾及其他慢性疾病的健康成人 25 例为健康对照组(简称 HC 组)。本研究经广东医科大学附属第一医院伦理委员会审批通过(审批同意书编号 PJ2019-015),且所有研究对象均知情同意并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 试剂及仪器 IL-1Ra ELISA 试剂盒(购自 R&D 公司,测定范围 $31.2 \sim 2\,000\text{ ng/L}$)。肺功能仪(产自德国耶格公司 MasterScreen PFT System 肺功能仪)。酶标仪(产自 Thermo 公司 Multiskan MK3 型酶标仪)。

1.2.2 标本采集 分别于清晨空腹状态下采集观察对象的静脉血 5 mL,室温下 $3\,000\text{ r/min}$ 进行高速离心 15 min 后,取上清液置 EP 管中,存于 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存待测。测定白细胞计数、中性粒细胞比例、 $FEV_1\%pred$ 、 FEV_1/FVC 。所有研究对象均记录年龄、性别、身高、身体质量和 BMI 等一般资料,同时对慢

性阻塞性肺疾病患者采集症状、体征、吸烟指数、CAT 评分、mMRC 评分等资料。

1.2.3 检测 采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血浆 IL-1Ra 水平,检测步骤严格按照试剂盒使用说明书执行,并用酶标仪测定光密度(OD)值。用肺功能仪检测肺功能,包括 $FEV_1\%pred$ 、 FEV_1/FVC 。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 25.0 统计软件进行统计学处理,采 Graphpad Prism 8.0 软件进行作图。如果连续变量服从正态分布,则以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示;如果不服从正态分布,则采用中位数和四分位数间距表示。分类变量用频数和百分比表示。3 组之间比较使用单因素方差分析(One-Way Anova)或 Kruskal-Wallis H 检验, Mann-Whitney U 检验用于比较中位数的差异(包括 $FEV_1\%pred$ 、 FEV_1/FVC 、mMRC 评分),涉及多组比较时使用 Bonferroni 校正检验,两变量间的相关性分析采用 Pearson 直线相关性分析,判断评估效能采用 ROC 曲线分析方法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般人群资料

各组间的性别、年龄、身高、身体质量和 BMI 差异无统计学意义(均 $P > 0.05$);AECOPD 组和 SCOPD 组吸烟指数差异无统计学意义($P > 0.05$);AECOPD 组的白细胞计数、中性粒细胞比例高于 SCOPD 组和 HC 组(均 $P < 0.01$),而 SCOPD 组与 HC 组间差异无统计学意义(均 $P > 0.05$);AECOPD 组患者的 CAT 评分、mMRC 评分均高于 SCOPD 组,而 $FEV_1\%pred$ 、 FEV_1/FVC 显著低于 SCOPD 组,SCOPD 组则明显低于 HC 组,差异有统计学意义(均 $P < 0.01$)。见表 1。

2.2 各组人群血浆 IL-1Ra 表达水平的比较

经 ELISA 检测,AECOPD 组患者血浆 IL-1Ra 表达水平显著低于 SCOPD 组及 HC 组,SCOPD 组则明显低于 HC 组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见图 1。

2.3 IL-1Ra 表达水平与吸烟指数、白细胞计数、中性粒细胞比例、 $FEV_1\%pred$ 、 FEV_1/FVC 、CAT 评分和 mMRC 评分的相关性分析

COPD 患者血浆中的 IL-1Ra 表达水平与吸烟指数、白细胞计数、中性粒细胞比例、CAT 评分、mMRC 评分呈负相关(均 $P < 0.05$),与 $FEV_1\%pred$ 、 FEV_1/FVC 呈正相关(均 $P < 0.05$)。COPD 患者血浆中的 IL-1Ra 表达水平与 BMI 无明显相关性($P > 0.05$)。见表 2。

2.4 IL-1Ra、中性粒细胞比例、 $FEV_1\%pred$ 、CAT 评分和 mMRC 评分评估 AECOPD 的 ROC 曲线分析

IL-1Ra 表达水平对 AECOPD 具有一定评估意

表1 组观察对象的一般资料

指标	HC组	SCOPD组	AECOPD组
男性/例(%)	12(48.00)	16(64.00)	17(68.00)
年龄/岁	58.88±13.66	65.60±8.07	64.32±5.84
身高/cm	160.34±6.48	163.08±8.12	163.72±7.69
身体质量/kg	54.12±9.42	56.44±7.58	53.34±11.95
BMI/(kg/m ²)	20.89±2.83	21.21±2.33	19.77±3.44
吸烟指数	—	20.70±11.89	23.12±4.86
白细胞计数/(×10 ⁹)	6.75±1.08	7.31±1.46	9.89±3.42 ^{ab}
中性粒细胞比例/%	56.68±7.23	58.51±6.17	72.34±11.05 ^{ab}
FEV ₁ %pred/(%)	92.74(87.99~102.21)	56.02(41.76~69.97) ^a	34.72(23.59~47.55) ^{ab}
FEV ₁ /FVC/(%)	81.39(79.38~86.43)	56.64(49.78~66.72) ^a	44.54(39.24~54.78) ^{ab}
CAT	—	13.68±4.47	19.72±3.02 ^b
mMRC	—	2.00(1.00~2.00)	2.00(2.00~3.00) ^b

与HC组比较: ^a*P* < 0.01; 与SCOPD组比较: ^b*P* < 0.01

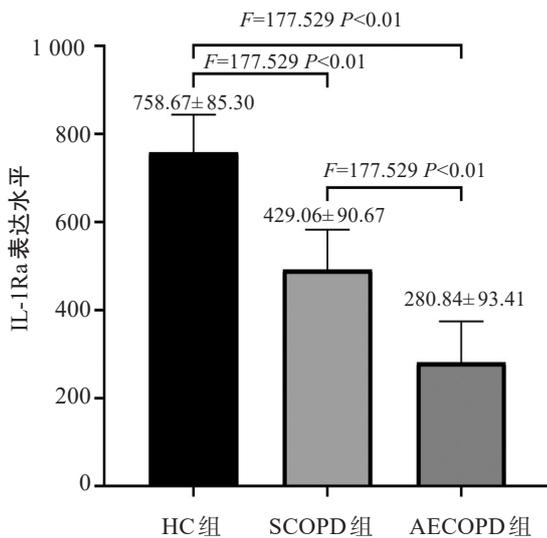


图1 各人群血浆IL-1Ra表达水平的比较

表2 IL-1Ra与BMI、吸烟指数、白细胞计数、中性粒细胞比例、FEV₁%pred、FEV₁/FVC、CAT评分和mMRC评分在COPD患者中的相关性比较

指标	COPD患者IL-1Ra表达水平	
	r值	P值
BMI	0.239	0.095
吸烟指数	-0.488	<0.01
白细胞计数	-0.336	0.017
中性粒细胞比例	-0.514	<0.01
FEV ₁ %pred	0.527	<0.01
FEV ₁ /FVC	0.501	<0.01
CAT	-0.586	<0.01
mMRC	-0.466	0.01

义, 其 AUC 为 0.946 (*P* < 0.01), 最佳截断值为 371.03 ng/L, 95% 置信区间(CI)为 0.887 ~ 1.000, 约登指数为 0.760, 敏感度 0.80, 特异性 0.96, 其与中性粒细胞比例、FEV₁%pred、CAT评分和mMRC评分均可作为评估AECOPD的辅助指标。见表3、图2。

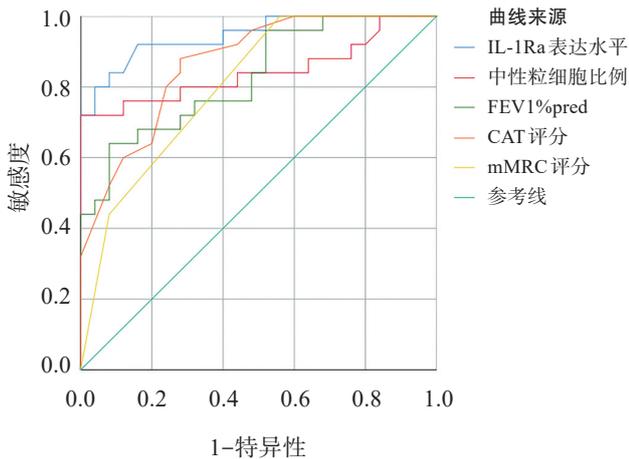
3 讨论

COPD与气道炎症和免疫机制、蛋白酶-抗蛋白酶失衡、氧化应激、自主神经功能障碍、营养不良和气候变化等密切相关^[7-9]。免疫和炎症是被研究者普遍接受的假说, 而IL-1分子家族在其中发挥着重要作用^[4], 既往研究表明, 当IL-1β与IL-1RI结合时, 启动IL-1信号通路, 从而导致肺部炎症、肺气肿以及气道重塑。IL-1Ra作为一种新型炎症抑制因子, 能竞争性IL-1RI结合, 而不会启动此类事件^[4, 10]。近年来发现, 其在多种自身免疫炎症性疾病中能起到保护作用^[5]。靶向抗炎受体可能是治疗炎症相关疾病的一种很有前景的策略, 特别是在气道炎症性疾病中的作用越来越受到大家的关注^[11-13]。

迄今为止, IL-1Ra表达水平与COPD患者临床参数相关性分析的研究相对较少, 为了提供更多的相关证据, 我们检测外周血浆中IL-1Ra的表达水平, 探索其与AECOPD的关系, 并试图揭示它们在慢性阻塞性肺疾病发病过程中的临床意义。本研究结果表明: AECOPD患者血浆IL-1Ra表达水平显著低于稳定期COPD患者及健康人群, 稳定期COPD患者IL-1Ra也明显低于健康人群, 同时, AECOPD患者中性粒细胞比例较稳定期COPD患者及健康人群升高。其可能

表3 IL-1Ra表达水平、中性粒细胞比例、FEV₁%pred、CAT评分和mMRC评分评估AECOPD的ROC曲线分析相关参数

指标	AUC	P值	最佳截断值	敏感度	特异性	95%CI
IL-1Ra/(ng/L)	0.946	<0.01	371.03	0.80	0.96	0.887 ~ 1.000
中性粒细胞比例/(%)	0.844	<0.01	68.26	0.72	1.00	0.726 ~ 0.962
FEV ₁ %pred/(%)	0.827	<0.01	37.64	0.64	0.92	0.715 ~ 0.939
CAT评分	0.866	<0.01	15.50	0.88	0.72	0.770 ~ 0.963
mMRC评分	0.803	<0.01	1.50	1.00	0.44	0.683 ~ 0.924

图2 IL-1Ra表达水平、中性粒细胞比例、FEV₁%pred、CAT评分和mMRC评分评估AECOPD的ROC曲线分析图

的机制是,感染通常是COPD患者急性加重的诱因,AECOPD患者在受到病原体的刺激后机体IL-1 β 分泌增加,促炎作用随之增强,导致中性粒细胞的募集和激活增加,诱导炎症因子及趋化因子的释放,产生持续的炎症反应。通常炎症反应伴随着氧化应激,而有研究表明,过度的氧化应激会导致机体IL-1Ra的分泌减少^[14],从而难以拮抗IL-1 β 的促炎作用,IL-1Ra/IL-1 β 之间的失衡,会造成肺组织损伤,进而出现呼吸道症状的急剧恶化,需要给予额外的治疗。COPD患者多有长期的香烟烟雾暴露史,而尼古丁对免疫系统具有抑制作用,导致抗炎因子IL-1Ra的表达水平降低^[15]。因此,COPD患者IL-1Ra表达水平低于健康人群;同理,健康人群由于无吸烟史,当受到外界有害刺激时,机体通过增加IL-1Ra表达水平来拮抗IL-1 β 的促炎作用,抗炎调节能力较COPD组患者强,自然也具有更强的免疫防御能力^[4,6,10,14-16]。此外,与我们在体内的研究结果一致,与健康人群相比,体外细胞实验中COPD患者肺泡巨噬细胞和单核细胞产生的IL-1Ra均明显下调^[17]。我们研究结果显示,COPD患者血浆中的IL-1Ra表达水平与吸烟指数、白细胞计数、中性粒细胞比例、CAT评分、mMRC评分呈负相关,与FEV₁%pred、FEV₁/FVC呈正相关。COPD患者血浆中的IL-1Ra表达水平与BMI无明显相关性。Sapey等^[6]

发现,COPD患者IL-1Ra表达水平明显低于健康对照组,血浆IL-1Ra表达水平与FEV₁、中性粒细胞、吸烟指数呈负相关,本研究结果基本与其一致。有趣的是,在Sapey等^[6]的研究中,COPD患者IL-1Ra表达水平与BMI呈正相关,而本研究中血浆IL-1Ra表达水平与BMI无明显相关,两者不一致可能是不同的排除和纳入标准、疾病的严重程度、样本量所致。Joos等^[16]研究表明,IL-1 β 和IL-1Ra基因的多态性与吸烟者肺功能下降的速度有关,表明吸烟者肺组织损伤的易感性增加,从而很好解释IL-1Ra表达水平与FEV₁%pred、FEV₁/FVC的正相关关系。这提示我们IL-1Ra作为炎症抑制因子可能参与了COPD的炎症过程,通过IL-1Ra靶向治疗可阻断IL-1介导的炎症反应,从而减轻COPD患者的气道重塑和气流受限,减轻患者的症状,这将为COPD的临床治疗开拓了新的方向。刘菁等^[18]的动物实验研究也证实,IL-1Ra可以使大鼠COPD模型肺组织及肺泡中的巨噬细胞释放高迁移率族蛋白B1减少,从而使大鼠的气道炎症减轻,血气指标改善,进而在气道重塑方面产生保护作用,即IL-1Ra显露出对气道炎症有益的免疫反应。因此,IL-1Ra作为天然的受体拮抗剂,通过其控制IL-1介导的炎症反应可能是今后开发COPD治疗新药的又一理论基础,具有很大的应用前景。然而IL-1Ra在COPD的发病过程中的作用机制及天然受体拮抗剂的利弊尚待更进一步的临床试验及体内、外实验进行探究。

FEV₁%pred、FEV₁/FVC作为评估COPD患者气流受限的重要指标,CAT评分、mMRC评分作为反映COPD患者临床症状以及生活质量的重要标准,中性粒细胞比例作为临床常用的炎症指标,在COPD疾病诊治以及病情评估的过程中,扮演着不可或缺的角色^[1],而IL-1Ra表达水平与FEV₁%pred、FEV₁/FVC呈正相关,与吸烟指数、CAT评分、mMRC评分、中性粒细胞比例呈负相关,提示IL-1Ra表达水平的变化对于疾病严重度以及气流受限情况而言有较好的标记作用,且进一步ROC曲线分析提示IL-1Ra表达水平

对AECOPD具有一定评估意义,其AUC为0.946($P < 0.05$),其与中性粒细胞比例、FEV₁%pred、CAT评分和mMRC评分均可作为评估AECOPD的辅助指标。

本研究存在以下的局限性:(1)本研究仅为单中心研究,研究时间较短,样本量较小;(2)本研究为横断面研究,没有进行随访对比,没有动态研究炎症因子表达水平的变化;(3)未引入患者降钙素原、C反应蛋白等指标及药物治疗情况;(4)健康人群为无吸烟者,无吸烟者较吸烟者更容易养成良好的生活习惯,这可能会对他们的身体健康产生较为积极的影响,从而产生偏倚。上述不足需在日后深入研究加以解决。

综上所述,IL-1Ra表达水平与慢性阻塞性肺疾病相关,其有潜力成为评估慢性阻塞性肺疾病急性加重的生物标志物,亦有可能成为COPD靶向抗感染治疗的新航标。

参考文献:

- [1] 陈亚红. 2021年GOLD慢性阻塞性肺疾病诊断、治疗及预防全球策略解读[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2021, 13(1): 16-37.
- [2] MATHIOUDAKIS A G, JANSSENS W, SIVAPALAN P, et al. Acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: in search of diagnostic biomarkers and treatable traits [J]. *Thorax*, 2020, 75(6): 520-527.
- [3] LANGE P, CELLI B, AGUSTÍ A, et al. Lung-function trajectories leading to chronic obstructive pulmonary disease [J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(2): 111-122.
- [4] OSEI E, BRANDSMA C, TIMENS W, et al. Current perspectives on the role of interleukin-1 signalling in the pathogenesis of asthma and COPD [J]. *Eur Respir J*, 2020, 55(2): 1900563.
- [5] DINARELLO C A, SIMON A, VAN D. Treating inflammation by blocking interleukin-1 in a broad spectrum of diseases [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2012, 11(8): 633-652.
- [6] SAPEY E, AHMAD A, BAYLEY D, et al. Imbalances between interleukin-1 and tumor necrosis factor agonists and antagonists in stable COPD [J]. *J Clin Immunol*, 2009, 29(4): 508-516.
- [7] CORTOPASSI F, GURUNG P, PINTO-PLATA V. Chronic obstructive pulmonary disease in elderly patients [J]. *Clin Geriatr Med*, 2017, 33(4): 539-552.
- [8] WANG C, ZHOU J, WANG J, et al. Progress in the mechanism and targeted drug therapy for COPD [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 248.
- [9] EAPEN M, SOHAL S. Update on the Pathogenesis of COPD [J]. *N Engl J Med*, 2019, 381(25): 2483-2484.
- [10] BORTHWICK L. The IL-1 cytokine family and its role in inflammation and fibrosis in the lung [J]. *Semin Immunopathol*, 2016, 38(4): 517-534.
- [11] FRANZETTI M, FORASTIERI A, BORSA N, et al. IL-1 receptor antagonist anakinra in the treatment of COVID-19 acute respiratory distress syndrome: a retrospective, observational study [J]. *J Immunol*, 2021, DOI: 10.4049/jimmunol.2001126.
- [12] BALÁZS A, MALL M. Mucus obstruction and inflammation in early cystic fibrosis lung disease: Emerging role of the IL-1 signaling pathway [J]. *Pediatr Pulmonol*, 2019, 54 (Suppl 3): S5-S12.
- [13] GARTH J, BARNES J, KRICK S. Targeting cytokines as evolving treatment strategies in chronic inflammatory airway diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11): 3402.
- [14] CARTA S, PENCO F, LAVIERI R, et al. Cell stress increases ATP release in NLRP3 inflammasome-mediated autoinflammatory diseases, resulting in cytokine imbalance [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(9): 2835-2840.
- [15] SHIELS M, KATKI H, FREEDMAN N, et al. Cigarette smoking and variations in systemic immune and inflammation markers [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2014, 106(11): dju294.
- [16] JOOS L, MCINTYRE L, RUAN J, et al. Association of IL-1beta and IL-1 receptor antagonist haplotypes with rate of decline in lung function in smokers [J]. *Thorax*, 2001, 56(11): 863-866.
- [17] RUPP J, KOTHE H, MUELLER A, et al. Imbalanced secretion of IL-1beta and IL-1RA in Chlamydia pneumoniae-infected mononuclear cells from COPD patients [J]. *Eur Respir J*, 2003, 22(2): 274-279.
- [18] 刘菁, 魏风芹, 赵伟业, 等. IL-1RA对COPD模型大鼠气道炎症和气道重塑的保护作用[J]. *中国医药导报*, 2019, 16(23): 21-25.