

稳定期老年 COPD 患者下呼吸道细菌定植与肺功能的相关性

孟鸿琼, 龙琼华, 苏慧鹏, 金醒昉, 邓洁, 胡阳

(昆明医科大学附属延安医院老年病科, 云南 昆明 650031)

【摘要】 目的 研究稳定期老年慢性阻塞性肺疾病(COPD)患者不同程度肺功能下呼吸道细菌定植(LABC)情况,并探讨其相关性。方法 纳入2014年1月至2015年12月昆明医科大学附属延安医院老年病科慢病管理人群中诊断明确的老年(≥ 65 岁)稳定期COPD患者86例,对其诱导痰液或支气管肺泡灌洗液(BALF)进行细菌学定量,根据患者LABC情况分为LABC阳性者与LABC阴性者,应用酶联免疫吸附法(ELISA)检测患者血清白介素6(IL-6)、白介素8(IL-8)、超敏C反应蛋白(hs-CRP)及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平,同时测定肺活量(FVC)、第一秒用力呼气容积(FEV₁)、FEV₁%预计值(FEV₁%pred)、FEV₁/FVC。比较两组患者的肺功能及炎症因子水平。结果 86例COPD患者中有39例存在下呼吸道细菌定植,细菌定植率为45.35%;LABC阳性组患者的FEV₁%pred、FEV₁/FVC水平及急性发作次数分别为(35.35 \pm 8.21)%、(45.53 \pm 16.33)%、(1.45 \pm 0.55)次,LABC阴性组则分别为(48.15 \pm 6.23)%、(60.33 \pm 11.75)%、(1.175 \pm 0.25)次,两组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$);FEV₁<50%pre LABC阳性患者血清TNF- α 、IL-6、IL-8、hs-CRP水平分别为(173.4 \pm 15.7) μ g/L、(182.3 \pm 14.4) ng/L、(58.3 \pm 46.4) ng/L、(11.7 \pm 9.5) mg/L,FEV₁ \geq 50%pre LABC阳性患者的上述各项炎症因子水平分别为(136.3 \pm 18.1) μ g/L、(125.7 \pm 17.5) ng/L、(47.9 \pm 21.5) ng/L、(10.8 \pm 7.5) mg/L,两组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 LABC与肺功能的损害程度及COPD的加重有关,可能是影响COPD患者病情恶化的危险因素。

【关键词】 老年;稳定期老年慢性阻塞性肺疾病;下呼吸道细菌定植;炎症因子;肺功能

【中图分类号】 R563 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2018)20-2836-04

Correlation between lower airway bacterial colonization and lung function in elderly patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. MENG Hong-qiong, LONG Qiong-hua, SU Hui-peng, JIN Xing-fang, DENG Jie, HU Yang. Department of Geriatrics, Yan'an Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650031, Yunnan, CHINA

【Abstract】 Objective To study the lower airway bacterial colonization (LABC) in elderly patients with stable chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in different degrees of lung function and to explore their correlation. **Methods** A total of 86 patients with stable COPD in the elderly (≥ 65 years old) were selected, who were diagnosed in the Department of Geriatrics at the Yan'an Affiliated Hospital of Kunming Medical University from January 2014 to December 2015. The bacteriological quantification of induced sputum or bronchoalveolar lavage fluid (BALF) from the patients were performed. According to the results of LABC, these patients were divided into LABC-positive group and LABC-negative group. Then serum level of interleukin 6 (IL-6), interleukin 8 (IL-8), hypersensitive C-reactive protein (hs-CRP) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume in first second (FEV₁), FEV₁% predicted value (FEV₁%pred), and FEV₁/FVC ratio were measured simultaneously. Pulmonary function and the levels of inflammatory factors were com-

基金项目:云南省教育厅科学研究基金项目(编号:2014Y164);云南省昆明市卫生和计划生育委员会医药卫生科技计划项目(编号:2018-03-02-009)

通讯作者:龙琼华。E-mail:215172575@qq.com

- [5] 石佳泉, 李国贤, 陈彬, 等. 急诊床边血液灌流抢救急性重度有机磷农药中毒的临床疗效评价[J]. 中国当代医药, 2017, 24(34): 34-36.
- [6] 李山峰, 沈雁波, 王萌, 等. 急性有机磷农药中毒并发呼吸衰竭的 Logistic 分析[J]. 吉林医学, 2016, 37(10): 2448-2451.
- [7] 刘炳烦, 黄莹, 林珮仪, 等. 急诊早期床旁血液灌流抢救急性重度中毒患者临床分析[J]. 岭南急诊医学杂志, 2016, 21(4): 341-342, 362.
- [8] Karami-Mohajeri S, Nikfar S, Abdollahi M, et al. A systematic re-

view on the nerve-muscle electrophysiology in human organophosphorus pesticide exposure [J]. Hum Exp Toxicol, 2014, 33(1): 92-102.

- [9] Wu GM, Mou M, Mo LQ, et al. Penicillidone hydrochloride postconditioning on lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibition of inflammatory factors in a rodent model [J]. J Surg Res, 2015, 195(1): 219-227.
- [10] 张丽丽, 孙莹杰, 张铁铮. 盐酸戊乙奎醚对心肺转流患者肠损伤和炎症因子的影响[J]. 临床麻醉学杂志, 2011, 27(4): 328-330.

(收稿日期:2018-06-24)

pared between the two groups. **Results** There were 39 patients with LABC in 86 patients with COPD, and the bacterial colonization rate was 45.35%. The level of FEV₁%pred, FEV₁/FVC ratio and the number of acute episodes in LABC-positive group were (35.35±8.21)%, (45.53±16.33)%, (1.45±0.55) times, respectively, and the corresponding data in LABC-negative group were (48.15±6.23)%, (60.33±11.75)% and (1.175±0.25) times, respectively; the differences between the two groups were statistically significant ($P<0.05$). The serum level of TNF- α , IL-6, IL-8 and hs-CRP in LABC-positive patients with FEV₁<50%pre were (173.4±15.7) μ g/L, (182.3±14.4) ng/L, (58.3±46.4) ng/L and (11.7±9.5) mg/L, respectively, and the corresponding levels of above inflammatory factor in LABC-positive patients with FEV₁≥50%pre were (136.3±18.1) μ g/L, (125.7±17.5) ng/L, (47.9±21.5) ng/L and (10.8±7.5) mg/L; the differences between the two groups were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** LABC is related to the degree of lung dysfunction and the aggravation of COPD, which may be a risk factor for the progression of COPD patients.

【Key words】 Elderly; Elderly stable chronic obstructive pulmonary disease; Lower airway bacterial colonization; Inflammatory factor; Lung function

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一个全球性健康问题,发病率不断上升,病死率高,严重影响人类健康,但又不完全被认识,且尚无有效的治疗方法。目前认为细菌感染是COPD急性加重的重要危险因素,80%的AECOPD患者由下呼吸道感染引起,其中40%~50%的患者存在细菌感染。而相关研究发现稳定期COPD患者存在下呼吸道细菌定植(lower airway bacterial colonization, LABC)^[1],但LABC与AECOPD关系未完全清楚,为了明确下呼吸道细菌定植对COPD患者的影响,本研究通过对不同肺功能稳定期老年COPD患者LABC情况进行分析,从而探讨LABC与肺功能的关系,以及对急性加重的影响,为进一步明确AECOPD病因及治疗提供更多的临床依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2014年1月至2015年12月在昆明医科大学附属延安医院老年病科慢病管理人群中诊断明确且符合以下纳入与排除标准的老年(≥65岁)稳定期COPD患者86例。入选标准:(1)老年COPD患者,年龄≥65岁;(2)COPD诊断标准符合中华医学会呼吸分会慢性阻塞性肺疾病诊治指南^[2];(3)COPD稳定期:既往6周无急性加重症状,近4周末使用抗生素;(4)既往1年急性加重发作至少1次;(5)所有患者均知情同意并签署知情同意书。排除标准:(1)哮喘;支气管扩张;支气管肿瘤及其他明确肺部疾病患者;(2)全身糖皮质激素治疗剂量>20 mg/d;(3)既往确诊免疫系统疾病;(4)有其他感染性疾病者。

1.2 研究方法 根据痰液及BALF细菌培养结果将患者分为ALBC阳性组及LABC阴性组。

1.2.1 痰标本收集与培养 入选患者在医师指导下,有痰者晨漱口后深咳的第一口痰于无菌瓶中,无痰者于3%的生理盐水雾化10 min后导痰,立即送检。盐水洗涤后每低倍镜视野下白细胞数>25个,上皮细胞数<10个为合格标本,将标本稀释10⁶倍,接种孵化后进行菌落计数和菌型分离鉴定;行气管镜者,予80 mL生

理盐水冲洗收集肺泡灌洗液,稀释至10³行细菌菌落计数及分离鉴定。细菌定量≥10⁷ cfu/mL或BALF≥10⁴ cfu/mL者判定为下呼吸道细菌定植(LABC)^[3]。

1.2.2 炎症因子测定 入组患者清晨空腹静脉血5 mL,2 000 r/min进行离心15 min,取上清液保存于-70℃待检,采用酶联免疫吸附试验检测血清白介素-6(IL-6)、白介素-8(IL-8)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平;采用速率散射免疫比浊法检测血超敏C-反应蛋白(hs-CRP)水平。

1.2.3 肺功能检测 采用德国Jaceger公司Master PET设备检测肺活量(FVC);第一秒用力呼气容积(FEV₁);FEV₁%占预计值(FEV₁%pred);FEV₁/FVC值。

1.3 统计学方法 应用SPSS19.0统计学软件进行数据分析,计量数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间均数比较采用 t 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者的基本情况 86例患者中男性76例,女性10例;平均年龄(77±9.54)岁;体质指数(BMI)平均(22.72±3.28) kg/m²;血气分析结果:氧分压(PO₂)均值(65.19±7.17) mmHg,二氧化碳分压(PCO₂)均值(59.82±8.29) mmHg;FEV₁平均值(1.15±0.38) L,FEV₁%pred平均值(48.55±13.58)%,FEV₁/FVC平均值(54.2±11.6)%。研究期间出现急性发作≥1次者34例;有2种或以上合并症者56例,主要为冠心病、高血压、糖尿病。

2.2 痰细菌培养结果 86例患者中39例(45.35%)存在LABC,其中流感嗜血杆菌13例(33.3%);肺炎链球菌8例(20.5%);铜绿假单胞菌5例(12.8%);副流感嗜血杆菌3例(7.7%);大肠埃希菌6例(15.4%);卡他莫拉菌2例(5.1%);金黄色葡萄球菌1例(2.6%);鲍曼不动杆菌1例(2.6%)。34例急性加重患者有11例接受纤维支气管镜检查,BALF细菌培养菌落计数≥10⁴ cfu/mL者6例,占54.6%,主要致病菌仍为流感嗜血杆菌,有3例痰检阴性者BALF为肺炎链球

菌、流感嗜血杆菌及大肠埃希菌。

2.3 稳定期COPD患者肺功能与LABC的关系 入选患者根据肺功能情况分为 $FEV_1 \geq 50\% \text{pred}$ 及 $FEV_1 < 50\% \text{pred}$ 两组。 $FEV_1 \geq 50\% \text{pred}$ 患者46例,LABC阳性16例(34.8%); $FEV_1 < 50\% \text{pred}$ 患者40例,LABC阳性23例(57.5%),其中有5例存在两种致病菌。 $FEV_1 \geq 50\% \text{pred}$ LABC阳性患者的细菌定植量为 (5.52 ± 0.64) , $FEV_1 < 50\% \text{pred}$ LABC阳性患者细菌定植量为 (7.21 ± 0.27) (细菌定植量已进行对数处理),两组细菌定植量比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.4 稳定期COPD LABC阳性和LABC阴性患者的肺功能比较 稳定期COPD LABC阳性患者的 $FEV_1\% \text{pred}$ 、 $FEV_1/FVC\%$ 明显低于LABC阴性患者,而每年急性加重风险的次数LABC阳性患者明显高于LABC阴性患者,两者比较差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表1。

表2 稳定期COPD患者不同肺功能LABC情况与炎症因子水平比较($\bar{x} \pm s$)

炎症因子	$FEV_1 \geq 50\% \text{pre}$		t值	P值	$FEV_1 < 50\% \text{pre}$		t值	P值
	LABC阳性(n=39)	LABC阴性(n=47)			LABC阳性(n=23)	LABC阴性(n=17)		
TNF- α ($\mu\text{g/L}$)	136.3 \pm 18.1 ^a	79.5 \pm 10.4 ^b	2.130	0.045	173.4 \pm 15.7 ^a	98.7 \pm 17.5 ^b	3.532	0.001
IL-6 (ng/L)	125.7 \pm 17.5 ^a	76.3 \pm 14.7 ^b	2.115	0.037	182.3 \pm 14.4 ^a	100.3 \pm 15.7 ^b	2.714	0.017
IL-8 (ng/L)	47.9 \pm 21.5 ^a	25.9 \pm 18.7 ^b	2.476	0.019	58.3 \pm 46.4 ^a	31.8 \pm 13.2 ^b	3.763	0.006
hs-CRP (mg/L)	10.8 \pm 7.5 ^a	4.6 \pm 3.2 ^b	3.063	0.007	15.7 \pm 9.5 ^a	4.8 \pm 5.2 ^b	8.603	0.001

注:LABC阳性两组比较,^a $P < 0.05$;LABC阴性两组比较,^b $P < 0.05$ 。

3 讨论

稳定期COPD患者确实存在LABC,是导致呼吸道感染的重要因素之一。健康非吸烟人群下呼吸道是无菌的,机体只有在防御功能低下时才会出现细菌感染。有学者认为COPD患者有可能是由于肺及肺外器官结构及功能发生病理改变,防御机能遭到破坏,为细菌定植提供了有利条件^[4]。定植病原菌激发慢性气道炎症反应、细胞炎症因子释放、气道分泌物增加,致一过性或持续气道高反应,细菌定植量进一步增加,形成恶性循环,诱发COPD急性发作,加重病情^[5-6]。本研究结果显示 $FEV_1\% \text{pred} < 50\%$ 的患者LABC定植率显著高于 $FEV_1\% \text{pred} \geq 50\%$ 者,并出现两种以上细菌生长,铜绿假单胞菌及大肠埃希菌G杆菌有增加趋势,甚至出现鲍曼不动杆菌,有5例患者出现两种致病菌。同时 $FEV_1\% \text{pred} < 50\%$ 的患者TNF- α 、IL-6、IL-8、hs-CRP炎症因子水平较 $FEV_1\% \text{pred} \geq 50\%$ 者显著升高,特别LABC阳性组升高更明显,且这类患者每年急性加重风险次数均在1次或以上,该类患者存在严重的炎症反应,提示气道阻塞越严重,细菌越易定植。表明LABC与气道阻塞及炎症相关, FEV_1 降低可能是ALBC的风险因素,其相互作用引起COPD反复急性发作,是COPD病情加重的先兆。

表1 稳定期COPD LABC阳性和LABC阴性患者的肺功能的比较($\bar{x} \pm s$)

类型	例数	$FEV_1\% \text{pred}$	$FEV_1/FVC(\%)$	急性发作次数
LABC阳性	39	35.35 \pm 8.21	45.53 \pm 16.33	1.45 \pm 0.55
LABC阴性	47	48.15 \pm 6.23	60.33 \pm 11.75	1.175 \pm 0.25
P值		0.001	0.004	0.006
t值		3.354	2.479	2.337

2.5 稳定期COPD患者不同肺功能LABC与炎症因子水平比较 肺功能为 $FEV_1 < 50\% \text{pre}$ 的COPD患者不论LABC阳性还是阴性,血清TNF- α 、IL-6、IL-8、hs-CRP水平均明显高于 $FEV_1 \geq 50\% \text{pre}$ 患者,差异均有统计学意义($P < 0.05$);但LABC阳性者血清TNF- α 、IL-6、IL-8、hs-CRP水平明显高于LABC阴性者,即使是LABC阳性, $FEV_1 < 50\% \text{pre}$ 的患者血清TNF- α 、IL-6、IL-8、hs-CRP水平也明显高于 $FEV_1 \geq 50\% \text{pre}$ 者,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表2。

本研究还显示COPD与急性发作时期的主要致病菌相同,菌落计数与COPD急性加重程度相一致,但确实未对同一细菌鉴别不同菌株,关于这一点Sethi等^[7]指出未能发现菌株在疾病演化过程中的动态变化是这些研究的共同弊端,本研究也没有突破此局限。但研究却发现在AECOPD病程中检出新菌株的比例有所增加,以G-杆菌为主,这与国内一项大型多中心研究结果相一致^[8],而且检出新菌株的患者 FEV_1 均在30%pre以下,气道阻塞更严重,TNF- α 、IL-6、IL-8、hs-CRP炎症因子升高更明显,气道分泌物增多,提示AECOPD发生可能与新菌株感染有关。Sethi等^[7]在超过18个月560例AECOPD及2449例稳定期患者的研究中也提到,新感染的菌株与AECOPD呈正相关,但相关性小。因此有学者提出定植细菌负荷增加可能是COPD加重的一个重要因素,而新感染菌株可能是引起症状加重的另一主要原因。本研究的缺点是样本量小,另一方面LABC不仅局限于大气道,也可扩展至周围气道,常规痰液培养结果可能低估了气道细菌定植情况,其次痰培养及BALF菌落计数阈值标准对实验结果也会产生影响,因此随着分子生物学、细菌负荷定量分析及气管镜技术的发展,致病菌的检出将会进一步提高。现在正探索应用先进的非细菌培养技术,即分子生物学检测细菌基因,将会更好地揭示

COPD疾病发展过程中细菌变化情况及展开同源性分析提供有利条件。

此外,本研究还显示,LABC阳性患者炎性因子显著高于LABC阴性者,尤其是肺功能低下者更为显著,即使是LABC阳性者,FEV₁%pred<50%与FEV₁%pred≥50%两者间也存在差异。Sethi等^[9]在分析细菌感染与COPD关系的众多研究成果时发现,LABC有可能是稳定期COPD气道炎症的独立刺激因素,这一观点在Akutsu等^[10]和Remels等^[11]研究中得到证实,指出LABC的程度与IL-8浓度呈正相关,IL-8上调细胞因子浓度,刺激中性粒细胞和淋巴细胞介入,促进免疫反应,这类患者机体免疫力低下,健康状况更差。纳入观察的患者在1年的随访中,FEV₁%pred<50%者出现耐药菌株比例增加,特别是FEV₁%pred<30%者,呼吸困难更明显,急性发作次数也明显增加,存在与日常呼吸困难症状相关的倾向。

综上所述,稳定期COPD老年患者LABC与肺功能损害程度有关,LABC是导致COPD急性发作的一个重要危险因素,加剧气道炎症及阻塞,诱发AECOPD。在过去的25年,AECOPD的治疗并没有获得实质性进展^[12],如果根据LABC的细菌学特点,结合PCT及嗜酸粒细胞等标志物,采用有效的抗菌治疗将细菌负荷降至最低水平,是否会减缓疾病的进一步发展;其次90%的老年COPD患者伴有营养不良,肺功能更差,如果改善这类患者的营养状态,阻止或抑制LABC定植,是否也会减少急性加重的风险次数;再者他汀类药物除强效调脂外,还具有抗炎、抗氧化、抗增殖及抗细胞凋亡等多效性作用,如果根据患者情况联合他汀类药物,抑制炎症反应,影响LABC,是否也会改善患者症状和预后,这是本课题研究的最终目的,期望能通过该研究探索其治疗的可行性、安全性及有效性提供更多临床依据。

参考文献

- [1] Akutsu M, Ogura N, Ito K, et al. Effects of interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α on macrophage inflammatory protein-3 α production in synovial fibroblast-like cells from human temporomandibular joints [J]. *J Oral Pathol Med*, 2013, 42(6): 491-498.
- [2] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013年修订版) [S]. *中华结核和呼吸杂志*, 2013, 36(4): 255-264.
- [3] Gomez J, Bafios V, Garcfa Martin E. COPD and bacterial colonization: therapeutic implications [J]. *Rev Esp Quimioter*, 2005, 18(2): 187-191.
- [4] 于丽, 何永正. 下呼吸道细菌定植和稳定期COPD患者免疫状况的关系[J]. *海南医学*, 2015, 21(2): 208-210.
- [5] Pfeffer PE, Mann EH, Hornsby E, et al. Vitamin D influences asthmatic pathology through its action on diverse immunological pathways [J]. *Ann Am Thorac Soc*, 2014, 11(Suppl 5): S314-321.
- [6] Hillas G, Perlikors F, Toupanakis D, et al. Controlled mechanical ventilation attenuates the systemic inflammation of severe chronic obstructive pulmonary disease exacerbations [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2016, 193(6): 696-698.
- [7] Sethi S, Sethi R, Eschberger K, et al. Airway bacterial concentrations and exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2007, 176(4): 356-361.
- [8] Martines FJ, Erb-Downward JR, Huffnagle GB. significance of the microbiome in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Ann Am Thorac Soc*, 2015, 10(Suppl): S170-S179.
- [9] Sethi S, Timothy F. Murphy. Bacterial infection in chronic obstructive pulmonary disease in state-of-the-art review [J]. *Clinic Microbiology Reviews*, 2014, 14(2): 336-363.
- [10] Akutsu M, Ogura N, Ito K, et al. Effects of interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α on macrophage inflammatory protein-3 α production in synovial fibroblast-like cells from human temporomandibular joints [J]. *J Oral Pathol Med*, 2013, 42(6): 491-498.
- [11] Remels AH, Gosker HR, Langen RC, et al. Classical NF- κ B activation impairs skeletal oxidative phenotype by reducing IKK- α expression [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842(2): 175-185.
- [12] Aaron SD. Management and prevention of exacerbations of COPD [J]. *BMJ*, 2014, 349: 5237-5248.

(收稿日期:2018-05-15)