

细菌感染 / 定植诱导慢性阻塞性肺疾病患者痰 β - 防御素 2 表达 *

胡瑞成 谭双香 戴爱国 王 宁 甘桂香 姜迪譔

(湖南省老年医院 - 湖南省老年医学研究所 湖南 长沙 410016)

摘要 目的 :初步探讨下呼吸道感染 / 定植对慢性阻塞性肺疾病(COPD)患者痰 β - 防御素 2 (BD-2) 表达水平的影响。**方法 :**36 例戒烟 COPD 患者和 30 名不吸烟 / 戒烟对照人员纳入研究。在 COPD 患者的急性加重期和稳定期分别采集自然痰进行普通细菌培养 (简称痰培养), 并行细胞分类计数和 BD-2 浓度测定。采集对照人员诱导痰行细胞分类计数和 BD-2 浓度测定以资对照。**结果 :**COPD 患者急性加重期和稳定期痰培养阳性比例分别为 30/36 和 14/36。COPD 患者痰细胞总数和中性粒细胞比例、淋巴细胞比例高于对照组而巨噬细胞比例低于对照组。痰菌阳性和痰菌阴性的急性加重期 COPD 患者痰细胞总数、巨噬细胞比例、中性粒细胞比例分别为 $(6.0 \pm 0.9) \times 10^6/\text{g}$ 、 $(23.6 \pm 3.9) \%$ 、 $(66.0 \pm 5.9) \%$ 和 $(3.1 \pm 0.5) \times 10^6/\text{g}$ 、 $(34.3 \pm 4.3) \%$ 、 $(55.7 \pm 4.4) \%$, 痰菌阳性和痰菌阴性的稳定期 COPD 患者痰细胞总数、巨噬细胞比例、中性粒细胞比例、淋巴细胞比例分别为 $(4.4 \pm 0.8) \times 10^6/\text{g}$ 、 $(28.6 \pm 6.4) \%$ 、 $(64.0 \pm 7.2) \%$ 和 $(3.0 \pm 0.5) \times 10^6/\text{g}$ 、 $(41.4 \pm 5.7) \%$ 、 $(45.4 \pm 5.1) \%$ 。COPD 患者稳定期痰 BD-2 浓度 $[(211 \pm 98) \text{ng/L}]$ 低于急性加重期 $[(300 \pm 83) \text{ng/L}]$ 而高于对照组 $[(127 \pm 41) \text{ng/L}]$ 。痰菌阳性稳定期 COPD 患者痰 BD-2 浓度高于对照组而与急性加重期无统计学差异。痰菌阴性稳定期 COPD 患者痰 BD-2 浓度低于急性加重期而与对照组无统计学差异。**结论 :**下呼吸道感染 / 定植是 COPD 患者痰 BD-2 表达升高的重要诱导因素,也是 COPD 患者急性加重发作的重要原因。

关键词 肺疾病 慢性阻塞性 细菌感染 β - 防御素 2 痰

中图分类号 R563 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2011)12-2238-04

Expression of β -defensin 2 in Sputum of Chronic Obstructive Pulmonary Disease Patients Induced by Bacterial Infection/Colonization*

HU Rui-cheng, TAN Shuang-xiang, DAI Ai-guo, Wang Ning, GAN Gui-xiang, JIANG Di-xuan

(Hunan Institute of Gerontology, Hunan Province Geriatric Hospital, Changsha, Hunan, 410016, China)

ABSTRACT Objective: To preliminary investigate the effect of lower respiratory tract bacterial infection / colonization on sputum β -defensin 2 (BD-2) expressions in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) patients. **Methods:** Thirty-six COPD patients and 30 control subjects have been enrolled for the study, the subjects staff were either never-smoker or ex-smoker. Natural sputum were collected from COPD patients in both exacerbation and stable phases, and submitted for ordinary bacterial culture (referred to as sputum culture), differential cell count, and BD-2 concentration measurement. As control, induced sputum were collected from control subjects, and presented for differential cell count as well as BD-2 concentration measurement. **Results:** The positive result proportion of sputum culture were 30/36 for exacerbation phase and 14/36 for stable phase. As regard to differential sputum cell count, compared with control, the sputum of COPD patients account for increased total cell amount, increased neutrophils proportion, increased lymphocyte proportion, and decreased macrophages proportion. The items of sputum total cells count, macrophages percentage, neutrophils percentage were $(6.0 \pm 0.9) \times 10^6 \text{ g}^{-1}$, $(23.6 \pm 3.9) \%$, $(66.0 \pm 5.9) \%$, respectively, for sputum-positive acute exacerbation COPD patients, and $(3.1 \pm 0.5) \times 10^6 \text{ g}^{-1}$, $(34.3 \pm 4.3) \%$, $(55.7 \pm 4.4) \%$ for sputum-negative acute exacerbation COPD patients, while, $(4.4 \pm 0.8) \times 10^6 \text{ g}^{-1}$, $(28.6 \pm 6.4) \%$, $(64.0 \pm 7.2) \%$ for sputum-positive stable COPD patients, nevertheless, $(3.0 \pm 0.5) \times 10^6 \text{ g}^{-1}$, $(41.4 \pm 5.7) \%$, $(45.4 \pm 5.1) \%$ for sputum-negative stable COPD patients. The sputum BD-2 concentration of stable COPD patients $[(211 \pm 98) \text{ng L}^{-1}]$ were lower than acute exacerbation $[(300 \pm 83) \text{ng L}^{-1}]$, whereas, higher than control subjects $[(127 \pm 41) \text{ng L}^{-1}]$. The sputum BD-2 concentration of stable sputum-positive COPD patients was not statistic different from exacerbation, and was higher than control. The sputum BD-2 concentration of stable sputum-negative COPD patients was lower than exacerbation, and was not statistic different from control. **Conclusion:** Lower respiratory tract bacterial infection / colonization induce the sputum BD-2 expression in COPD patients, which are important risk factors for acute exacerbation of COPD.

Key words: Smoking; Pulmonary disease, Chronic obstructive; Beta-defensin-2; Sputum

Chinese Library Classification (CLC): R563 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)12-2238-04

前言

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease,

* 基金项目 湖南省自然科学基金 (06JJ4056) 湖南省医药卫生科研基金 (C2006-038, B2008-026)

作者简介 胡瑞成 (1973-), 男, 硕士生导师, 副主任医师, 主要研究方向: 慢性阻塞性肺疾病发病机制与防治

电话 0731-84762681, E-mail: huruicheng@hotmail.com

(收稿日期: 2011-02-03 接受日期: 2011-02-28)

COPD) 是一种以气流受限为特征的慢性气道炎症性疾病,病程分为稳定期和急性加重期。COPD 急性加重 (acute exacerbation of COPD, AECOPD) 是加速病程进展和导致患者住院、死亡的主要原因,而下呼吸道感染是引起 AECOPD 的最常见原因^[1,2]。 β -防御素 2 (beta defensin 2, BD-2) 是一种具有广谱抗微生物活性的阳离子肽,是呼吸系统重要的先天性免疫物质,而且参与呼吸系统获得性免疫功能调节和气道炎症反应,在感染性和炎症性呼吸系统疾病的发生、发展过程中扮演着重要角色^[3-5]。既往关于 COPD 患者痰 BD-2 表达水平的研究报道相对比较少见,而且结果存在较大差异。作者通过检测急性加重期和稳定期 COPD 患者痰 BD-2 表达水平,结合痰细菌培养结果,对 COPD 患者痰 BD-2 表达水平与细菌感染之间的关系进行了初步探讨。

1 对象与方法

1.1 研究对象

本研究符合湖南省老年医院医学伦理学委员会制定的人体实验标准并获得该委员会的批准,并征得所有研究对象的知情同意。研究对象包括 36 例 COPD 患者和 30 名对照组人员。COPD 患者均来源于 2007 年 12 月至 2008 年 3 月期间因为 COPD 急性加重来湖南省老年医院呼吸内科住院治疗的患者,病例入选标准为:(1) 既往吸烟超过 20 年,吸烟指数大于 20 包年,戒烟 2 年以上;(2) 根据《慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2007 年修订版)》^[6]确诊为 COPD;(3) 排除支气管哮喘、支气管扩张、肺结核纤维化病变、肺囊性纤维化等能够引起气流受限的其他疾病;(4) 排除肺炎、肺结核、支气管扩张、肺癌等能够引起咳嗽、咳痰、发热的其他疾病;(5) 排除慢性肺源性心脏病以外的心血管疾病;(6) 排除其他慢性疾病。36 例 COPD 患者中男性 23 例,女性 13 例,年龄为 (64 ± 8) 岁,COPD 严重程度分级 III 级 28 例、IV 级 8 例。对照组人员来源于我院同期体检对象,入选标准为:(1) 无吸烟史或戒烟 2 年以上;(2) 无呼吸系统慢性疾病病史;(3) 经肺功能检查排除 COPD;(4) 经胸片/CT 检查排除肺部疾病;(5) 收集痰液标本前 2 个月内无呼吸道感染病史;(6) 6 个月内未使用肾上腺皮质激素及免疫调节药物;(7) 排除心血管系统疾病和其他慢性疾病。30 名对照人员中男性 21 例,女性 9 例,年龄为 (66 ± 7) 岁。两组患者的年龄(成组 t 检验)和性别结构(χ^2 检验)无统计学差异($P > 0.05$)。

1.2 研究方法

1.2.1 COPD 治疗方案 依据《慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2007 年修订版)》^[6]制订 COPD 治疗方案。急性加重期的治疗原则为持续低流量吸氧+抗感染治疗+支气管扩张剂+糖皮质激素+化痰药物+维持水电解质平衡。稳定期的治疗原则为:支气管扩张剂+糖皮质激素+化痰药物+家庭氧疗(部分病人)。

1.2.2 痰标本采集 采取自然咳嗽法收集 COPD 患者急性加重期和稳定期痰液标本,采集痰标本前让患者用清水漱口,然后用力咳嗽约 6 ml 分装于多个无菌容器中进行后续处理。COPD 患者急性加重期痰标本在患者入院未使用抗菌药物之前收集,稳定期痰标本在患者病情稳定 1 个月时收集。按照中华医学会呼吸病学分会哮喘学组规定的标准^[7]采用高渗盐水诱导法收集

对照组人员痰标本,诱痰前 10 min 让患者吸入沙丁胺醇 400 μ g,清水漱口、擤鼻,3%高渗盐水超声雾化吸入 15 min,用力咳嗽至多个无菌容器中进行后续处理。

1.2.3 痰标本筛选与处理 痰标本直接涂片显微镜检查,按照每低倍视野 ≥ 25 个白细胞和 ≤ 10 个鳞状上皮细胞的标准筛选出合格的痰标本。从 COPD 患者合格痰标本中取约 1.0 g,经灭菌生理盐水洗涤 2 次后进行普通细菌培养(简称痰培养)。其余合格痰标本(含 COPD 患者和对照人员标本)予以称重,加入 4 倍体积的 0.1%二硫苏糖醇(DDT)充分混合,37℃水浴 10 min,网筛过滤,2000 r.min⁻¹ 离心 10 min 沉淀细胞,沉渣涂片 HE 染色进行细胞分类计数(每例标本计数 500 个细胞),上清液 -80℃冰箱保存,用于检测 BD-2 浓度。

1.2.4 BD-2 浓度测定 采用 ELISA 试剂盒(美国 Phoenix biotech 公司)测定痰液上清液中的 BD-2 浓度,严格按照说明书的操作程序进行操作,以酶标分析仪(Bio-Tek.instrument.Inc., Universal Microplate Reader ELX800)在 450 nm 波长下读取吸光度值,根据标准曲线计算 BD-2 浓度。

1.3 统计学处理

研究采用成组设计与自身前后配对相结合的方法。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,成组设计资料两样本均数比较采用成组设计 t 检验,配对设计资料两样本均数比较采用配对设计 t 检验。计数资料比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 痰细菌培养结果

COPD 患者急性加重期痰培养结果为:无菌生长 6 例、霉菌 3 例、肺炎链球菌 5 例、金黄色葡萄球菌 4 例、卡他莫拉菌 5 例、肺炎克雷伯杆菌 4 例、阴沟肠杆菌 2 例、铜绿假单胞菌 7 例。COPD 患者稳定期痰培养结果为:无菌生长 22 例、霉菌 3 例、金黄色葡萄球菌 2 例、阴沟肠杆菌 2 例、铜绿假单胞菌 7 例,所有阳性结果菌株均与急性加重期痰培养结果一致。为便于进行统计分析和描述,根据痰培养结果将 COPD 患者分为 COPD-/- 组(急性加重期和稳定期痰培养结果均为阴性,6 例)、COPD+/+ 组(急性加重期和稳定期痰培养结果均为阳性,14 例)和 COPD+/- 组(急性加重期痰培养结果为阳性而稳定期痰培养结果为阴性,16 例)。

2.2 痰细胞分类计数结果

COPD 患者急性加重期、稳定期和对照组痰细胞分类计数结果比较见表 1。统计分析结果显示 COPD 患者稳定期痰细胞总数和中性粒细胞比例、淋巴细胞比例高于对照组,而巨噬细胞比例低于对照组;COPD 患者急性加重期痰细胞总数和中性粒细胞比例高于稳定期,而巨噬细胞比例低于稳定期,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

根据痰细菌培养结果进一步进行统计分析,结果显示痰菌阳性和痰菌阴性 AECOPD 患者痰细胞总数、巨噬细胞比例、中性粒细胞比例分别为 $(6.0 \pm 0.9) \times 10^6 \text{ g}^{-1}$ 、 $(23.6 \pm 3.9) \%$ 、 $(66.0 \pm 5.9) \%$ 和 $(3.1 \pm 0.5) \times 10^6 \text{ g}^{-1}$ 、 $(34.3 \pm 4.3) \%$ 、 $(55.7 \pm 4.4) \%$,三项指标均具有显著性差异($P < 0.05$)。痰菌阳性和痰菌阴性稳定期 COPD 患者痰细胞总数、巨噬细胞比例、中性粒细胞比

例、淋巴细胞比例分别为 $(4.4 \pm 0.8) \times 10^6 \text{ g}^{-1}$ 、 $(28.6 \pm 6.4) \%$ 、 $(64.0 \pm 7.2) \%$ 和 $(3.0 \pm 0.5) \times 10^6 \text{ g}^{-1}$ 、 $(41.4 \pm 5.7) \%$ 、 $(45.4 \pm 5.1) \%$ ，三项指标亦均具有显著性差异($P<0.05$)。

2.3 痰 BD-2 浓度测定结果

稳定期 COPD 患者痰 BD-2 浓度为 $(211 \pm 98) \text{ ng L}^{-1}$ ，高于对照组 $[(127 \pm 41) \text{ ng L}^{-1}]$ 而低于急性加重期 $[(300 \pm 83) \text{ ng L}^{-1}]$ ，三组之间两两比较差异均具有统计学意义($P<0.05$)。

COPD-/- 组、COPD+/- 组和 COPD+/+ 组患者痰 BD-2 浓度比较见表 2。统计分析结果显示 COPD+/+ 组患者稳定期痰 BD-2 浓度与急性加重期无统计学差异($P>0.05$)，而且显著高于对照组 ($317 \pm 65 \text{ VS } 127 \pm 41, P<0.05$)；COPD-/- 组和 COPD+/- 组患者稳定期痰 BD-2 浓度低于急性加重期($P<0.05$)，而且与对照组无统计学差异 ($135 \pm 40 \text{ VS } 127 \pm 41, P=0.66$ ； $147 \pm 35 \text{ VS } 127 \pm 41, P=0.10$)。

表 1 COPD 患者和对照组痰细胞分类计数结果比较

Table 1 Sputum differential cell count results comparison for COPD patients and control subjects

	AECOPD (n=36)	Stable COPD (n=36)	Control (n=30)
Total cellular score (10^6 g^{-1})	5.5± 1.4**	3.5± 0.9*	2.1± 0.4
Macrophages percentage (%)	25.4± 5.6**	36.4± 8.6*	45.1± 7.7
Neutrophils percentage (%)	64.3± 6.9**	52.7± 10.9*	37.3± 6.1
Lymphocytes percentage (%)	2.1± 0.7	2.3± 0.7*	1.8± 0.6
Eosinophils percentage (%)	1.0± 0.5	0.9± 0.6	0.8± 0.5

Note: AECOPD group represents acute exacerbation phase of COPD;Stable COPD group represent stable phase of COPD;

★ $P<0.05$, AECOPD group and Stable COPD group compared with Control group ;

▲ $P<0.05$, AECOPD group compared with Stable COPD group.

表 2 COPD 患者急性加重期与稳定期痰 BD-2 浓度比较

Table 2 Sputum BD-2 concentrations comparison for acute exacerbation phase and stable phases of COPD patients

Groups	n	AE phase (ng.L^{-1})	Stable phase (ng.L^{-1})	P
COPD-/-	6	239± 102	135± 40	<0.05
COPD+/-	16	296± 67	147± 35	<0.05
COPD+/+	14	331± 81*	317± 65**	0.68

Note: AE represents acute exacerbation;COPD patients were grouped by the results of sputum bacterial culture in acute exacerbation/stable phases, the + represent positive result and the - represent negative result;

★ $P<0.05$, COPD+/+ group and COPD+/- group compared with COPD-/- group ;

▲ $P<0.05$, COPD+/+ group compared with COPD+/- group.

3 讨论

COPD 患者的自然病程表现为稳定期和急性加重期交替出现,随着病情进展,急性加重发作越来越频繁,导致患者肺功能加速下降,最终致残、致死。下呼吸道细菌感染是导致 AE-COPD 的最常见原因,而且,重度和极重度 COPD 患者急性加重期痰细菌培养阳性率明显高于轻度和中度 COPD 患者^[1,8]。对于重度和极重度 COPD 患者,除新入侵细菌引起感染以外,细菌定植也是引起 AECOPD 频繁发作的重要原因^[9,10]。本研究结果显示重度和极重度 COPD 患者稳定期痰培养细菌培养阳性率约为 30%,急性加重期痰细菌培养阳性率约为 80%,与以往的研究^[19-12]结果一致,再次说明细菌感染是导致 AECOPD 的最主要原因。

本研究结果显示,COPD 患者急性加重期痰中炎症细胞总数和中性粒细胞比例高于稳定期,而稳定期高于对照人群 结果还显示,COPD 患者无论在稳定期还是在急性加重期,痰细菌培养阳性的患者痰中炎症细胞总数和中性粒细胞比例都高于痰细菌培养阴性的患者;结果说明,COPD 患者中性粒细胞

气道炎症持续存在,而细菌感染是导致气道炎症加重的重要原因。

呼吸系统直接与外界相通,通过呼吸运动进入呼吸道的空气中含有大量的细菌和病毒等病原微生物,为了及时清除和杀灭进入呼吸道的病原微生物,呼吸系统需要形成了一套完善的免疫防御体系,而防御素就是其中的重要组成部分。防御素是一类广泛存在于动植物的富含半胱氨酸的阳离子抗微生物肽,根据表达调节机制不同,可以分为诱导性表达和固定表达两大类。人 BD-2 是人体中第一个被发现的可诱导性表达的防御素,主要表达于皮肤和黏膜组织,在健康皮肤和正常黏膜的基础表达很低,在各种病原微生物感染和前炎细胞因子等诱导因素的作用下其表达水平迅速升高^[13,14]。研究表明,BD-2 是呼吸系统免疫防御体系的重要组成部分,在呼吸系统先天免疫和获得性免疫中都发挥着重要的作用^[3,14]。由于 BD-2 是一种强效的细胞趋化物质,对树突状细胞、记忆 T 淋巴细胞、肥大细胞、中性粒细胞具有趋化作用,因此可能在一定程度上加重了呼吸系统疾病的炎症反应^[4]。

BD-2 在 COPD 中的表达变化及作用机制目前仍不清楚。

熊盛道等^[15]和王卓等^[16]分别对 AECOPD 患者、COPD 稳定期患者和健康人诱导痰 BD-2 水平进行了检测,前者的实验结果显示 BD-2 表达水平由高到低依次为正常人、COPD 稳定期患者、COPD 急性加重期患者,而后的研究结果显示三组之间 BD-2 表达水平无显著性差异,作者认为以上两项研究结果不一致的主要原因是研究设计中吸烟和感染两个因素相互影响所致。

为了探索 BD-2 在 COPD 中的作用,作者从吸烟和感染两个因素的角度分别研究了 COPD 患者的 BD-2 表达变化规律。作者通过对吸烟 COPD 患者、非 COPD 吸烟者、不吸烟者痰和肺组织中的 BD-2 浓度进行检测发现 吸烟导致痰液和肺组织 BD-2 水平升高,肺组织 BD-2 表达状况可能与吸烟个体的 COPD 易感性相关^[17]。本研究通过对戒烟 COPD 患者和不吸烟对照人员的痰 BD-2 浓度进行检测发现:(1) 重度和极重度 COPD 患者,在急性加重期痰细菌培养阳性率高达 80%,痰 BD-2 表达水平显著高于对照组;(2) AECOPD 患者病情稳定后,其痰 BD-2 浓度与痰细菌培养结果密切相关,培养结果为阳性者痰 BD-2 浓度与急性加重期无显著性差异,培养结果为阴性者痰 BD-2 浓度与对照组无显著性差异。本研究的结果说明 对于不吸烟的 COPD 患者而言,痰 BD-2 表达水平是否升高主要取决于是否存在下呼吸道细菌感染/定植,下呼吸道细菌感染/定植诱导痰 BD-2 表达升高。

动物实验证实香烟烟雾对气道和肺组织的 BD-2 表达水平具有诱导作用^[18,19],作者的前期临床病例研究证实吸烟导致痰液和肺组织 BD-2 水平升高^[17],本研究的结果说明下呼吸道细菌感染/定植是诱导重度和极重度 COPD 患者痰 BD-2 表达升高的主要原因,而临床流行病学研究发现 BD-2 基因高拷贝吸烟者发生 COPD 的风险较低拷贝者增加^[20],因此,作者推测:吸烟和下呼吸道细菌感染作为两个独立的诱因,可能通过上调 BD-2 表达加重气道炎症反应,从而促进 COPD 的发生发展。

参考文献 (References)

- [1] 余国辉,李其皓. 细菌感染在慢性阻塞性肺疾病急性加重期的诊治进展 [J]. 国际呼吸杂志, 2010, 30(1): 41-44
Yu Guo-hui, Li Qi-hao. Development of diagnosis and therapy of bacterial infection in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Int Respir, 2010, 30(1): 41-44
- [2] Siddiqi A, Sethi S. Optimizing antibiotic selection in treating COPD exacerbations [J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2008, 3(1): 31-44
- [3] 胡小容,文富强. 人 β -防御素-2 与肺部疾病的研究进展 [J]. 国际呼吸杂志, 2009, 29(1): 44-46
Hu Xiao-rong, Wen Fu-qiang. Advancement of human β -defensin-2 and its role in pulmonary disease [J]. Int Respir, 2009, 29(1): 44-46
- [4] 何丽蓉,刘松,贺正一. 人 β -防御素-2 在肺部炎症性疾病的研究进展 [J]. 国际呼吸杂志, 2009, 29(9): 569-572
He Li-rong, Liu Song, He Zheng-yi, et al. Research of human beta-defensin-2 in inflammatory pulmonary disease [J]. Int Respir, 2009, 29(9): 569-572
- [5] Herr C, Shaykhiev R, Bals R. The role of cathelicidin and defensins in pulmonary inflammatory diseases [J]. Expert Opin Biol Ther, 2007, 7: 1449-1461
- [6] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南 (2007 年修订版) [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2007, 30 (1): 8-17

- Chronic Obstructive Pulmonary Disease Committee, Respiratory Society, Chinese Medical Association. Guidelines for diagnosis and treatment of chronic obstructive pulmonary disease (2007 Revision) [J]. Chin J Tuberc Respir Dis, 2007, 30(1): 8-17
- [7] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 咳嗽的诊断与治疗指南 (草案) [J]. 中华结核与呼吸杂志, 2005, 28(11): 738-744
Asthma Disease Committee, Respiratory Society, Chinese Medical Association. Guidelines for diagnosis and treatment of cough (draft) [J]. Chin J Tuberc Respir Dis, 2005, 28(11): 738-744
 - [8] 周宇麒,谢灿茂,陈冬梅,等. 慢性阻塞性肺疾病急性加重与细菌感染的相关性研究 [J]. 中华流行病学杂志, 2007, 28(5): 503-506
Zhou Yu-qi, Xie Can-mao, Chen Dong-mei, et al. Study on the relationship between airway bacterial infections and acute exacerbations in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. Chinese Journal of Epidemiology, 2007, 28(5): 503-506
 - [9] 张昊,周新,张杏怡,等. 慢性阻塞性肺疾病稳定期下呼吸道细菌定植与肺功能关系研究 [J]. 国际呼吸杂志, 2008, 28(17): 1034-1037
ZHAN Hao, Zhou Xin, Zhang Xing-yi, et al. Relationship between lower airway bacterial colonization and lung function in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. Int Respir, 2008, 28(17): 1034-1037
 - [10] 黄惠雪,王浩彦,李京明,等. 稳定期慢性阻塞性肺疾病细菌定植与炎症细胞的关系 [J]. 心肺血管病杂志, 2007, 26(2): 103-105
Huang Hui-xue, Wang Hao-yan, Li Jing-ming, et al. Relationship between bacterial colonization and inflammatory cells in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease [J]. Journal of Cardiovascular & Pulmonary Diseases, 2007, 26(2): 103-105
 - [11] 蒋鑫,王桂芳,钱建美,等. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期病原学与气道炎症关系的研究 [J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2008, 7(6): 416-420
Jiang Xin, Wang Gui-fang, Qian Jian-mei, et al. Effect of bacterial infection on airway inflammation in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease patients [J]. Chin J Respir Crit Care Med, 2008, 7 (6): 416-420
 - [12] 徐平,宋卫东,刘媛媛,等. 慢性阻塞性肺疾病急性细菌性加重患者病原菌分析 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2010, 10(2): 108-111
Xu Ping, Song Wei-dong, Liu Yuan-yuan, et al. Analysis of bacterial pathogens isolated from lower respiratory tract in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Chin J Infect Chemother, 2010, 10(2): 108-111
 - [13] Doss M, White MR, Tecle T, et al. Human defensins and LL-37 in mucosal immunity [J]. Leukoc Biol, 2010, 87(1): 79-92
 - [14] 孙贝贝,文富强. β -防御素 2 在呼吸系统的表达与调控 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2008, 31(9): 694-696
Sun Bei-bei, Wen Fu-qiang. Expression and regulation of β -defensin 2 in respiratory system [J]. Chin J Tuberc Respir Dis, 2008, 31(9): 694-696
 - [15] 熊盛道,兰芬,许淑云,等. 人 β -防御素-2 在慢性阻塞性肺病患者诱导痰中的表达 [J]. 中国现代医学杂志, 2006, 16(20): 3069-3072
Xiong Sheng-dao, Lan Fen, Xu Shu-yun, et al. Expression of human β -defensin-2 in induced sputum of patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. China Journal of Modern Medicine, 2006, 16 (20): 3069-3072

(下转第 2233 页)

元和神经末梢,置换出 DA,使 DA 大量外流到突触间隙,通过作用 DA 受体,导致神经毒性的发生^[7]。本实验从 TH 活性以及 DA 含量的水平,证实了 MA 对 DA 神经系统的损伤,并且此损伤在脑区内长期存在,各实验组 TH 与 DA 的含量均有不同程度的降低,且以 d7 组降低最为明显,这与王雪^[8]的报道一致,说明 MA 中毒,可导致 DA 神经系统毒性损伤,表现为 TH 活性降低,DA 含量下降。根据 MA 的毒理学作用并结合本实验五个脑区的 TH 阳性神经细胞、神经纤维以及 DA 递质含量变化的实验结果,推测上述脑区在脑内有可能形成一“神经网络结构”与 MA 的中毒 / 依赖作用直接相关,即 MA 中枢神经系统毒性作用的多靶点神经网络结构,此神经网络结构可能借助 DA 能神经系统或 DA 神经递质等进而诱发 MA 中毒的神经元、神经纤维的病理形态学改变。

MA 虽不能直接对神经元产生兴奋性毒性作用,但是 MA 可以通过促使 DA 的异常释放而增加 EAAs 浓度,这在 Faleiro、Mora^[9,10]等研究中得到了证实。Mora 等^[10]研究表明,给予大鼠 MA 能剂量依赖性的增加细胞外 Glu 和天门冬氨酸的浓度,上述作用能被 D1-4 受体阻断剂氟哌啶醇所阻断,进一步肯定了 DA 在 MA 诱导神经元的兴奋性毒性中的至关重要的作用。这也说明 MA 对神经元的兴奋性毒性作用需要 DA 的异常释放来诱导发生,即 DA 是 MA 引起 EAAs 的神经毒性作用的前体或媒介。另外,DA 神经细胞的兴奋性活动亦可由 EAAs 介导增强。因此,DA 与 EAAs 二者共同演绎、协调完成 MA 的中枢神经毒性作用。

总之,MA 中毒的诸多损伤机制中,MA 对多巴胺能神经系统的损伤是最为主要的,而其他损伤机制的提出与假设大多建立在多巴胺能神经系统损伤的基础之上。因此,应将 MA 损伤的重要靶点结构 - 多巴胺能神经系统作为 MA 毒性研究的基础和出发点。

参考文献 (References)

- [1] Volz T J, Hanson G R, Fleckenstein A E. The role of the plasmaemmal dopamine and vesicular monoamine transporters in

methamphetamine-induced dopaminergic deficits [J]. J Neurochem, 2007,101(4):883-888

- [2] Thomas D M, Francescutti-Verbeem D M, Kuhn D M. The newly synthesized pool of dopamine determines the severity of methamphetamine-induced neurotoxicity [J]. J Neurochem,2008,105 (3):605-616
- [3] Tata D A, Yamamoto B K. Chronic stress enhances methamphetamine-induced extracellular glutamate and excitotoxicity in the rat striatum [J]. Synapse,2008,62(5):325-336
- [4] Hozumi H, Asanuma M, Miyazaki I, et al. Protective effects of interferon- against methamphetamine-induced neurotoxicity [J]. Toxicol Lett,2008,177(2):123-129
- [5] Zhang X, Dong F, Mayer G E, et al. Selective inhibition of cyclooxygenase-2 exacerbates methamphetamine-induced dopamine depletion in the striatum in rats [J]. Neuroscience,2007,150 (4): 950-958
- [6] Wu C W, Ping Y H, Yen J C, et al. Enhanced oxidative stress and aberrant mitochondrial biogenesis in human neuroblastoma SH-SY5Y cells during methamphetamine-induced apoptosis [J]. Toxicol Appl Pharmacol,2007,220(3):243-251
- [7] Zeng XF, Lu G, Li Z. Progress in mechamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity. Chinese Journal of Forensic Medicine, 2010;25(1):33-36
- [8] Wang X, Kang L, Li SX, et al. Neurotoxicity and GFAP Expression of Methamphetamine [J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences,2004;19(3):170-172
- [9] Faleiro LJ, Jones S, Kauer JA. Rapid synaptic synaptic plasticity of glutamatergic synapses on dopamine neurons in the ventral tegmental area in response to acute amphetamine injection [J]. Neuropsychopharmacology, 2004,29:2115-2125
- [10] Mora F, Porras A. Effects of amphetamine on the release of excitatory amino acid neurotransmitters in the basal ganglia of the conscious rat [J]. Can J Pharmacol, 1993,71:348-351

(上接第 2241 页)

- [16] 王卓,姚婉贞,夏国光. 慢性阻塞性肺部疾病患者血清及痰中 β -防御素-2 水平及临床意义 [J]. 北京医学, 2008, 30(10): 577-581
Wang Zhuo; Yao Wan-zhen; Xia Guo-guang. The expression and significance of human β -defensin 2 in serum and induced sputum in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. Beijing Medical Journal, 2008, 30(10): 577-581
- [17] 胡瑞成,谭双香,欧阳卿,等. 吸烟诱导慢性阻塞性肺疾病患者痰及肺组织 β -防御素-2 表达 [J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2011, 10(3): (已定稿)
Hu Rui-cheng, Tan Shuang-xiang, Ouyang Qin, et al. Expression of β -defensin-2 in sputum and lung tissue of chronic obstructive

pulmonary disease patients is Induced by smoking [J]. Chin J Respir Crit Care Med, 2011, 10(3): (finalized)

- [18] Chen L, Sun BB, Wang T, et al. Cigarette smoke enhances β -defensin 2 expression in rat airways via NF- κ B activation [J]. Eur Respir J, 2010, 36(3): 638-645
- [19] Shibata Y, Abe S, Inoue S, et al. Altered expression of antimicrobial molecules in cigarette smoke-exposed emphysematous mice lungs [J]. Respiriology, 2008, 13(7): 1061-1065
- [20] Janssens W, Nuytten H, Dupont LJ, et al. Genomic copy number determines functional expression of β -defensin 2 in airway epithelial cells and associates with COPD [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2010, 182(2):163-169