

支气管肺泡灌洗液在间质性肺疾病诊断中的研究进展

魏兴 魏路清

作者单位:110034 沈阳市,沈阳医学院(魏兴)

300162 天津市,武警医学院附属医院呼吸内科(魏路清)

通讯作者:魏路清, E-mail: luqing-wei@163.com

间质性肺疾病(interstitial lung disease, ILD)常用的诊断手段包括高分辨率计算机体层成像(high resolution computed tomography, HRCT)扫描、肺功能测定及支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)等检查方法,它们分别反映患者的肺部解剖形态、肺功能及病理生理学方面的变化情况。有学者将 BALF 称为液体活检,其在 ILD 诊断方面的作用既有助于排除某些疾病,如肿瘤、结核等,亦有助于缩小 ILD 的细胞分类范围,也可帮助确诊某些特殊疾病。本文就 BALF 在 ILD 的研究进展做一综述。

1 BALF 细胞学分析的研究

2008 年,Domagala-Kulawik 等^[1]对 18 例吸烟的 ILD 患者与健康非吸烟者和健康吸烟者的 BALF 细胞成分进行分析,结果表明,吸烟的 ILD 患者 BALF 中细胞总数均高于健康吸烟者与健康非吸烟者,且以巨噬细胞为主。由此得出若患者 BALF 中细胞总数 $> 30 \times 10^6$ 且以巨噬细胞为主,则可推测是吸烟导致的 ILD,即吸烟相关性 ILD (smoke related ILD, sr-ILD)。

Domagala-Kulawik^[2]分析认为 BALF 细胞学分析应用于 ILD 诊断最大的挑战就是鉴别诊断特发性肺间质纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)和 sr-ILD。Silver 等^[3]发现, sr-ILD 肺泡灌洗液巨噬细胞有明显的色素沉着且胞浆浓缩,而 IPF/普通型间质性肺炎(usual interstitial pneumonia, UIP)中主要是泡沫状细胞和空泡细胞。因此,缺乏色素沉着细胞即可排除 sr-ILD。他们还发现,UIP 和非特异性间质性肺炎(nonspecific interstitial pneumonia, NSIP)患者 BALF 中性粒细胞和淋巴细胞百分比比较 sr-ILD 显著升高,因此在鉴别诊断 sr-ILD 和 UIP/NSIP 时, BALF 中淋巴细胞百分比可作为区分的特点。

Jara-Palomares 等^[4]对 562 例 ILD 患者进行了 BALF 的前瞻性队列研究,纳入的病例包括 IPF、结节病、结缔组织病、隐源性机化性肺炎(cryptogenic organizing pneumonia, COP)和外

源性过敏性肺泡炎(extrinsic allergic alveolitis, EAA)。研究分析了 BALF 的细胞学和 T 细胞亚群特点,结节病和 EAA 以淋巴细胞肺炎最常见,其他的 ILD 可呈现混合性肺炎。在对 123 例结节病患者的研究中, CD4/CD8 ≥ 3.5 的敏感性和特异性分别为 40% 和 96.8%, 阳性和阴性预测值分别为 92.3% 和 62.5%。由此得出,把 3.5(CD4/CD8)作为结节病诊断的截点具有很高的特异性。在对 89 例 COP 患者的研究中,他们证实了过去由 Poletti 研究得出的结论,认为出现淋巴细胞为主的混合细胞型、CD4/CD8 比率倒置和胞浆含有泡沫状颗粒的巨噬细胞可以有助于 COP 的诊断,敏感性和特异性分别为 87.5% 和 94.3%, 阳性和阴性预测值分别为 70% 和 98%。对于 EAA 病例,他们认为在其他检查手段不允许的条件下, BALF 内 CD4/CD8 比率倒置伴随 CD56⁺ T 细胞增高可以支持诊断。对于 IPF 和结缔组织病,两种病可有相同的临床和影像学表现,均以中性粒细胞肺炎为主,但 IPF 的特点是 CD4/CD8 比率倒置并出现 CD3⁺ T、CD4⁺ T、CD8⁺ T 细胞。

Highland 等^[5]认为 HRCT 对于诊断 ILD 很敏感,但却无法取代 BALF 的地位,研究发现系统性硬化症相关 ILD(Systemic morphea ILD, SSc-ILD)患者 BALF 会出现一系列细胞类型的增高,包括肺泡巨噬细胞、CD8⁺ T 细胞、肥大细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞和中性粒细胞。IPF 和 SSc-ILD 患者中性粒细胞均增高, BALF 中性粒细胞增高伴随有肺功能减低,严重的影像学异常提示预后不良。相比 SSc-ILD 患者, IPF 患者会有更明显升高的中性粒细胞百分比和胶原酶及髓过氧化物酶。尽管目前不推荐 BALF 作为疑似 SSc-ILD 的常规检查方式,但是 BALF 对于研究 SSc-ILD 的发病机制的价值是肯定的。另外 BALF 细胞构成对于疗效观察的价值还有争议。最近有研究^[6]认为, BALF 细胞构成既不能预测环磷酰胺的应答,也不随环磷酰胺治疗而改变。

2 BALF 可溶性成分分析的研究

近年来,围绕 BALF 可溶性成分的研究中,白细胞介素

(interleukin, IL) 方面的文章较多, IL 是作用于多种靶细胞的炎症性细胞因子。肖莉等^[6]的研究显示, IPF 患者 BALF 中 IL-13 相比血液中及对照组 BALF 中 IL-13 水平均升高, 升高水平与中性粒细胞水平呈正相关, 推测是由 Th1/Th2 水平失衡导致, 同时由 IL-13 增高对中性粒细胞趋化作用导致肺内中性粒细胞聚集。BALF 及外周血的 IL-13 水平与其用力肺活量、一秒钟用力呼气容积、PaO₂、肺一氧化碳弥散量呈负相关。由此认为 BALF 及外周血中 IL-13 水平与 IPF 肺纤维化程度存在一定的关系。肖莉等^[7]对结节病患者的研究结果显示, 血浆及 BALF 中 IL-13 水平较对照组增高, IL-13 水平与淋巴细胞数呈正相关, 且 BALF 中其水平显著高于血液中水平, 提示 IL-13 是由结节病患者淋巴细胞释放的, 并可能在肺纤维化形成过程中起重要作用。该研究同时发现, 结节病患者 BALF 中淋巴细胞数显著高于对照组, TNF- α 水平与淋巴细胞数呈正相关, BALF 中 TNF- α 水平显著高于外周血中的水平。推测 TNF- α 是由肺内免疫效应细胞分泌, 在肺内炎症及肉芽肿形成过程中起关键作用。马咏梅等^[8]对 30 例 IPF 患者 BALF 和血清研究发现, IPF 患者的 BALF 中与血液中 IL-4 水平高于正常人, IPF 患者的 BALF 中与血液中 IL-4 水平比较无明显差异。说明 IL-4 的增高是一种全身行为。此试验支持 Th2 型细胞因子增多可以导致肺纤维化这一观点。而 IPF 患者血清中 IL-12 水平与正常人血清中 IL-12 的水平无明显差异, BALF 中的 IL-12 水平明显低于正常人, 同时 IPF 患者血清中 IL-12 水平与 BALF 中的 IL-12 水平比较有明显差异。这种现象说明 IPF 患者 Th1 型细胞因子减少, IL-12 水平变化是一种局部现象而非全身性的, 同时也在一定程度上说明 Th1 型细胞因子 IL-12 可以抑制成纤维细胞的增殖和纤维组织的生成。该研究进一步验证了 Th1/Th2 型细胞因子平衡失调, 导致肺泡的炎症损伤和修复, 在肺纤维化过程中起着重要的作用的这一观点。Schmidt 等^[9]研究发现, 高水平的 IL-7 是 SSc-ILD 的主要特征且合并 ILD 的患者 IL-4、IL-6、IL-8 和 MCP-1 水平升高。IL-4、IL-8 和 MCP-1 与肺功能参数负相关。笔者认为, IL-8、MCP-1、IL-4 和 IL-7 有可能成为治疗 SSc-ILD 的靶目标, 而 T 细胞靶向治疗是有希望的治疗措施。

除此之外, 魏路清等^[10]的研究表明, 基质金属蛋白酶组织抑制剂-1 (tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1) 的异常升高, 即基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase-9, MMP)/TIMP 比率失衡在肺纤维化形成中具有更重要的作用。IPF 患者的 HRCT 分层评分与 BALF 中 TIMP-1 水平呈正相关, 与 MMP-9/TIMP-1 比值呈负相关。IPF 时肺功能的改变主要反映在肺活量及一氧化碳弥散量的降低上, 以上指标评分与 IPF 患者 BALF 中 TIMP-1 水平、MMP-9/TIMP-1 比值的变化有关, 说明 TIMP-1 与 MMP-9/TIMP-1 在一定程度

上与 IPF 的严重程度和弥散功能障碍有关。

另外, Meloni 等^[11]发现 SSc-ILD 患者 BALF 促纤维化细胞因子(如 MCP-1)与抗纤维化细胞因子或抗炎因子(如 IL-2, IL-10)与 UIP 患者不同, SSc-ILD 患者 IL-10 和 IL-12 水平增高, UIP 患者 MCP-1 显著增高。趋化因子 IL-8 是一种有力的中性粒细胞趋化物和活化剂, 其在 SSc-ILD 和 UIP 中均增高, 有报告称 UIP 中 IL-8 更高。上述提示与 SSc-ILD 相比, UIP 患者的促纤维化细胞因子占优势。

Vasakova 等^[12]对 22 名结节病、7 名 IPF 和 11 名 EAA 患者的研究发现, 结节病 BALF 中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)值最高。IPF 和 EAA 患者 IL-8 比结节病高, IPF 患者 IL-8/ENA-78 比例与中性粒细胞计数有明显的正相关, 在所有的 ILD 患者, 肺活量和一氧化碳弥散量与 BALF 中 VEGF 成正相关、与 IL-8 成负相关, 因此认为 VEGF 主要起增殖、血管生成和抗细胞凋亡作用而不是促纤维化作用。BALF 中 VEGF、IL-8 和 ENA-78 水平以及 IL-8/ENA-78 比率可以成为 ILD 分期、活动性及预后判断的有用指标。

3 BALF 蛋白质组学的研究

近年来, 关于 ILD 的 BALF 蛋白质组学研究开始引起人们的关注^[13]。蛋白质组是由一种特殊的基因组编码产生的蛋白质补体。与基因组相比, 蛋白质组是持续动态改变的, 这种改变受多种环境因素和外界信号影响, 因此有接近无限种情况。了解疾病时蛋白质组的变化情况有利于对疾病的早期诊断。肺蛋白质组是与肺功能相关的一组动态的、特征性的蛋白质, 其复杂性受多种不同类型细胞和环境因素(比如环境污染和病原体)影响。Magi 等^[14]对 6 例肺结节病患者与 6 例 IPF 患者的 BALF 使用二维电泳法进行蛋白质组的分析, 结果发现 51 种已被鉴定过的和 38 种未被鉴定过的蛋白质组。对此两种疾病的蛋白质图谱发现 32 种蛋白质组的相对丰度有差异。肺结节病组的几种血浆蛋白数量相对 IPF 组升高, 而 IPF 组中参与炎症过程或抗氧化反应的低分子量非血浆蛋白数量相对肺结节病组升高。笔者认为虽然仍不能确定这些有差异的蛋白质中的哪些是真正的疾病标志物, 但标志物是应该存在于这些有差异的蛋白质中的。这为未来具体研究 ILD 蛋白质组学提供了方向。

4 展望

BALF 分析为 ILD 常用的诊断手段之一, 其在 ILD 的鉴别诊断中具有一定意义。BALF 细胞学成分分析方法已广泛应用于临床, 需与 HRCT 相结合诊断 ILD。近几年出现的可溶性成分研究与蛋白质组学研究为 BALF 分析开辟了新的研究领域, 也为利用 BALF 诊断 ILD 提供了新的方法和依据。

5 参考文献

1 Domagala-Kulawik J, Maskey-Warzechowska M, Krenke R, et al.

- Role Of Bronchoalveolar Lavage In The Initial Diagnosis Of Smoking-Related Interstitial lung Disease. *J Physiol Pharmacol*, 2008, 59: 243-251.
- 2 Domagala-Kulawik J. BAL in the diagnosis of smoking-related interstitial lung diseases: review of literature and analysis of our experience. *Diagn Cytopathol*, 2008, 36: 909-915.
- 3 Silver RM, Wells AU. Histopathology and bronchoalveolar lavage. *Rheumatology (Oxford)*, 2008, 47: 62-64.
- 4 Jara-Palmares L, Martín-Juan J, Gómez-Izquierdo L, et al. Bronchoalveolar lavage findings in patients with diffuse interstitial lung disease: prospective study of a cohort of 562 patients. *Arch Bronconeumol*, 2009, 45: 111-117.
- 5 Highland KB, Silver RM. Clinical aspects of lung involvement: lessons from idiopathic pulmonary fibrosis and the scleroderma lung study. *Curr Rheumatol Rep*, 2005, 7: 135-141.
- 6 肖莉, 李振华, 侯显明, 等. 特发性肺纤维化患者支气管肺泡灌洗液中白细胞介素 1、3 的水平及意义. *中华结核和呼吸杂志*, 2003, 26: 686-688.
- 7 肖莉, 闰雪, 李振华. 肺结节病患者支气管肺泡灌洗液中细胞因子水平的变化. *中华内科杂志*, 2004, 43: 694-695.
- 8 马咏梅, 王阳, 吴崇. 特发性肺纤维化患者肺泡灌洗液及血清中白细胞介素 4、12 水平变化的意义. *临床肺科杂志*, 2009, 14: 37-39.
- 9 Schmidt K, Martinez-Gamboa L, Meier S, et al. Bronchoalveolar lavage fluid cytokines and chemokines as markers and predictors for the outcome of interstitial lung disease in systemic sclerosis patients. *Arthritis Res Ther*, 2009, 11: 111.
- 10 魏路清, 李振华, 康健, 等. 特发性肺纤维化患者支气管肺泡灌洗液和血清基质金属蛋白酶及其抑制剂检测. *中华结核和呼吸杂志*, 2006, 29: 399-402.
- 11 Meloni F, Caporali R, Marone Bianco A, et al. Cytokine profile of bronchoalveolar lavage in systemic sclerosis with interstitial lung disease: comparison with usual interstitial pneumonia. *Ann Rheum Dis*, 2004, 63: 892-894.
- 12 Vasakova M, Sterclova M, Kolesar L, et al. Bronchoalveolar Lavage Fluid Cellular Characteristics, Functional Parameters and Cytokine and Chemokine Levels in Interstitial Lung Diseases. *Scandinavian Scand J Immunol*, 2009, 69: 268-274.
- 13 Wattiez R, Falmagne P. Proteomics of bronchoalveolar lavage fluid. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2005, 815: 169-178.
- 14 Magi B, Bini L, Perari MG, Fossi A, et al. Bronchoalveolar lavage fluid protein composition in patients with sarcoidosis and idiopathic pulmonary fibrosis: a two-dimensional electrophoretic study. *Electrophoresis*, 2002, 23: 3434-3444.

(收稿日期: 2010-09-01)

(本文编辑: 陈淑莲)

中华医学交流促进 2010 年年会

为加强全国医学的交流与探讨, 拓宽医学专业医师的知识领域, 提高诊疗水平; 为表彰对我国医学发展的重大问题研究做出突出贡献的单位和个人, 展示我国广大医学工作者的科研成果和临床经验, 加快其成果、经验转化, 促进医学学科发展和医学科技创新, 正确应对实际工作中面临的各种困难和问题, 并为临床诊断提供理论依据和经验参考。经研究, 中华医学国际交流促进会决定于 2011 年 1 月 9 日在昆明、1 月 11 日在海口、1 月 19 日在深圳召开“中华医学交流促进 2010 年年会”。

1 会议时间

昆明会场: 2011 年 1 月 9 日-1 月 14 日

海口会场: 2011 年 1 月 11 日-1 月 15 日

深圳会场: 2011 年 1 月 19 日-1 月 27 日

2 授予学分

授予国家级 I 类继续医学教育学分 10 分(30 学时)

提交的成果编入《中华医学国际交流促进会 2010 学术文选》。

3 联系方式

联系人: 王老师

电话: 028-66568401

E-mail: ccmip@yahoo.cn