文章编号:1000-5404(2012)10-0987-04

论著

急性哮喘气道炎症表型与激素治疗反应性的关系

李志伟,马千里,张 巧,曾 兰,程晓明,林科雄,王长征 (400037 重庆,第三军医大学新桥医院全军呼吸内科研究所,全军呼吸病研究重点实验室)

[摘要] **目的** 研究急性哮喘气道炎症表型与激素治疗反应性的关系。**方法** 采用回顾性的方法对85例急性哮喘患者的诱导痰炎症细胞进行分类,并研究了不同气道细胞炎症表型与患者使用全身激素剂量、时间等的关系。**结果** 根据患者诱导痰炎症细胞分类的不同,将患者分为4组:嗜酸性细胞组(31.8%,27/85)和中性粒细胞组(30.6%,26/85)、混合细胞组(16.4%,14/85)和寡细胞组(21.2%,18/85)。各组患者在性别和是否吸烟方面无统计学差异,但嗜酸性细胞组患者严重程度与混合细胞组有统计学差异($P<0.05$)。嗜酸性细胞组全身激素使用剂量及时间显著少于寡细胞和混合细胞组($P<0.05$)。同期患者使用吸入激素剂量使用吸入激素时间方面,混合细胞组显著多于嗜酸性细胞组($P<0.05$)。中性粒细胞组吸入激素剂量显著少于混合细胞组($P<0.05$),而嗜酸性细胞组患者住院时间显著少于混合性细胞组($P<0.05$)。其余各组间在全身激素使用剂量及时间、吸入激素使用剂量及时间、住院时间比较无统计学差异($P>0.05$)。**结论** 不同炎症表型对激素的治疗反应性可能存在差异。不同炎症表型对治疗的反应性差异可能给临床带来重要的指导意义。

[关键词] 诱导痰;哮喘急性加重;气道炎症;激素
[中图法分类号] R392.3;R562.25;R977.1 [文献标志码] A

Relationship between phenotypes of airway inflammation and responses to corticosteroid treatment in acute asthma

Li Zhiwei, Ma Qianli, Zhang Qiao, Zeng Lan, Cheng Xiaoming, Lin Kexiong, Wang Changzheng (Institute of Respiratory Diseases, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the relationship between the phenotypes of airway inflammation and the responses to corticosteroid treatment in acute asthma. **Methods** The inflammatory cells of the induced sputum obtained from 85 patients with acute asthma were classified, and the relationship between the phenotypes of airway inflammation and the dose of systemic corticosteroid and the treatment time of corticosteroid treatment was retrospectively analyzed in these patients. **Results** According to the classification of the sputum cells, the 85 acute asthmatic patients were divided into four groups including an eosinophil group (31.8%, 27/85), a neutrophil group (30.6%, 26/85), a mixed cell group (16.4%, 14/85) and a pauci-granulocyte group (21.2%, 18/85). There was no significant difference of sex and smoking among the four groups ($P>0.05$), but the severity of acute asthma of the eosinophil group was significantly different from that of the mixed cell group ($P<0.05$). The total dose of systemic corticosteroid and the treatment time were significantly less in the eosinophil group than in the mixed cell group and the pauci-granulocyte group ($P<0.05$), while the total dose of inhaled corticosteroid and the treatment time were significantly more in the mixed cell group than in the eosinophil group ($P<0.05$). The total dose of inhaled corticosteroid in the mixed cell group was significantly higher than that of the neutrophil group, while the hospitalization time of the mixed cell group was significantly longer than that of the eosinophil group ($P<0.05$). There was no significant difference of the dose and treatment time of systemic and inhaled corticosteroid and the hospitalization time among the rest of the groups ($P>0.05$). **Conclusion** Different phenotypes of airway inflammation may have different responses to corticosteroid treatment in acute asthma, which may provide important clinical implications for the treatment of acute asthma.

[**Key words**] induced sputum; acute asthma; airway inflammation; steroid

Corresponding author: Wang Changzheng, E-mail: czwang@netease.com

[通信作者] 王长征,E-mail: czwang@netease.com

众所周知,哮喘是一种慢性气道炎症性疾患。一直以来,都认为以嗜酸性细胞浸润为主的慢性气道炎症是哮喘的重要特征。但近年的研究显示,哮喘也是一种有明显异质性倾向的疾病,哮喘可表现出不同的临床表型[1]。对一些重症哮喘和急性哮喘患者的支气管病理和诱导痰细胞学分类的研究发现,这些患者气道内除有嗜酸性细胞浸润外,还有明显的中性粒细胞增多[2-4]。随后,也有越来越多的研究证实哮喘患者存在不同的气道炎症类型[5-6]。根据炎症类型不同,有人将哮喘气道炎症分为嗜酸性细胞、中性粒细胞、寡细胞和混合细胞性[5-7]。过去对嗜酸性细胞在哮喘气道炎症中的作用研究比较多。但对其他3种炎症类型哮喘的研究较少。这些炎症类型形成的机制以及临床意义等方面均不甚清楚。通常,嗜酸性细胞对糖皮质激素的治疗反应良好。多数哮喘患者经激素治疗后,气道内的嗜酸性细胞数量可以显著减少。因此,气道内嗜酸性细胞数量可以作为哮喘气道炎症的生物标志物来指导临床的抗炎治疗。但是,中性粒细胞对激素治疗不敏感。有学者报道,稳定期中性粒细胞性哮喘对激素治疗的反应性显著低于嗜酸性细胞性哮喘[8]。激素是急性哮喘治疗最重要的抗炎药物,但是急性加重期不同气道炎症类型哮喘对激素反应性是否不同并没有研究报道。本研究对急性加重期不同炎症类型哮喘对需要激素治疗的情况进行了回顾性的分析,报告如下。

1 对象与方法

1.1 对象

收集2009年1月–2011年10月期间在新桥医院呼吸科住院治疗的哮喘急性加重患者。入选标准为:有明确哮喘病史1年以上,支气管激发试验阳性或支气管舒张试验阳性。患者均为急性加重期患者,即有哮喘症状的急性加重,而且需要使用全身激素进行治疗。所有患者诊断符合我国支气管哮喘防治指南哮喘的诊断标准[9]。排除标准:合并有严重的心脏和肝肾功能不全、恶性肿瘤等。对符合入选标准的患者按照诱导痰中细胞分类的不同分为嗜酸性细胞、中性粒细胞、寡细胞和混合细胞性4组,并根据患者的临床表现、体征及辅助检查对患者哮喘急性加重进行严重程度分级(符合我国支气管哮喘防治指南哮喘急性加重的分级标准[9])。

1.2 方法

1.2.1 诱导痰细胞学分类和计数 参照中华医学会呼吸分会推荐的方法进行诱导痰细胞学分类和计数[10]。诱导前10 min先让吸入患者硫酸沙丁胺醇400 μg,雾化前用清水漱口,并在吸氧、茶碱支持下,给予超声雾化吸入3%高渗盐水,2~5 min后,收集深咳痰液。取无唾液成分的痰液放入离心管中,加入4倍体积的0.1% DTT 37 ℃孵育30 min,2 000 r/min离心10 min。留少许上清液重悬细胞、涂片,37 ℃烤干后用甲醇固定10 min,瑞氏-吉姆萨混合染色10 min,光镜下进行400个非鳞状细胞分类计数,鳞状上皮细胞<20%者为合格标本,提示痰来源于下呼吸道;并对细胞进行分类和计数,其中包括嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、单核-巨噬细胞、淋巴细胞。

1.2.2 激素治疗 所有患者均给予静脉滴注甲基强的松龙80~160 mg/d,症状改善后根据患者情况停药或改为口服强的松巩固治疗至停用全身激素。同时给予雾化吸入布地奈德进行过渡治疗至完全停用全身激素。

1.3 统计方法

统计哮喘急性加重患者的基线资料(性别、年龄、病程、吸烟情况、急性加重严重程度、血中白细胞数),住院期间激素使用方式、用量、使用时间、哮喘急性加重的住院时间,对计数资料采用χ^2检验,计量资料采用单因素方差分析,相关分析用Pearson相关系数表示,使用SPSS 18.0软件对数据进行统计学分析。

2 结果

2.1 患者一般情况

共88例患者符合本研究入选标准,剔除临床资料不完整的1例,因严重的心功能和肝功能不全排除2例,纳入资料统计的85例。各组患者在性别和吸烟方面无统计学差异,但嗜酸性细胞和混合细胞性哮喘组患者的年龄均显著较小于寡细胞性哮喘组和中性粒细胞组($P<0.05$)。嗜酸性细胞组和混合细胞组的病程也显著短于中性粒细胞组和寡细胞组($P<0.05$),而嗜酸性细胞组和混合细胞组在年龄之间无明显差异,中性粒细胞组和寡细胞组之间也无统计学差异($P>0.05$)。嗜酸性细胞组患者严重程度与混合细胞组有统计学差异($P<0.05$),混合细胞组重度患者占的比例最高,达86%,嗜酸性细胞组重度患者占的比例最少,占33%,其余各组间比较无统计学差异($P>0.05$)。从并发呼吸道感染情况来看,嗜酸性细胞组和中性粒细胞组患者有统计学差异($P<0.05$),余各组间比较无统计学差异($P>0.05$)。中性粒细胞组患者血中白细胞计数显著高于嗜酸性细胞组和寡细胞组($P<0.05$)(表1)。

表1 不同哮喘炎症类型患者一般情况

炎症类型	n	男/女	年龄(岁)	病程(年)	吸烟/未吸烟	严重程度(轻度/中度/重度)	呼吸道(感染/未感染)	WBC($\times10^9$/L)
嗜酸性细胞性	27	16/11	49.9±11.4[a]	17.0±14.0[a]	5/22	8/10/9[b]	5/22[c]	7.19±2.51
中性粒细胞性	26	11/15	58.3±10.8	29.7±17.2	10/16	3/7/16	13/13	12.4±8.54[d]
寡细胞性	18	8/10	59.7±12.7	30.8±16.7	7/11	2/6/10	6/12	9.51±5.07
混合细胞性	14	6/8	49.0±10.7[a]	16.2±12.6[a]	6/8	0/2/12	3/11	9.50±5.87

a: $P<0.05$, 与中性粒细胞性、寡细胞性比较;b: $P<0.05$,与混合细胞性比较; c: $P<0.05$,与中性粒细胞性比较;d: $P<0.05$,与嗜酸性细胞性、寡细胞性比较

2.2 诱导痰炎症细胞分类

所有哮喘患者在做诱导痰细胞学检查及完成后都没有哮喘加重的情况。我们以诱导痰细胞学以诱导痰中性粒细胞百分比65%和嗜酸性粒细胞百分比1%为判断折点,定义嗜酸性细胞和中性粒细胞性哮喘。如果两者比例均有增高为混合细胞性哮喘,两者均低于正常折点为寡细胞性哮喘。结果嗜酸粒细胞哮喘占31.8%(27/85),中性粒细胞哮喘组占30.6%(26/85),寡细胞哮喘组21.2%(18/85),混合细胞哮喘组占16.4%(14/85)(表2),同时我们还对各组外周血白细胞总数与诱导痰中性粒细胞百分比进行了相关分析,发现各组两者均无显著相关(r分别为-0.125, -0.140, -0.128, 0.198, $P>0.05$)。

表2 不同类型气道炎症的诱导痰细胞分类

炎症类型	n	嗜酸性细胞(%)	中性粒细胞(%)	淋巴细胞(%)	单核细胞(%)
嗜酸性细胞性	27	15.6±15.3	42.8±16.3	3.4±5.4	38.1±18.6
中性粒细胞性	26	0.3±0.4	79.2±7.6	1.4±0.7	19.0±7.6
寡细胞性	18	0.3±0.4	50.0±12.2	3.0±2.8	46.2±11.0
混合细胞性	14	4.6±3.2	75.2±7.5	2.8±2.2	17.6±7.7

2.3 激素应用情况

所有患者全身激素的使用均换算为甲基强的松龙的剂量进行比较。从全身使用激素的量和时间来看,嗜酸性细胞组全身激素使用剂量和时间显著少于寡细胞和混合细胞组($P<0.05$)。而其他3组比较无差异($P>0.05$)。嗜酸性细胞组有低于中性粒细胞组的趋势,但无统计学差异($P>0.05$)。我们还统计了同期患者使用吸入激素布地奈德的剂量,嗜酸性细胞组吸入激素剂量和使用吸入激素时间显著少于混合细胞($P<0.05$),而与中性粒细胞组无显著差异($P>0.05$)。中性粒细胞组吸入激素剂量显著少于混合细胞组($P<0.05$)。住院时间比较,嗜酸性细胞组患者住院时间显著少于混合性细胞组($P<0.05$),混合细胞组多于其余2组,但无统计学差异($P>0.05$)(表3)。

表3 不同炎症类型哮喘急性加重治疗情况

炎症类型	n	全身激素用量(mg)	全身激素使用时间	吸入激素剂量(mg)	吸入激素使用时间	住院时间
嗜酸性细胞性	27	259.4±209.6[a]	3.9±3.3[b]	25.8±22.0[c]	6.3±4.9[d]	8.7±5.2[f]
中性粒细胞性	26	376.0±263.8	5.6±3.7	30.0±30.4[e]	7.7±4.8	9.9±5.1
寡细胞性	18	620.7±524.8	6.3±3.5	39.7±37.4	7.7±4.1	9.4±4.6
混合细胞性	14	620.2±820.5	6.7±5.1	53.8±39.9	10.4±6.0	12.6±7.0

a、b:$P<0.05$,与寡细胞性、混合细胞性比较;c、d:$P<0.05$,与混合细胞性比较;e:$P<0.05$,与混合细胞性比较;f:$P<0.05$,与混合细胞性

3 讨论

最早,Wenzel等[11]报道急性哮喘气道内除有嗜酸性细胞增多外,还有显著的中性粒细胞增多。我们的结果也同样证实急性哮喘有不同炎症表型。在本研究中,嗜酸粒细胞性哮喘占31.8%(27/85),而中性粒细胞性哮喘占30.6%(26/85),寡细胞性哮喘21.2%(18/85),混合细胞性哮喘占16.4%(14/85)。由于混合性细胞组也伴有中心粒细胞的增多,加上中性粒细胞组其比例达到51.8%。这与非急性加重哮喘以嗜酸性细胞增多为主的情况有明显的不同。该结果提示中性粒细胞增多是急性哮喘的重要特征之一。

不同炎症表型哮喘对激素治疗的反应如何尚缺乏全面系统的研究。Green等[8]发现非急性加重期中性粒细胞性哮喘较非中性粒细胞性哮喘对吸入激素的治疗反应性有显著差异,其症状评分和FEV1的改善都较差。但不同炎症表型的急性哮喘对激素治疗反应是否有差异并不清楚。Bacci等[15]也发现嗜酸性细胞增多性哮喘较非嗜酸性细胞增多性哮喘对吸入激素治疗反应性更好。本研究发现在4种炎症表型中,嗜酸性细胞组使用全身激素剂量最少,使用激素的时间也最短,间接提示嗜酸性细胞性的急性哮喘对激素治疗的反应良好。这与稳定期哮喘的情况一致[14]。

更重要的是,本研究发现寡细胞性、混合细胞性和中性粒细胞性哮喘都需要更高剂量的全身激素才能获得急性哮喘的缓解,尤其是寡细胞性和混合细胞性哮喘需要的全身激素剂量是嗜酸性细胞组近3倍。虽然寡细胞组重度患者较嗜酸性细胞组多,但有研究发现[21],需入院治疗的哮喘急性加重患者,使用不同剂量的皮质激素未发现临床效果的差异,即小剂量就可以达到改善肺功能的效果。目前对寡细胞性哮喘的研究甚少,对其发病机制几乎完全不清楚。有人推测寡细胞气道炎症可能与肥大细胞、表皮细胞和平滑肌细胞的活化有关[7,18-19]。也有人认为寡细胞性哮喘对激素治疗反应差还可能与糖皮质激素受体数量表达的减少,或者其他炎症通路的活化而引起气道炎症因子的增加等有关[7]。但这些都无足够的证据,其有关的机制及对临床治疗的意义都需要更多的研究来阐明。

混合性细胞和中性粒细胞性哮喘都以气道内中性粒细胞增多为特征。哮喘急性加重时中性粒细胞增多的机制并不完全清楚。吸烟[16]、呼吸道感染[17]都可以导致哮喘中性粒细胞增多,但本研究中仅发现中性粒细胞组患者并发呼吸道感染病例数显著多于嗜酸性细胞组,但其余各组无统计学差异。这提示呼吸道感染可能与哮喘气道内中性粒细胞增多一定关联。文献[17]报道呼吸道感染包括病毒感染均可引起气道内

中性粒细胞增多。中性粒细胞对激素的治疗反应较差,与激素抑制中性粒细胞凋亡,导致气道中性粒细胞性炎症持续存在等因素有关。

本研究还发现中性粒细胞组的外周血白细胞总数显著高于其他各组。但深入分析显示,外周血白细胞总数与诱导痰中性粒细胞增多并无显著的相关性,而且混合性细胞组也没有外周血白细胞的增多。这些都提示外周血白细胞总数增多不是气道内中性粒细胞增多的原因。此外,嗜酸性细胞组患者使用吸入激素的量及使用时间显著少于混合细胞组。而两组不同主要是混合细胞组除有嗜酸性细胞增多外,还有显著的中性粒细胞增多。所以混合细胞组需要使用更高激素剂量的原因可能是中性粒细胞对激素的反应较差所致。

本研究发现的重要意义在于,不同炎症表型对激素的治疗反应性可能存在差异。不同炎症表型对治疗的反应性差异可能给临床带来重要的指导意义。本研究的不足是采用的回顾性研究,没有采用哮喘症状和肺功能改善等临床指标来研究不同炎症表型哮喘对激素治疗的反应,而是使用患者在住院期间治疗所需的全身激素量来间接反映用不同炎症表型哮喘对激素治疗的反应性。

参考文献:

[1] Nakagome K, Nagata M. Pathogenesis of airway inflammation in bronchial asthma[J]. Auris Nasus Larynx, 2011, 38(5): 555 - 563.

[2] Jatakanon A, Uasuf C, Maziak W, *et al*. Neutrophilic inflammation in severe persistent asthma[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1999, 160(5 Pt 1): 1532 - 1539.

[3] Sur S, Crotty T B, Kephart G M, *et al*. Sudden-onset fatal asthma. A distinct entity with few eosinophils and relatively more neutrophils in the airway submucosa? [J]. Am Rev Respir Dis, 1993, 148(3): 713 - 719.

[4] James A L, Elliot J G, Abramson M J, *et al*. Time to death, airway wall inflammation and remodelling in fatal asthma[J]. Eur Respir J, 2005, 26(3): 429 - 434.

[5] Fajt M L, Wenzel S E. Asthma phenotypes in adults and clinical implications[J]. Expert Rev Respir Med, 2009, 3(6): 607 - 625.

[6] Cowan D C, Cowan J O, Palmay R, *et al*. Effects of steroid therapy on inflammatory cell subtypes in asthma[J]. Thorax, 2010, 65(5): 384 - 390.

[7] Wenzel S E. Asthma: defining of the persistent adult phenotypes[J]. Lancet, 2006, 368(9537): 804 - 813.

[8] Green R H, Brightling C E, Woltmann G, *et al*. Analysis of induced sputum in adults with asthma: identification of subgroup with isolated sputum neutrophilia and poor response to inhaled corticosteroids[J]. Thorax, 2002, 57(10): 875 - 879.

[9] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南(支气管哮喘的定义、诊断、治疗和管理方案)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2008, 31(3): 177 - 185.

[10] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 咳嗽的诊断与治疗指南(2009版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2009, 32(6): 407 - 413.

[11] Wenzel S E, Schwartz L B, Langmack E L, *et al*. Evidence that severe asthma can be divided pathologically into two inflammatory subtypes with distinct physiologic and clinical characteristics[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1999, 160(3): 1001 - 1008.

[12] Louis R, Lau L C, Bron A O, *et al*. The relationship between airways inflammation and asthma severity[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2000, 161(1): 9 - 16.

[13] Moore W C, Meyers D A, Wenzel S E, *et al*. Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the Severe Asthma Research Program[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2010, 181(4): 315 - 323.

[14] Berry M, Morgan A, Shaw D E, *et al*. Pathological features and inhaled corticosteroid response of eosinophilic and non-eosinophilic asthma[J]. Thorax, 2007, 62(12): 1043 - 1049.

[15] Bacci E, Cianchetti S, Bartoli M, *et al*. Low sputum eosinophils predict the lack of response to beclomethasone in symptomatic asthmatic patients[J]. Chest, 2006, 129(3): 565 - 572.

[16] Thomson N C, Chaudhuri R, Livingston E. Asthma and cigarette smoking[J]. Eur Respir J, 2004, 24(5): 822 - 833.

[17] Wark P A, Johnston S L, Moric I, *et al*. Neutrophil degranulation and cell lysis is associated with clinical severity in virus-induced asthma[J]. Eur Respir J, 2002, 19(1): 68 - 75.

[18] Miranda C, Busacker A, Balzar S, *et al*. Distinguishing severe asthma phenotypes: role of age at onset and eosinophilic inflammation[J]. J Allergy Clin Inmunol, 2004, 113(1): 101 - 108.

[19] Bradding P, Walls A F, Holgate S T. The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma[J]. J Allergy Clin Immunol, 2006, 117(6): 1277 - 1284.

[20] Zacharasiewicz A, Wilson N, Lex C, *et al*. Clinical use of noninvasive measurements of airway inflammation in steroid reduction in children[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2005, 171(10): 1077 - 1082.

[21] Manser R, Reid D, Abramson M. Corticosteroids for acute severe asthma in hospitalised patients[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2000, (2): CD001740.

(**收稿**:2011-11-01;**修回**:2012-01-10)

(编辑 邓强庭)