

痰热清联合N-乙酰半胱氨酸对老年AECOPD患者血清IL-33/sST2轴表达的影响

龙骏 张连生 顾春枫 章英彰 严萍

[摘要] 目的 研究痰热清联合N-乙酰半胱氨酸对老年慢性阻塞性肺疾病急性加重期(AECOPD)患者血清白细胞介素-33(IL-33)/可溶性基质裂解素2(sST2)轴表达的影响。方法 选取老年AECOPD患者122例,根据随机数字表法分为治疗组(61例)与对照组(61例)。治疗组加用痰热清联合N-乙酰半胱氨酸治疗,对照组仅予N-乙酰半胱氨酸治疗,两组均持续治疗7d。比较两组患者治疗过程中不良反应发生情况,并比较两组治疗前后的肺功能指标、动脉血气指标、IL-33/sST2轴相关炎症细胞因子以及IL-33、sST2 mRNA和蛋白表达水平。结果 治疗后,治疗组患者的IL-33、sST2 mRNA和蛋白均低于对照组,差异均有统计学意义(t 分别=10.00、6.80、10.30、11.26, P 均 <0.05);治疗组患者治疗后的IL-4、IL-5、IL-10以及气道峰压(Ppeak)、呼气峰流速(PEF)、一秒用力呼气容积占用力肺活量(FEV1/FVC)水平均高于对照组,差异均有统计学意义(t 分别=17.95、7.55、7.79、6.59、7.06、7.34, P 均 <0.05);治疗组患者治疗后的动脉二氧化碳分压(PaCO₂)低于对照组,而血氧饱和度(SaO₂)、动脉血氧分压(PaO₂)高于对照组,差异均有统计学意义(t 分别=-5.02、11.40、7.12, P 均 <0.05)。结论 痰热清联合N-乙酰半胱氨酸可明显改善老年AECOPD患者临床症状,延缓肺功能下降,利于病患预后的优化,疗效明显,其机制可能与抑制IL-33/sST2轴的活化及相关炎症因子释放有关。

[关键词] 痰热清; N-乙酰半胱氨酸; 慢性阻塞性肺疾病急性加重期; 老年人; 白细胞介素-33; 可溶性基质裂解素2

Effects of Tanreqing combined with N-acetylcysteine on the expression of serum IL-33/sST2 axis in elderly patients with acute obstructive pulmonary disease LONG Jun, ZHANG Liansheng, GU Chunfeng, et al. Department of Respiratory Medicine, Tongxiang Second People's Hospital, Tongxiang 314511, China.

[Abstract] **Objective** To study the effect of Tanreqing combined with N-acetylcysteine on the expression of serum interleukin-33 (IL-33) / soluble matrix lysin 2 (sST2) axis in elderly patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD). **Methods** A total of 122 elderly patients with AECOPD were selected and divided into treatment group (61 cases) and control group (61 cases) according to random number table. The treatment group was treated with Tanreqing combined with N-acetylcysteine, and the control group was treated with N-acetylcysteine only. Both groups were treated for 7 days. The adverse reactions during treatment were compared between the two groups, and the pulmonary function index, arterial blood gas index, IL-33 / sST2 axis related inflammatory cytokines, IL-33, sST2 mRNA and protein expression levels before and after treatment were compared between the two groups. **Results** After treatment, the levels of IL-33, sST2 mRNA and protein in the treatment group were significantly lower than those in the control group ($t=10.00, 6.80, 10.30, 11.26, P<0.05$). The levels of IL-4, IL-5, IL-10, Ppeak, PEF, FEV1/FVC in the treatment group were lower than those in the control group after treatment, and the differences were statistically significant ($t=17.95, 7.55, 7.79, 6.59, 7.06, 7.34, P<0.05$). After treatment, PaCO₂ in the treatment group was lower than that in the control group, while SaO₂ and PaO₂ were higher than that in the control group, the differences were statistically significant ($t=-5.02, 11.40, 7.12, P<0.05$).

Conclusion Tanreqing combined with N-acetylcysteine can significantly improve the clinical symptoms

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2022.011.006

基金项目:浙江省中医药科技计划项目(2016ZQ032)

作者单位:314511 浙江桐乡,桐乡市第二人民医院呼吸内科(龙骏、张连生、顾春枫、章英彰);绍兴市上虞人民医院呼吸科(严萍)

of elderly AECOPD patients, delay the decline of lung function, and optimize the prognosis of patients. The mechanism may be related to the inhibition of the activation of IL-33 / sST2 axis and the release of related inflammatory factors.

[Key words] Tanreqing; N-acetylcysteine; acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease; elder; interleukin-33; soluble matrix lysin 2

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是常见的呼吸系统多发病^[1],临床症状常表现为持续咳嗽、呼吸困难及黏液增多等,通常伴有不完全可逆的持续性气流受限的特征,病情通常会随着疾病发展而加重。在外来有害气体或颗粒的刺激下,易引起肺组织与气道的炎症反应,造成程度不一的肺功能损害,甚至会危及肝肾系统,造成呼吸困难并引起全身炎症反应,情况严重者甚至会影响循环、中枢神经^[2]。有文献报道,COPD的死亡率极高,在疾病急性加重期,会造成肺部炎症反应剧烈继而导致全身性炎症反应加剧,致残率、致死率急剧升高,是有关患者身心健康和预后的关键^[3]。目前国内就痰热清联合N-乙酰半胱氨酸对老年慢性阻塞性肺疾病急性加重期(acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease, AECOPD)患者血清白细胞介素(interleukin, IL)-33/可溶性基质裂解素2(soluble matrix lysin 2, sST2)轴表达的影响鲜有报道,故本次研究展开临床对照性研究,分析其治疗效果以及可能起效机制。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2018年9月至2019年9月桐乡市第二人民医院和绍兴市上虞人民医院接受治疗的老年AECOPD患者122例,其中男性66例、女性56例;年龄65~87岁,平均(75.88±6.09)岁;体重指数(body mass index, BMI) 22.15~26.88 kg/m²,平均(24.79±1.13) kg/m²;吸烟者80例、不吸烟者42例。纳入标准包括:①经诊断均符合《慢性阻塞性肺疾病诊疗指南》^[4]中有关COPD的相关标准;②中医诊断符合《中医内科学》^[5]制定肺脾肾虚、痰瘀互结证,并经至少2位职称中级及以上的中医师共同辨证;③病程处于急性加重期,患者呼吸系统症状恶化,超出日常变异;④年龄在65岁以上。本次研究经医院伦理委员会审批通过,患者及其家属同意且签署知情同意书。并剔除:①对本试验使用药物所含成分过敏者及易过敏体质者;②合并有严重的血液病、神经系统及肝肾功能具有重大疾病

者;③合并有肺癌、哮喘、活动性肺结核等肺部其他疾病者;④智力低下及精神障碍,无法配合治疗,无法进行随访者;⑤伴有炎症性肠病、红斑狼疮及类风湿性关节炎等自身免疫性疾病者。按照随机数字表法分为治疗组(61例)与对照组(61例)。两组基线资料比较见表1。两组比较,差异均无统计学意义(P 均>0.05)。

表1 两组基线资料比较

组别	性别 (男/女)	年龄/岁	体重指数 /kg/m ²	吸烟史/例	
				有	无
治疗组	34/27	75.60 ± 6.02	24.85 ± 1.10	41	20
对照组	32/29	76.01 ± 6.05	24.62 ± 1.14	39	22

1.2 方法 所有患者治疗前行相关检查,根据病情及病情变化给予营养支持,同时予注射液多索茶碱针剂(由成都百裕制药股份有限公司生产)0.2 g + 100 ml 0.9%氯化钠注射液静滴解痉平喘,每日2次;予注射用甲泼尼龙琥珀酸钠(由重庆华邦制药有限公司生产)40 mg+250 ml 0.9%氯化钠注射液静滴祛痰镇咳,每日1次;予注射用头孢唑肟钠(由广州白云山天心制药股份有限公司生产)2 g+250 ml 0.9%氯化钠注射液静滴抗感染治疗,每日1次;无创正压通气采用ST模式,每天2次,均持续7 d。在此基础上,对照组予乙酰半胱氨酸胶囊(由广东人康药业有限公司生产)0.2 g口服,每日3次,并维持用药7 d。治疗组在对照组治疗基础上予痰热清注射液(由上海凯宝药业股份有限公司生产)20 ml+0.9%氯化钠液250 ml静脉滴注,每日1次,持续治疗7 d。整个研究过程中须严格监督患者,确保其按规定服药,若治疗过程中伴有药物相关毒副反应立刻告知医生。

1.3 观察指标

1.3.1 IL-33、sST2 mRNA水平检测 于治疗前后抽取患者清晨6:00空腹静脉血5 ml,置于有抗凝剂的试管内,采用Trizol提取总RNA,反转录得到cDNA。在定量PCR仪(购自于上海赛默科技生物发展有限公司)中对IL-33、sST2进行扩增,采用荧光定量逆

转录聚合酶链反应法对其 mRNA 水平进行检测。以 Primer 软件设计引物,目的基因 mRNA 相对表达水平为 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (见表2)。每个样品进行3次生物学重复实验以确保数据准确性。

表2 Real time-PCR引物序列及扩增产物长度

基因	引物序列(5'→3')	产物长度/bp
β -actin		
上游	AGCCTCGCCTTTGCCGA	179
下游	CTGGTGCCTGGGGCG	
sST2		
上游	TGTAGCTCAGGAAGCACCA	166
下游	TCGTTGTACATAAGGAAAGTC	
IL-33		
上游	ATTCTACGGGCAAATTTACAGC	120
下游	GAAATTCGATACAAGAAAGG	

1.3.2 IL-33、sST2蛋白表达水平检测 在将200 μ l 红细胞裂解液加入外周血后,再置入预冷EP管,上孵育20 min后,以3 000 r/min离心10 min,收集上清液为细胞裂解液。用蛋白质定量试剂盒法为RIPA提取蛋白,进行蛋白定量,用蛋白质定量试剂盒测定蛋白浓度后,在剩余蛋白样品中添加等体积的2 \times 十二烷基硫酸钠上样缓冲液,经过5 min的沸水煮沸,再进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳垂直电泳分离,上样量为30 μ g/孔,转移蛋白质至聚偏氟乙烯膜,5%TBS-T脱脂奶粉封闭,室温振荡60 min,最后加入1:3000稀释的辣根过氧化物酶标记的抗鼠或抗兔的二抗室温孵育过夜,置化学发光试剂中于室温下振荡温育5 min,置于X光片盒中感光显影。设 β -actin为内参照基因,使用相应软件进行条带的半定量分析,纪录各条带积分光密度值。

1.3.3 IL-33/sST2轴相关炎症细胞因子检测 于治疗前后抽取患者空腹静脉血,置于离心机上以3 000 r/min转离心5 min,分离血清,血清中IL-4、IL-5、IL-10等水平均采用酶联免疫吸附法进行检测,采用厦门慧嘉生物科技有限公司生产试剂盒。

1.3.4 动脉血气指标检测 采用瑞士罗氏Omin-C型血气分析仪测定患者血氧饱和度(blood oxygen saturation, SaO₂)、动脉二氧化碳分压(arterial partial pressure of carbon dioxide, PaCO₂)、动脉血氧分压(arterial partial pressure of oxygen, PaO₂)等水平。

1.3.5 肺功能指标检测 采用德国epoc Reader型

肺功能测定仪测定患者气道峰压(peak airway pressure, P_{peak})、呼气峰流速(peak expiratory flow, PEF)、一秒用力呼气容积(forced expiratory volume in one second, FEV₁)占用力肺活量(forced vital capacity, FVC)百分比等水平。

1.3.6 不良反应 记录两组治疗期间出现的药物相关不良反应。

1.4 统计学方法 采用SPSS 20.0统计学软件进行数据分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。组间计量资料比较采用 t 检验;计数资料比较采用 χ^2 检验。设 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组治疗前后IL-33、sST2 mRNA和蛋白表达比较见表3

表3 两组治疗前后IL-33、sST2 mRNA和蛋白表达比较

组别	IL-33 mRNA	sST2 mRNA	IL-33蛋白	sST2蛋白
治疗组				
治疗前	2.61 \pm 0.46	2.25 \pm 0.51	1.50 \pm 0.30	1.27 \pm 0.25
治疗后	1.18 \pm 0.20*	1.09 \pm 0.25*	0.54 \pm 0.10*	0.41 \pm 0.08*
对照组				
治疗前	2.59 \pm 0.44	2.21 \pm 0.53	1.47 \pm 0.28	1.25 \pm 0.27
治疗后	1.61 \pm 0.27	1.43 \pm 0.30	0.80 \pm 0.17	0.63 \pm 0.13

注: *:与对照组治疗后比较, P 均 <0.05 。

由表3可见,治疗前,两组IL-33、sST2 mRNA和蛋白比较,差异均无统计学意义(t 分别=0.25、0.43、0.57、0.42, P 均 >0.05);治疗后,治疗组IL-33、sST2 mRNA和蛋白低于对照组,差异均有统计学意义(t 分别=10.00、6.80、10.30、11.26, P 均 <0.05)。

2.2 两组治疗前后IL-33/sST2轴相关炎症细胞因子比较见表4

表4 两组治疗前后IL-33/sST2轴相关炎症细胞因子比较/pg/ml

组别	IL-4	IL-5	IL-10
治疗组			
治疗前	30.62 \pm 3.23	44.99 \pm 5.03	302.92 \pm 33.86
治疗后	159.33 \pm 16.98*	80.02 \pm 9.11*	920.16 \pm 91.30*
对照组			
治疗前	31.08 \pm 3.30	43.30 \pm 5.06	304.80 \pm 33.93
治疗后	111.29 \pm 12.19	68.82 \pm 7.16	798.07 \pm 81.66

注: *:与对照组治疗后比较, P 均 <0.05 。

由表4可见,治疗前,两组IL-4、IL-5、IL-10比

较,差异均无统计学意义(t 分别=0.78、1.85、0.31, P 均 >0.05);治疗后,治疗组 IL-4、IL-5、IL-10 高于对照组,差异均有统计学意义(t 分别=17.95、7.55、7.79, P 均 <0.05)。

2.3 两组治疗前后动脉血气指标比较见表5

表5 两组治疗前后动脉血气指标比较

组别		SaO ₂ /%	PaCO ₂ /mmHg	PaO ₂ /mmHg
治疗组	治疗前	80.23 ± 4.11	52.70 ± 8.42	55.30 ± 5.79
	治疗后	89.55 ± 4.89*	40.01 ± 6.03*	74.50 ± 7.24*
对照组	治疗前	80.51 ± 4.41	52.12 ± 8.23	56.22 ± 5.90
	治疗后	80.23 ± 4.11	45.72 ± 6.52	65.87 ± 6.11

注: *:与对照组治疗后比较, $P < 0.05$ 。

由表5可见,治疗前,两组 SaO₂、PaCO₂、PaO₂ 比较,差异均无统计学意义(t 分别=0.36、0.39、0.87, P 均 >0.05);治疗后,治疗组 PaCO₂ 低于对照组, SaO₂、PaO₂ 高于对照组,差异均有统计学意义(t 分别=-5.02、11.40、7.12, P 均 <0.05)。

2.4 两组治疗前后肺功能指标比较见表6

表6 两组治疗前后肺功能指标比较

组别		Ppeak/cmH ₂ O	PEF/L/S	FEV1/FVC/%
治疗组	治疗前	14.26 ± 2.40	2.26 ± 0.27	61.62 ± 6.41
	治疗后	20.03 ± 3.55*	3.51 ± 0.55*	82.99 ± 8.73*
对照组	治疗前	14.19 ± 2.36	2.30 ± 0.28	61.57 ± 6.38
	治疗后	16.08 ± 3.05	2.89 ± 0.41	72.16 ± 7.53

注: *:与对照组治疗后比较, $P < 0.05$ 。

由表6可见,治疗前,两组患者的 Ppeak、PEF、FEV1/FVC 比较,差异均无统计学意义(t 分别=0.07、0.80、0.04, P 均 >0.05);治疗后,治疗组 Ppeak、PEF、FEV1/FVC 高于对照组,差异均有统计学意义(t 分别=6.59、7.06、7.34, P 均 <0.05)。

2.5 两组不良反应比较见表7

表7 两组不良反应比较/例(%)

组别	n	恶心	反酸	腹泻	胃肠不适	总发生例数
治疗组	61	4(6.56)	2(3.28)	1(1.64)	3(4.92)	10(16.40)
对照组	61	3(4.92)	2(3.28)	1(1.64)	2(3.28)	8(13.12)

由表7可见,治疗组与对照组不良反应发生例数比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.26, P > 0.05$)。

3 讨论

IL-33 是由人源基因 IL-33 编码的蛋白^[6], 往往富集于气道和胃肠道上皮细胞, 在调节炎症反应等

多种病理过程中扮演着尤为关键的角色。有国外学者通过收集来源于 15 个疾病中心的 307 例稳定期 COPD 患者并对其外周血中的 IL-33 水平进行检测, 发现其水平与嗜酸性粒细胞计数和慢性支气管炎表型方面密切相关^[7]。因此, 可以推断出 COPD 的发生与 IL-33 高表达有密切关系并且会诱使炎症扩大。IL-33 的受体为 ST2, 其有两种主要的由不同启动子调控的初级亚型: 跨膜型(ST2L)、分泌型(sST2), 其中 IL-33 与 sST2 会出现竞争性结合, 阻滞 Toll 样受体-IL-1 受体信号途径的负性调节进程, 以调节与 Th2 免疫反应相关细胞因子(主要包括 IL-4、IL-5、IL-33 等具有抗炎效应的细胞因子)的转录, 故而 IL-33/sST2 轴异常可参与多种病理过程, 包括变态反应性疾病、自身免疫疾病等^[8]。在过敏性哮喘小鼠模型中, 抑制 Th2 产生细胞因子的目标可通过阻断 IL-33/sST2 信号通路来实现, 研究者认为目前可将 IL-33/sST2 轴为靶点作为有效抑制肺部疾病恶化的手段之一^[9]。

本次研究结果显示, 经治疗后, 治疗组 IL-33、sST2 mRNA 和蛋白均低于对照组, 而 IL-4、IL-5、IL-10 则高于对照组(P 均 <0.05), 提示联合治疗对改善老年 AECOPD 机体抗/促炎因子失衡状态有良好效果, 有助于恢复免疫稳态。N-乙酰半胱氨酸是现阶段临床治疗 AECOPD 的有效药物, 其含有的巯基可与细菌细胞壁蛋白结合, 竞争性抑制细菌利用半胱氨酸, 进而发挥较佳的抑菌效应, 同时该药亦能够抑制和破坏细菌生物膜的形成, 帮助抗生素穿透生物膜, 加强其效用。此外, N-乙酰半胱氨酸对降低细菌黏附性也有明显效果, 以利于其排除。N-乙酰半胱氨酸可能通过以上机制发挥抗感染作用, 从而改善由感染引起的气道高炎症状态^[10]。

痰热清主要是由黄芩、山羊角、连翘、金银花及熊胆粉等提炼而成。现代药理学认为, 其不仅存在抗菌作用既可抑制细菌细胞壁合成, 亦对中性粒细胞的吞噬功能有明显增强作用, 可缓解早期毛细血管的炎性水肿与渗出并降低其通透性, 从而起到提高机体免疫状态的效果^[11]。本次研究结果亦显示, 经治疗后, 治疗组 Ppeak、PEF、FEV1/FVC 以及 SaO₂、PaO₂ 高于对照组, 而 PaCO₂ 则低于对照组(P 均 <0.05), 提示痰热清联合 N-乙酰半胱氨酸能够明显提高老年 AECOPD 患儿呼气、吸气能力, 利于呼吸系统功能恢复和改善, 临床疗效确切, 这与胡光煦等^[12]的研究结果相一致。分析原因: 痰热清作为一

种中药复方注射剂,其中黄芩、山羊角、熊胆、金银花、连翘等成分均具有抗菌消炎的功效,可参与免疫反应的不同阶段^[13],在慢反应阶段,其可促进B淋巴细胞增殖,从而调节体液免疫功能,在快反应阶段,对中性粒细胞可明显提高其吞噬能力,对Th1/Th2的功能失衡有着一定调节作用。本次研究对用药安全性进行展开研究,发现两组所发生的不良反应发生例数比较并无明显差异($P>0.05$),证实对于老年AECOPD的治疗,相比于延长治疗时间与提高药物用量,联合用药的效果明显更佳。

综上所述,痰热清联合N-乙酰半胱氨酸可明显改善老年AECOPD患者临床症状,延缓肺功能下降,利于病患预后的优化,疗效明显,其机制可能与抑制IL-33/sST2轴的活化及相关炎症因子释放有关。本次研究也存在样本数较少,同时未对肺功能、动脉血气指标、IL-33/sST2轴相关炎症细胞因子以及IL-33、sST2 mRNA和蛋白等进行动态观察等缺点,因此仍需进一步的研究加以证实。

参考文献

- 1 Carr LL, Jacobson S, Lynch DA, et al. Features of COPD as predictors of lung cancer[J]. Chest, 2018, 5(13): 951-960.
- 2 Ohar JA, Loh CH, Lenoir KM, et al. A comprehensive care plan that reduces readmissions after acute exacerbations of COPD[J]. Respiratory Medicine, 2018, 141(13): 166-172.
- 3 Spencer L. Pulmonary rehabilitation for patients with acute chronic obstructive pulmonary disease exacerbations: Is the evidence strengthening?[J]. Curr Opin Pulm Med, 2018, 24(8): 147-151.
- 4 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(2013年修订版)(一)[S]. 全科医学临床与教育, 2013, 36(5): 484-491.
- 5 周仲瑛. 中医内科学[M]. 第2版. 北京: 中国中医药出版社, 2007, 45(17): 112-118.
- 6 Tang Y, Guan Y, Liu Y, et al. The role of the serum IL-33/sST2 axis and inflammatory cytokines in chronic obstructive pulmonary disease[J]. J Interferon Cytokine Res, 2014, 34(3): 162-168.
- 7 Won KS, Kook RC, Uk KK, et al. Factors associated with plasma IL-33 levels in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. Int J Chronic OBSTR, 2017, 37(12): 395-402.
- 8 Mueller T, Leitner I, Egger M, et al. Association of the biomarkers soluble ST2, galectin-3 and growth-differentiation factor-15 with heart failure and other non-cardiac diseases[J]. Clinica Chimica Acta, 2015, 445(13): 155-160.
- 9 Mitchell PD, Salter BM, Oliveria JP, et al. IL-33 and its receptor ST2 after inhaled allergen challenge in allergic asthmatics[J]. Int Arch Allergy Imm, 2018, 176(2): 1-10.
- 10 付伟, 辛丽云, 陈乾华. 乙酰半胱氨酸溶液雾化吸入对COPD患者免疫功能及肺功能的影响[J]. 实用药物与临床, 2019, 11(6): 597-600.
- 11 郑云威, 李忠运, 徐立峰. 痰热清注射液联合丹参川芎嗪注射液治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期疗效及对炎症因子影响[J]. 中华中医药学刊, 2019, 15(8): 1963-1965.
- 12 胡光煦, 张彩霞, 程冰洁, 等. 痰热清注射液对急性加重期慢性阻塞性肺疾病痰壅肺证中医症状及红细胞免疫功能的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2020, 29(8): 802-806.
- 13 戴和森, 周大勇, 刘颖. 黄芩-连翘药对治疗重症肺炎的作用机制探讨[J]. 中医药临床杂志, 2022, 34(1): 103-109.

(收稿日期 2022-05-16)

(本文编辑 高金莲)