

## · 论 著 ·

哮喘患者检测痰中基质金属蛋白酶的  
临床意义肖可为<sup>1</sup>, 辛晓峰<sup>2</sup>, 刘雪梅<sup>3</sup>, 何宏伟<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的 探讨支气管哮喘(简称哮喘)患者诱导痰中基质金属蛋白酶 9(MMP-9)和基质金属蛋白酶抑制剂 1(TIMP-1)的浓度比值与气道炎症和气流受限的关系。方法 选择缓解期哮喘患者(哮喘组)和健康对照组(健康对照组)进行肺功能测定;用诱导痰检查方法对痰炎性细胞进行分类计数,并用酶联免疫吸附试验(ELISA)法测定诱导痰上清液中 MMP-9 和 TIMP-1 浓度。结果 哮喘组和健康对照组诱导痰中 MMP-9、TIMP-1 浓度比较差异和 MMP-9/TIMP-1 比值比较差异有统计学意义。结论 哮喘组患者诱导痰中 MMP-9/TIMP-1 比值的失衡与气道炎症有关,从而造成气道重塑和气流受限,导致肺功能下降。

**[关键词]** 哮喘;基质金属蛋白酶 9;基质金属蛋白酶抑制剂 1;气道炎症;气流受限

中图分类号: R256.12 文献标志码: A 文章编号: 1672-271X(2010)02-0112-03

## Clinical significance of test of metalloproteinase in sputum from asthma patients

XIAO Ke-wei<sup>1</sup>, XIN Xiao-feng<sup>2</sup>, LIU Xue-mei<sup>3</sup>, HE Hong-wei<sup>1</sup>. 1. Outpatient Department of Combined Service Force, Nanjing Military Command, Nanjing, Jiangsu 210002, China; 2. Department of Pulmonary Diseases, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, Nanjing, Jiangsu 210002, China; 3. Department of Detection, Nanjing Jianye Area Hospital, Nanjing, Jiangsu 210000, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the relationship between the levels of metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in induced sputum in patients with asthma and the airway inflammation and airflow limitation. **Methods** Sixteen patients with asthma in remission stages, and twelve normal control subjects were included in this study. Lung function was measured. Induced sputum was obtained and processed for cell differential count. The concentrations of MMP-9 and TIMP-1 in supernatant were assayed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The difference of the concentration of MMP-9/TIMP-1 in induced sputum and the difference of the ratio of MMP-9/TIMP-1 in asthmatics and in normal control subjects were statistical analyzed. **Conclusion** The imbalance between MMP-9 and TIMP-1 in induced sputum in asthmatics is associated with airway inflammation and airflow limitation, which may play a role in the pathogenesis of extracellular matrix remodeling and airflow limitation.

**[Key words]** asthma; MMP-9; TIMP-1; airway inflammation; airflow limitation

支气管哮喘(哮喘)为慢性气道炎症性疾病,气道炎症导致气道的重塑。正常情况下细胞外基质(ECM)处于合成与降解的动态平衡之中。基质金属蛋白酶(MMP)是由 20 多种锌、钙离子依赖性蛋白内切酶所组成,能降解所有 ECM 蛋白成分。在炎症状态下炎性细胞和结构细胞表达 MMP 明显增强。基质金属蛋白酶抑制剂(TIMP)抑制 MMP 的活

化,促进 ECM 沉积和抑制其降解。目前认为 MMP/TIMP 失衡可能是 ECM 合成增多、降解减少的主要原因。支气管哮喘上皮下游的大量沉积是气流受限的重要原因<sup>[1]</sup>。我们的研究主要探讨哮喘患者诱导痰中 MMP-9 和 TIMP-1 水平的变化是否与气道炎症和气流受限有关。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 哮喘组:缓解期哮喘患者 16 例,男 10 例,女 6 例,平均年龄(46 ± 10)岁。诊断符合中华医学会呼吸病学分会 2003 年的哮喘诊断标准<sup>[2]</sup>。哮喘病程 10 ~ 30 年。所有哮喘患者均不吸烟,近 1

**作者简介:** 肖可为(1962-),男,江苏宜兴人,本科,副主任医师,从事干部保健工作

**作者单位:** 1. 210002 江苏南京,南京军区联勤部门门诊部;  
2. 210002 江苏南京,南京军区南京总医院呼吸科;  
3. 210000 江苏南京,南京建邺区医院检验科

个月内无哮喘严重发作,近 2 个月内未吸入糖皮质激素(简称激素)或口服激素。茶碱在进入本研究前至少已停用 48 h。健康对照组:12 名,男 9 名,女 3 名,平均年龄(48±9)岁,均为门诊体检的健康志愿者,无呼吸道疾病史,近 1 个月内无呼吸道感染,均不吸烟,肺功能在正常范围内。

1.2 方法

1.2.1 痰液诱导和处理 患者早晨禁食,痰诱导前所有受试者均行第一秒用力呼气容积 (FEV<sub>1</sub>)、FEV<sub>1</sub>/FVC(用力肺活量)检查,然后吸入沙丁胺醇 200 μg,10 min 后通过压缩雾化吸入装置(BOY 037,德国百瑞公司)喷射雾化吸入 3% 氯化钠溶液 20 min。在实验过程中鼓励患者咳嗽,间断中止吸入氯化钠液以便咳出痰液至 50 ml 无菌瓶中。若在上述过程中受试者出现喘息、严重咳嗽或呼吸困难,或 FEV<sub>1</sub> 下降 >20% 则随时停止痰液诱导。排痰前用生理盐水冲洗口腔,以减少唾液对痰液的污染。

确定所收集的痰液标本的体积,加入 2 倍体积的 0.1% 二硫苏糖醇(DTT)。然后轻轻将标本摇匀,放在 37℃ 的水浴中孵育 30 min,震荡 15 min 以便充分均匀,取少许(约 50 μl)进行细胞计数。再加等体积的磷酸盐缓冲液(PPS)混匀,以 800 r/min(离心半径 15 cm)离心 15 min,从细胞团中分离出上清液。将细胞团涂片,以瑞氏染色加等量 PPS 缓冲液 3~5 min。用清水冲净晾干后镜检,光镜下分类

计数。在油镜下每张涂片共计数 400 个非鳞状上皮细胞并进行炎性细胞的分类计数。吸出上清液以 2000 r/min(离心半径 15 cm)离心 10 min 后,弃沉淀留取上清液并冷冻于 -20℃ 待检。

1.2.2 诱导痰上清液中 IL-4、MMP-9、TIMP-1 浓度测定 用酶联免疫吸附试验(ELISA)对诱导痰上清液中的 IL-4、MMP-9、TIMP-1 浓度进行检测。IL-4 试剂盒为深圳炬英公司进口分装(批号: H0061801),MMP-9 和 TIMP-1 试剂盒购自美国 R&D 公司(批号分别为 209622、231949),按照试剂盒的说明书进行操作。

1.3 统计学处理 采用 SPSS11.0 统计软件。实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,行配对 *t* 检验,*P* < 0.05 则表示组间差异有统计学意义;用直线相关性分析两变量间的相关关系。

2 结果

2.1 两组受试者肺功能测定和诱导痰中细胞总数、分类计数比较 见表 1、表 2。

表 1 两组受试者肺功能比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	平均年龄(岁)	FEV <sub>1</sub> 占预计值(%)	FEV <sub>1</sub> /FVC (%)
哮喘组	16	46±10	68±10 <sup>a</sup>	71±9 <sup>a</sup>
对照组	12	48±9	96±15	82±6

注:与对照组比较,<sup>a</sup>*P* < 0.05

表 2 两组受试者诱导痰中细胞总数、分类计数比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	细胞总数 ×10 <sup>8</sup> /L	细胞分类(%)			
			巨噬细胞	中性粒细胞	嗜酸粒细胞	淋巴细胞
哮喘组	16	5.6±2.3	44.0±8.0	30.0±6.0	18.3±6.7 <sup>a</sup>	8.0±5.0
对照组	12	3.5±1.1	65.0±11.0	27.0±6.0	0.8±0.5	7.0±4.0

注:与对照组比较,<sup>a</sup>*P* < 0.05

2.2 两组受试者诱导痰中 MMP-9 和 TIMP-1 浓度变化及其与肺功能关系 哮喘组诱导痰中 MMP-9 和 TIMP-1 浓度与健康对照组比较,差异有统计学意义(见表 3)。其比值哮喘组与健康对照组比较,差异有统计学意义(*P* < 0.05),且与 FEV<sub>1</sub> 占预计值呈正相关(*r* 分别为 0.55、0.62,*P* 均 < 0.05)。

表 3 两组受试者诱导痰中 MMP-9 和 TIMP-1 浓度比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	MMP-9(g/L)	TIMP-1(g/L)	MMP-9/TIMP-1
哮喘组	16	15.8±6.0 <sup>a</sup>	19.7±8.5 <sup>a</sup>	0.9±0.7 <sup>a</sup>
对照组	12	1.9±1.2	1.3±0.8	1.6±0.5

注:与对照组比较,<sup>a</sup>*P* < 0.05

3 讨论

巨噬细胞、嗜酸粒细胞和中性粒细胞等炎性细胞是 MMP-9 的主要来源,作为 MMP-9 特异性抑制物的 TIMP-1,也常由分泌 MMP-9 的炎症细胞分泌。本研究结果表明,与健康对照组比较,未经治疗的哮喘患者诱导痰中 MMP-9 和 TIMP-1 水平明显增加,同时诱导痰中嗜酸粒细胞数也增加明显。研究表明,哮喘患者诱导痰中增高的 MMP-9 浓度与嗜酸粒细胞数相关,提示在哮喘患者嗜酸粒细胞是 MMP-9 的主要来源;也有研究资料显示 MMP-9 还可促进哮喘患者嗜酸粒细胞的浸润<sup>[3]</sup>。

气道重塑是机体对气道炎症损伤过程中的一种修复反应,但修复后的组织结构和功能均与正常组织不同。哮喘患者气道重塑时的结构变化主要是以 ECM 重塑为特征,不同于慢性阻塞性肺疾病(COPD)是由于胶原沉积,导致气道壁的增厚加剧气道的狭窄,对气流受限的功能性变化产生重要影响<sup>[4]</sup>。哮喘时胶原的沉积主要局限在上皮基底膜下,形成富含纤维胶原的致密层,在气道壁的过度沉积<sup>[1]</sup>,从而形成气道重塑,进而导致肺功能下降。

此外,本组资料显示:哮喘患者中 TIMP-1 浓度和 MMP-9/TIMP-1 比值与气流受限间的相关性,提示 MMP-9/TIMP-1 间的失平衡对气流受限产生重要作用,且可能是由于胶原的沉积和气道壁的增厚所致。有研究资料表明,哮喘和 COPD 患者痰液中 MMP-9 和 TIMP-1 间的失平衡与在高分辨率 CT 扫描下所测得的气管壁结构的改变有关<sup>[5]</sup>。这进一步说明了 MMP-9 和 TIMP-1 间的失平衡与气道重塑的关系。对于 MMP-9 和 TIMP-1 与气流受限的关系,从目前的研究结果来看各有所不同。对经过变应原刺激后 6 h 哮喘患者测定肺功能与诱导痰中 MMP-9 和 TIMP-1 水平,发现 MMP-9 与 FEV<sub>1</sub> 呈负相关<sup>[6]</sup>。Bosse 等<sup>[7]</sup>和 Bergeron 等<sup>[8]</sup>发现哮喘患者血清中 MMP-9/TIMP-1 比值与口服激素后 FEV<sub>1</sub> 变异值呈正相关,但 TIMP-1 水平与 FEV<sub>1</sub> 变异值无相关性。本研究结果与其他研究结果的不相一致,可能与受试者病情存在差异及 MMP-9 和 TIMP-1 的来

源、测定时间不同有关。

### 【参考文献】

- [1] Demedts IK, Brusselle GG, Bracke KR, et al. Matrix metalloproteinases in asthma and COPD[J]. Curr Opin Pharmacol, 2005, 5(6):257-263.
- [2] 中华医学会呼吸病学会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南(支气管哮喘的定义、诊断、治疗及教育和管理方案)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2003, 26(2):132-138.
- [3] Han Z, Jun X, Zhong N. Expression of matrix metalloproteinases MMP-9 within the airways in asthma[J]. Respir Med, 2003, 97(9):563-567.
- [4] 王秀丽,李淑兰. 诱导痰与呼吸系统疾病[J]. 临床内科杂志, 2008, 25(8):574-576.
- [5] Matsmoto H, Niimi A, Takemura M, et al. Relationship of airway wall thickening to an imbalance between matrix metalloproteinase-9 and its inhibitor in asthma[J]. Thorax, 2005, 60(12):277-281.
- [6] Lee KS, Jin SM, Lee H, et al. Imbalance between matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in toluene diisocyanate-induced asthma[J]. Clin Exp Allergy, 2004, 34(5):276-284.
- [7] Bosse M, Chakir J, Rouabhia M, et al. Serum matrix metalloproteinase-9; tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio correlates with steroid responsiveness in moderate to severe asthma[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1999, 159(6):596-602.
- [8] Bergeron C, Page N, Barbeau B, et al. Interleukin-4 promotes airway remodeling in asthma: regulation of procollagen I (alpha1) gene by interleukin-4[J]. Chest, 2003, 123(3 Suppl):424S.

(收稿日期:2009-08-20;修回日期:2009-11-18)

(本文编辑:潘雪飞; 英文编辑:王建东)

## · 简 讯 ·

# 江西省军区积极推行边远干休所医疗保障社会化改革

江西省军区针对边远干休所较多特点,积极推行边远干休所医疗保障社会化改革,有效改善了边远离休干部就医状况。

年初,按军区试点要求,及时下发了《江西省军区推行边远地区老干部医疗社会化保障方案》,指导各单位与地方政府进行协调沟通,取得初步成效。景德镇军分区干休点在地方免费就医基础上,新开辟了医疗“绿色通道”,赣州、吉安、抚州、萍乡军分区干休所协调地方财政支持建立了老干部急救专项基金,有效解决了老干部急诊治疗及医疗经费不足问题。8月份,对5个边远军分区干休所进行调研,走访干休所驻地财政局、医保局等相关部门,进一步理清了思路,加大了工作督促力度。11月中旬,派出人员前往江苏省泰州军分区干休所,参观学习推行医疗社会保障经验,为下一步深化改革奠定了基础。

(周义军 周旭泉 供稿)