

慢性阻塞性肺病患者血清 CCL17 的变化及其与肺功能的关系*

宋秋玲¹, 代 娇^{2**}

(1. 曲靖医学高等专科学校 医学技术学院, 云南 曲靖 655000;

2. 曲靖医学高等专科学校 实验实训教学管理处, 云南 曲靖 655000)

[摘要] 为探究 CCL17 在 COPD 患者中的变化及其与肺功能和疾病严重程度的关系, 选取 2021 年 1 月至 2022 年 5 月间就诊的 62 名 COPD 患者和 50 名健康对照组作为研究对象。COPD 患者中包括稳定期 COPD 组 38 例和 AECOPD 组 24 例。采用酶联免疫吸附实验测定各组血清 CCL17 的质量浓度; 采用 Spearman 法分析 CCL17 与临床和实验室指标间的相关性。结果显示: SCOPD、AECOPD 和对照组间年龄、性别构成、BMI 及吸烟与否等资料间均无统计学意义 ($P > 0.05$)。AECOPD 患者具有更低水平的 FEV1/FVC (%) 和 FEV1%, 具有更高水平的 PLT、CRP 及 IL-4, 均显著高于 SCOPD 和对照组 ($P < 0.05$); 以上指标在 SCOPD 与对照组间同样有统计学意义 ($P < 0.05$)。AECOPD 患者血清 CCL17 显著高于 SCOPD 和对照组 ($P < 0.01$), 且 SCOPD 患者同样高于对照组 ($P < 0.01$)。GOLD 3-4 级的患者血清 CCL17 水平显著高于 GOLD 1-2 级的患者 ($P < 0.05$)。CCL17 与 FEV1/FVC (%) 和 FEV1% 呈显著负相关性, 与 CRP、IL-4 及 PLT 呈显著正相关性。ROC 曲线显示血清 CCL17 区分 COPD 与健康对照时 AUC 高达 0.83, 敏感性为 72.73%, 特异度为 90.00%。综上所述, 异常上调的 CCL17 与 COPD 疾病进展密切相关, 或可成为 COPD 疾病评估的生物标志物。

[关键词] CCL17; COPD; 疾病严重程度; 生物标志物

[中图分类号] R446.1; R563 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5639(2023)03-0119-05

DOI: 10.14091/j.cnki.kmxyxb.2023.03.019

慢性阻塞性肺病 (Chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是一种以持续的气流受限为特征的疾病。在个体遗传易感因素的前提下, 各种毒性刺激对气道和肺部造成的慢性炎症反应会逐渐引起小气道的疾病 (如阻塞性支气管炎) 和肺实质的破坏 (如肺气肿)^[1]。对中国 50 991 人肺部健康的调查研究显示, 20 岁及以上的成年人中, 慢性阻塞性肺病的发病率为 8.6%, 40 岁以上则高达 13.7%^[2]。肺部炎症、氧化应激、蛋白酶和抗蛋白酶失衡在 COPD 的发病机制中起着重要作用^[3]。炎症细胞、上皮细胞和其他结构细胞释放各种炎症介质, 吸引循环炎症细胞, 放大炎症过程, 并诱发肺组织结构的变化。研究^[4]表明, COPD 的慢性气道炎症涉及多种细胞因子, 引起粘液的大量分泌和小气道的阻塞以及肺实质的损伤, 从而导致气流受限和肺部过度膨胀。趋化因子 (CC 基序) 配体 17 (C-C motif chemokine 17, CCL17) 是一种新型趋化因子, 其在胸腺中组成性表达^[5]。CCL17 可由巨噬细胞、上皮细胞、树突状细胞、血管内皮细胞和淋巴细胞分泌。此外, 外周血单核细胞、巨噬细胞、内皮细胞、树突状细胞和角质细胞等的激活会诱导 CCL17 产生^[6]。CCL17 可与 Th2 细胞高度表达的趋化因子受体 CCR4 结合。目前 CCL17 被认为是过敏性疾病 (如特应性皮炎、哮喘和过敏性鼻炎) 中 Th2 细胞募集的重要媒介^[7]。虽然吸烟主要与 Th1 炎症有关, 但在吸烟诱导的肺炎大鼠模型中, CCL17 在肺部和支气管肺泡灌洗中升高的现象已被报道^[8]。

* [收稿日期] 2022-10-28

[作者简介] 宋秋玲, 女, 云南曲靖人, 曲靖医学高等专科学校讲师, 研究方向为临床检验诊断学。

** [通信作者] 代娇, 女, 云南曲靖人, 曲靖医学高等专科学校实验师, 在职研究生, 研究方向为临床检验诊断学, E-mail: qjzdaijiao@163.com。

[基金项目] 云南省教育厅科学研究基金项目 (2019J1123)。

据此,推测 CCL17 与气道炎症相关,可能在 COPD 发病和进展中发挥一定作用.因此,本研究旨在分析 COPD 患者血清中 CCL17 浓度的变化,并探讨其与 COPD 临床参数之间的关联.

1 材料与方法

1.1 纳入对象

选取 2021 年 1 月至 2022 年 5 月间就诊的 62 名 COPD 患者和 50 名健康对照组作为研究对象. COPD 患者和健康对照组的入组顺序是根据其就诊时间所决定.其中稳定期 COPD 组 38 例,慢性阻塞性肺疾病急性加重 (acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease, AECOPD) 组 24 例,其中男性 41 例,女性 21 例,平均年龄为 68.56 ± 13.7 岁. 50 名健康对照组来自体检中心,包括 30 名男性和 20 名女性,平均年龄为 67.47 ± 11.3 岁. 两组之间在性别、年龄和吸烟等人口统计学特征方面没有明显的统计学差异 ($P > 0.05$).

1.2 诊断、纳排及分级标准

严格按照全球 COPD 倡议 (GOLD)^[9]对 COPD 患者进行诊断:一秒用力呼气容积 (FEV1)/用力肺活量 (FVC) 小于 70%; FEV1 小于 80% 预测值 (严格按照解痉药物后 FEV1); 需要排除已知特殊病理的气流阻塞性疾病,如囊性纤维化、闭塞性支气管炎等. AECOPD 是指咳嗽、气短、喘息、脓性或粘液脓性痰量增加和发热等症状的恶化; 稳定型 COPD (SCOPD) 是指上述症状稳定或相对轻微. 所有健康对照组都进行了肺部功能检查,并排除了 COPD. COPD 患者的严重程度是根据 GOLD 标准的肺功能测试结果加以界定. GOLD-1: FEV1/FVC $< 70\%$ 和 FEV1 $\geq 80\%$ 预测; GOLD-2: FEV1/FVC $< 70\%$ 和 $50\% \leq FEV1 < 80\%$ 预测; GOLD-3: FEV1/FVC $< 70\%$ 和 $30\% \leq FEV1 < 50\%$ 预测; GOLD-4: FEV1/FVC $< 70\%$ 和 FEV1 $< 30\%$ 预测.

纳入标准如下: 1) 符合 COPD 的诊断标准; 2) 稳定期的 COPD 患者有 14 d 以上的稳定期; 3) 最近 30 d 内未用氧气、抗生素、糖皮质激素和茶碱治疗.

排除标准如下: 1) 近 30 d 内接受过免疫抑制剂治疗; 2) 有其他气流受限性疾病,包括支气管扩张、肺结核、肺囊性纤维化和肿瘤等; 3) 有严重的心、脑、肝、肾、造血、内分泌系统和皮肤疾病; 4) 患有精神病、精神障碍或认知障碍; 5) 除 AECOPD 外,稳定期 COPD 患者不得有呼吸道感染; 6) 呼吸系统以外的感染性疾病.

1.3 标本采集及测定

采集受试者清晨空腹时的肘部静脉血 5 mL 于干燥管中,在室温下凝固.后 4 000 r/min 离心 10 min 获得血清.将血清放入 EP 管中,并储存在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中.酶联免疫吸附试验测定血清中 CCL-17 的浓度. CCL-17 测定的试剂盒为购自 Abcam 公司的 Human TARC ELISA Kit (CCL17) (货号 ab183366) 试剂盒,所有操作步骤和质量控制均严格参照试剂盒说明书完成.同时从实验室信息系统中收集受试者的血小板计数 (PLT)、C 反应蛋白浓度 (CRP) 和白细胞介素 4 (IL-4).

1.4 统计分析

本研究的所有数据均由 SPSS 23.0 统计软件进行分析.计数资料以百分比 (%) 表示,组间比较采用卡方检验.计量数据的统计结果以平均值 \pm 标准差表示,两组间均数比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析.指标间相关性分析采用 Spearman 法分析.采用受试者诊断曲线 (ROC) 评估诊断性能,以其曲线下面积 (AUC) 为衡量标准.以 $P < 0.05$ 视为有统计学意义.

2 结果

2.1 纳入研究对象的一般资料比较

纳入研究的 3 组研究对象在年龄、性别构成、身体质量指数 (BMI) 及吸烟与否等资料间均无统计学差异 ($P > 0.05$),见表 1 所示. AECOPD 患者的 FEV1/FVC (%) 明显低于 SCOPD 患者和健康对照组 ($P < 0.01$), SCOPD 患者也低于对照组 ($P < 0.01$).此外, AECOPD 患者的 FEV1 明显低于其他两组患者 ($P < 0.01$), SCOPD 患者也低于对照组 ($P < 0.01$).与健康对照组相比, AECOPD 患者和 SCOPD 患者的 PLT 均显著增加 ($P < 0.01$),且 AECOPD 患者高于 SCOPD 患者 ($P < 0.01$).与健康对照组相比, AECOPD 患者和 SCOPD 患者的 CRP 均显著增加 ($P < 0.01$),且 AECOPD 患者高于 SCOPD 患者 ($P < 0.01$).

此外,与健康对照组相比,AECOPD患者和SCOPD患者的IL-4均显著增加($P < 0.01$),且AECOPD患者高于SCOPD患者($P < 0.01$)(表1).

表1 纳入研究对象的一般资料比较

参数	对照组($n = 50$)	SCOPD($n = 38$)	AECOPD($n = 24$)	P 值(P_1, P_2, P_3)	
年龄/岁	63.25 ± 9.80	62.19 ± 11.36	64.15 ± 13.78	NS, NS, NS	
性别 $n/\%$	男	31(62.00)	23(60.53)	15(62.50)	NS, NS, NS
	女	19(38.00)	15(39.47)	9(37.50)	NS, NS, NS
BMI/(kg/m^2)	21.75 ± 3.92	22.38 ± 3.69	21.48 ± 3.87	NS, NS, NS	
吸烟史	Yes	33(66.00)	25(65.79)	16(66.67)	NS, NS, NS
	No	17(34.00)	13(34.21)	8(33.33)	NS, NS, NS
FEV1/FVC/%	85.25 ± 5.63	61.36 ± 6.70	50.33 ± 7.71	<0.01, <0.01, <0.05	
FEV1%	97.34 ± 12.98	66.28 ± 13.21	38.28 ± 10.69	<0.01, <0.01, <0.01	
PLT/($10^9/\text{L}$)	169.68 ± 28.27	223.07 ± 56.39	292.95 ± 81.17	<0.05, <0.01, <0.05	
CRP/(mg/L)	4.69 ± 1.36	32.68 ± 15.97	75.63 ± 26.18	<0.01, <0.01, <0.01	
IL-4	168.95 ± 26.35	316.25 ± 113.69	489.12 ± 163.44	<0.01, <0.01, <0.05	

注: P_1 :对照组 vs SCOPD; P_2 :对照组 vs AECOPD; P_3 :SCOPD vs AECOPD;NS:无统计学意义.

2.2 CCL17 在各组研究对象中的变化

AECOPD患者血清CCL17显著高于SCOPD和对照组($P < 0.01$),且SCOPD患者同样高于对照组($P < 0.01$). GOLD 3-4级的患者血清CCL17水平显著高于GOLD 1-2级的患者($P < 0.05$)(图1).

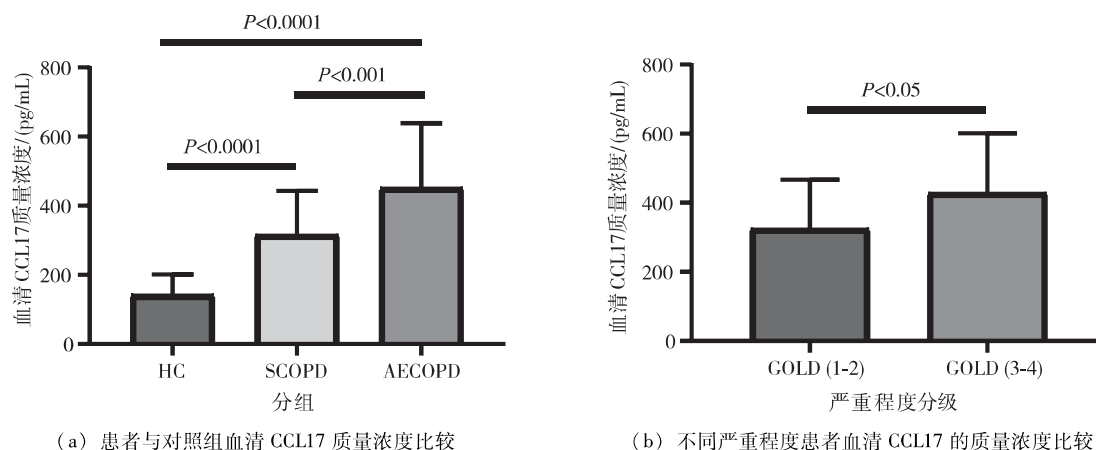


图1 COPD患者血清CCL17的质量浓度比较

2.3 COPD患者中CCL17与FEV1/FVC(%)、FEV1(%)及CRP的相关性分析

Spearman相关性分析结果显示COPD患者血清CCL17与FEV1/FVC(%)呈显著负相关性($r = -0.481, P < 0.001$),与FEV1(%)呈显著负相关性($r = -0.503, P < 0.001$),与CRP呈显著正相关性($r = 0.421, P < 0.001$),与IL-4呈显著正相关性($r = 0.587, P < 0.001$),与PLT同样呈显著正相关性($r = 0.403, P < 0.01$).

2.4 血清CCL17区分COPD与健康对照的ROC曲线

如图2所示,血清CCL17区分COPD与健康对照时AUC高达0.83,敏感性为72.73%,特异度为90.00%.阳性预测值为84.21%,阴性预测值为81.82%,假阳性率为10.00%,假阴性率为27.27%,准确度高达82.69%,约

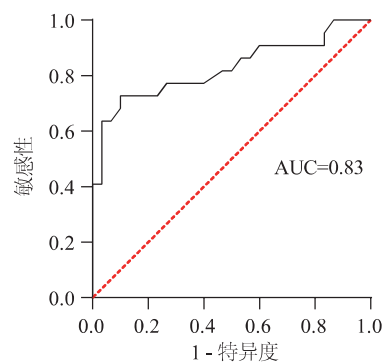


图2 血清CCL17区分COPD与健康对照的ROC曲线

登指数为 0.63.

3 讨论

COPD 是一种与吸烟密切相关的肺部疾病. 香烟引起的 Th1 细胞的长期积累, 如肺泡巨噬细胞、中性粒细胞和 CD8 + 淋巴细胞, 被认为在 COPD 患者的肺部占主导地位^[10]. 然而, 一些临床研究表明, 嗜酸性粒细胞积累到气道, 类似 Th2 型细胞一样, 对 COPD 患者的结局可产生重大影响^[11]. 血液中较高的嗜酸性粒细胞数量也与 COPD 患者的频繁加重有关^[12]. 此外, 最近的流行病学研究表明, 支气管哮喘和过敏对 COPD 的发展具有重要意义. 在一项纵向研究中, 对 8 583 名居民进行了 7 至 53 岁的随访研究, 并在 7、13、18、45、50 和 53 岁时进行了肺活量测定. 结果表明吸烟、儿童哮喘、支气管炎、肺炎、过敏性鼻炎和湿疹是肺功能下降的重要风险因素. 此外, 当 FEV1 在生命早期低于平均水平时, 其水平与儿童食物哮喘的高比率有关, 且 46% 的受试者在 53 岁时发展为 COPD^[13]. 由于支气管哮喘是一种与 Th2 细胞炎症有关的疾病, 这些研究结果表明 Th2 炎症参与 COPD 的发病机制. 本研究中也发现 Th2 效应细胞因子 IL-4 在 COPD 患者中显著升高, 且 AECOPD 患者明显高于 SCOPD 患者, 这与既往研究结果一致.

CCL17 由肺泡巨噬细胞、气道平滑肌和支气管上皮细胞产生, 而细胞因子可提高其分泌水平. 也有报道表明, 支气管上皮细胞表达 CCR4^[14]. 然而, CCL17-CCR4 在支气管上皮细胞中的确切作用还没有完全确定. 在本研究中, 较高的血清 CCL17 与较高的血小板数量有关. 血小板可能是增加血清 CCL17 的另一个主要来源. CCL17 诱导血小板活化通过 CCR4. 活化的血小板释放的 CCL17 可能进一步增强血小板的聚集, 并以自分泌的方式释放 CCL17. 有报道表明中度至重度 COPD 患者的血小板数量增加^[15]. 因此, CCL17 和血小板数量可能均与 COPD 严重性相关. CCL17 可诱导 Th2 表型的淋巴细胞分化, 而 Th2 表型的 T 细胞在免疫和炎症过程中发挥关键作用, 可导致 IL-4 产生、过敏性炎症和伴随的组织损伤. 事实上, 我们的研究显示, CCL17 与 IL-4 呈显著正相关性. 与 CCL17 在 Th2 炎症中的经典作用相反, 最近的研究表明 CCL17 在一些疾病的 Th1 炎症中也有作用. 据报道, CCL17 在吸烟诱导的肺部炎症的动物模型中发挥重要作用. Greaves 等人^[16]的研究表明, 在动脉粥样硬化病变中检测到高水平的 CCL17, 认为与 Th1 型炎症有关. 总之, CCL17 可能像一把双刃剑, 在 COPD 的发病机制中同时增强 Th1 和 Th2 炎症, 发挥复杂的作用, 这有待于进一步研究. 此外, ROC 曲线分析显示, CCL17 可以用来区分 COPD 与健康人, 其与肺功能及 CRP 等的相关性也提示其可作为炎症标志物用于 COPD 的疾病严重性评估. 本研究的发现将为进一步解释 COPD 的病因和发病机制提供一些参考.

然而, 本研究仍存在一定的局限性. 诸如仅在单中心中前瞻性进行了这项研究, 且研究规模并不大; 研究中纳入的这些患者可能不能反映不同地域条件和种族的特点; 研究未对治疗前后 CCL17 浓度的变化进行追踪研究, 无法确定治疗对其的影响; 研究没有关注 COPD 中 CCL17 变化的分子机制. 未来的研究将扩大样本量并深入分析以上问题.

总之, 本研究表明 CCL17 是 COPD 的生物标志物, 可用于鉴别正常人与 COPD 患者, 且可用于评估患者肺功能及疾病严重程度.

[参考文献]

- [1] LABAKI W W, ROSENBERG S R. Chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Annals of Internal Medicine*, 2020, 173 (3): 17-32.
- [2] FANG L, GAO P, BAO H, et al. Chronic obstructive pulmonary disease in China: a nationwide prevalence study [J]. *The Lancet Respiratory Medicine*, 2018, 6 (6): 421-430.
- [3] HUANG X, MU X, DENG L, et al. The etiologic origins for chronic obstructive pulmonary disease [J]. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 2019, 14: 1139-1158.
- [4] BARNES P J. Targeting cytokines to treat asthma and chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Nature Reviews Immunology*, 2018, 18 (7): 454-466.
- [5] SUGIYAMA M, KINOSHITA N, IDE S, et al. Serum CCL17 level becomes a predictive marker to distinguish between mild/moderate and severe/critical disease in patients with COVID-19 [EB/OL]. (2020-09-19) [2022-10-11]. <https://www.>

sciencedirect.com/science/article/pii/S0378111920308143?via%3Dihub.

- [6] LEE KM, JARNICKI A, ACHUTHAN A, et al. CCL17 in Inflammation and Pain [J]. *Journal of Immunology*, 2020, 205 (1): 213-222.
- [7] INAGAKI-KATASHIBA N, ITO T, INABA M, et al. Statins can suppress DC-mediated Th2 responses through the repression of OX40-ligand and CCL17 expression [J]. *European Journal of Immunology*, 2019, 49 (11): 2051-2062.
- [8] RITTER M, GÖGGELE R, CHAUDHARY N, et al. Elevated expression of TARC (CCL17) and MDC (CCL22) in models of cigarette smoke-induced pulmonary inflammation [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2005, 334 (1): 254-262.
- [9] MIRZA S, CLAY R D, KOSLOW M A, SCANLON P D. COPD Guidelines: A review of the 2018 GOLD report [J]. *Mayo Clinic Proceedings*, 2018, 93 (10): 1488-1502.
- [10] TEJERO J D, ARMAND N C, FINN C M, et al. Cigarette smoke extract acts directly on CD4 T cells to enhance Th1 polarization and reduce memory potential [J]. *Cellular Immunology*, 2018, 331: 121-129.
- [11] DE-LLANO L P, COSÍO B G, IGLESIAS A, et al. Mixed Th2 and non-Th2 inflammatory pattern in the asthma-COPD overlap: a network approach [J]. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 2018, 13: 591-601.
- [12] JOGDAND P, SIDDHURAJ P, MORI M, et al. Eosinophils, basophils and type 2 immune microenvironments in COPD-affected lung tissue [EB/OL]. (2020-05-01)[2022-10-11]. <https://erj.ersjournals.com/content/55/5/1900110>.
- [13] BUI D S, LODGE C J, BURGESS J A, et al. Childhood predictors of lung function trajectories and future COPD risk: a prospective cohort study from the first to the sixth decade of life [J]. *The Lancet Respiratory Medicine*, 2018, 6 (7): 535-544.
- [14] CATHERINE J, ROUFOSSE F. What does elevated TARC/CCL17 expression tell us about eosinophilic disorders [J]. *Seminars in Immunopathology*, 2021, 43 (3): 439-458.
- [15] HLAPOČIĆ I, SOMBORAC-BAČURA A, POPOVIĆ-GRLE S, et al. Platelet indices in stable chronic obstructive pulmonary disease - association with inflammatory markers, comorbidities and therapy [EB/OL]. (2019-12-15)[2022-10-11]. <https://www.biochemia-medica.com/en/journal/30/1/10.11613/BM.2020.010701>.
- [16] GREAVES DR, GORDON S. Immunity, atherosclerosis and cardiovascular disease [J]. *Trends in Immunology*, 2001, 22 (4): 180-181.

Changes of Serum CCL17 in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Its Relationship with Lung Function

SONG Qiuling¹, DAI Jiao²

(1. School of Medical Technology, Qujing Medical College, Qujing, Yunnan, China 655000;

2. Experimental Training Teaching Management Department, Qujing Medical College, Qujing, Yunnan, China 655000)

Abstract: To investigate the change of CCL17 in COPD patients and its relationship with pulmonary function and disease severity. Sixty-two COPD patients and fifty healthy controls who were seen between January 2021 and May 2022 were selected for the study. Thirty-eight cases with stable COPD and 24 cases with AECOPD were included. Enzyme-linked immunosorbent assay was performed to determine the concentration of serum CCL17 in each group. The correlations between CCL17 and clinical and laboratory indices were analyzed by Spearman's method. The results show that there was no statistical difference between SCOPD, AECOPD and control groups in terms of age, gender composition, BMI and smoking ($P > 0.05$). AECOPD patients had lower levels of FEV1/FVC (%) and FEV1%, and higher levels of PLT, CRP and IL-4 than SCOPD and control groups ($P < 0.05$). Serum CCL17 was significantly higher in AECOPD patients than in SCOPD and controls ($P < 0.01$). Serum CCL17 levels were significantly higher in patients with GOLD grade 3-4 than in patients with GOLD grade 1-2 ($P < 0.05$). CCL17 showed significant negative correlations with FEV1/FVC (%) and FEV1% and significant positive correlations with CRP, IL-4 and PLT. ROC curve showed a high AUC of 0.83, with a sensitivity of 72.73% and a specificity of 90.00% when using serum CCL17 to differentiate COPD from healthy controls. In conclusion, abnormal upregulation of CCL17 was closely associated with COPD disease progression and may be a biomarker for COPD disease assessment.

Key words: CCL17; COPD; disease severity; biomarker

(责任编辑: 陈伟超)