

• 综 述 •

流感嗜血杆菌在慢性阻塞性肺病急性加重和进展中的意义

王东 综述 刘又宁 审校

慢性阻塞性肺病(chronic obstructive pulmonary diseases, COPD)与心脑血管疾病死亡率逐年降低相比,其死亡率在近年来反而有所增加。COPD 出现不完全可逆、呈进行性发展的气流受限,与肺部对香烟烟雾等有害气体或有害颗粒的异常炎症反应有关,COPD 主要累及肺脏,但也可引起全身(或称肺外)的不良效应,是患者反复入院的主要原因。近一半的 COPD 急性加重是由于呼吸系统的细菌感染导致的。

吸烟是 COPD 的重要致病因素之一。由于吸烟导致的炎症过程可引起不完全可逆的气流受限,并进行性发展。在 COPD 的中晚期即使停止吸烟炎症损伤仍在继续,表现为症状持续存在和反复的病情加重。吸烟和逐渐进展的气道阻塞还可导致原本无菌的气道黏膜出现细菌的定植^[1]。而 COPD 患者下呼吸道中细菌的定植被认为是一个潜在的长期致炎因素,可导致症状反复出现^[2]。

COPD 稳定期和急性加重期痰培养中分离的最常见的细菌病原体是不可分型流感嗜血杆菌(non-typeable haemophilus influenzae, NTHi)。NTHi 是一种寄养的革兰阴性杆菌,不与已知类型的流感嗜血杆菌荚膜抗血清发生凝集。本文针对 NTHi 在 COPD 稳定期时作为炎症刺激因子以及在感染致 COPD 急性加重时的作用和发病机制作一综述。

1 NTHi 在急性加重期的作用

COPD 急性加重时气道炎症反应更为明显,不同的感染病原体包括细菌、病毒、非典型致病体都可以加重气道炎症,约 80% 的急性加重与感染有关。

1.1 COPD 下呼吸道 NTHi 的分离 COPD 急性加重时,NTHi 是痰培养中分离出的最常见的细菌病原体,占 13%~50%。但是痰液标本常常沾染上气道的菌群,无法提供可靠的感染部位细菌密度。支气管镜引导下采集的标本,如来自保护性毛刷和

支气管肺泡灌洗液的标本,可进行定量培养,克服了上述缺点,得到的结果较为准确地反映了急性加重时的下呼吸道细菌学特点。对支气管镜引导下标本的研究结果显示,NTHi 仍是最常分离出的细菌之一,且细菌密度很高。而在 COPD 稳定期的研究中,利用相同的方法 NTHi 的分离率为 15%,低于急性期加重时的分离率(34.5%)^[3]。

Bandi 等^[4]对急性加重时插管的患者进行了气管黏膜活检,并利用 NTHi 特异性单克隆抗体对 NTHi 进行免疫标记,结果显示 87% 的急性加重的气管黏膜组织可找到 NTHi,而只有 33% 的稳定期的 COPD 患者发现 NTHi,健康对照组没有发现 NTHi。

上述研究充分证明,在 COPD 急性加重时,NTHi 常常以较高的密度存在于下呼吸道,稳定期时定植率较低,健康的非吸烟者没有 NTHi 的定植。

1.2 NTHi 在急性加重时的发病机制 NTHi 常常定植于 COPD 稳定期患者的下呼吸道^[5]。早期的研究结果显示,COPD 急性加重和稳定期时痰培养中 NTHi 分离率没有明显差别,因此有学者认为 COPD 急性加重与 NTHi 的定植无明显关联,可能与病毒和环境污染有关。但在研究中并未区分分离出的病原体的种型特性。由于不同种型的细菌之间遗传信息的差异,导致菌体表面抗原结构的不同,使得某些菌株可以逃避先前的宿主免疫从而引发感染,因此尽管痰液中 NTHi 分离率无差别,尚不能除外由于种型的变化导致 COPD 细菌感染再次加重的可能。

近期一项 COPD 的前瞻性队列研究,对入组的病例稳定期和急性加重期的痰液标本进行培养,主要针对急性加重时涉及的三种主要病菌,NTHi、肺炎链球菌和卡他莫拉菌,分析各菌株之间种型的差异。结果显示,感染一株以前未曾感染过的细菌,会

收稿日期:2008-01-23

作者单位:100853 北京市,解放军总医院呼吸内科

作者简介:王东,男,1977 年 3 月生,河南省汲县人,在读博士研究生,主治医师。Tel:010-66936184,E-mail:cerulindwang@163.com

使得急性加重的危险性增加2倍以上,而感染一株新型的 NTHi 会导致急性加重的危险性增加69%^[6]。

新感染一株 NTHi 导致 COPD 急性加重的可能解释是由于先前的免疫系统无法识别这一菌株,导致细菌在下呼吸道的增殖,引发炎症反应,出现急性加重的临床症状。有研究显示,急性加重过后有69%的患者血清可检测到新菌株的特异性抗体,提示出现了对这一新菌株的免疫应答,支持了上述假设。但急性加重后出现的特异性细菌抗体具有高度的种型特异性,对其他异源性的菌株仅有12%的抗菌活性,对以后的 NTHi 感染没有保护作用,从而导致在同一个患者身上反复出现急性加重^[7]。

中性粒细胞浸润是细菌感染的标志,COPD 急性加重时气管壁黏膜中性粒细胞浸润的主要调节因子是白细胞介素-8(IL-8)和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)。有研究发现,NTHi 导致的急性加重时痰液中 TNF- α 和中性粒细胞弹性蛋白酶水平明显升高^[8];体外实验证实,NTHi 外膜蛋白 P6 可以刺激人巨噬细胞和气管上皮细胞分泌前炎症因子包括 IL-8 和 TNF- α ^[9];COPD 患者支气管肺泡灌洗液中 IL-8 的水平也与肺泡上皮细胞的受损程度相关^[10]。以上均提示 NTHi 可诱导产生细胞因子,促进中性粒细胞浸润产生炎症反应,导致支气管进行的阻塞和肺泡损伤。

在上文中提到的队列研究^[6]中,不是每一株新的 NTHi 都可以导致急性加重,提示 NTHi 不同的菌株具有不同的致炎特性。事实上,导致急性加重的 NTHi 菌株比定植在气道上皮细胞表面的菌株可诱导更高水平的炎症前细胞因子。因此,由于 NTHi 菌株的不同,导致了宿主的炎症反应以及患者症状的差异,因此也就解释了为什么 COPD 患者身上分离出的 NTHi 菌株既可导致急性加重,也可以无症状的定植状态存在。

2 NTHi 在 COPD 进展中的作用

NTHi 可通过两个途径促进 COPD 病情的进展。上文中已经提及 NTHi 感染所致的急性加重可引起中性粒细胞浸润气道,中性粒细胞的坏死可以释放中性粒细胞弹性蛋白酶和金属蛋白酶,破坏肺的天然屏障以及肺泡结构。最近的研究已经证实,反复发作的 COPD 急性加重会导致进行性肺功能的下降。由于细菌和病毒引起的炎症反应差别很大,因此不同的急性加重感染的病原体引发的肺损

伤和肺功能降低有所不同。

另一个潜在的因素是 NTHi 在 COPD 稳定期下呼吸道定植时发挥的作用,尽管此时症状轻微,但定植菌的存在与逐渐加重的气道炎症还是有很大关联的。

NTHi 可产生免疫球蛋白 A(IgA)蛋白酶,从而破坏 IgA 黏膜屏障功能,使得病原体可以黏附到上皮细胞,导致慢性的气道定植。许多 NTHi 成分(包括脂多糖或内毒素),胞浆成分和外膜蛋白诱导产生一系列炎症因子,趋化中性粒细胞浸润到气道黏膜产生氧自由基和蛋白水解酶。这些因素反过来又加重吸烟所致肺损伤,破坏肺的防御屏障,使得细菌能长期定植在下呼吸道,形成恶性循环。

NTHi 在下呼吸道的长期定植是 COPD 发病的重要决定因素,NTHi 可以在下呼吸道定植数月,甚至应用抗生素后,尽管痰培养是阴性,但仍可分离到细菌,此时可以通过分子生物学技术加以鉴定。

2.1 COPD 稳定期 NTHi 致炎的证据 有证据显示,COPD 稳定期呼吸道内定植的细菌仍可诱导炎症发生。对慢性 NTHi 感染的慢性支气管炎患者痰中髓过氧化物酶、IL-8 和 TNF- α 水平进行研究发现,痰与血清中上述因子之比,在慢性 NTHi 感染者中要显著高于未感染者,提示慢性 NTHi 感染局部气道炎症和损伤较明显^[11]。另一项研究显示,与 NTHi 感染所致 COPD 急性加重时相比,髓过氧化物酶和白三烯 B₄(leukotrienes B₄, LTB₄)水平在细菌明显清除、病情恢复到稳定期后显著下降,而对于临床症状稳定但仍持续排菌的患者,细胞因子水平下降不如前者明显^[12]。

Banerjee 等^[13]研究了中重度稳定期 COPD 患者,发现有 NTHi 定植的患者一般身体状况较差,炎症反应增加,如 IL-8、TNF- α 、LTB₄、中性粒细胞弹性蛋白酶水平较高,对于没有 NTHi 定植的患者情况相反。

COPD 病变的主要发生部位是下呼吸道,Soler 利用纤维支气管镜引导得到下呼吸道的标本,研究了稳定期 COPD、吸烟者和不吸烟者支气管肺泡灌洗液中炎症和细菌定植的情况。32% COPD 患者可发现细菌的定植,42%吸烟者也可见到,未吸烟者无细菌定植。而且细菌定植的同时,合并有较多中性粒细胞的浸润。研究结果显示,细菌定植于外周气道在 COPD 中十分常见,是导致炎症反应和 COPD 进展的重要因素^[14]。

尽管 NTHi 的定植与 COPD 气道炎症关系密

切,但仍存在几个问题。已发现 COPD 患者中吸烟者很多,下一步研究应在吸烟者中进一步观察细菌定植和气道炎症的关系,包括吸烟对细菌定植和炎症的影响,以及定植的机制和炎症引发的后果等。

2.2 NTHi 持续存在的机制 NTHi 定植的证据是通过痰培养和支气管镜标本获得的。NTHi 可以存在于痰培养阳性的 COPD 稳定期患者的气道内^[5]。如果应用纤支镜取得气管黏膜活检标本并用免疫染色的方法,可以发现 1/3 稳定期 COPD 患者标本中有 NTHi 的存在^[4]。Moller 等^[15]用 PCR 方法从接受肺移植的晚期 COPD 患者病肺中检测 NTHi 的 DNA,结果发现其弥漫分布在呼吸道上皮和上皮下肺的各层组织。肺纤维化患者也发现了类似的结果,但 NTHi 数量较少。

NTHi 长期存在于下呼吸道的原因可能有以下几个方面:侵入气道黏膜,抗原变异和生物膜的形成。有证据显示,严重 COPD 患者气道上皮内可见到 NTHi^[4,15],侵入上皮细胞层的 NTHi 可逃避抗体和抗生素的打击。

NTHi 还可通过外膜蛋白 P2 的点突变或基因交换导致的抗原漂移来逃避保护性抗体的识别和结合^[16]。这个机制已经在 COPD 患者和慢性皮下 NTHi 感染的动物模型中得到证实。

生物膜是一群细菌由自我生成的基质包绕并黏附到一个活体或无生命的表面的生存状态。对 NTHi 体外生物膜形成的研究是从 2002 年开始的,研究发现不同菌株形成生物膜的能力不同,菌毛在 NTHi 生物膜形成中至关重要^[17]。对 NTHi 生物膜的体内研究主要集中在 NTHi 生物膜对慢性中耳炎发病的影响,已在动物模型和人体中耳黏膜表面得到了有力的证据证实生物膜的存在^[18~20]。虽然已有研究证实囊性纤维化患者气道内有 NTHi 生物膜的形成^[21],可产生对抗生素的耐药和对免疫清除系统的逃避,但现在仍没有直接的证据证实 NTHi 定植的 COPD 患者或动物模型气道内有 NTHi 生物膜的形成,因此需要进一步研究证实其是否存在,是否为 NTHi 持续存在和诱发 COPD 加重的作用因素,以及有效地抑制和破坏 NTHi 生物膜的治疗药物和方法。

3 结语

有关 COPD NTHi 感染的研究已取得了较大进展。为发现新的 NTHi 感染的预防和治疗手段,需要进一步了解宿主-病原的相关作用。NTHi 的

致病因子研究较少,NTHi 如何在气道表面黏附并侵入组织以及如何逃避宿主免疫应答是研究的关键,同时也有助于研究 NTHi 在 COPD 气道环境中的作用。

参考文献

- [1] Laurenzi GA, Potter RT, Kass EH. Bacteriologic flora of the lower respiratory tract. *N Engl J Med*, 1961, 265:1273-1278.
- [2] Murphy TF, Sethi S. Bacterial infection in chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis*, 1992, 146:1067-1083.
- [3] Monso E, Ruiz J, Rosell A, et al. Bacterial infection in chronic obstructive pulmonary disease. A study of stable and exacerbated outpatients using the protected specimen brush. *Am J Respir Crit Care Med*, 1995, 152(4 Pt 1): 1316-1320.
- [4] Bandi V, Apicella MA, Mason E, et al. Nontypeable *Haemophilus influenzae* in the lower respiratory tract of patients with chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, 164:2114-2119.
- [5] Murphy TF, Brauer AL, Schiffmacher AT, et al. Persistent colonization by *Haemophilus influenzae* in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 2004, 170:266-272.
- [6] Sethi S, Evans N, Grant BJB, et al. Acquisition of a new bacterial strain and occurrence of exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med*, 2002, 347:465-471.
- [7] Sethi S, Wrona C, Grant BJ, et al. Strain-specific immune response to *Haemophilus influenzae* in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 2004, 169: 448-453.
- [8] Sethi S. New developments in the pathogenesis of acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Curr Opin Infect Dis*, 2004, 17: 113-119.
- [9] Berenson CS, Murphy TF, Wrona CT, et al. Outer membrane protein P6 of nontypeable *Haemophilus influenzae* is a potent and selective inducer of human macrophage proinflammatory cytokines. *Infect Immun*, 2005, 73: 2728-2735.
- [10] Fuke S, Betsuyaku T, Nasuhara Y, et al. Chemokines in bronchiolar epithelium in the development of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2004, 31: 405-412.
- [11] Bresser P, Out TA, Van-Alphen L, et al. Airway inflammation in nonobstructive and obstructive chronic bronchitis with chronic *Haemophilus influenzae*

- airway infection. Comparison with noninfected patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, 162(3 Pt 1): 947-952.
- [12] White AJ, Gompertz S, Bayley DL, et al. Resolution of bronchial inflammation is related to bacterial eradication following treatment of exacerbations of chronic bronchitis. *Thorax*, 2003, 58: 680-685.
- [13] Banerjee D, Khair OA, Honeybourne D. Impact of sputum bacteria on airway inflammation and health status in clinical stable COPD. *Eur Respir J*, 2004, 23: 685-691.
- [14] Soler N, Ewig S, Torres A, et al. Airway inflammation and bronchial microbial patterns in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*, 1999, 14: 1015-1022.
- [15] Moller LV, Timens W, Van-der-Bij W, et al. Haemophilus influenzae in lung explants of patients with end-stage pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 1998, 157(3 Pt 1): 950-956.
- [16] Hiltke TJ, Schiffmacher AT, Dagonese AJ, et al. Horizontal transfer of the gene encoding outer membrane protein P2 of nontypeable Haemophilus influenzae, in a patient with chronic obstructive pulmonary disease. *J Infect Dis*, 2003, 188: 114-117.
- [17] Murphy TF, Kirkham C. Biofilm formation by nontypeable Haemophilus influenzae: strain variability, outer membrane antigen expression and role of pili. *BMC Microbiol*, 2002, 2:7.
- [18] Post JC. Direct evidence of bacterial biofilms in otitis media. *Laryngoscope*, 2001, 111:2083-2094.
- [19] Hall-Stoodley L, Hu FZ, Gieseke A, et al. Direct detection of bacterial biofilms on the middle-ear mucosa of children with chronic otitis media. *JAMA*, 2006, 296:202-211.
- [20] Leroy M, Cabral H, Figueira M, et al. Multiple consecutive lavage samplings reveal greater burden of disease and provide direct access to the nontypeable Haemophilus influenzae biofilm in experimental otitis media. *Infect Immun*, 2007, 75:4158-4172.
- [21] Starner TD, Zhang N, Kim G, et al. Haemophilus influenzae forms biofilms on airway epithelia: implications in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006, 174:213-220.

(上接第 188 页)

- [29] Takahama H, Minamino T, Hirata A, et al. Granulocyte colony-stimulating factor mediates cardioprotection against ischemia/reperfusion injury via phosphatidylinositol-3-kinase/akt pathway in canine hearts. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2006, 20: 159-165.
- [30] Miyata S, Takemura G, Kawase Y, et al. Autophagic cardiomyocyte death in cardiomyopathic hamsters and its prevention by granulocyte colony-stimulating factor. *Am J Pathol*, 2006, 168: 386-397.
- [31] Hou XW, Son J, Wang Y, et al. Granulocyte colony-stimulating factor reduces cardiomyocyte apoptosis and improves cardiac function in adriamycin-induced cardiomyopathy in rats. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2006, 20: 85-91.
- [32] Cavallaro AM, Lilleby K, Majolino I, et al. Three to six year follow-up of normal donors who received recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Bone Marrow Transplant*, 2000, 25: 85-89.
- [33] Vij R, Adkins DR, Brown RA, et al. Unstable angina in a peripheral blood stem and progenitor cell donor given granulocyte-colony-stimulating factor. *Transfusion*, 1999, 39: 542-543.
- [34] Shimoda K, Okawura S, Inaba S, et al. Granulocyte colony-stimulating factor and platelet aggregation. *Lancet*, 1993, 341: 633.
- [35] 徐娟, 宋伟, 金辉, 等. 重组人粒细胞集落刺激因子对健康供者免疫细胞的影响及其应用安全性. *药物不良反应杂志*, 2007, 9: 311-315.