论著

文章编号:1000-5404(2013)18-1968-04

哮喘急性加重和糖皮质激素治疗对诱导痰炎症细胞分类及表型的影响

赵 燕[1],程晓明[2],林科雄[2],陈华萍[2],马千里[2],王导新[1],王长征[2] (400010 重庆,重庆医科大学第二附属医院呼吸内科[1];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[2])

[摘要] **目的** 研究糖皮质激素治疗及急性加重对哮喘患者诱导痰炎症细胞分类及表型的影响。**方法** 收集2011年1-6月,新桥医院呼吸内科门诊和住院部经糖皮质激素治疗的104例哮喘患者的病史及诱导痰资料进行回顾性分析。**结果** 急性加重患者诱导痰炎症细胞表型分别为中性粒细胞性42.3%,嗜酸性粒细胞性26.9%,混合细胞性及寡细胞性各为15.4%;非急性加重患者表型分别为嗜酸性粒细胞性50%,寡粒细胞性19.2%,混合细胞性19.2%,中性粒细胞性11.5%。急性加重及非急性加重患者痰炎症细胞分类均以中性粒细胞[(65.2±19.3)%、(54.4±20.5)%]及嗜酸性粒细胞[(3.8±7.4)%、(9.9±23.9)%]为主。急性加重组经糖皮质激素治疗前后诱导痰细胞炎症细胞表型及分类无显著变化($P>0.05$),非急性加重组经吸入糖皮质激素治疗后诱导痰细胞中性粒细胞比例从(55.5±20.5)%上升到(68.9±19.3)%,嗜酸性粒细胞从(14.7±20.1)%下降为(4.6±5.6)%,两者呈显著的负相关性($r=-0.66$,$P<0.05$);中性粒细胞性表型患者的比例也显著增多($P<0.05$)。**结论** 哮喘急性加重及吸入激素治疗均可以导致哮喘患者诱导痰中性粒细胞增多,改变气道炎症细胞的表型。

[关键词] 哮喘;诱导痰;炎症细胞;表型

[中图法分类号] R392.12;R562.25;R977.11 [文献标志码] A

Effects of steroid therapy and acute exacerbation of asthma on subtypes and phenotypes in induced sputum inflammatory cells

Zhao Yan[1], Cheng Xiaoming[2], Lin Kexiong[2], Chen Huaping[2], Ma Qianli[2], Wang Daoxin[1], Wang Changzheng[2] ([1]Department of Respiratory Diseases, Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400010; [2]Institute of Respiratory Diseases, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

[**Abstract**] Objective To determine the effects of steroid therapy and acute exacerbation of asthma on the subtypes and phenotypes in induced sputum inflammatory cells from asthma patients. Methods Clinical data on medical history and induced sputum of 104 asthma out- and in-patients from our institute during January 2011 to June 2011 were collected and retrospectively analyzed. Results There were 42.3% of acute patients found with neutrophilic phenotype, 26.9% with eosinophilic phenotype, 15.4% with paucigranulocytic phenotype, and 15.4% with mixed granulocytic subtypes. In non-acute asthma patients group, 50.0% patients had the eosinophilic phenotype, 19.2% had paucigranulocytic phenotype, 19.2% had mixed granulocytic subtypes, and 11.5% had neutrophilic phenotype. The major subtypes of sputum inflammatory cells were neutrophilic [(65.2±19.3)% and (54.4±20.5)%] and eosinophilic phenotypes [(3.8±7.4)% and (9.9±23.9)%] in acute and non-acute asthma patients, respectively. There was no obvious change in the subtypes and phenotypes of induced sputum inflammatory cells from acute asthma group before and after steroid treatment. After treatment with glucocorticoid in non-acute asthma group, neutrophil percentage was raised from (55.5±20.5)% to (68.9±19.3)%, and proportion of eosinophilic phenotype was reduced from (14.7±20.1)% to (4.6±5.6)%. There existed significant negative correlation between them ($r=-0.66$, $P<0.05$). Proportion of neutrophilic phenotype was also raised ($P<0.05$). Conclusion Both of acute exacerbation of asthma and inhaled corticosteroid therapy impact asthma inflammatory phenotypes and increase neutrophils in induced sputum.

[**Key words**] asthma; induced sputum; inflammatory cells; phenotype

Corresponding authors: Wang Daoxin, E-mail: wangdaoxin1@163.com; Wang Changzheng, E-mail: czwang@netease.com

[通信作者] 王导新,E-mail: wangdaoxin1@163.com
王长征,E-mail: czwang@netease.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130911.0921.001.html(2013-09-11)

支气管哮喘(简称哮喘)作为一种异质性疾病,其发病机制、病理生理改变和临床表现具有多样性。现有哮喘分类的主要依据是疾病病因、疾病的控制水平与严重程度,不能很好地反映这一特点。2009版的哮喘防治指南(GINA)首次将"表型"的定义引入,并提出基于诱导痰炎症细胞表型可大致分为嗜酸细胞性和非嗜酸细胞性哮喘。非嗜酸细胞性哮喘的病理表现主要是气道内中性粒细胞增多,表现为对激素治疗的反应差[1],而且与气道阻塞有显著的负相关[2-3]。我们前期研究[4]发现中性粒细胞哮喘的临床特征多见于女性、晚发、非特应性、重症患者等。文献报道多种因素,如感染、吸烟、肥胖等均可导致哮喘患者气道内中性粒细胞增多[5-7]。糖皮质激素治疗是使哮喘达到长期控制的最重要手段,但对中性粒细胞的影响有不同结果的报道[8-9]。基于此,本研究观察了激素治疗以及哮喘急性加重对患者诱导痰炎症细胞分类及表型的影响,以期使哮喘患者能得到更个性化的治疗并从中获益。

1 对象与方法

1.1 研究对象

2011年1-6月在新桥医院呼吸内科门诊就诊和住院治疗的哮喘患者。入选标准:符合中华医学会呼吸病学分会哮喘学组的诊断标准[1],即有典型的哮喘病史>1年、支气管激发试验阳性或支气管舒张试验阳性。排除标准:合并严重的心肝肾功能不全;合并支气管扩张、肺结核、尘肺等慢性肺病疾病者;合并恶性肿瘤。哮喘急性加重的标准参考中华医学会呼吸病学分会哮喘学组的诊断标准[1]。

共有104例患者符合入选标准,其中急性加重组和非急性加重组各52例。急性加重组除特应性(过敏性皮炎、过敏性鼻炎等)高于非急性加重组外($P<0.05$),2组间年龄、性别、病程、吸烟、家族史等基线情况无统计学差异($P>0.05$)。见表1。

1.2 2组临床资料

年龄、性别、病程、特应性疾病(过敏性皮炎、过敏性鼻炎等)、吸烟史、家族史及并发症。急性加重患者采用甲基强的松龙40~160 mg,每天1次,治疗2~10 d,非急性加重患者用沙美特罗/氟替卡松50/250 mg,每天2次,每次1吸,治疗15~60 d[10-11],部分患者在糖皮质激素治疗前后进行诱导痰炎症细胞分类及表型测定。

1.3 痰诱导及标本收集

按文献[12]推荐方法进行诱导痰细胞学分类和计数。入选患者诱导前15 min吸入沙丁胺醇400 μg,然后给予超声雾化吸入3%高渗盐水,2~5 min后,指导患者清除鼻腔分泌物、漱口吞水后,主动排痰,每次痰液量应不少于1 mL,再将痰液收集,加入4倍体积的0.1% DTT,37 ℃水浴10 min、2 000 r/min转速离心5 min,离心沉淀细胞,数细胞总数。细胞沉淀涂片,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,并对细胞进行分类和计数。细胞分类的正常上限嗜酸细胞比例为0.5%,中性粒细胞比例为65%[12]。

1.4 统计学分析

采用SPSS 13.0统计软件。诱导痰细胞分类及表型百分比及诱导痰细胞计数采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,诱导痰嗜酸性粒细胞与中性粒细胞相关关系采用相关分析,计量资料组间两两比较采用单因素方差分析,计数资料间两两比较采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 哮喘急性加重对患者诱导痰炎症细胞分类及表型的影响

急性加重组患者诱导痰炎症细胞分类以中性粒细胞增多为主,中性粒细胞比例显著高于非急性加重组,而嗜酸性粒细胞比例则显著低于非急性加重组($P<0.05$)。2组的淋巴细胞和单核细胞比例差异均无显著性($P>0.05$)。炎症细胞表型有类似的改变。见表2。

2.2 糖皮质激素治疗前后诱导痰炎症细胞分类变化

在急性加重组中,18例患者经甲基强的松龙治疗后诱导痰细胞分类均无差异。在非急性加重组中,20例患者经吸入糖皮质激素治疗后嗜酸细胞比例降低,中性粒细胞比例增高,两者呈负相关性($r=-0.66$, $P<0.05$)。见表3。

2.3 糖皮质激素治疗前后诱导痰炎症细胞表型变化

急性加重组在激素治疗前以中性粒细胞性和嗜酸细胞性表型为主,治疗后则以混合细胞性为主,其次是中性粒细胞性和嗜酸细胞性。治疗前后表型变化无统计学差异($P>0.05$)。非急性加重组在治疗前以嗜酸细胞性为主,中性粒细胞性最少。治疗后中性粒细胞性增高至30.0%,嗜酸粒细胞性及寡粒细胞性均减少,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表4。

表1 2组哮喘患者一般情况($n=52$)

	年龄(岁)	性别(男/女)	病程(年)	特应性[例(%)]	吸烟[例(%)]	家族史[例(%)]	并发症[例(%)]
急性加重组	53.3±10.1	19/33	20.9±16.7	14(26.9)	16(30.8)	10(19.2)	37(71.2)
非急性加重组	40.3±12.4	25/27	15.9±16.0	24(46.2)[a]	9(17.3)	10(19.2)	32(61.5)

a: $P<0.05$,与急性加重组比较

表2 2组哮喘患者的诱导痰炎症细胞分类及表型($n=52$)

组别	细胞分类(%, $\bar{x}\pm s$)				炎症细胞表型[例(%)]			
	嗜酸细胞	中性粒细胞	淋巴细胞	单核细胞	嗜酸细胞性	中性粒细胞性	寡细胞性	混合细胞性
急性加重组	3.8±7.4	65.2±19.3	3.0±3.4	27.7±16.0	14(26.9)	22(42.3)	8(15.4)	8(15.4)
非急性加重组	9.9±23.9[a]	54.4±20.5[a]	2.5±2.1	32.8±2.5	26(50.0)[a]	6(11.5)[a]	10(19.2)	10(19.2)

a: $P<0.05$,与急性加重组比较

表3 2组哮喘患者糖皮质激素治疗前后诱导痰炎症细胞分类的变化（%，$\bar{x} \pm s$）

组别	n	治疗前				治疗后			
		嗜酸细胞	中性粒细胞	淋巴细胞	单核细胞	嗜酸细胞	中性粒细胞	淋巴细胞	单核细胞
急性加重组	18	6.6±12.2	62.9±17.5	2.4±1.5	29.6±18.8	1.6±2.6	61.2±20.4	3.8±6.0	36.7±20.0
非急性加重组	20	14.7±20.1	55.5±20.5	2.0±1.6	29.0±17.3	4.6±5.6[a]	68.9±19.3[a]	2.4±2.2	24.2±15.5

a：$P<0.05$，与治疗前比较

表4 2组哮喘患者糖皮质激素治疗前后诱导痰炎症细胞表型的变化［例(%)］

组别	n	治疗前				治疗后			
		嗜酸细胞性	中性粒细胞性	寡细胞性	混合细胞性	嗜酸细胞性	中性粒细胞性	寡细胞性	混合细胞性
急性加重组	18	5(27.8)	6(33.3)	4(22.2)	3(16.7)	4(22.2)	5(27.8)	3(16.7)	6(33.3)
非急性加重组	20	10(50.0)	1(5.0)	4(20.0)	5(25.0)	5(25.0)	6(30.0)[a]	0(0)[a]	9(45.0)

a：$P<0.05$，与治疗前比较

3 讨论

诱导痰细胞学检查可作为气道炎症的重要标志物指导临床治疗[13-15]。而哮喘患者诱导痰嗜酸粒细胞持续增高常常表明患者激素治疗剂量不足或存在对激素的一定抵抗[16]。本研究显示，不管是稳定期还是急性加重期患者使用激素治疗后嗜酸细胞比例均有降低。通过检测诱导痰嗜酸细胞来指导吸入激素的剂量调整比按照目前哮喘防治指南进行调整，可以获得更好的哮喘临床控制[13-15]。

哮喘气道炎症细胞表型不但可以揭示可能的发病机制，预测疾病未来风险，而且可以直接反应治疗效果，在临床中的作用举足轻重[15]。人群归因危险度分析仅约50%的哮喘与嗜酸细胞性炎症紧密相关，另有多达50%的患者为非嗜酸性哮喘，又以中性粒细胞性为主。进一步明确导致中性粒细胞增多的因素十分必要。

本研究显示哮喘急性加重与非急性加重患者的气道炎症细胞表型有显著的差异。非急性加重期患者以嗜酸性粒细胞性表型最常见，占50%，中性粒细胞性表型仅占11.5%。急性加重组患者则是中性粒细胞性表型占优势，多达42.3%，其次是嗜酸性粒细胞性表型，占26.9%。但致使急性加重患者中性粒细胞增多的原因尚不清楚。文献报道病毒和衣原体感染均可导致哮喘肺内中性粒细胞增多[17]。而病毒和非典型病原体感染又是哮喘急性加重的重要原因。

激素是重要的治疗药物之一，对中度以上的患者尤为重要，但急性哮喘气道炎症细胞类型的影响尚不清楚。我们发现急性哮喘患者使用全身激素治疗后嗜酸细胞比例显著降低，中性粒细胞比例无显著变化。Djukanovic等[18]也报道用强的松龙治疗哮喘6周可以显著减少支气管肺泡灌洗液中的嗜酸细胞，但对中性粒细胞无影响。我们前期的研究也显示，外周血与诱导痰中性粒细胞数量无显著相关。所以推测全身激素使用主要作用于血循环，而对气道内中性粒细胞数量没有显著影响。

本研究中，稳定期患者经吸入激素治疗后嗜酸细胞比例显著降低，中性粒细胞比例显著增高。Cowan等[9]报道使用激素前有5%的患者为中性粒细胞表型，撤掉激素后中性粒细胞表型患者的比例降为0%。但Nguyen等[8]报道，轻度稳定期患者经吸入激素治疗1个月，嗜酸细胞显著降低，但中性粒细胞比例没有变化。提示吸入激素可导致部分患者中性粒细胞增多，对气道炎症类型产生一定影响。但具体影响为何，仍有不同意见，需要更深入的研究探索相关机制。

总之，本研究结果显示哮喘急性加重以中性粒细胞性为主，与非急性加重患者炎症细胞表型有明显不同。激素治疗对哮喘患者的炎症细胞表型，尤其是对中性粒细胞表型有不同的影响。体外实验表明激素可以抑制中性粒细胞凋亡，延长其存活时间[19]。这可能是导致激素治疗后中性粒细胞增多的重要原因。但激素对哮喘中性粒细胞性炎症表型的影响较为复杂，不同的研究有相互矛盾的结果。所以，哮喘气道内中性粒细胞增多的机制以及临床意义仍需要更深入的研究来阐明。

参考文献：

[1] 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.

[2] Woodruff P G, Khashayar R, Lazarus S C, *et al*. Relationship between airway inflammation, hyperresponsiveness, and obstruction in asthma[J]. J Allergy Clin Immunol, 2001, 108(5): 753-758.

[3] Shaw D E, Berry M A, Hargadon B, *et al*. Association between neutrophilic airway inflammation and airflow limitation in adults with asthma[J]. Chest, 2007, 132(6): 1871-1875.

[4] 王彦，王斌，陈华萍，等. 中性粒细胞性哮喘临床特征分析[J]. 中国呼吸与危重监护杂志，2011，10(4)：317-320.

[5] Kaiko G E, Phipps S, Hickey D K, *et al*. Chlamydia muridarum infection subverts dendritic cell function to promote Th2 immunity and airways hyperreactivity[J]. J Immunol, 2008, 180(4): 2225-2232.

[6] Pietinalho A, Pelkonen A, Rytila P. Linkage between smoking and

asthma[J]. Allergy, 2009, 64(12): 1722-1727.
[7] Scott H A, Gibson P G, Garg M L, *et al*. Airway inflammation is augmented by obesity and fatty acids in asthma[J]. Eur Respir J, 2011, 38(3): 594-602.
[8] Nguyen L T, Lim S, Oates T, *et al*. Increase in airway neutrophils after oral but not inhaled corticosteroid therapy in mild asthma[J]. Respir Med, 2005, 99(2): 200-207.
[9] 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.
[10] 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.
[11] 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.
[12] 陈华萍, 马千里, 张巧, 等. 重庆地区健康成人诱导痰细胞计数及正常参考值范围的初步建立[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(24): 2611-2613.
[13] 蒋延文, 孙永昌, 周庆涛, 等. 支气管哮喘患者痰嗜酸粒细胞相对计数与糖皮质激素治疗反应性的关系[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2007, 30(6): 447-451.
[14] 曹文利, 孙永昌, 姚婉贞. 根据支气管哮喘患者痰嗜酸粒细胞计数调整糖皮质激素剂量的临床意义[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2007, 30(5): 334-338.
[15] Pavord I D, Shaw D E, Gibson P G, *et al*. Inflammometry to assess airway diseases[J]. Lancet, 2008, 372(9643): 1017-1019.
[16] 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.
[17] Patel K K, Vicencio A G, Du Z, *et al*. Infectious Chlamydia pneumoniae is associated with elevated interleukin-8 and airway neutrophilia in children with refractory asthma[J]. Pediatr Infect Dis J, 2010, 29(12): 1093-1098.
[18] Djukanovic R, Homeyard S, Gratziou C, *et al*. The effect of treatment with oral corticosteroids on asthma symptoms and airway inflammation[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1997, 155(3): 826-832.
[19] Cox G. Glucocorticoid treatment inhibits apoptosis in human neutrophils. Separation of survival and activation outcomes[J]. J Immunol, 1995, 154(9): 4719-4725.

(**收稿**:2013-03-04;**修回**:2013-03-14)
(编辑 邓强庭)

文章编号:1000-5404(2013)18-1971-01

个案与短篇

膀胱肌瓣代输尿管治疗输尿管全长撕脱伤1例

王 强[1],邢念增[2],陈宇东[1],王领军[1],刘伟英[1],苑海波[1],殷晓松[1] (071000 河北 保定,解放军第252医院泌尿外科[1];100020 北京,首都医科大学附属北京朝阳医院泌尿外科[2])

[**关键词**] 膀胱肌瓣;输尿管缺损;输尿管重建;肾功能
[**中图法分类号**] R699.4 [**文献标志码**] B

1 临床资料

患者,男性,40岁,2011年12月10日因"左侧腰部间断性胀痛1周"入我院泌尿外科。8年前曾因右侧输尿管结石行体外震波碎石治疗。入院完善辅助检查后诊断:左输尿管上段结石、左肾积水、右肾无功能,于19日在硬膜外麻醉下行左输尿管镜气压弹道碎石术,术毕退镜时发生输尿管撕脱伤,征得患者家属同意后,改全身麻醉,术中探查发现左侧输尿管肾盂至膀胱壁段全程撕裂,脱落于膀胱内,输尿管移行区少量血肿,无活动性出血。患者家属拒绝行自体肾移植及肠代输尿管术,经患者家属同意遂行左肾造瘘+撕脱输尿管吻合并大网膜包裹术,术后留置支架管及左肾造瘘管。术后半年拔除支架管,拔管1个月后经左侧肾造瘘管造影示:左输尿管闭锁,左肾积水。术后7个月肾动态检查示:左肾血流灌注减低,功能轻度受损,左侧上尿路引流未见不畅(肾造瘘管开放状态),右肾血流灌注和功能重度受损,无功能。肾小球滤过率(GFR)值:左侧34 mL/min。膀胱镜检查:左输尿管附近可见瘢痕,未找到左输尿管口,逆行置管失败。左输尿管缺损诊断成立。于2012年7月14日在全麻下行膀胱肌瓣代输尿管术,取平卧位,常规消毒术野皮肤,铺灭菌单。取左侧腹部原斜形切口进腹,打开左侧结肠旁沟,游离显露粘连严重之输尿管及肾盂,探查左侧输尿管完全闭锁,测量输尿管损伤段长约25 cm。留置导尿管,向膀胱内注入生理盐水,将膀胱充盈后游离膀胱并打开腹膜反折。切取部分膀胱肌瓣向上翻转,以组织钳钳夹肌瓣顶端向左肾盂方向牵拉。游离肌瓣与肾盂部位输尿管相连且张力不大,游离肌瓣满意可代替全部输尿管,以4/0可吸收线将肌瓣全层缝合形成皮管与肾盂输尿管吻合,内留置F6输尿管支架管,注意避免吻合口狭窄,将膀胱做全层缝合,向导尿管内注入生理盐水检测膀胱无漏尿。将膀胱皮管与侧腹膜及腰大肌做间断固定(图1)。继续留置左肾造瘘管。术后3周行膀胱造影示:膀胱肌瓣代输尿管通畅,膀胱及输尿管吻合处无漏尿,膀胱容量较小约200 mL。术后2个月经膀胱镜拔除输尿管支架管,行左肾造瘘管造影示:左侧膀胱肌瓣代输尿管通畅,吻合口无狭窄,左肾积水无改变,膀胱容量约250 mL。拔除左肾造瘘管。术后4个月行膀胱造影示:膀胱充盈时及排尿时造影剂轻度反流至左侧代输尿管,仅有少量尿液进入肾盂,膀胱容量约300 mL。手术前后比较肌酐、尿素氮及电解质指标无明显改变。术后6个月肾动态检查示:双侧上尿路未见引流不畅。GFR值:左侧39 mL/min,膀胱容量约350 mL。术后10个月B超及CT检查较术前比较积水未见明显变化。

(下转1975页)

[**通信作者**] 王 强,E-mail:09wangq@sohu.com
[**优先出版**] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130910.1409.009.html(2013-09-10)