

• 临床研究 •

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.04.005

CD4⁺T 细胞亚型及其相关炎性因子在 NE-FE-COPD 患者中的表达及意义^{*}杨春晓¹, 叶婷², 余维巍^{1△}

(华中科技大学同济医学院附属同济医院:1. 老年医学科;2. 临床营养科, 武汉 430030)

[摘要] **目的** 探讨中性粒细胞优势型频繁急性加重型的慢性阻塞性肺疾病(NE-FE-COPD)患者 CD4⁺T 细胞亚型及其相关炎性因子的表达及意义。**方法** 选取 2019 年 3 月至 2021 年 3 月在该院治疗的 COPD 患者为研究对象,按照不同表型分为非频繁急性加重型 COPD 组(IE-COPD 组, $n=11$)、嗜酸性粒细胞优势型频繁急性加重型 COPD 组(Eos-FE-COPD 组, $n=13$)、中性粒细胞优势型频繁急性加重型 COPD 组(NE-FE-COPD 组, $n=15$),肺功能正常及吸烟史 >10 包/年者为对照组(CTRL 组, $n=9$)。采集各组支气管肺泡灌洗液(BALF),流式细胞术检测 CD4⁺T 细胞亚型表达,ELISA 测定炎性因子水平,分析其与肺功能和急性加重频率的相关性。CD4⁺CD28^{null}T 细胞和 CD4⁺CD28⁺T 细胞与人气道上皮细胞(hAECs)进行共培养后分为 co-culture 组和 Control 组,免疫荧光染色观察 hAECs 紧密连接损伤情况,RT-qPCR 和 Western blot 检测 ZO-1 和 occludin mRNA 及蛋白表达水平。**结果** NE-FE-COPD 组 BALF 中 CD4⁺CD28^{null}T 细胞占比、白细胞介素(IL)-1 β 水平高于 CTRL 组、IE-COPD 组、Eos-FE-COPD 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。CD4⁺CD28^{null}T 细胞占比、IL-1 β 水平与肺功能呈负相关($P<0.05$),与急性加重频率呈正相关($P<0.05$)。与 Control 组比较,co-culture 组 hAECs 紧密连接受损,ZO-1 和 occludin mRNA 及蛋白表达水平降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** CD4⁺CD28^{null}T 细胞和 IL-1 β 可能参与 NE-FE-COPD 的发生和发展。

[关键词] 慢性阻塞性肺疾病;CD4⁺CD28^{null}T 细胞;白细胞介素-1 β

[中图法分类号] R563.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2024)04-0502-06

Expression and significance of CD4⁺T cell subtypes and their associated inflammatory factors in NE-FE-COPD patients^{*}YANG Chunxiao¹, YE Ting², YU Weiwei^{1△}

(1. Department of Geriatric Medicine, Tongji Hospital Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430030, China; 2. Department of Clinical Nutrition, Tongji Hospital Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430030, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of CD4⁺T cell subtypes and related inflammatory factors in patients with neutrophil-predominant frequent acute exacerbation chronic obstructive pulmonary disease (NE-FE-COPD). **Methods** COPD patients who were treated in the hospital from March 2019 to March 2021 were selected as the research objects. According to different phenotypes, they were divided into the infrequent exacerbator COPD group (IE-COPD group, $n=11$), the eosinophilic dominant frequent acute plus severe COPD group (Eos-FE-COPD group, $n=13$), and the neutrophil dominant frequent exacerbator COPD group (NE-FE-COPD group, $n=15$). Patients with normal lung function and smoking history >10 packs/year were the control group (CTRL group, $n=9$). Bronchoalveolar lavage fluid (BALF) was collected from each group, and the expression of CD4⁺T cell subtypes and inflammatory factors were detected by flow cytometry. The correlation between BALF and lung function and the frequency of acute exacerbation was analyzed. CD4⁺CD28^{null}T cells and CD4⁺CD28⁺T cells were co-cultured with human airway epithelial cells (hAECs) and divided into co-culture group and Control group. The damage of hAECs was observed by immunofluorescence staining, and the mRNA and protein expression levels of ZO-1 and occludin were detected by RT-qPCR and Western blot. **Results** The proportion of CD4⁺CD28^{null}T cells and IL-1 β level in BALF in the

NE-FE-COPD group were higher than those in the CTRL group, the IE-COPD group, and the Eos-FE-COPD group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The proportion of $CD4^+ CD28^{null}$ T cells and IL-1 β level were negatively correlated with lung function ($P < 0.05$), and positively correlated with acute exacerbation frequency ($P < 0.05$). Compared with the Control group, hAECs tight junctions were damaged in the co-culture group, and mRNA and protein expression levels of ZO-1 and occludin decreased, with statistical significance ($P < 0.05$). **Conclusion** $CD4^+ CD28^{null}$ T cells and IL-1 β may be involved in the occurrence and development of NE-FE-COPD.

[Key words] chronic obstructive pulmonary disease; $CD4^+ CD28^{null}$ T cells; interleukin 1 β

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是以肺部气流受限为主要表现的慢性不可逆呼吸系统疾病^[1]。频繁急性加重 (frequent exacerbator, FE) 型是 COPD 中最常见的表型之一, 患者生活质量较差, 社会经济负担重^[2]。按主要致炎细胞不同, 可将其分为中性粒细胞优势型频繁急性加重型 (NE-FE-COPD) 和嗜酸性粒细胞优势型频繁急性加重型 (Eos-FE-COPD)^[3-4]。Eos-FE-COPD 患者激素治疗效果较好^[5-6]。NE-FE-COPD 患者诱导痰及支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 的中性粒细胞所占比例明显增加, 气道及全身炎症因子表达升高, 对激素治疗不敏感且患者临床治疗效果较差^[7-8], 急需进一步了解其发病机制以寻求新的治疗手段。

$CD4^+$ T 细胞是参与 COPD 发生、发展的主要免疫细胞之一^[9]。连续刺激的 T 细胞归巢受体及共刺激分子 CD28 表达降低, 从而形成 $CD4^+ CD28^{null}$ T 细胞, 是一种代表细胞免疫功能老化的表型。 $CD4^+ CD28^{null}$ T 细胞受刺激后重复增殖, 生成大量炎症因子如白细胞介素 (interleukin, IL)-1 β 、 γ -干扰素 (interferon- γ , IFN- γ)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α), 伴随细胞毒性分子穿孔素和颗粒酶 B 的蛋白表达升高, 形成 COPD 炎症微环境^[9]。本研究旨在通过研究 $CD4^+$ T 细胞亚型及相关炎症因子在不同表型 COPD 患者中的表达, 探讨其作用机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 3 月至 2021 年 3 月于本院接受治疗的 COPD 患者为研究对象, 收集受试者的详细临床病史, 采用标准肺功能检测方法对其进行综合肺功能测试。根据慢性阻塞性肺疾病全球倡议 (global initiative for chronic obstructive lung disease, GOLD) 2021 的诊断标准, 按病史将 COPD 患者分为 FE-COPD 组 ($n = 28$) 和非频繁急性加重型组 (IE-COPD 组, $n = 11$)。FE-COPD 组为每年至少要经历 2 次或以上急性加重, 需补充抗生素和/或全身性类固醇治疗或住院治疗, 且每次急性加重在前次疾病治疗稳定后至少 4 周再出现; 未达到上述要求患者纳入 IE-COPD 组。依据诱导痰嗜酸性粒细胞、中性粒细胞的比例, 以及

IL-1 β 、IL-4、IL-5、TNF- α 水平, 将 FE 型再分为嗜酸性粒细胞优势组 (Eos-FE-COPD 组, $n = 13$) 与中性粒细胞优势组 (NE-FE-COPD 组, $n = 15$)^[7-8]。鉴于 IE 型患者病情稳定, GOLD 多年来治疗建议没有变化, 故本文不再做细胞亚型分组。COPD 纳入标准: (1) 40~80 岁; (2) 吸烟史 > 10 包/年; (3) 第 1 秒用力呼气容积占预测值百分比 (FEV1/pred%) 和用力肺活量 (FVC) 的比值 $\leq 70\%$; (4) 入组前至少 4 周无急性发作。排除标准: (1) 其他呼吸系统疾病, 如发作性气胸、肺栓塞、哮喘、肺纤维化及中心型肺癌等; (2) 其他慢性疾病, 如心功能不全、类风湿性关节炎、慢性结肠炎等; (3) 既往 3 个月内中风、短暂性脑缺血发作、急性冠状动脉综合征等; (4) 哺乳期、妊娠期或计划妊娠; (5) 过去 12 个月内有肺切除手术史, 或其他可能影响肺功能检查结果的手术史; (6) 未治愈的恶性肿瘤及酗酒、药物成瘾; (7) 有精神病史、智力问题等不能配合本研究的相关检查; (8) 不能纠正的出血倾向、多发肺大疱、一般状况极差不能耐受支气管镜检查。对照组 (CTRL 组, $n = 9$) 为肺功能正常及吸烟史 > 10 包/年者。本研究获得医院伦理委员会批准 (2019PS342K), 患者及家属签署知情同意书。各组受试者临床基线资料见表 1。

1.2 方法

1.2.1 标本采集

入组 24 h 内用 100 mL 生理盐水对所有受试者行支气管镜肺泡灌洗术, 负压回收量 $> 40\%$ 定义为回收成功, Ficoll 密度梯度离心及贴壁法原代分离 BALF 的单核细胞。

1.2.2 流式细胞术检测 $CD4^+$ T 细胞亚群表达

应用流式细胞仪 (美国 BD 公司, FACSCantoTM II) 检测患者 BALF 标本 $CD4^+ CD28^+$ T 细胞、 $CD4^+ CD28^{null}$ T 细胞占比, 分析 $CD4^+$ T 细胞亚群比例和不同表型 COPD 的相关性。实验方法和步骤: (1) 细胞悬液采用荧光素异硫氰酸酯 (FITC) 标记的抗 $CD4$ 和/或电子偶合染料 (ECD) 标记的抗 $CD28$ 染色 30 min; (2) 细胞清洗后取单细胞悬液 $(1 \sim 2) \times 10^5$ 个细胞于 10 mL PBS 中, 置于流式细胞仪, 分别对 $CD4^+ CD28^{null}$ T 细胞及总 $CD4^+$ T 细胞的数量进行检测。 $CD4^+ CD28^{null}$ T 细胞占比 = $CD4^+ CD28^{null}$ T 细胞数 /

总 CD4⁺T 细胞数×100%。

1.2.3 ELISA 检测炎症因子水平

采用 ELISA 检测 BALF 中 IL-1β、IL-2、IL-6、IL-8 和 TNF-α 水平,试剂盒购自武汉云克隆科技有限公司,操作步骤按照说明书执行。

1.2.4 细胞共培养

向荧光示踪分子 CFSE 所标记的人气道上皮细胞(hAECs)分别添加 CD4⁺CD28^{null}T 细胞和 CD4⁺CD28⁺T 细胞,分为 CD4⁺CD28⁺T 细胞+hAECs 组(Control 组)和 CD4⁺CD28^{null}T 细胞+hAECs 组(co-culture 组),共培养 72 h 后采样。

1.2.5 免疫荧光染色

CD4⁺CD28^{null}T 细胞和 CD4⁺CD28⁺T 细胞对上皮细胞刺激 72 h,甲醇-丙酮混合液(50 : 50)将上皮细胞固定,0.3%(体积分数)Triton X-100 通透,5%(质量分数)脱脂奶粉密封。部分细胞用 Alexa Fluor 488 标记 anti-occludin 抗体(1 : 100,美国 Invitrogen 公司)直接染色,部分细胞用 anti-ZO-1 抗体(1 : 200,美国 Invitrogen 公司)孵育过夜后,加入 Alexa 488 标记的二抗。DAPI 复染封片后在激光共聚焦显微镜(日本 Olympus 公司,IX81)下进行观察。

表 1 各组受试者的临床基线资料比较

项目	CTRL 组 (n=9)	IE-COPD 组 (n=11)	Eos-FE-COPD 组 (n=13)	NE-FE-COPD 组 (n=15)
年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	56.6±10.3	58.3±11.8	52.3±13.8 ^a	59.8±11.8
性别(男/女,n/n)	6/3	6/5	9/4	12/3
吸烟史($\bar{x}\pm s$,包/年)	40.5±5.5	42.7±6.0	39.8±5.8	49.6±9.8
诱导痰 Eos 绝对值($\bar{x}\pm s$,×10 ³ /L)	16.0±6.7	32.0±10.6 ^a	183.0±25.7 ^b	58.0±11.3 ^b
诱导痰 Eos 比例($\bar{x}\pm s$,%)	5.1±0.8	12.4±2.8 ^a	53.7±10.5 ^{ab}	18.7±3.9 ^a
FEV1/pred%($\bar{x}\pm s$,%)	89.4±8.9	45.6±5.8 ^a	36.6±5.1 ^a	33.2±4.8 ^a
FEV1/FVC($\bar{x}\pm s$,%)	94.1±5.3	51.4±4.1 ^a	47.2±7.6 ^a	40.8±6.9 ^{ab}
急性加重次数($\bar{x}\pm s$,次/年)	0	0.8±0.1	2.6±0.7 ^b	2.2±1.6 ^b

^a:P<0.05,与 CTRL 组比较;^b:P<0.05,与 IE-COPD 组比较。

1.2.6 Western blot 检测 ZO-1、occludin 蛋白表达水平

提取细胞,添加蛋白裂解液及蛋白酶抑制剂使细胞完全裂解,放入冰上静置 30 min 析出组织或细胞碎片,12 000 r/min 4 ℃离心 30 min,取上清液,BCA 法定量蛋白,将含 β-巯基乙醇缓冲液以 1 : 3 的量加入蛋白上清液内,在 100 ℃水浴锅内加热变性 5 min。制备 10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺分离胶和浓缩胶,添加 6 μL 蛋白样品和蛋白 marker 电泳分离蛋白条带。当电泳完成时,在 300 mA 恒流中进行转膜,在常温下将脱脂牛奶密封 2 h,TBST 洗膜 3 次,每次 5 min。加入稀释后的一抗 ZO-1(1 : 1 000)、occludin-1(1 : 1 000)、GAPDH(1 : 1 000),于 4 ℃摇床孵育过夜。TBST 溶液洗涤 3 次,每次 5 min,放入 HRP 标记山羊抗兔二抗(1 : 5 000)常温振荡 1 h 后,再将 TBST 溶液洗涤 3 次,每次 5 min。最后将 ECL 发光液均匀滴加到凝胶成像仪上,曝光拍照。利用 ImageJ 软件实现蛋白的灰度扫描及相对定量分析,每个样品试验重复 3 次。

1.2.7 RT-qPCR 检测 ZO-1、occludin mRNA 表达水平

使用 TRIzol 提取剂(美国 Invitrogen 公司)提取细胞并分离总 RNA。使用相同数量的 RNA 和

Roche 第一链 cDNA 合成试剂盒(美国 Roche 公司)进行 cDNA 合成;采用 Bio-Rad CFX96 荧光定量 PCR 仪,SYBR Green PCR Master Mix 进行 RT-qPCR 检测;管家基因 GAPDH 归一化 mRNA 的相对水平。引物序列:ZO-1 正向引物为 5'-AGC GAA AAC CCG AAA CTG ATG-3',反向引物为 5'-TGA TAC TGA GTT GCC TTC ACC CT-3';occludin 正向引物为 5'-ATA ATG GGA GTG AAC CCG ACG-3',反向引物为 5'-CCA CGA TAA TCA TGA ACC CCA-3';GAPDH 正向引物为 5'-TCA ACG ACC ACT TTG TCA AGC TCA-3',反向引物为 5'-GCT GGT GGT CCA GGG GTC TTA CT-3'。

1.3 统计学处理

采用 SPSS26.0 软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料以例数或者百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验。相关性应用 Pearson 相关分析。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组 CD4⁺CD28^{null}T 细胞占比情况

与 CTRL 组比较,IE-COPD 组 CD4⁺CD28^{null}T 细胞占比明显升高(*P*<0.05);Eos-FE-COPD 组、NE-FE-COPD 组 CD4⁺CD28^{null}T 细胞占比较 IE-

COPD 组明显升高 ($P < 0.05$); NE-FE-COPD 组 $CD4^+CD28^{null}$ T 细胞占比较 Eos-FE-COPD 组明显升高 ($P < 0.05$), 见图 1。

2.2 各组炎症因子水平比较

与 CTRL 组、IE-COPD 组比较, Eos-FE-COPD 组、NE-FE-COPD 组 IL-1 β 水平明显升高 ($P < 0.05$); NE-FE-COPD 组 IL-1 β 水平高于 Eos-FE-COPD 组 ($P < 0.05$)。与 CTRL 组比较, Eos-FE-COPD 组 IL-2 水平升高, IE-COPD 组、Eos-FE-COPD 组、NE-FE-COPD 组 IL-6 水平升高, NE-FE-COPD 组 IL-8 水平升高, Eos-FE-COPD 组、NE-FE-COPD 组 TNF- α 水平升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 2。

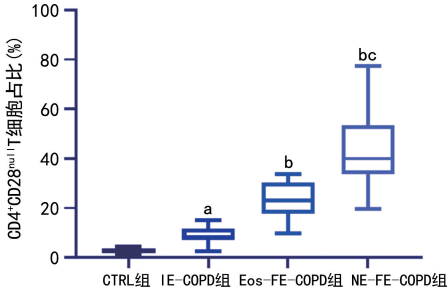
2.3 $CD4^+CD28^{null}$ T 细胞占比及炎症因子水平与肺功能、急性加重频率的相关性分析

$CD4^+CD28^{null}$ T 细胞占比、IL-1 β 水平与肺功能呈负相关 ($P < 0.05$), 与急性加重频率呈正相关 ($P <$

0.05); IL-2、IL-6、IL-8、TNF- α 水平与肺功能和急性加重频率无相关性 ($P > 0.05$), 见表 3、4。

2.4 $CD4^+CD28^{null}$ T 细胞对 hAECs 的影响

与 Control 组比较, co-culture 组 hAECs 紧密连接受损, ZO-1 和 occludin mRNA 及蛋白表达水平降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 2。



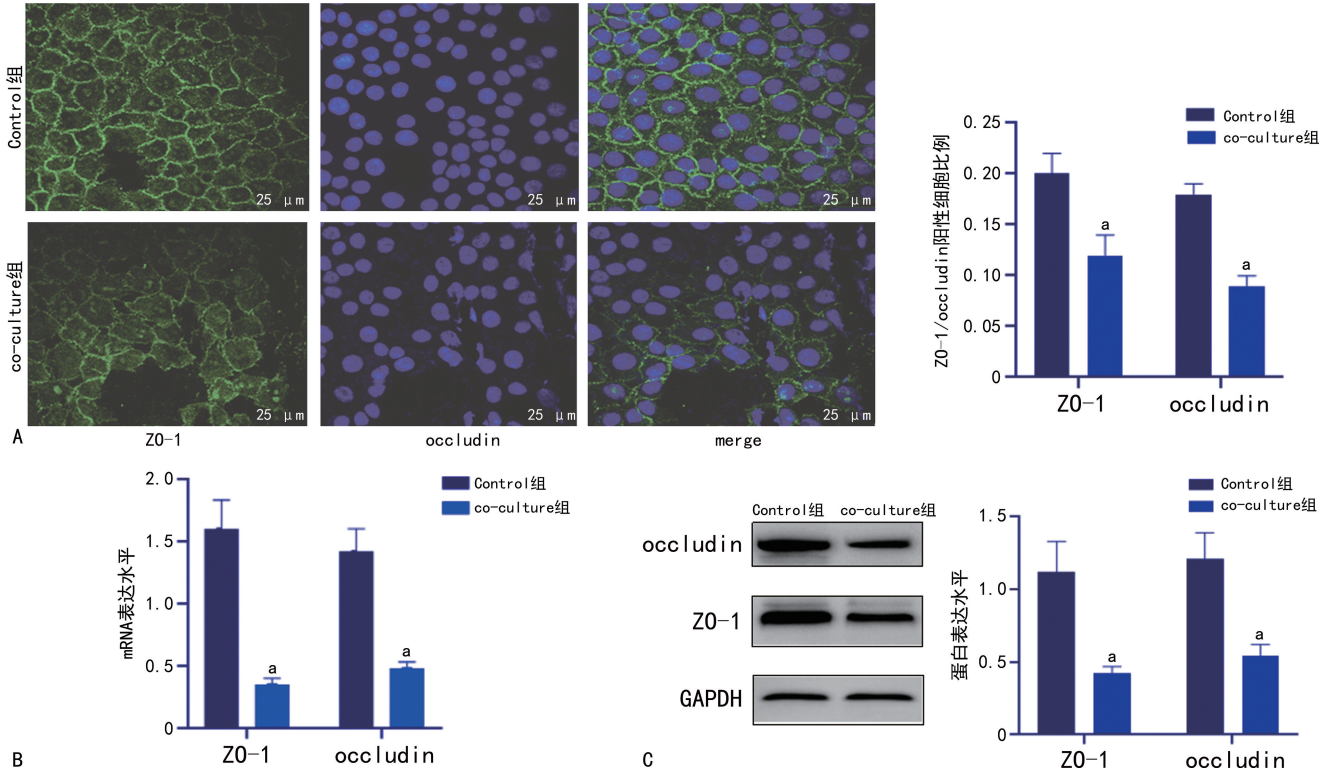
^a: $P < 0.05$, 与 CTRL 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 IE-COPD 组比较; ^c: $P < 0.05$, 与 Eos-FE-COPD 组比较。

图 1 $CD4^+CD28^{null}$ T 细胞在不同表型 COPD 中的表达情况

表 2 不同表型 COPD 的炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-1 β (ng/L)	IL-2(ng/L)	IL-6(pg/mL)	IL-8(ng/L)	TNF- α (ng/L)
CTRL 组	9	22.05 \pm 3.24	12.56 \pm 2.11	23.08 \pm 2.28	10.18 \pm 1.11	100.15 \pm 11.37
IE-COPD 组	11	24.56 \pm 3.69	14.03 \pm 3.21	49.01 \pm 5.69 ^a	9.03 \pm 0.86	135.51 \pm 23.17
Eos-FE-COPD 组	13	42.53 \pm 6.59 ^{ab}	23.21 \pm 5.32 ^a	50.20 \pm 6.72 ^a	12.21 \pm 1.32	146.73 \pm 25.66 ^a
NE-FE-COPD 组	15	57.85 \pm 7.85 ^{abc}	19.62 \pm 3.69	47.19 \pm 4.29 ^a	15.37 \pm 2.58 ^a	162.84 \pm 27.38 ^a

^a: $P < 0.05$, 与 CTRL 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 IE-COPD 组比较; ^c: $P < 0.05$, 与 Eos-FE-COPD 组比较。



A: ZO-1 和 occludin 免疫荧光染色情况; B: ZO-1 和 occludin mRNA 表达水平; C: ZO-1 和 occludin 蛋白表达水平; ^a: $P < 0.05$, 与 Control 组比较。

图 2 ZO-1、occludin 免疫荧光染色、mRNA 和蛋白表达情况

表 3 各指标与肺功能的相关性分析

项目	FEV1/FVC		FEV1/pred%	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
CD4 ⁺ CD28 ^{null} T 细胞占比	-0.425	<0.001	-0.637	<0.001
IL-1β	-0.712	<0.001	-0.834	<0.001
IL-2	0.225	0.086	0.132	0.094
IL-6	0.082	0.511	0.048	0.816
IL-8	0.132	0.189	0.115	0.312
TNF-α	0.003	0.998	0.004	0.912

表 4 各指标与 COPD 急性加重频率的相关性分析

项目	急性加重频率	
	<i>r</i>	<i>P</i>
CD4 ⁺ CD28 ^{null} T 细胞占比	0.877	<0.001
IL-1β	0.716	<0.001
IL-2	0.113	0.093
IL-6	0.075	0.422
IL-8	0.117	0.314
TNF-α	0.212	0.089

3 讨 论

COPD 是一种异质性疾病^[10],最常见的表型有慢性支气管炎、肺气肿、FE 及哮喘-COPD 重叠综合征等^[11]。有研究显示,与 IE-COPD 比较,FE-COPD 患者体重指数、血清蛋白水平偏低,圣乔治呼吸问卷评分偏高,气流受限严重,残气量/肺总通气量比值和肺气肿指数偏高^[12],患者生活质量差,社会经济负担重,因此 FE 在 COPD 表型中值得特别关注^[2]。对于不同表型 COPD 发病机制的认识不足,是导致目前治疗手段仍匮乏的根本原因。

炎症细胞及炎症因子“交互作用”一直是 COPD 研究的重点。以往研究发现:NE-FE-COPD 患者血清、肺组织、痰及 BALF 中 IL-1α、IL-1β mRNA 及蛋白表达水平高于健康人^[13-15]。IL-1β 水平的升高与 FE-COPD 患者 NOD 样受体蛋白 3(NOD-like receptor protein 3,NLRP3)炎症小体激活,以及中性粒细胞的活性密切相关^[16]。IL-1β 水平的高低有助于鉴别 COPD 表型,IL-1β 与 COPD 急性加重频率、中性粒细胞和 C 反应蛋白(CRP)呈正相关^[17],提示 IL-1β 可以预测 COPD 患者的系统炎症水平,与后续的频发急性加重相关。气道分泌物中的中性粒细胞增多和 IL-1β 水平升高是 NE-FE-COPD 患者的标志性特征^[18]。本研究也发现 COPD 患者 BALF 中 IL-1β 水平升高,且 NE-FE-COPD 组中 IL-1β 水平高于 Eos-FE-COPD 组和 IE-COPD 组,进一步验证了 IL-1β 与 NE-FE-COPD 相关。尽管大量临床及动物研究证实 IL-1β 在 COPD 中的重要作用,但目前并未有基于 IL-1β 的临床治疗方法,但基于 IL-1β 的药物研发并未停止,最具

代表性的临床药物研究是人源单克隆 IL-1R 抗体 MEDI8968 在 COPD 中的Ⅱ期临床试验^[19]。该试验组织了 324 例受试者参与双盲安慰剂对照,结果显示:MEDI8968 暂不能减少中重度非特异性 COPD 患者急性加重的频率和改善患者肺功能。但是以上临床试验剔除规模不充分这一因素后进一步分析表明:(1)COPD 作为一种异质性疾病,其病理过程异常复杂,有必要按照不同表型分组并制订有针对性的研究方案。MEDI8968 能明显降低中性粒细胞、CRP 和纤维蛋白原水平,并能帮助改善 FE 患者的肺功能,主要表现在血常规中性粒细胞增高的患者中,故中性粒细胞基线水平较高者服用 IL-1R 抗体 MEDI8968 可使患者受益。MEDI8968 初始试验中没有将 COPD 患者按照血常规中的细胞类型进行分组研究,这可能是 IL-1R 抗体无效的一个原因。(2)MEDI8968 对 IL-1β、IL-1α 有联合阻断作用,而后者对 COPD 亦有一定影响,采用以 IL-1β 或者 IL-1α 为靶标的特异性拮抗剂进行辅助治疗或许更能理清 IL-1β、IL-1α 在 COPD 中的不同作用机制。(3)临床治疗时不能判断 MEDI8968 是否在肺组织内达到了适宜的血药浓度也会成为限制临床疗效的一个关键因素。因此有必要对 IL-1β 在不同表型 COPD 中的作用机制做进一步深入研究,以寻找更适宜的 NE-FE-COPD 生物学标志物并开发相应的靶向治疗方法,从而达到精准医疗的目的。

本研究发现与 CTRL 组、IE-COPD 组、Eos-FE-COPD 组比较,NE-FE-COPD 组 BALF 中 CD4⁺CD28^{null}T 细胞占比较高。同时,将 CD4⁺CD28^{null}T 细胞和 hAECs 共培养 72 h 后,hAECs 紧密连接受到严重损伤,说明 CD4⁺CD28^{null}T 细胞可能通过引起气道上皮细胞的损伤而参与 NE-FE-COPD 病理生理过程。CD4⁺CD28^{null}T 细胞是否通过促进 hAECs 中 IL-1β 水平而影响上皮细胞紧密连接尚需要进一步研究。

综上所述,NE-FE-COPD 患者 BALF 中 CD4⁺CD28^{null}T 细胞占比较高,CD4⁺CD28^{null}T 细胞可能通过促进气道上皮细胞的损伤导致 NE-FE-COPD 病理进展加快。

参考文献

[1] PALIOGIANNIS P,FOIS A G,SOTGIA S,et al. Neutrophil to lymphocyte ratio and clinical outcomes in COPD: recent evidence and future perspectives [J]. Eur Respir Rev, 2018, 27 (147):170113.

[2] VESTBO J,ANDERSON W,COXSON H O,et al. Evaluation of COPD longitudinally to identify predictive surrogate end-points (ECLIPSE)[J]. Eur Respir J,2008,31(4):869-873.

[3] DAY K,OSTRIDGE K,CONWAY J,et al. Interrelationships among small airways dysfunction, neutrophilic inflammation, and exacerbation frequency in COPD[J]. Chest, 2021, 159(4):1391-1399.

[4] BARNES P J. Inflammatory endotypes in COPD[J]. Allergy,2019,74(7):1249-1256.

[5] DELGADO-ECKERT E,JAMES A,MEIERG-IRARD D,et al. Lung function fluctuation patterns unveil asthma and COPD phenotypes unrelated to type 2 inflammation[J]. J Allergy Clin Immunol,2021,148(2):407-419.

[6] HAN M K,TAYOB N,MURRAY S,et al. Predictors of chronic obstructive pulmonary disease exacerbation reduction in response to daily azithromycin therapy[J]. Am J Respir Crit Care Med,2014,189(12):1503-1508.

[7] GAO P,ZHANG J,HE X,et al. Sputum inflammatory cell-based classification of patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease[J]. PLoS One,2013,8(5):e57678.

[8] CULPITT S V,MAZIAK W,LOUKIDIS S,et al. Effect of high dose inhaled steroid on cells, cytokines, and proteases in induced sputum in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1999, 160(5 Pt 1): 1635-1639.

[9] ELYAHU Y,MONSONEGO A. Thymus involution sets the clock of the aging T-cell landscape: implications for declined immunity and tissue repair[J]. Ageing Res Rev, 2021, 65: 101231.

[10] AGUSTÍ A,CELLI B,FANER R. What does endotyping mean for treatment in chronic obstructive pulmonary disease? [J]. Lancet, 2017, 390(10098):980-987.

[11] ERHABOR G E,ADENIYI B,ARAWOMO A O,et al. Acute exacerbation of COPD: clinical perspectives and literature review[J]. West Afr J Med,2021,38(11):1129-1142.

[12] LE ROUZIC O,ROCHE N,CORTOT A B,et al. Defining the “frequent exacerbator” phenotype in COPD: a hypothesis-free approach[J]. Chest,2018,153(5):1106-1115.

[13] PAUWELS N S,BRACKE K R,DUPONT L L,et al. Role of IL-1 α and the Nlrp3/caspase-1/IL-1 β axis in cigarette smoke-induced pulmonary inflammation and COPD[J]. Eur Respir J,2011,38(5):1019-1028.

[14] SINGH S,VERMA S K,KUMAR S,et al. Correlation of severity of chronic obstructive pulmonary disease with potential biomarkers[J]. Immunol Lett,2018,196:1-10.

[15] BOTELHO F M,BAUER C M,FINCH D,et al. IL-1 α /IL-1R1 expression in chronic obstructive pulmonary disease and mechanistic relevance to smoke-induced neutrophilia in mice[J]. PLoS One,2011,6(12):e28457.

[16] COLARUSSO C,TERLIZZI M,MOLINO A, et al. Role of the inflammasome in chronic obstructive pulmonary disease (COPD)[J]. Onco-target,2017,8(47):81813-81824.

[17] ZOU Y,CHEN X,LIU J,et al. Serum IL-1 β and IL-17 levels in patients with COPD: associations with clinical parameters[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis,2017,12:1247-1254.

[18] FU J J,MCDONALD V M,BAINES K J,et al. Airway IL-1 β and systemic inflammation as predictors of future exacerbation risk in asthma and COPD[J]. Chest,2015,148(3):618-629.

[19] CALVERLEY P M A,SETHI S,DAWSON M,et al. A randomised, placebo-controlled trial of anti-interleukin-1 receptor 1 monoclonal antibody ME-DI8968 in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Respir Res,2017,18(1):153.

(收稿日期:2023-09-18 修回日期:2023-11-24)

(编辑:唐 璞)

(上接第 501 页)

[22] 陈彬,卢蔚薇,徐忠玉. 血清 NT-proBNP、CRP 与 MMP-9 在儿童川崎病中的临床意义[J]. 检验医学,2020,35(3):243-246.

[23] 张锦,尚茹茹,王兴兴,等. 冠状动脉粥样硬化性心脏病患者血清 SFRP5、FGF21、IGF-I 水平与血脂和冠状动脉病变严重程度的相关性研究[J]. 现代生物医学进展,2022,22(2):315-319.

[24] 吴丽平,青秀,李刚,等. 急性期川崎病患儿血脂改变及与炎症指标的相关性研究[J]. 实用医院临床杂志,2022,19(1):139-142.

[25] 刘兴祝,杨燕飞,张兴,等. 云南地区川崎病儿童不同病程脂代谢水平及相关因素分析[J]. 昆明医科大学学报,2023,44(2):113-119.

(收稿日期:2023-07-25 修回日期:2023-12-13)

(编辑:张芃捷)