



· 论著 ·

(扫描二维码查看原文)

非哮喘性嗜酸粒细胞性支气管炎患者外周血和痰液白介素 25 水平及其临床意义

陈国萍¹, 刘娟利², 朱晓莉³, 薛方苏¹

【摘要】 背景 白介素 (IL)-25 可活化嗜酸粒细胞 (EOS), 能诱导与 2 型免疫相关的细胞因子的表达。研究发现, IL-25 可以诱导气道高反应性, 促进外周血和气道 EOS 浸润。但 IL-25 与非哮喘性嗜酸粒细胞性支气管炎 (NAEB) 的关系尚缺乏相关研究。**目的** 分析 NAEB 患者外周血、痰液 IL-25 水平及其临床意义。**方法** 选取 2020 年 1 月至 2021 年 5 月在滨海县人民医院诊断为 NAEB 的患者 36 例为 NAEB 组, 同期选取于本院体检的健康者 32 例为对照组。比较两组受试者性别、年龄、EOS、呼出气一氧化氮 (FeNO)、第 1 秒用力呼气容积 (FEV₁) 及外周血、痰液 IL-25 水平, 分析 NAEB 患者外周血、痰液 IL-25 水平与 EOS、FEV₁ 的相关性, 绘制外周血、痰液 IL-25 水平诊断 NAEB 的 ROC 曲线。**结果** NAEB 组患者 EOS、FeNO 高于对照组, FEV₁ 低于对照组 ($P < 0.05$)。NAEB 组患者外周血、痰液 IL-25 水平高于对照组 ($P < 0.05$)。NAEB 患者外周血、痰液 IL-25 水平与 EOS 均呈正相关 (r 值分别为 0.632、0.372, P 值分别为 < 0.001 、0.025), 与 FEV₁ 均呈负相关 (r 值分别为 -0.543、-0.539, P 值均为 0.001)。ROC 曲线分析结果显示, 外周血 IL-25 水平诊断 NAEB 的曲线下面积 (AUC) 为 0.982, 最佳截断值为 49.9 ng/L, 灵敏度为 0.916, 特异度为 0.875。痰液 IL-25 水平诊断 NAEB 的 AUC 为 0.950, 最佳截断值为 46.4 ng/L, 灵敏度为 0.899, 特异度为 0.903。**结论** NAEB 患者外周血、痰液 IL-25 水平均升高, 其与 EOS 呈正相关, 与 FEV₁ 呈负相关, 且对 NAEB 有一定诊断价值。

【关键词】 支气管炎; 非哮喘性嗜酸粒细胞性支气管炎; 白介素 25; 嗜酸粒细胞

【中图分类号】 R 562.21 **【文献标识码】** A DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2022.00.069

陈国萍, 刘娟利, 朱晓莉, 等. 非哮喘性嗜酸粒细胞性支气管炎患者外周血和痰液白介素 25 水平及其临床意义 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2022, 30 (3): 70-73. [www.syxnf.net]

CHEN G P, LIU J L, ZHU X L, et al. Level of interleukin 25 in peripheral blood and sputum and its clinical significance in patients with non-asthmatic eosinophilic bronchitis [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2022, 30 (3): 70-73.

Level of Interleukin 25 in Peripheral Blood and Sputum and Its Clinical Significance in Patients with Non-asthmatic Eosinophilic Bronchitis

CHEN Guoping¹, LIU Juanli², ZHU Xiaoli³, XUE Fangsu¹

1. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the People's Hospital of Binhai County, Yancheng 224500, China

2. Department of Clinical Laboratory, the People's Hospital of Binhai County, Yancheng 224500, China

3. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing 224799, China

Corresponding author: XUE Fangsu, E-mail: 875910254@qq.com

【Abstract】 **Background** Interleukin (IL)-25 can activate eosinophils (EOS) and induce the expression of cytokines related to type 2 immunity. Studies have found that IL-25 can induce airway hyperresponsiveness and promote the infiltration of EOS in peripheral blood and airway. However, the relationship between IL-25 and non-asthmatic eosinophilic bronchitis (NAEB) is still lack of relevant research. **Objective** To analyze IL-25 level in peripheral blood and sputum and its clinical significance in patients with NAEB. **Methods** A total of 36 patients with NAEB admitted to the People's Hospital of Binhai County from January 2020 to May 2021 were selected as the NAEB group, and 32 health people who underwent physical examination in the same hospital were selected as the control group. Gender, age, EOS, fractional exhaled nitric oxide (FeNO), forced expiratory volume in one second (FEV₁), IL-25 level in peripheral blood and sputum were compared between the two groups. The correlation between IL-25 level in peripheral blood and sputum and EOS, FEV₁ was analyzed. The ROC curve of IL-25 for the diagnosis of NAEB was drawn. **Results** EOS and FeNO of NAEB group were higher than those of control group ($P < 0.05$). IL-25 level in peripheral

基金项目: 盐城市科技发展计划项目 (YK2020082)

1.224500江苏省盐城市, 滨海县人民医院呼吸与危重症医学科 2.224500江苏省盐城市, 滨海县人民医院检验科

3.224799江苏省南京市, 东南大学附属中大医院呼吸与危重症医学科

通信作者: 薛方苏, E-mail: 875910254@qq.com

blood and sputum of NAEB group was higher than that of control group ($P < 0.05$). IL-25 level in peripheral blood and sputum of NAEB patients was positively correlated with EOS (r values were 0.632, 0.372, P values were < 0.001 , 0.025, respectively), and it was negatively correlated with FEV₁ (r values were -0.543, -0.539, both P values were 0.001). The ROC curve analysis result showed that the area under curve (AUC) of IL-25 level in peripheral blood for diagnosing NAEB was 0.982. The best cut off value was 49.9 ng/L. Sensitivity was 0.916. Specificity was 0.875. The AUC of IL-25 level in sputum for diagnosing NAEB was 0.950. The best cut off value was 46.4 ng/L. Sensitivity was 0.899. Specificity was 0.903. **Conclusion** The level of IL-25 in peripheral blood and sputum in patients with NAEB increases, it is positively correlated with EOS, and negatively correlated with FEV₁. And it has certain diagnostic value for NAEB.

【Key words】 Bronchitis; Non-asthmatic eosinophilic bronchitis; Interleukin 25; Eosinophils

非哮喘性嗜酸粒细胞性支气管炎 (non-asthmatic eosinophilic bronchitis, NAEB) 也称嗜酸粒细胞性支气管炎, 以诱导痰为诊断工具, NAEB约占慢性咳嗽的13%^[1], 可引起慢性干咳、嗜酸粒细胞炎症以及慢性气道阻塞^[2]。气道黏膜嗜酸粒细胞 (eosinophils, EOS) 增高是NAEB的病理特征之一^[3]。白介素 (interleukin, IL)-25通过结合EOS表面的IL-17受体A (IL-17 receptor A, IL-17RA) 和IL-17受体B (IL-17 receptor B, IL-17RB), 可直接活化EOS, 从而增强气道炎症反应^[4-5]。既往研究还表明, IL-25在过敏原诱导的EOS系祖细胞迁移、局部分化和组织EOS增多中具有重要作用^[6-7]。但IL-25与NAEB的关系尚缺乏相关研究。本研究旨在分析NAEB患者外周血、痰液IL-25水平, 并探讨其对NAEB的诊断价值, 以为临床提供参考。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取2020年1月至2021年5月在滨海县人民医院诊断为NAEB的患者36例为NAEB组, 同期选取于本院体检的健康者32例为对照组。NAEB组纳入标准: (1)符合NAEB的诊断标准: ①伴有慢性咳嗽; ②胸部X线检查正常; ③肺通气功能正常, 无气道高反应性; ④痰液EOS比例 $\geq 2.5\%$; ⑤排除其他EOS增多性疾病^[8]。(2)口服或吸入糖皮质激素有效。排除标准: (1)支气管激发试验或舒张试验阳性患者; (2)研究前1个月内使用靶向(生物)疗法或类固醇治疗。本研究通过滨海县人民医院伦理委员会批准(2019-08), 获得受试者书面知情同意。

1.2 研究方法

1.2.1 一般资料收集 收集受试者一般资料, 包括性别、年龄、EOS、呼出气一氧化氮 (fractional exhaled nitric oxide, FeNO)、第1秒用力呼气容积 (forced expiratory volume in one second, FEV₁)。其中FeNO采用FeNO测定系统 (NIOX VERO, 德国) 检测, 参考美国胸科协会指南^[9], 测试前48 h内禁止食用西兰花或芹菜等影响检测的食物, 禁止使用茶碱、激素等药物。患者取坐位, 夹紧患者鼻翼, 排空肺内气体, 口含FeNO测定系统的过滤器, 深吸吸气后以恒定速率 (50 ml/s)

呼气至少10 s, 取3次读数的平均值。FEV₁使用肺功能仪 (MS-PET, 德国JAEGER公司) 检测, 测量3次, 取最高值。

1.2.2 外周血、痰液IL-25水平检测 抽取受试者静脉血1 ml, 将血液收集到采血管中并使其凝结30 min; 在室温下以1 300 × g离心10 min, 从凝固的血液中分离血清, 立即收集血清并将其冷冻在-80 °C冰箱中备用。痰诱导之前受试者吸入200 μg沙丁胺醇, 之后通过超声雾化器 (ULTRA-NNAEBTM 2000, DeVilbiss, 美国) 在室温下吸入无菌高渗盐水并逐渐增加浓度 (3%、4%和5%), 每次吸入的持续时间为7 min; 收集到痰液后立即测量痰液的体积, 并称重; 将其加入无菌磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered solution, PBS) 中, 同时加入新鲜制备的0.1%二硫苏糖醇 (Sigma Aldrich, St. Louis, 美国) 溶液, 并将混合物摇动15 min, 随后加入双倍体积的无菌PBS并将混合物短暂涡旋; 经70 μm尼龙细胞过滤器 (Falcon, Corning Brand, NY, 美国) 过滤后, 1 800 × g离心10 min, 收集诱导痰上清液。采用酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 测量血清和诱导痰上清液中IL-25水平。IL-25检测下限11.7 ng/L。

1.3 统计学方法 采用GraphPad Prism 6软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用两独立样本 t 检验; 计数资料以相对数表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 两变量之间的相关性分析采用Pearson相关分析。绘制血清、痰液IL-25水平诊断NAEB的ROC曲线, 计算曲线下面积 (area under curve, AUC), 确定最佳截断值, 计算灵敏度和特异度。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组受试者一般资料比较 两组受试者性别、年龄比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); NAEB组患者EOS、FeNO高于对照组, FEV₁低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表1。

2.2 外周血、痰液IL-25水平 NAEB组患者外周血、痰液IL-25水平高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表2。

表1 NAEB组与对照组受试者一般资料比较

Table 1 Comparison of clinical data between NAEB group and control group

| 组别 | 例数 | 性别 (男/女) | 年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁) | EOS ($\bar{x} \pm s$, $\times 10^9/L$) | FeNO ($\bar{x} \pm s$, ppb) | FEV ₁ ($\bar{x} \pm s$, ml) |
|-------------------------|----|--------------------|------------------------------|--|----------------------------------|---|
| 对照组 | 32 | 19/13 | 52.7 ± 8.2 | 0.18 ± 0.03 | 21.6 ± 5.3 | 83.8 ± 6.1 |
| NAEB组 | 36 | 20/16 | 53.6 ± 8.8 | 1.21 ± 0.59 | 32.3 ± 7.2 | 66.4 ± 10.2 |
| <i>t</i> (χ^2) 值 | | 0.102 ^a | 0.434 | 9.862 | 6.906 | 8.407 |
| <i>P</i> 值 | | 0.753 | 0.661 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

注：^a表示 χ^2 值；NAEB=非哮喘性嗜酸粒细胞性支气管炎，EOS=嗜酸粒细胞，FeNO=呼出气一氧化氮，FEV₁=第1秒用力呼气容积

表2 NAEB组与对照组受试者外周血、痰液IL-25水平比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

Table 2 Comparison of IL-25 level in peripheral blood and sputum between NAEB group and control group

| 组别 | 例数 | 外周血IL-25 | 痰液IL-25 |
|------------|----|-------------|---------------|
| 对照组 | 32 | 31.4 ± 11.5 | 336.6 ± 90.6 |
| NAEB组 | 36 | 67.4 ± 10.1 | 614.3 ± 115.5 |
| <i>t</i> 值 | | 13.724 | 10.917 |
| <i>P</i> 值 | | <0.001 | <0.001 |

注：IL=白介素

2.3 NAEB患者外周血、痰液IL-25水平与EOS相关性分析 NAEB患者外周血、痰液IL-25水平与EOS均呈正相关(*r*值分别为0.632、0.372, *P*值分别为<0.001、0.025)。

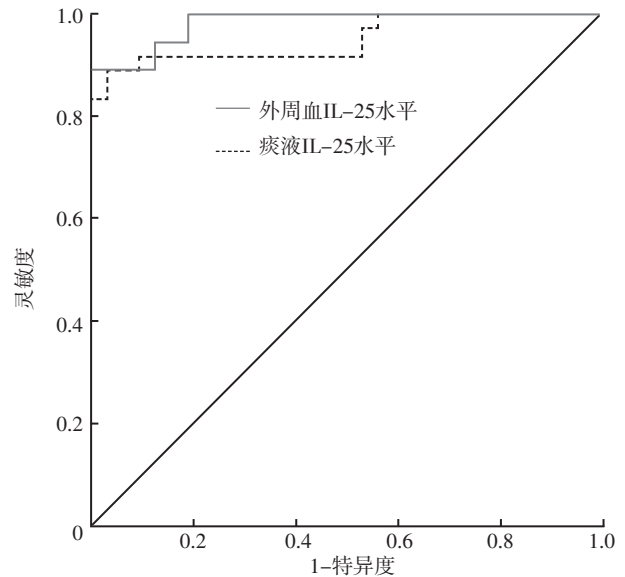
2.4 NAEB患者外周血、痰液IL-25水平与FEV₁相关性分析 NAEB患者外周血、痰液IL-25水平与FEV₁均呈负相关(*r*值分别为-0.543、-0.539, *P*值均为0.001)。

2.5 外周血、痰液IL-25水平诊断NAEB的价值 ROC曲线分析结果显示, 外周血IL-25水平诊断NAEB的AUC为0.982, 最佳截断值为49.9 ng/L, 灵敏度为0.916, 特异度为0.875。痰液IL-25水平诊断NAEB的AUC为0.950, 最佳截断值为46.4 ng/L, 灵敏度为0.899, 特异度为0.903, 见图1。

3 讨论

NAEB是慢性咳嗽的重要原因之一, 临床表现多为咳少许黏痰或刺激性干咳, 无呼吸困难或喘息症状、无气道高反应性, 痰液EOS明显增多, 肺功能正常, 糖皮质激素治疗具有较好的效果。研究表明, 炎性递质和细胞因子与NAEB气道炎症密切相关, 炎症气道中组胺和前列腺素D2明显增加^[8]。但NAEB的病因和发病机制尚未完全阐明。

IL-25也称为IL-17E, 是IL-17家族的独特细胞因子, 其能强烈诱导与2型免疫相关的细胞因子的表达。IL-25可由多种类型的免疫细胞(如T淋巴细胞、树突细胞或2类天然淋巴细胞)产生, 但主要来自上皮细胞,



注：IL=白介素

图1 外周血、痰液IL-25水平诊断NAEB的ROC曲线

Figure 1 ROC curve of in IL-25 level in peripheral blood, sputum for the diagnosis of NAEB

其是一种“屏障表面”细胞因子, 表达水平取决于外在环境因素, 且高水平IL-25可导致炎症性疾病, 如特应性皮炎、银屑病或哮喘^[10]。本研究结果显示, NAEB组外周血、痰液IL-25水平高于对照组。动物实验证实, IL-25参与气道炎症的发生发展, 通过在小鼠鼻腔滴IL-25, 发现IL-25可以诱导气道高反应性, 促进外周血和气道EOS浸润, 免疫球蛋白E、Th2细胞因子(IL-4、IL-5和IL-13)、纤维化细胞因子的过度产生; 此外, 小鼠还表现出气道黏膜上皮脱落、杯状细胞增殖以及胶原蛋白和纤连蛋白在上皮过度沉积^[11]。因而, 阻断IL-25可抑制上皮下层纤维化、间充质细胞增殖和气道高反应性^[12-13]。

本研究结果还显示, NAEB患者外周血、痰液IL-25水平与FEV₁均呈负相关。有研究证实, IL-25水平与肺功能指标相关, 特应性哮喘患者变应原诱导的IL-25及IL-25受体水平与疾病严重程度相关, 支气管IL-25水平与FEV₁呈负相关^[14-15]。

研究显示, IL-25可影响IL-5细胞因子的产生, 引起嗜酸粒细胞炎症, 从而导致NAEB^[16]。本研究结果显示, NAEB患者外周血、痰液IL-25水平与EOS均呈正相关。越来越多的研究在探索IL-25在NAEB中的重要性。IL-25变化被认为通过启动气道2型炎症和促进2型细胞因子的产生而在哮喘的发病机制中发挥重要作用^[17-18]。

此外, 本研究ROC曲线分析结果显示, 外周血、痰液IL-25水平诊断NAEB的AUC分别为0.982、0.950, 灵敏度分别为0.916、0.899, 特异度分别为0.875、0.903,

提示外周血、痰液IL-25水平对NAEB有一定诊断价值。

综上所述, NAEB患者外周血、痰液IL-25水平均升高, 其与EOS呈正相关, 与FEV₁呈负相关, 且对NAEB有一定诊断价值。但本研究为单中心研究, 且样本量较小, 需要更大样本量的多中心研究进一步验证本研究结论, 且IL-25在NAEB发生、发展过程中的具体作用机制需要进一步探索。

作者贡献: 薛方苏进行文章的构思与设计, 对文章整体负责、监督管理; 陈国萍进行研究的实施与可行性分析, 撰写论文; 陈国萍、刘娟利进行资料收集; 刘娟利、朱晓莉进行资料整理和统计学处理; 陈国萍、薛方苏进行论文的修订, 负责文章的质量控制及审校。

本文无利益冲突。

参考文献

- [1] FUJIMURA M. Eosinophilic bronchitis is an important cause of chronic cough [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, 161 (5): 1764-1765. DOI: 10.1164/ajrccm.161.5.16151b.
- [2] NIIMI A. Narrative review: how long should patients with cough variant asthma or non-asthmatic eosinophilic bronchitis be treated? [J]. *J Thorac Dis*, 2021, 13 (5): 3197-3214. DOI: 10.21037/jtd-20-2026.
- [3] ZHANG R, LUO W, LIANG Z Y, et al. Eotaxin and IL-4 levels are increased in induced sputum and correlate with sputum eosinophils in patients with nonasthmatic eosinophilic bronchitis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96 (13): e6492. DOI: 10.1097/MD.0000000000006492.
- [4] TANG W, SMITHS G, BEAUDIN S, et al. IL-25 and IL-25 receptor expression on eosinophils from subjects with allergic asthma [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2014, 163 (1): 5-10. DOI: 10.1159/000355331.
- [5] TANG W, SMITHS G, SALTER B, et al. Allergen-induced increases in interleukin-25 and interleukin-25 receptor expression in mature eosinophils from atopic asthmatics [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2016, 170 (4): 234-242. DOI: 10.1159/000449248.
- [6] TANG W, SMITHS G, DU W, et al. Interleukin-25 and eosinophils progenitor cell mobilization in allergic asthma [J]. *Clin Transl Allergy*, 2018, 8: 5. DOI: 10.1186/s13601-018-0190-2.
- [7] 杜威, 杜娟, 周俊, 等. 白细胞介素25对过敏性哮喘嗜酸粒细胞祖细胞的影响 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2019, 42 (7): 515-521. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2019.07.012.
- [8] 任珍翠, 林江涛. 非支气管哮喘嗜酸性粒细胞性支气管炎诊断与治疗的新认识 [J]. *中华内科杂志*, 2014, 53 (5): 419-421. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2014.05.023.
- [9] DWEIKR A, BOGGSP B, ERZURUMS C, et al. An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 184 (5): 602-615. DOI: 10.1164/rccm.9120-11ST.
- [10] BOROWCZYK J, SHUTOVA M, BREMBILAN C, et al. IL-25 (IL-17E) in epithelial immunology and pathophysiology [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2021, 148 (1): 40-52. DOI: 10.1016/j.jaci.2020.12.628.
- [11] YAO X J, WANG W, LI Y, et al. IL-25 induces airways angiogenesis and expression of multiple angiogenic factors in a murine asthma model [J]. *Respir Res*, 2015, 16: 39. DOI: 10.1186/s12931-015-0197-3.
- [12] YAO X J, HUANG K W, LI Y, et al. Direct comparison of the dynamics of IL-25- and 'allergen'-induced airways inflammation, remodelling and hypersensitivity in a murine asthma model [J]. *Clin Exp Allergy*, 2014, 44 (5): 765-777. DOI: 10.1111/cea.12298.
- [13] YAO X J, LIUX F, WANG X D. Potential role of interleukin-25/interleukin-33/thymic stromal lymphopoietin-fibrocyte axis in the pathogenesis of allergic airway diseases [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2018, 131 (16): 1983-1989. DOI: 10.4103/0366-6999.238150.
- [14] CORRIGAN C J, WANG W, MENG Q, et al. T-helper cell type 2 (Th2) memory T cell-potentiating cytokine IL-25 has the potential to promote angiogenesis in asthma [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108 (4): 1579-1584. DOI: 10.1073/pnas.1014241108.
- [15] CHENG D, XUE Z, YI LL, et al. Epithelial interleukin-25 is a key mediator in Th2-high, corticosteroid-responsive asthma [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 190 (6): 639-648. DOI: 10.1164/rccm.201403-0505OC.
- [16] VALIZADEH A, KHOSRAVI A, ZADEHL J, et al. Role of IL-25 in immunity [J]. *J Clin Diagn Res*, 2015, 9 (4): OE01-OE04. DOI: 10.7860/JCDR/2015/12235.5814.
- [17] AL-SAJEE D, OLIVERIA J P, SEHMI R, et al. Antialarmins for treatment of asthma: future perspectives [J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2018, 24 (1): 32-41. DOI: 10.1097/MCP.0000000000000443.
- [18] LAMBRECHT B, HAMMAD H, FAHY J V. The cytokines of asthma [J]. *Immunity*, 2019, 50 (4): 975-991. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.03.018.

(收稿日期: 2021-10-08; 修回日期: 2022-01-28)

(本文编辑: 张浩)