

论著·临床研究

支气管肺发育不良新生儿支气管肺泡灌洗液 IL-8 SP-A 和 TGF-β1 的表达

刘冬云^{1,2} 吴静³ 张小英¹ 封志纯¹

(1 北京军区总医院附属八一儿童医院,北京 100700; 2 南方医科大学研究生学院, 广东 广州 510515; 3 广州市番禺区何贤纪念医院新生儿科,广东 广州 511400)

[摘要] 目的 了解支气管肺发育不良(BPD)新生儿肺灌洗液 IL-8、SP-A 和 TGF-β1 的表达。方法 将我院 2007 年 12 月至 2009 年 10 月诊断为 BPD 的 30 名新生儿作为实验组。另外选同期 30 例非 BPD 患儿作为对照组,两组胎龄、性别、出生体重无差异。采用非纤维支气管镜支气管肺泡灌洗法进行肺灌洗,用 ELISA 法测定 IL-8、SP-A 和 TGF-β1 的含量。结果 BPD 组肺泡灌洗液中 TGF-β1、IL-8 含量分别为 47 ± 15 和 54 ± 16 $\mu\text{g/mL}$ 明显高于对照组的 34 ± 13 和 28 ± 13 $\mu\text{g/mL}$ ($P < 0.01$)。BPD 组 SP-A 含量明显低于对照组 (35 ± 16 $\mu\text{g/mL}$ vs 42 ± 14 $\mu\text{g/mL}$; $P < 0.05$)。结论 TGF-β1 和 IL-8 在 BPD 患儿肺灌洗液中有过表达,可能与 BPD 患儿肺的异常发育与成熟有关。BPD 组 SP-A 含量较低,提示给予 SP-A 外源性治疗有可能为 BPD 的治疗手段之一。

[中国当代儿科杂志,2010,12(6):444-446]

[关键词] 支气管肺发育不良;支气管肺泡灌洗液;白介素 8;肺表面活性相关蛋白 A;转化生长因子 β1;新生儿

[中图分类号] R722 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2010)06-0444-03

Expression of IL-8, SP-A and TGF-β1 in bronchoalveolar lavage fluid of neonates with bronchopulmonary dysplasia

LIU Dong-Yun, WU Jing, ZHANG Xiao-Ying, FENG Zhi-Chun. Bayi Children's Hospital Affiliated to Beijing Military Region General Hospital, Beijing 100700, China (Feng Z-C, Email:zhifengzc@126.com)

Abstract: Objective To investigate the expression of interleukin 8 (IL-8), surfactant protein-A (SP-A) and transforming growth factor β1 (TGF-β1) in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of neonates with bronchopulmonary dysplasia (BPD). **Methods** Thirty neonates with BPD and 30 gestational age-, gender-, and birth weight-matched neonates without BPD (control group) were enrolled from December 2007 to October 2009. Non-bronchoscopic bronchoalveolar lavage was performed. The levels of IL-8, SP-A and TGF-β1 in BALF were measured using ELISA. **Results** The levels of TGF-β1 (47 ± 15 $\mu\text{g/mL}$ vs 34 ± 13 $\mu\text{g/mL}$) and IL-8 (54 ± 16 $\mu\text{g/mL}$ vs 28 ± 13 $\mu\text{g/mL}$) in the BPD group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.01$). In contrast, the contents of SP-A in the BPD group were significantly lower than those in the control group (35 ± 16 $\mu\text{g/mL}$ vs 42 ± 14 $\mu\text{g/mL}$; $P < 0.05$). **Conclusions** The increased expression of TGF-β1 and IL-8 in BALF may be involved in abnormal lung development and maturation in neonates with BPD. The low expression of SP-A in the BPD group suggests that the exogenous SP-A administration may be an option for the treatment of BPD. [Chin J Contemp Pediatr, 2010, 12 (6):444-446]

Key words: Bronchopulmonary dysplasia; Bronchoalveolar lavage fluid; Interleukin 8; Surfactant protein-A; Transforming growth factor β1; Neonate

支气管肺发育不良(bronchopulmonary dysplasia, BPD)是常发生于新生儿尤其是小早产儿的长期应用高浓度氧气和机械通气后的一种慢性肺疾病。近年来,随着早产儿存活率提高,BPD 发生率也有逐年增加的趋势,但由于缺乏有效的治疗手段,而成为最为棘手的问题之一,同时,BPD 也是婴儿期慢性呼吸系统疾病的主要病因,严重影响患儿存活率及生活质量。BPD 的病因和发病机制并未完全阐明,

[收稿日期]2010-01-13;[修回日期]2010-02-08
[基金项目]国家自然科学基金(30973210)。
[作者简介] 刘冬云,女,博士研究生。
[通信作者] 封志纯,教授。

目前认为可能与感染、早产、极低出生体重、高浓度氧和高吸气峰压肺损伤密切相关^[1]。本研究检测了BPD新生儿肺灌洗液中白介素8(interleukin 8, IL-8)、肺表面活性相关蛋白A(surfactant protein-A, SP-A)和转化生长因子β1(transforming growth factor β1, TGF-β1)的表达变化,探讨其在BPD发生发展中的作用,从而有利于寻求相应干预措施,改善BPD患儿的治疗及预后。

1 对象和方法

1.1 对象

根据2001年美国多家国立卫生研究机构(NICHD/NHLBI/ORD)联合BPD研究组发布的BPD诊断标准^[2]将我院2007年12月至2009年10月诊断为BPD的30名新生儿作为实验组。另外选同期30例非BPD患儿作为对照组,包括单纯早产(15例)、外科疾病(11例)、新生儿黄疸(4例)。实验组男22例,女8例,出生胎龄30.5±2.25周,出生体重1 120±425 g,平均用氧时间38.1 d,其中机械通气平均时间为15.0 d。对照组男20例,女10例,出生胎龄31.2±2.45周,出生体重1 150±387 g,平均用氧时间2.4 d,其中机械通气时间0.45 d。实验组和对照组患儿的性别、胎龄、出生体重等差异无统计学意义($P>0.05$),但在平均用氧和机械通气时间上差异有统计学意义($P<0.01$)。所有入选者均有家长知情同意书和北京军区总医院的伦理委员会批准书。

1.2 方法

1.2.1 支气管肺泡灌洗 采用非纤维支气管镜支气管肺泡灌洗法(bronchoalveolar lavage, BAL),实验组取用氧30 d时间点(平均年龄生后32 d),对照组在入院30 d(平均年龄生后35 d)时,机械通气或气管插管新生儿镇静后经气管导管滴入37℃灭菌生理盐水,每次0.5 mL/kg,滴完后用复苏器加压给氧2~3次翻身拍背后,将吸引管沿气管插管迅速插入至遇到阻力后微上提,用小于6 kPa负压吸引,捻动吸引管边吸引边退出气管插管,整个操作过程在30 s内完成,双侧各3次。回收液离心(4℃, 500 r/min)10 min,取上清,置于-80℃冰箱保存备用^[3]。

1.2.2 IL-8 SP-A和TGFβ1的测定 分别用酶联免疫吸附(ELISA)法,参照试剂盒(北京华奥达康生物技术开发有限公司)操作说明进行。

1.2.3 统计学分析 数据以均数±标准差

($\bar{x} \pm s$)表示,采用SPSS 13.0 统计软件进行统计分析,使用独立样本 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

与对照组相比,BPD组肺泡灌洗液中TNF-β1表达明显升高,差异有统计学意义($P<0.01$)。同时BPD组IL-8含量明显高于对照组($P<0.01$)。而SP-A的趋势正相反,BPD组SP-A含量较低,明显低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组TGF-β1 IL-8和SP-A比较 ($\bar{x} \pm s$, μg/mL)				
组别	例数	TGF-β1	IL-8	SP-A
对照组	30	34 ± 13	28 ± 13	42 ± 14
BPD组	30	47 ± 15	54 ± 16	35 ± 16
t 值		4.266	4.95	-3.006
P 值		0.001	0.000	0.045

3 讨论

由于肺发育停滞是BPD特别是轻中度BPD的主要病理改变,因此关于肺发育的研究具有十分重要的意义。有研究指出TNF-α、TGF-β、IL-6或IL-11的过量表达可以使肺发育停滞^[4]。产前感染使各种炎性因子以及前列腺素水平增高,引起胎膜早破和早产,并且使胎儿暴露于宫内的炎性环境中,造成胎儿肺部损伤。产后全身性感染也可使BPD的发生率升高。但是炎性分子的表达与调控和肺损伤的相互关系有待深入研究。

TGF-β1主要来源于巨噬细胞、上皮细胞、内皮细胞和成纤维细胞,是一组多功能的调节细胞生长和分化的细胞因子^[5]。它是调节肺发育、细胞分裂、细胞外基质重建、呼吸道重建和调控炎症的主要调控器,参与肺损伤和修复两方面的机制,诱导凋亡、感染、纤维化和肺泡重塑,与BPD、CLD、肺纤维化等的发生密切相关^[6]。研究表明,TGF-β1对肺上皮成熟具有潜在抑制作用,影响肺的形态发生和上皮细胞分化,是BPD等肺疾病发生的重要危险因素^[7]。另有研究认为,TGF-β1可抑制支气管上皮细胞的角质分化及形态分化^[8]。TGF-β1还可通过抑制肺表面活性蛋白(surfactant protein, SP)的表达,使肺囊泡形成减少,从而影响新生肺的发育^[9]。本研究中,BPD组肺泡灌洗液中TGF-β1值显著高于对照组,说明TGF-β1在BPD患儿肺有过高表达,

可能与BPD患儿肺的异常发育与成熟有关。

IL-8是一个重要的炎性介质和免疫调节因子,主要功能是激活、趋化中性粒细胞到达炎症局部引起炎症反应,对中性粒细胞具有特异性趋化和活化作用^[10]。感染发生后通过激活机体的单核-巨噬细胞系统,产生大量炎性细胞因子如IL-8、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 等,这些高表达的细胞因子协同构成炎性细胞因子网络,发生炎性级联反应,从而引起病理性组织损伤^[11]。感染发生后患儿支气管上皮细胞、肺泡Ⅱ型细胞等表达IL-8增强,引起肺组织病理改变,与日后BPD、CLD的发生密切相关^[12]。本研究发现BPD患儿的支气管灌洗液中均可检测到高表达的IL-8,表明持续存在的炎症反应与BPD的发生密切相关。

肺表面活性物质(PS)是由肺泡Ⅱ型上皮细胞(AECⅡ)合成的一种含丰富磷脂蛋白的复合体,PS发生变化是新生儿NRDS、ALI/ARDS、BPD等肺疾病发病的重要机制之一。已有研究表明SP-A与上述疾病的严重程度呈正相关^[13]。SP-A通过调理素作用与细菌或病毒等表面的特异性碳水化合物结合,调节表面受体表达途径,增强对病原体的清除^[14]。另一方面,SP-A与病原菌结合后,激活巨噬细胞或其他吞噬细胞的吞噬清除功能,提高巨噬细胞内的超氧自由基和一氧化氮水平,增强吞噬细胞的杀菌能力^[15]。SP的表达受肺组织发育调控,肺内多种因子可影响SP-A的表达,如EGF、IFN- γ 可增加其表达,而TNF- α 、IL-8、IL-2等可抑制其表达。SP-A还可以剂量依赖方式下调多种促炎细胞因子如TNF- α 、IL-1 β 、IL-8、IL-6的合成与释放,抑制炎症反应,从而抑制肺部炎症的恶化^[13]。在本研究中,BPD组SP-A含量明显低于对照组,提示给予SP-A外源性治疗有可能为BPD的治疗手段之一。

总之,本研究显示BPD组肺泡灌洗液中TGF- β 1、IL-8含量明显升高,SP-A含量降低。这为我们更好地了解BPD的发病机制提供了基础,有效地防止新生儿感染,干预相关因子的表达,可能对于BPD的预防起到积极的作用。

[参 考 文 献]

[1] Taeusch HW, Ballard RA, Gleason CA. Avery's diseases of the newborn[M]. 8th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2004:723-

736.
[2] Jobe AH, Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2001, 163(7):1723-1729.
[3] Been JV, Zimmermann LJ, Debeer A, Kloosterboer N, van Iwaarden JF. Bronchoalveolar lavage fluid from preterm infants with chorioamnionitis inhibits alveolar epithelial repair[J]. Respir Res, 2009, 23(10):116.
[4] Jónsson B, Li YH, Noack G, Brauner A, Tullus K. Downregulatory cytokines in tracheobronchial aspirate fluid from infants with chronic lung disease of prematurity[J]. Acta Paediatr, 2000, 89(11):1375-1380.
[5] Gaede KI, Amicosante M, Schurmann M, Fireman E, Saltini C, Müller-Quernheim J. Function associated transforming growth factor-beta gene polymorphism in chronic beryllium disease[J]. J Mol Med, 2005, 83(5): 397-405.
[6] Kunzmann S, Speer CP, Jobe AH, Kramer BW. Antenatal inflammation induced TGF-beta1 but suppressed CTGF in preterm lungs[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2007, 292(1): 223-231.
[7] Ichiba H, Saito M, Yamano T. Amniotic fluid transforming growth factor-beta(1) and the risk for the development of neonatal bronchopulmonary dysplasia[J]. Neonatology, 2009, 96(3): 156-161.
[8] Harris WT, Muhlebach MS, Oster RA, Knowles MR, Noah TL. Transforming growth factor-beta(1) in bronchoalveolar lavage fluid from children with cystic fibrosis[J]. Pediatr Pulmonol, 2009, 44(11):1057-1064.
[9] Vicencio AG, Lee CG, Cho SJ, Eickelberg O, Chu Y, Haddad GG, et al. Conditional overexpression of bioactive transforming growth factor-beta1 in neonatal mouse lung: a new model for bronchopulmonary dysplasia? [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2004, 31(6):650-656.
[10] Saunders FD, Westphal M, Enkhbaatar P, Wang J, Pazdrak K, Nakano Y, et al. Molecular biological effects of selective neuronal nitric oxide synthase inhibition in ovine lung injury[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2010, 298(3): 427-436.
[11] Brander L, Sinderby C, Lecomte F, Leong-Poi H, Bell D, Beck J, et al. Neurally adjusted ventilatory assist decreases ventilator-induced lung injury and non-pulmonary organ dysfunction in rabbits with acute lung injury[J]. Intensive Care Med, 2009, 35(11):1979-1989.
[12] Su BH, Chiu HY, Lin TW, Lin HC. Interleukin-8 in bronchoalveolar lavage fluid of premature infants at risk of chronic lung disease[J]. J Formos Med Assoc, 2005, 104(4):244-248.
[13] Haczu A. Protective role of the lung collectins surfactant protein A and surfactant protein D in airway inflammation[J]. J Allergy Clin Immunol, 2008, 122(5):861-879.
[14] Todd DA, Marsh MJ, George A, Henderson NG, Barr H, Sebastian S, et al. Surfactant phospholipids, surfactant proteins, and inflammatory markers during acute lung injury in children[J]. Pediatr Crit Care Med, 2010, 11(1):82-91.
[15] Yu ZW, Zhang JH. Effect of inhaled budesonide on surfactant protein expression in asthmatic mice[J]. Allergy Asthma Proc, 2008, 29(5):486-492.

(本文编辑:王庆红)