DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.01.021

肺弥散功能正常值及临床应用探讨

王金平 贾巨才 钱桂生 (第三军医大学新桥医院呼吸内科研究所) 重庆,630037

提 要 目的:探讨健康成人肺 CO弥散量 (DLCO)正常值及预计回归方程式及其临床应用。方法:用 6200 Autobox DL型体积描记仪测定了 175例健康成人,24例支气管哮喘,19例肺间质性病变患者及 140例慢支合并肺气肿患者 DLCO及常规肺功能。结果:男、女两性的 DLCO与年龄、身高显著相关 ($P<0.01$)。求出预计回归方程式,对各组 DLCO实测值占预计值百分比均值进行了比较。哮喘组 DLCO正常 ($P>0.05$),肺通气功能明显减低 ($P<0.01$);肺间质性病变组 DLCO明显减低 ($P<0.01$),肺通气功能呈限制性障碍;慢支合并肺气肿患者 DLCO及常规肺功能明显异常 ($P<0.01$),DLCO随肺气肿加重而减低。结论:DLCO测定对哮喘、肺间质性病变及肺气肿严重程度的判断和疗效的考评具有一定的参考价值。

关键词 肺弥散;慢性阻塞性肺疾病;肺间质性病变
中图法分类号 R563; R332.2

弥散作用是呼吸生理重要组成部分[1]。我室对健康人以及慢性阻塞性肺疾病、支气管哮喘、肺间质性病变患者进行了肺 CO弥散量 (DLCO)、肺泡容积 (VA)、弥散量/肺泡容积 (升)比值、弥散时间常数 (CO T.C.)、转送系数 (K_{CO})以及常规肺功能等进行了测定。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 组别

1.1.1 健康组 175例,系机关、工厂干部、工人及部分本院医务人员。其中男性 106例,年龄 (45.06±14.12)岁,身高 (1.68±0.05) m,体重 (62.64±8.47) kg;女性 69例,年龄 (41.04±15.01)岁,身高 (1.56±0.059) m,体重 (51.73±7.02) kg。无吸烟史,经询问病史、体格检查、X线胸片、心电图等检查证明无慢性呼吸系和心血管病史,近两周内无呼吸道感染史。

1.1.2 哮喘组 24例 (男 16例,女 8例),年龄 21~56岁,平均 32.2岁,哮喘发作史 2年~34年,平均 18.3年。测定时病情相对稳定,无严重哮喘发作,符合中华结核和呼吸杂志 1993年哮喘增刊的哮喘诊断标准[2]。

1.1.3 肺间质性病变组 19例,(男 13例,女 6例),其中特发性肺间质纤维化 11例,继发性肺间质纤维化 8例,年龄 (37.24±10.48)岁。

1.1.4 慢支及合并轻、中、重不同程度肺气肿病例共 140例,均为男性。其中单纯慢支组 36例,年龄 (52.30±17.32)岁。病程 (14.45±7.47)年。轻度肺气肿组 30例,年龄 (53.36±9.43)岁。病程 (17.42±8.42)年。中度肺气肿组 36例,年龄 (55.78±8.61)岁。平均病程 (21.51±9.38)年。重度肺气肿组 38例,年龄 (57.82±7.8)岁。平均病程 (23.72±5.67)年。符合 172年全国慢支及肺气肿诊为标准。

1.2 方法

弥散量与肺容量测定均采用美国 6200 Autobox DL型体积描记仪。DLCO测定为一次呼吸法[3]。受检者取坐位,夹鼻夹,口含接口器,平静呼吸 3~5次后呼气至残气量位,用力快速吸入混合气 (含 (0.3% CO, 0.3% C_2H_2, 0.3% CH_4, 21% O_2, 79.1% N_2)至肺总量位,屏气 10 s后将气体快速呼出,分别计算 DLCO、VA DLCO/VA、K_{CO}、CO T.C.各参数值。用常规法测定肺通气功能;用体积描记法测定肺容量。健康组依年龄、身高、体重多元逐步回归方式计算出预计回归方程式,依各组实测定值占预计值百分比进行方差分析。

2 结果

2.1 175例健康成人 DLCO的正常值见表 1

表 1 175例健康成年人肺弥散功能的正常值 ($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 DLCO values in 175 healthy adults ($\bar{x}\pm s$)

Sex	Age	n	DLCO (μV/E kPa^{-1} min^{-1})	DLCO/VA (DLCO/L)	K_{CO} (1/min)	VA (L)	CO T.C. (s)
Male	20~29	20	10.98±1.57	1.93±0.39	4.97±0.61	5.64±0.83	12.45±1.78
	30~39	20	9.85±1.27	1.84±0.25	4.64±0.67	5.35±0.76	13.17±1.79
	49~50	20	8.67±0.80	1.67±0.14	4.18±0.41	5.64±0.42	15.38±1.63
	50~59	26	8.23±1.44	1.55±0.23	3.89±0.58	5.59±0.72	15.62±2.39
	>60	20	6.73±0.95	1.26±0.19	3.35±0.54	5.21±0.56	17.69±2.75
Female	20~29	15	8.19±1.25	1.86±0.23	4.84±0.71	4.28±0.57	12.48±1.91
	30~39	12	7.79±0.99	1.89±0.34	4.84±0.71	4.15±0.63	12.48±1.91
	40~49	15	6.95±0.82	1.81±0.13	4.21±0.51	3.87±0.64	13.68±1.81
	50~59	13	6.64±1.18	1.89±0.34	3.74±0.67	4.63±0.51	17.16±3.28
	>60	14	5.35±0.74	1.32±0.17	3.41±0.34	3.83±0.39	17.44±1.64

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

将男女两性各年龄组 DLCO进行统计分析,DLCO、VA男女差异显著或非常显著($P<0.05\sim0.01$),K_{CO}、CO T.C.均无明显差异($P>0.05$)。说明男女 DLCO差异主要与年龄、身高密切相关($P<0.001$),男性 r值为 −0.7014,0.2656;女性 r值为 −0.5579,0.4161。求出 DLCO年龄、身高的回归方程式如下:

DLCO　男　$y=6.2328-0.0892\times A+3.9709\times H$

See 1.3141

女　$y=0.0817-0.0368\times A+5.6578\times H$

See 0.9103

VA　男　$y=3.4303+5.2976\times H$

See 0.6671

女　$y=0.9555+0.0096\times A+2.2437\times H$

See 0.5296

注: A=年龄(岁)　H=身高(m)

2.2　各组 DLCO实测值占预计值百分比均值比较见表 2

表 2　各组实测值占预计值百分比均值及显著性比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Comparison of the percentage of the predictive and determined values in different groups ($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	DLCO (q_V/L kPa^{-1} min^{-1})	DLCO/VA (DLCO/L)	VA (1/min)	K_{CO} (L)	CO T.C. (s)
Normal	175	99.1712± 8.8401	98.7243± 78.6921	5.514± 0.7281	4.1313± 0.7878	14.654± 2.5262
Asthma	24	97.654± 7.6512	97.0102± 8.1326	5.4985± 0.6391	3.963± 0.6742	15.3427± 2.7649
Interstitial Lung Disease	19	54.0514± 14.6719**	52.6726± 16.7183**	4.1753± 0.1725**	2.6783± 0.6017	20.2459± 3.2761
Chronic bronchitis	36	91.8343± 19.35590	88.8125± 20.2762	5.6043± 0.7337	3.9312± 0.5324	16.2840± 3.4788*
Mild emphysema	30	85.1379± 19.7424*	81.4928± 17.5129**	4.8025± 0.7361*	3.4914± 0.5571*	17.7460± 4.3489**
Moderate emphysema	36	69.5212± 13.9788**	66.0909± 16.4285**	4.7233± 0.9025*	2.9393± 0.8438**	21.8242± 6.0277**
Severe emphysema	38	63.4750± 16.3065**	60.5123± 20.5426**	4.1206± 0.6302**	2.808± 0.6280**	23.082± 7.2301**

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* normal

各组通气功能、肺容量比较,见表 3。由表 2、表 3可见,哮喘患者 DLCO、DLCO/VA、K_{CO}、CO T.C.与健康组比较无显著差异($P>0.05$),而哮喘患者一秒率(FEV1.0/FVC)、最大用力呼气中期流量(MMF)、残气容积(RV)、残气容积/肺总量比值(RV/TLC%)差异非常显著($P<0.01$)。肺间质性病变组 DLCO、DLCO/VA、VA、FEV1.0/FVC、MMF、RV、RV/TLC%与健康组比较差异非常显著($P<0.05\sim0.01$)。单纯慢支炎患者 DLCO、DLCO/VA、KCO、T.C.及肺容量 RV、RVC/TLC%与同年龄健康组比较无显著差异($P>0.05$);而肺通气功能的 FEV1.0/FVC、MMF相差显著($P<0.01$);轻、中、重度肺气肿患者 DLCO、DLCO/VA、K_{CO}、CO T.C.健康组比较差异显著($P<0.01$),肺通气功能及肺容量的 FEV1.0/FVC、MMF、RV、RV/TLC%相差显著($P<0.01$)。且随肺气肿的加重 DLCO逐渐减低,弥散时间指数逐渐延长的趋势,特别是中、重度肺气肿。

表 3　各组通气功能、肺容量比较($\bar{x}\pm s$)

Tab 3　Comparison of ventilation function and lung capacity between two groups ($\bar{x}\pm s$)

Groups	*n*	FEV1.0/FVC (%)	MMF (g_V/L s^{-1})	VC (L)	RV (L)	TLC (L)	RV/TLC (%)
Normal	175	74.9782± 6.1191	2.482± 0.7066	3.7345± 0.5624	2.344± 0.4749	6.1152± 0.5998	36.0434± 5.330
Asthma	24	49.5500± 11.9273**	0.9130± 0.4793**	3.6385± 0.4593	2.6495± 0.6685*	5.8637± 0.8028	45.017± 7.1440**
Interstitial lung disease	19	90.426± 4.5671**	1.8456± 0.3725**	2.4973± 0.5631**	1.7866± 0.4292*	4.2817± 0.6357**	41.7264± 6.6142*
Chronic bronchitis	36	67.1667± 5.3585*	1.4638± 0.4522**	3.6502± 0.5166	2.1053± 0.4556	5.7325± 0.8365	36.5833± 4.8894
Mild emphysema	30	63.2667± 7.5106**	1.1793± 0.4191**	3.3673± 0.5228*	2.5930± 0.5158**	5.8223± 0.7821	43.1667± 3.5727**
Moderate emphysema	36	53.6944± 7.8878**	0.7458± 0.2481**	3.2119± 0.4579*	3.0250± 0.5927**	6.2366± 0.8401	49.2500± 4.9648**
Severe emphysema	38	42.1842± 8.4145**	0.3723± 0.1334**	2.6786± 0.5277**	3.870± 0.7439**	6.3376± 0.7597	59.1053± 5.5350**

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* normal

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

3 讨论

气体经由肺泡-毛细血管膜向血中弥散地过程与多种因素有关。通气/血流比率(V A/Q)是否均衡,目前认为与弥散的关系极为重要,为影响弥散的主要因素;而肺泡内气体与血内气体间分压差,肺泡壁-毛细血管膜间弥散距离,弥散面积大小,肺泡壁-毛细血管弥散的性状;肺毛细血管内的血容量;血浆中气体弥散的情况;血红蛋白的浓度与红细胞膜的弥散情况;气体与血红蛋白分子结合状态及速度均能影响肺弥散功能。本组175例健康人肺弥散统计结果: DLCO男性大于女性,男女差别非常显著($P < 0.01$)而男女组的Kco、CO T. C.均无明显差异($P > 0.05$),表明男女之间DLCO差异与肺体积有关,与国内报道相符[4]。男女两性DLCO与年龄、身高、体重因素中与年龄、身高密切相关,年龄相关最显著,弥散量随年龄增加而减少,主要为弥散面积减少以及肺泡壁毛细血管血容量减少,通气/血流比率异常随年龄增加而加重有关。本研究健康人DLCO值与年龄呈负相关,符合上述规律。

支气管哮喘对肺弥散功能影响,依有无并发肺气肿而不同,单纯性哮喘,支气管痉挛,管腔狭窄,加上气管粘膜发炎肿胀,分泌物粘稠,引起通气功能障碍。常规肺功能的FEV 1.0/FVC、MMF明显减低。由于大量汽体滞留于肺脏内,引起肺脏过度充气,残气容积/肺总量比值增高[5]。本研究中支气管哮喘组与同年龄正常组比较,发现哮喘患者DLCO、DLCO/V A、Kco、CO T. C.与正常组无差异($P > 0.05$),而肺通气及容积的FEV 1/FVC、MMF、RV/TLC%差异非常显著($P < 0.01$)。说明单纯哮喘主要以通气功能障碍为主,而DLCO正常。肺间质性病变时,DLCO、DLCO/V A、Kco、CO T. C.明显减低,通气功能为限制性通气功能障碍,FVC、TLC减低,RV、RV/TLC%相对增高。单纯慢支炎患者主要为气道阻塞,肺实质不受影响,DLCO及RV/TLC%无明显改变;通气功能异常。当慢支炎合并肺气肿时,气体交换的肺有效面积减少,从而使弥散量降低,并伴有不同程度的通气功能、气体分布、血流分布异常存在。本文轻、中、重度肺气肿组测定结果与同年龄健康组比较显示: DLCO、DLCO/V A ($P < 0.01$), CO T. C.延长。DLCO随肺气肿的加重而减低,符合临床改变。故通过DLCO测定能区分可以缓解的不完全性气道阻塞如哮喘与难于缓解的慢性阻塞,单纯慢支与肺气肿;阻塞性肺疾患与实质性肺疾患的鉴别等[6]。持续性的弥散量减少为诊断肺气肿有力依据;当通气功能正常,DLCO明显减低时,则提示有肺实质性病变累及了肺泡或血循环供应。

在比较弥散量变化时,由于不同病例的肺泡总容量不同,我们计算V A Kco、CO T. C.等,经统计学处理各组间差异与弥散量各组间的差异基本相似,未能反应出更多的优越性。但仍是反映肺弥散功能一项指标。我们人为DLCO测定对哮喘、肺间质性病变及肺气肿严重程度判断和疗效的考评有参考价值。

参考文献

1 Cissik J H. Diffusing capacity. A discussion CV P. J Cardiovas Pulm Tech, 1976; 4(2): 37

2 中华医学会呼吸系病学会.支气管哮喘的定义、诊断、严重度分级疗效判断标准.中华结核和呼吸杂志, 1993; 16(哮喘增刊): 5

3 Cotes J E, Chinn D J, Quanjer H *et al*. Standardization of the measurement of tansfer factor. Eur Respir J, 1993; 16(1): 41

4 林友华,马 毅,黄席珍等.肺弥散常数和临床应用的探讨.中华结核和呼吸杂志, 1982; 5(1): 32

5 王金平,贾巨才,钱桂生.气体滞流指数的测定及其临床意义.第三军医大学学报, 1995; 17(5): 457

6 Zenger M R, Brenner M, Haruno M *et al*. Measurement of cardiac output by automated single-breath technique and comparison with thermodilution and Fick methods in patients with cardiac disease. Am J Cardiol, 1993; 71(1): 105

(收稿: 1996-04-06;修回: 1996-11-18)

(编辑 张大春)

Determination of lung diffusion function and its clinical application

Wang Jingping, Jia Jucai, Qian Guisheng (Department of Respiratory Disease, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630037)

Abstract Objective: To set up the normal values and the regression formula of DLCO and determine their clinical significance. Methods: CO diffusion ability and routine lung function of 175 healthy adults, 19 patients with interstitial lung diseases (ILD), 14 with asthma and 140 with chronic bronchitis complicated

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

with emphysema were determined with a model 6200 Autobox DL plethysographer and then the results were compared with one another. **Results:** DLCO was significantly correlated with the sex, age and body height of the subjects ($P < 0.01$). The calculation of the regression formula of DLCO showed that: (1) DLCOs in patients with asthma was normal but the ventilation function declined; (2) DLCO in patients with ILD was significantly decreased and ventilation limited; 3). DLCO in patients with chronic bronchitis complicated with emphysema was remarkably decreased with exacerbation of emphysema. **Conclusion:** The measurement of DLCO is of great significance in the assessment of severity of asthma, ILD and emphysema.

Key words lung diffusion; chronic obstructive pulmonary disease; interstitial lung disease

锤头状核酶的设计、构建及与反义RNA在阻断HBV基因表达中的比较研究*

Design and construction of hammerhead ribozyme and comparative study of its blocking effect on HBV gene expression with the antisense RNA technique

甘立霞 朱锡华** (第三军医大学基础部生物化学教研室) 重庆, 630038

根据 Haseloff和 Gerlach报道的锤头状核酶结构,设计合成了针对 HBVayw株 P基因5′-端2360位点(GUC)的核酶 RCP,其作用底物为 HBVayw P基因的翻译起始区(2140-2422区段),运用基因克隆结合体外转录的方法,评价了 RCP核酶的体外切割活性。同时进一步将该核酶基因重新克隆到能在真核细胞表达的载体 pSVL上,利用脂质体介导的 DNA转染技术,将该核酶基因引入到 HepG2215细胞(HepG2215细胞系是由头尾相接的 HBV双拷贝基因组转染肝癌细胞系 HepG2而建立的一株能稳定分泌 HBV各种抗原和完整病毒颗粒的细胞系),观察了在这一暂时性表达外源基因的系统中核酶在细胞水平上对 HBV抗原表达和 DNA复制的作用。同时为了与反义 RNA的作用做一有意义的观察和比较。本实验还选择了含 P基因5′-端及其非编码区的 HBV-DNA片段 [BamHI(2903-BamHI(1399)]克隆到 pSVL的 SV40启动子下游,构建了能在真核细胞中表达这一区段的反义 RNA重组质粒。实验结果如下:

(1)设计并构建了针对 HBV P基因5′-端2360位点(GUC)的锤头状核酶 RCP,通过基因克隆技术,建立了核酶 RCP及其作用底物的基因克隆,并分别构建在体外克隆及转录载体 pGEM-3Zf(-)质粒的 SP6启动子下游,通过筛选鉴定获得了正确的核酶 RCP基因重组质粒 RCP/3Zf(-)及其作用底物的基因片段的重组质粒 HBP-20。

(2)运用体外转录的方法,将重组质粒 RCP/3Zf(-)及 HBP-20分别经 EcoRI 酶切线性化后,用 SP6 RNA聚合酶转录出核酶及底物的 RNA分子,然后在反应系统中将两种产物(RNA)混合进行核酶的体外切割反应,经聚丙烯酰胺凝胶电泳配合放射自显影转录方法观察了核酶的体外催化裂解活性,结果表明:核酶 RCP成功地切割了底物(340 nt)的 RNA分子,按切割位点的位置产生出了 257 nt和 83 nt两个特异的带型。

(3)实验表明核酶 RCP的体外切割活性有随 Mg^{2+} 浓度增加而增大的趋势。在反应系统中,将 Mg^{2+} 浓度从0, 10, 20, 30, 40至 50 mmol/L加入,结果以 Mg^{2+} 浓度为50 mmol/L时切割产物最多,但从 Mg^{2+} 浓度为20 mmol/L时已能观察到切割产物。当反应体系中不含 Mg^{2+} 时,核酶无切割活性。

(4)进一步构建了能在真核细胞中暂时性表达核酶 RCP及 HBV-DNA P基因5′-端及非编码区段 [BamHI(2903)-BamHI(1399)的反义 RNA的重组质粒,通过分子克隆及筛选鉴定,获得了正确的重组体 RCP/pSVL及 ANP/pSVL。

(5)运用核酸分子杂交技术,以地高辛标记的 HBV-DNA为探针,提取转染了重组质粒的 HepG2215细胞中的 DNA,进行斑点杂交分析,观察在这种暂时表达系统中,反义 RNA及核酶对 HBV复制是否产生影响。结果表明:无论是表达核酶还是反义 RNA的 HepG2215细胞中,HBV-DNA的量并未减少,表明它们对 HBV基因组的复制并未产生抑制作用。

(6)运用脂质体介导的 DNA转染技术将重组质粒引入到 HepG2215细胞,并通过固相放射免疫测定方法检测培养上清的 HBsAg及 HBeAg分泌情况,以此观察核酶及反义 RNA对 HBV基因表达的影响,结果表明:在这种暂时性表达系统中,针对 P基因5′-端及其非编码区的反义 RNA只对 HBeAg的表达有抑制作用;而针对 P基因5′-端的核酶 RCP则对 HBeAg和 HBsAg的表达都有一定程度的抑制作用。这一实验结果还在应用抗 HBs单克隆抗体对转染细胞中的 HBsAg免疫细胞化学染色观察中得到了印证。

关键词 锤头状核酶;反义 RNA;HBV基因表达;脂质体;基因转染

中图法分类号 Q78; R373

(收稿: 1996-12-01;修回: 1997-01-10)

(编辑 王 红、沈锡庚)

* 全军"八五"青年基金资助项目

** 免疫学教研室 重庆, 630038

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net