

DOI:10.13350/j.cjpb.220620

· 临床研究 ·

慢阻肺患者咽部菌群失衡与白细胞介素簇及 CD4⁺/CD8⁺水平的相关性

赵慧¹, 武宏², 赵丽洁^{1*}, 李文娟³

(1. 安阳职业技术学院医药卫生学院, 河南安阳 455000; 2. 安阳市中医院脑病科; 3. 安阳市人民医院重症监护室)

【摘要】 目的 分析慢阻肺患者咽部菌群失衡与白细胞介素簇及 CD4⁺/CD8⁺ 水平的相关性。方法 选取 2019 年 1 月-2021 年 3 月安阳市人民医院收治的慢阻肺患者 125 例为慢阻肺组, 另选取同期进行体检的健康者 80 例, 为健康组。采集两组受试者的咽拭子标本进行细菌培养, 观察咽部菌群分布。采用酶联免疫吸附法检测受试者血清白介素 IL-4、IL-8、IL-10 水平, 流式细胞仪检测 CD4⁺、CD8⁺, 并计算 CD4⁺/CD8⁺ 值。采用 Pearson 相关分析法分析咽部菌群数量与白细胞介素及 CD4⁺/CD8⁺ 值的关系。结果 慢阻肺组患者咽部检出菌群株数及主要致病菌所占比例显著高于健康组 (均 $P < 0.05$), 检出的主要致病菌数量居前 3 位的是凝固酶阴性葡萄球菌、大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌, 分别占 28.00%、27.20% 和 22.40%。慢阻肺组患者血清 IL-4、IL-8 水平显著高于健康组 ($P < 0.05$), IL-10 水平显著低于健康组 ($P < 0.05$), CD4⁺ 百分率及 CD4⁺/CD8⁺ 值显著低于健康组 ($P < 0.05$), CD8⁺ 水平与健康组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。经 Pearson 相关性分析, 慢阻肺患者咽部菌群数量与血清 IL-4、IL-8 水平呈正比 ($P < 0.05$), 与血清 IL-10 水平及 CD4⁺/CD8⁺ 值呈反比 ($P < 0.05$)。结论 慢阻肺患者咽部菌群失衡与体内白细胞介素簇、CD4⁺/CD8⁺ 比值密切相关, 临床上应及时监测患者血清上述指标评估病情, 采取相应的治疗措施。

【关键词】 慢阻肺; 咽部菌群; 白细胞介素簇; T 淋巴细胞亚群; 相关性

【中图分类号】 R378

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2022)06-0714-04

[*Journal of Pathogen Biology*. 2022 Jun.; 17(6):714-717.]

Correlation of pharyngeal flora imbalance with interleukin cluster and CD4⁺/CD8⁺ values in patients with chronic obstructive pulmonary disease

ZHAO Hui¹, WU Hong², ZHAO Li-jie¹, LI Wen-juan³ (1. School of Medicine and Hygiene, Anyang Vocational and Technical College, Anyang, Henan 455000, China; 2. Department of Brain Disease, Anyang Traditional Chinese Medicine Hospital; 3. Department of Intensive Care Unit, Anyang People's Hospital) *

【Abstract】 **Objective** To investigate the correlation of pharyngeal flora imbalance with interleukin cluster and CD4⁺/CD8⁺ values in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Methods** One hundred and twenty-five patients with COPD in Anyang People's Hospital from January 2019 to March 2021 were enrolled, and another 80 healthy individuals underwent physical examination in our hospital were set as healthy group. Bacterial cultures of throat swabs were performed in both groups to detect the distribution of pharyngeal flora, and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of interleukins (IL-4, IL-8, and IL-10) in venous blood. CD4⁺ and CD8⁺ contents were determined by flow cytometry, and CD4⁺/CD8⁺ ratio was calculated. Then the correlation of pharyngeal flora with interleukin cluster and CD4⁺/CD8⁺ was discussed using Pearson correlation analysis. **Results** The proportion of main pathogenic bacteria in pharynx of COPD group was significantly higher than that of healthy group ($P < 0.05$). *Coagulase negative staphylococcus*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were the top 3 pathogenic bacteria detected in the pharynx of COPD patients, accounting for 28.00%, 27.20% and 22.40%, respectively. The number of pharyngeal flora in COPD group was significantly larger than that in healthy group ($P < 0.05$). Serum IL-4 and IL-8 levels in COPD group were higher than those in healthy group ($P < 0.05$), and IL-10 levels were lower than those in healthy group ($P < 0.05$). CD4⁺ cell percentage and CD4⁺/CD8⁺ ratio in COPD group were lower than those in healthy group ($P < 0.05$), while CD8⁺ value demonstrated no statistical significance between two groups ($P > 0.05$). Pearson correlation analysis showed that the number of pharyngeal bacteria was positively correlated with serum IL-4 and IL-8 levels ($P < 0.05$), but negatively correlated with serum IL-10 levels and CD4⁺/CD8⁺ ratio ($P < 0.05$). **Conclusion** The imbalance of pharyngeal flora in patients with COPD is closely related to the interleukin cluster and CD4⁺/CD8⁺ ratio, so the monitoring of the a-

* **【通讯作者】** 赵丽洁, E-mail: 892985956@qq.com

【作者简介】 赵慧 (1986-), 女, 河南安阳人, 本科, 讲师, 主要从事医学教学工作。E-mail: zhuhuihui2325@163.com

bove indexes is of great significance in the clinical diagnosis and the establishment of appropriate treatment measures.

【Key words】 chronic obstructive pulmonary disease; pharyngeal flora; interleukin clusters; T lymphocyte subsets; correlation

慢阻肺多发于中老年人群,为全球高发疾病。慢阻肺急性加重严重威胁患者生命,疾病严重程度与气体,有毒颗粒对气道、肺部刺激引发的慢性炎症反应有关^[1]。目前尚未明确慢阻肺病因,一般认为发病因素主要有环境、遗传、气道反应性增高等,表现为胸闷喘息、咳泡沫性痰或白色黏液。健康人群咽部寄居着棒状杆菌、奈瑟菌、甲丙链球菌等微生物,在宿主与外环境下菌群种类与数量保持动态平衡,能保护机体生态平衡。口咽部正常菌群为机体天然屏障,当正常结构破坏后发生菌群失调,可引发呼吸道感染,严重者甚至死亡^[2]。慢阻肺患者各级气道中有中性粒细胞、巨噬细胞等多种炎症细胞存在,T细胞介导的炎症反应参与慢阻肺急性加重期的发生发展,机体炎症因子水平发生显著变化^[3]。研究显示,T细胞介导的炎症反应参与慢阻肺急性加重过程,处于CD4⁺与CD8⁺T细胞失衡状态^[4-5]。本研究通过观察慢阻肺患者咽部菌群分布情况,并检测机体白细胞介素与CD4⁺/CD8⁺值水平,分析其相关性,结果报道如下。

对象与方法

1 受试对象

经医院伦理委员会批准,选取2019年1月-2021年3月安阳市人民医院收治的慢阻肺患者125例(慢阻肺组),其中男78例,女47例;年龄52~78岁,平均(61.28±8.36)岁。纳入标准:符合《慢性阻塞性肺疾病基层诊疗指南》标准^[6];患者病历资料完整且知情同意。排除标准:肺损伤疾病患者;恶性肿瘤患者;血液疾病患者。另选取同期于医院健康体检者80例(健康组),其中男性49例,女性31例;年龄为51~80岁,平均(62.17±8.42)岁。慢阻肺组与健康组一般资料具有可比性($P>0.05$)。

2 方法

2.1 咽部菌群检查 受试者使用无菌生理盐水漱口,由医务人员于其口咽部用棉拭子采集标本,在1h内接种于巧克力平板和血平板上,35℃下在CO₂培养箱、普通培养箱中培养18~24h后观察结果,连续观察3d,挑选优势生长菌落染色鉴定,并做致病菌药敏试验。细菌鉴定采用全自动细菌鉴定仪(美国西门子公司,型号Microscan WalkAway96),使用检测板PC20、NC31和纸片扩散法KB进行药敏试验。质控菌株为大肠埃希菌ATCC35218、ACC25922,肺炎链球菌ATCC49619,金黄色葡萄球菌ATCC25923,铜绿假单胞菌ATCC27853,肠球菌ATCC29212。细菌鉴

定严格参照说明书操作,参加安阳市人民医院检验科的室间质评,细菌鉴定至种水平^[7]。

2.2 白细胞介素检测 采集受试者清晨空腹静脉血,分离血清,采用酶联免疫吸附法检测白细胞介素4(IL-4)、IL-8、IL-10水平。试剂盒为美国Biosource公司产品,试验按试剂盒说明书操作。

2.3 T淋巴细胞亚群检测 采集受试者外周静脉血置于真空采血管中,加入乙二胺四乙酸二钾抗凝剂混匀,采用流式细胞仪检测CD4⁺、CD8⁺百分率,并计算CD4⁺/CD8⁺值。

2.4 统计学分析 采用SPSS 20.0进行数据分析。菌群占比用百分比表示,采用 χ^2 检验;符合正态分布的白介素含量,菌群数及CD4⁺、CD8⁺百分率以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;Pearson相关分析法分析咽部菌群与白介素、T淋巴细胞亚群间的关系。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1 咽部菌群分布

慢阻肺组患者咽部主要致病菌占比显著高于健康组($P<0.05$)。慢阻肺患者咽部检出的主要致病菌数量居前三位的为凝固酶阴性葡萄球菌、大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌,分别占28.00%、27.20%和22.40%(表1)。

表1 两组受试者咽部菌群分布[n(%)]
Table 1 Distribution of pharyngeal flora in two groups

| 病原菌 Pathogen | 健康组 Health group(n=80) | 慢阻肺组 COPD group(n=125) |
|-----------------|---------------------------|---------------------------|
| 凝固酶阴性葡萄球菌 | 4(5.00) | 35(28.00) |
| 大肠埃希菌 | 3(3.75) | 34(27.20) |
| 金黄色葡萄球菌 | 5(6.25) | 28(22.40) |
| 肺炎克雷伯菌 | 6(7.50) | 27(21.60) |
| 肺炎链球菌 | 2(2.50) | 22(17.60) |
| 鲍曼不动杆菌 | 7(8.75) | 21(16.80) |
| 产气肠杆菌 | 2(2.50) | 20(16.00) |
| 铜绿假单胞菌 | 2(2.50) | 15(12.00) |
| 肠球菌 | 2(2.50) | 15(12.00) |
| 白色念珠菌 | 2(2.50) | 13(10.40) |
| 变形杆菌 | 1(1.25) | 12(9.60) |
| 阴沟肠杆菌 | 1(1.25) | 11(8.80) |
| 流感嗜血杆菌 | 1(1.25) | 6(4.80) |

2 咽部菌群数量比较

健康组分离菌群株数为(38.15±2.24)株,慢阻肺组为(259.48±4.26)株,差异有统计学意义($t=428.114, P<0.05$)。

3 白细胞介素水平

慢阻肺组患者血清 IL-4、IL-8 水平高于健康组 (均 $P < 0.01$), IL-10 水平显著低于健康组 ($P < 0.01$) (表 2)。

表 2 两组受试者白细胞介素水平比较

| 组别 Group | 例数 No. of cases | IL-4 ($\bar{x} \pm s, \text{ng/L}$) | IL-8 ($\bar{x} \pm s, \text{ng/L}$) | IL-10 ($\bar{x} \pm s, \text{ng/L}$) |
|-------------|--------------------|--|--|---|
| 健康组 | 80 | 55.08 ± 10.43 | 29.11 ± 4.76 | 58.57 ± 7.86 |
| 慢阻肺组 | 125 | 141.72 ± 21.75 | 53.74 ± 3.78 | 20.55 ± 1.97 |
| <i>t</i> 值 | | 33.245 | 41.068 | 51.669 |
| <i>P</i> 值 | | <0.01 | <0.01 | <0.01 |

4 CD4⁺、CD8⁺百分率及 CD4⁺/CD8⁺值

表 3 显示,慢阻肺组 CD4⁺百分率及 CD4⁺/CD8⁺值显著低于健康组 (均 $P < 0.01$); CD8⁺百分率两组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 3 两组受试者 CD4⁺和 CD8⁺百分率及 CD4⁺/CD8⁺值比较

| 组别 Group | 例数 No. of cases | CD4 ⁺ ($\bar{x} \pm s, \%$) | CD8 ⁺ ($\bar{x} \pm s, \%$) | CD4 ⁺ /CD8 ⁺ |
|-------------|--------------------|---|---|------------------------------------|
| 健康组 | 80 | 36.88 ± 5.26 | 27.98 ± 4.65 | 1.36 ± 0.33 |
| 慢阻肺组 | 125 | 28.10 ± 4.81 | 27.62 ± 4.17 | 1.04 ± 0.27 |
| <i>t</i> 值 | | 12.289 | 0.576 | 7.423 |
| <i>P</i> 值 | | <0.01 | >0.05 | <0.01 |

5 咽部菌群与血清白细胞介素水平及 CD4⁺/CD8⁺值的相关性分析

经 Pearson 相关分析,慢阻肺患者咽部菌群数量与血清 IL-4、IL-8 水平呈正相关 (r 值分别为 0.919 和 0.944, 均 $P < 0.01$), 与血清 IL-10 水平及 CD4⁺/CD8⁺值呈负相关 (r 值分别为 -0.964 和 -0.461, 均 $P < 0.01$)。

讨论

慢阻肺呈进行性发展,特征为持续气流受限^[8]。该病为慢性炎症反应,炎症反应过程中涉及巨噬细胞、T 淋巴细胞的参与^[9]。T 细胞为启动因子,具有增殖活化作用,在加重患者急性炎症发展过程中发挥关键作用^[10]。

正常菌群能保护机体的生态平衡,正常结构破坏后导致菌群失衡,患者可出现呼吸道感染、死亡等^[11]。本研究咽拭子培养结果显示,慢阻肺患者咽部菌群失衡,致病菌显著增多,细菌种类与数量均多于健康者,且主要病原菌金黄色葡萄球菌占 22.40%,肺炎克雷伯菌占 21.60%,肺炎链球菌占 17.60%,大肠埃希菌占 27.20%。结果表明,慢阻肺患者咽部菌群相对于健康者处于紊乱状态。研究发现,细菌感染引发慢阻肺急性加重期的机制有“阈值假说”,即气道中的细菌定植存在负荷量,超过阈值可出现严重炎症^[12]。反复

细菌感染能激活机体炎症细胞释放更多炎症介质,气道炎症加重,直接影响患者的预后^[13]。

IL-4 为生物活性因子,可促进内皮细胞黏附分子的表达,提高淋巴细胞、嗜酸性粒细胞与内皮细胞结合能力,且对巨噬细胞有趋化作用,可提高花生四烯酸生成,加重慢阻肺患者气道炎症反应^[14]。研究显示,慢阻肺患者支气管腺细胞的 IL-4 基因表达增强、血液中 IL-4 水平上升,支气管与肺泡炎症细胞的 IL-4 水平也有增加,表明 IL-4 在哮喘中也发挥重要作用^[15]。本研究中慢阻肺患者 IL-4 水平高于健康者,表明 IL-4 在慢阻肺疾病发展过程中发挥了一定作用。IL-8 为细胞趋化因子主要成分,为多种炎症疾病重要递质。IL-8 能趋化聚集中性粒细胞使其激活,进而释放炎症递质,对支气管造成损伤,且有助于产生 IL-8,加重气道炎症导致慢阻肺发生^[14]。IL-8 能调节内皮上黏附因子,趋化嗜酸性粒细胞加重哮喘。慢阻肺患者血清 IL-8 水平比健康者更高,表明 IL-8 在慢阻肺发病中发挥作用。IL-10 广泛分布于机体中,具有多生物活性。IL-10 为抑制性的细胞因子,抑制效应发生于 mRNA 转录、翻译过程,能抑制抗原呈递细胞、T 淋巴细胞及自然杀伤细胞等释放 IL-1、IL-6 等炎症因子在哮喘中高表达炎性酶^[15]。拓国峰等^[16]研究指出,慢阻肺患者血清 IL-10 水平与健康人相比无显著差异。但晏斌林等^[17]研究发现,慢阻肺组患者在急性加重期血清 IL-10 水平低于健康人。本研究结果显示,慢阻肺组患者 IL-10 水平低于健康组。研究证实,慢阻肺进展过程中伴有免疫功能失衡,尤其是 T 淋巴细胞在其发病中发挥重要作用^[18-19]。总 T 淋巴细胞的表面标志物以 CD3⁺为主,T 淋巴细胞根据表型分为辅助性 T 细胞(CD4⁺)和杀伤性 T 细胞(CD8⁺)。CD4⁺可主导人体免疫系统,通过激活其他免疫细胞产生免疫反应,有效调控并辅助其他淋巴细胞^[20]。本研究结果显示,慢阻肺组患者 CD4⁺百分率及 CD4⁺/CD8⁺值低于健康者,说明在慢阻肺进展中患者的免疫功能下降而发生感染,感染恶化并加重病情。Pearson 相关分析显示,慢阻肺患者咽部菌群数量与血清 IL-4、IL-8 水平呈正相关,与血清 IL-10 水平及 CD4⁺/CD8⁺值呈负相关,说明检测慢阻肺患者血清白细胞介素及 T 淋巴细胞亚群对评估其病情及预后具有重要指导意义^[21]。

综上所述,慢阻肺患者咽部菌群数量相对于健康人显著增加,且炎症反应加重,免疫功能下降,咽部菌群数量与白细胞介素及 T 淋巴细胞亚群含量密切相关,可为慢阻肺的诊治提供参考。

【参考文献】

[1] Njoku CM, Alqahtani JS, Wimmer BC, et al. Risk factors and associated outcomes of hospital readmission in COPD: A systematic

- review[J]. *RespirMed*, 2020, 173(1): 105988.
- [2] 邹杨, 张瑜, 李新鸣, 等. 肺炎患者与健康人口咽部菌群分析[J]. *中国微生态学杂志*, 2020, 32(4): 425-427, 443.
- [3] 张军营. 慢性阻塞性肺疾病患者肠道菌群特点及其与炎症指标、肺功能状况的相关性[J]. *实用临床医药杂志*, 2019, 23(24): 51-54.
- [4] 李富寿, 李沛繁. COPD患者相关炎症因子水平与其病情严重程度的相关性研究[J]. *中南医学科学杂志*, 2020, 48(5): 487-489, 504.
- [5] 陈玮, 徐赛婵, 汪军, 等. 慢性阻塞性肺疾病患者合并感染时辅助性和调节性T细胞的变化[J]. *国际流行病学传染病学杂志*, 2015, 42(1): 24-28.
- [6] 中华医学会, 中华医学会杂志社, 中华医学会全科医学分会, 等. 慢性阻塞性肺疾病基层诊疗指南(实践版·2018)[J]. *中华全科医师杂志*, 2018, 17(11): 871-877.
- [7] 曾昭瑛, 李亚娜, 苏建荣. VITEK-2 Compact全自动细菌鉴定仪直接鉴定 BACTEC 9120 血培养阳性标本的临床应用[J]. *临床和实验医学杂志*, 2014, 13(22): 1895-1897.
- [8] 杜璐玲, 高晓红, 吴银婵, 等. 潮州地区稳定期慢性阻塞性肺疾病患者肺康复的临床研究[J]. *中华生物医学工程杂志*, 2019, 25(5): 599-604.
- [9] Tan W, Shen HM, Wong W. Dysregulated Autophagy in COPD: A pathogenic process to be deciphered[J]. *PharmacolRes*, 2019(144): 1-7.
- [10] 史莹, 毛山. 慢性阻塞性肺疾病患者外周血 T 淋巴细胞 Kv1.3 通道表达及功能的研究[J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2019, 18(2): 120-123.
- [11] 刘富新, 杨荣生. 慢性阻塞性肺疾病患者口咽部菌群分析与菌群分布紊乱的防治措施[J]. *国际检验医学杂志*, 2016, 37(2): 178-179, 182.
- [12] 孙玲玲, 李喜亮, 卢志威, 等. 肺炎支原体肺炎患儿口咽部菌群的变化[J]. *中国微生态学杂志*, 2018, 30(6): 631-634.
- [13] 黄振杰, 曾彤华, 蔡文华, 等. 慢性阻塞性肺疾病患者白细胞介素-32、白细胞介素-17、和肽素水平变化与吸烟的相关性及对肺功能影响[J]. *中华肺部疾病杂志(电子版)*, 2015, 8(5): 51-55.
- [14] 何琛璐, 许钦, 刘润武. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期患儿血清肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 6、超敏 C-反应蛋白水平研究[J]. *创伤与急危重病医学*, 2020, 8(5): 383-384, 387.
- [15] 崔丽英, 任卉, 郝璐, 等. 白细胞介素 4、白细胞介素 8、白细胞介素 10 在哮喘和慢性阻塞性肺疾病发病中的作用[J]. *中国临床医学*, 2012, 19(1): 22-24.
- [16] 拓国峰, 冯文奎, 沈海虎. 血清炎症因子及血浆渗透压与慢阻肺的关系[J]. *贵州医药*, 2019, 43(7): 1078-1079.
- [17] 晏斌林, 顾为丽, 杜娟, 等. 慢性阻塞性肺疾病患者呼出气冷凝液 IL-17、IL-10、8-iso-PG 的测定及临床意义[J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2017, 16(2): 142-146.
- [18] Li K, Ran R, Jiang Z, et al. Changes in T-lymphocyte subsets and risk factors in human immunodeficiency virus-negative patients with active tuberculosis[J]. *Infection*, 2020, 48: 585-595.
- [19] 黎银焕, 张平, 陈卫民, 等. COPD 并发肺炎患者外周血内皮祖细胞数量和功能的变化及机制研究[J]. *广州医科大学学报*, 2020, 48(4): 50-55.
- [20] 郝月琴, 王欣, 李猛, 等. 慢性阻塞性肺疾病患者 T 细胞亚群变化及 CD8⁺CD28⁺ T 细胞与 C 反应蛋白相关性探讨[J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2020, 19(1): 75-77.
- [21] 宋永娜, 郭林青, 陈秋生, 等. 外周血细胞因子及 T 淋巴细胞水平与慢性阻塞性肺疾病严重程度的相关性[J]. *新乡医学院学报*, 2021, 38(4): 332-336.
- 【收稿日期】 2021-01-05 【修回日期】 2022-03-29

(上接 713 页)

- [12] 程小丽. 急诊重症监护室机械通气病人发生呼吸机相关性肺炎危险因素分析[J]. *全科护理*, 2021, 19(14): 1956-1958.
- [13] Xu Y, Lai C, Xu G, et al. Risk factors of ventilator-associated pneumonia in elderly patients receiving mechanical ventilation[J]. *Clin Interv Aging*, 2019, 14(1): 1027-1038.
- [14] Mohd Sazly Lim S, Zainal AA, Liew SM, et al. The global prevalence of multidrug-resistance among *Acinetobacter baumannii* causing hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia and its associated mortality: A systematic review and meta-analysis[J]. *J Infect*, 2019, 79(6): 593-600.
- [15] 谢朝云, 蒙桂鸾, 熊芸, 等. 多重耐药菌感染呼吸机相关性肺炎影响因素分析[J]. *中国消毒学杂志*, 2020, 37(3): 186-189.
- [16] Wu Z, Liu Y, Xu J, et al. A ventilator-associated pneumonia prediction model in patients with acute respiratory distress syndrome[J]. *Clin Infect Dis*, 2020, 71(Suppl 4): S400-S408.
- 【收稿日期】 2022-02-15 【修回日期】 2022-05-07