

· 临床报道 ·

补肺颗粒对慢性阻塞性肺疾病稳定期患者
血清炎症因子水平的影响郭思佳¹ 孙增涛¹ 李月川² 吴琦³ 刘恩顺¹ 封继宏¹ 付敏¹

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是一种具有气流受限特征的可以预防和治疗的疾病,气流受限不完全可逆、呈进行性发展,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^[1]。COPD 在全世界 40 岁以上人群中患病率为 10%^[2],预计到 2020 年其在全球各类致死性疾病排名中将上升至第 3 位,位居世界疾病经济负担的第 5 位^[3]。其发病机制与慢性气道和肺部炎症密切相关,并会由此引发全身性炎症反应^[4]。复杂的炎症网络是 COPD 病理过程中的关键环节,因此控制和减轻炎症反应对提高疗效具有重要意义。现代医学主要采用糖皮质激素抑制 COPD 患者体内存在的炎症反应。然而,在临床治疗中,皮质激素对 COPD 的治疗作用有限,不能减缓患者呈进行性进展的气流阻塞或降低各种炎性细胞、细胞因子或蛋白酶的表达,仅对 10% 的 COPD 患者有效^[5,6],大部分 COPD 相关炎症对其不敏感^[7]。中医药在治疗 COPD 稳定期方面做过很多积极地尝试和研究,发现补肺颗粒是治疗 COPD 稳定期的有效药物,可以减轻临床症状,增强运动耐受能力,降低疾病影响,改善肺功能,明显提高患者的生活质量^[8-10],然而其对炎症反应的作用尚不明确。本研究通过多中心、随机、双盲、安慰剂对照临床试验,重点观察补肺颗粒对 COPD 稳定期患者血清中四种炎症因子即 IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)水平的影响,从调节炎症反应的角度初步探讨其疗效的可能作用机制。

资料与方法

1 诊断标准 西医诊断参照 2007 年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》^[11]制定。中医辨证分型标准参照《中药新药临床研究指导原则》^[12]制定,肺脾肾虚、痰瘀互结证辨证标准:主症:咳嗽,咯痰,喘促气短;次症:平素易感,畏寒肢冷,腰膝酸软,倦怠乏力,泄泻便溏,唇甲发绀;舌脉:舌质暗红或淡紫,苔少或花剥;脉沉细弱。以上证型诊断标准为主症必备,兼有次症 2 项并结合舌脉即可判定。

2 纳入标准 (1)符合 COPD 西医诊断标准,中医辨证分型肺脾肾虚、痰瘀互结证辨证标准;(2)病情处于 COPD 西医病情判定标准中的稳定期,病情严重程度属于Ⅱ级~Ⅲ级(中~重度),肺功能测定符合 $30\% \leq 1$ 秒用力呼气容积(FEV1)占预计值 $\leq 80\%$;(3)40~75岁;(4)1个月内未参加其他药物临床研究;(5)自愿参加本研究并签署知情同意书。

3 排除标准 (1)使用口服或吸入性糖皮质激素者;(2)合并支气管扩张、肺结核、特发性肺纤维化等原发肺部疾病者;(3)过敏性体质或对研究药物过敏者;(4)合并心、脑、肝、肾、呼吸系统、消化系统及造血系统等严重原发性疾病者;(5)合并精神性疾病患者;(6)妊娠或准备妊娠及哺乳期妇女;(7)依从性差,言语交谈障碍的患者。健康志愿者除上述排除标准外,还需除外:(1)近3个月内有急性炎症性疾病病史(如急性气管-支气管炎、急性肺炎、急性肾盂肾炎、急性膀胱炎等)者;(2)具有慢性炎症性疾病、自身免疫性疾病及内分泌和代谢性疾病病史者;(3)月经期妇女。

4 一般资料 2008年5月—2010年3月于天津中医药大学第二附属医院、天津市胸科医院及天津市海河医院呼吸科门诊就诊的 140 例符合纳入标准的 COPD 稳定期患者编为疾病组,140 例健康志愿者编为健康成人组。疾病组中男性 84 例,女性 56 例,年龄 40~75 岁,平均 (60.68 ± 7.15) 岁;健康成人组

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 30672681);天津市科委应用基础及前沿技术研究计划资助项目(No. 08JCZDJC15900);国家科技部国际科技合作专项资助项目(No. 2011DFA32750)

作者单位:1. 天津中医药大学第二附属医院呼吸科(天津 300150);2. 天津市胸科医院胸内科(天津 300051);3. 天津市海河医院呼吸科(天津 300350)

通讯作者:孙增涛, Tel: 022-60335393, E-mail: szt20042@eyou.com

DOI: 10. 7661/CJIM. 2014. 02. 0235

中男性 82 例,女性 58 例,年龄 40 ~ 75 岁,平均 (59.99 ± 5.63) 岁。两组人群一般资料比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。将 140 例 COPD 稳定期患者按随机数字表法分为治疗组和对照组,每组 70 例。研究期间脱落 10 例,其中治疗组 1 例(脱落原因为疗效不满意,主动退出研究),对照组 9 例(其中 2 例脱落原因为工作调往外地,难以完成研究;其余 7 例为对疗效不满意,主动退出研究)。共计 130 例患者完成研究并纳入统计学分析。其中治疗组 69 例,男性 41 例,女性 28 例;年龄 40 ~ 75 岁,平均 (60.81 ± 8.18) 岁;平均病程 (14.56 ± 6.32) 年,病情属于中度者 44 例,重度者 25 例。对照组 61 例,男性 39 例,女性 22 例;年龄 40 ~ 75 岁,平均 (60.51 ± 11.03) 岁;平均病程 (14.52 ± 5.96) 年,病情属于中度者 39 例,重度者 22 例。治疗组和对照组患者治疗前年龄、病程及病情比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

5 药物 补肺颗粒[天津中医药大学第二附属医院制剂中心提供,院内制剂批号:200702003],药物组成:党参、熟地、当归、赤芍、山萸肉、炙麻黄、黄芩、陈皮、半夏、紫菀、甘草,每袋 8 g;补肺颗粒安慰剂[天津中医药大学第二附属医院制剂中心提供],主要成分含 5% 补肺颗粒生药加辅料,每袋 8 g。由于两者在形状、颜色及包装等方面一致,所以研究者和参加研究的 COPD 稳定期患者均无法判断采用的治疗方法,达到双盲的目的。

6 治疗方法 患者在治疗期间均给予用药指导及相关健康宣教,包括运动、饮食、腹式呼吸等。治疗组在此基础上口服补肺颗粒,每次 2 袋,每日 2 次,连续治疗 12 周;对照组口服补肺颗粒安慰剂,每次 2

袋,每日 2 次,连续治疗 12 周。

7 观察指标及方法 采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测疾病组和健康成人组志愿者入组时以及治疗组和对照组患者在治疗 4、12 周末及完成治疗后 12 周末的血清 IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 及转化生长因子- β_1 (TGF- β_1) 水平。ELISA 试剂盒 (IL-6、IL-8、TNF- α 、TGF- β_1) 由美国 eBioscience 公司提供,操作严格按试剂盒说明书执行。

8 统计学方法 研究结束后揭盲,由第 3 方采用 SPSS 11.5 统计软件进行分析,等级资料用 Ridit 分析;计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内自身比较采用配对样本 t 检验,两组间比较采用两独立样本 t 检验;计数资料采用 χ^2 检验;非正态分布采用非参数检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 疾病组与健康成人组血清 IL-6、IL-8、TNF- α 及 TGF- β_1 水平比较 (表 1) 与健康成人组比较,疾病组 COPD 稳定期患者血清 IL-6、IL-8、TNF- α 及 TGF- β_1 水平均显著升高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2 治疗组与对照组治疗前后血清 IL-6、IL-8、TNF- α 及 TGF- β_1 水平比较 (表 2) 两组治疗前血清 IL-6、IL-8、TNF- α 及 TGF- β_1 水平比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与本组治疗前比较,治疗组治疗 4、12 周末、治疗后 12 周末时,血清 IL-8、TNF- α 、TGF- β_1 水平明显降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与本组治疗 4 周末比较,治疗组治疗 12 周末、治疗后 12 周末时,血清 IL-8、TNF- α 、TGF- β_1 水平明显降低,差异有

表 1 疾病组与健康成人组血清炎症因子水平比较 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IL-6	IL-8	TNF- α	TGF- β_1
健康成人	140	1.38 ± 0.51	1.99 ± 0.46	0.97 ± 0.13	789.75 ± 123.96
疾病	140	4.03 ± 0.97 *	5.93 ± 1.04 *	2.78 ± 0.42 *	1 821.04 ± 143.47 *

注:与健康成人组比较, * $P < 0.05$

表 2 治疗组与对照组治疗前后血清 IL-6、IL-8、TNF- α 及 TGF- β_1 水平比较 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	IL-6	IL-8	TNF- α	TGF- β_1
对照	61	治疗前	3.84 ± 1.74	6.36 ± 2.45	2.61 ± 0.80	1 727.42 ± 363.88
		治疗 4 周末	3.53 ± 1.76	5.22 ± 2.41	2.54 ± 0.64	1 653.81 ± 784.24
		治疗 12 周末	3.62 ± 0.67	5.43 ± 1.89	2.58 ± 0.65	1 661.67 ± 234.69
		治疗后 12 周末	3.55 ± 1.02	5.78 ± 1.43	2.69 ± 0.78	1 706.56 ± 165.45
治疗	69	治疗前	4.16 ± 2.47	5.49 ± 2.26	2.89 ± 1.24	1 900.39 ± 934.95
		治疗 4 周末	3.22 ± 1.58	4.44 ± 2.16 *	2.57 ± 0.81 *	1 519.99 ± 573.15 *
		治疗 12 周末	3.54 ± 0.65	2.01 ± 0.45 * $\Delta\Delta$	1.28 ± 0.23 * $\Delta\Delta$	891.43 ± 134.24 * $\Delta\Delta$
		治疗后 12 周末	3.49 ± 1.02	2.09 ± 0.35 * $\Delta\Delta$	1.21 ± 0.13 * $\Delta\Delta$	887.98 ± 124.23 * $\Delta\Delta$

注:与本组治疗前比较, * $P < 0.05$;与本组治疗 4 周末比较, $\Delta P < 0.05$;与对照组同期比较, $\Delta P < 0.05$

统计学意义($P < 0.05$)。治疗组内各时间点血清 IL-6 差异无统计学意义($P > 0.05$)。与对照组比较,治疗组治疗 12 周末及治疗后 12 周末血清 IL-8、TNF- α 、TGF- β_1 水平明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),血清 IL-6 水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。

讨 论

COPD 属于中医学“肺胀”范畴,亦可归属于“喘证”、“痰饮”、“内伤咳嗽”等病症。本病病位主要在肺,随着病情发展,最终导致以肺脾肾三脏阳气亏虚为本,痰浊瘀血内阻为标的本虚标实之证,其稳定期邪少虚多,故治疗宜以扶正为主,兼以祛瘀化痰平喘,以改善脏腑功能,增强防御能力,从而有效阻止病情发展^[8-10]。补肺颗粒是从《备急千金要方》中的补肺汤和《景岳全书·新方八阵》中的金水六君煎化裁而来。方中党参健脾益气、培土生金为君药;熟地黄、山茱萸滋肾、金水相生为臣;炙麻黄宣肺平喘,黄芩清泄肺热,陈皮、半夏、紫菀行气化痰,当归、赤芍活血化瘀共为佐药;甘草调和诸药。全方共奏补肺健脾益肾,祛瘀化痰平喘之效,使气得复,痰浊瘀热得清,脾肺之气升降自如,金水二脏滋生互养,功能恢复正常,前期临床研究证实补肺颗粒是治疗 COPD 稳定期的有效药物^[8-10]。

IL-6、IL-8、TNF- α 和 TGF- β_1 是 CD8⁺T 淋巴细胞、中性粒细胞、肺泡巨噬细胞以及气道上皮细胞在香烟烟雾等因素刺激作用下被激活而释放的重要细胞因子和趋化因子,其可直接启动炎症反应或通过刺激其他炎症介质的释放,触发级联反应,从而形成广泛累及气道、肺实质和肺血管的肺部炎症和以血清炎症因子表达升高为特点的全身性炎症反应^[4]。COPD 的炎症反应是一种非显性炎症状态,具有持续性及相对隐匿性,其实质是微炎症,即免疫性炎症。微炎症的持续存在不仅可引起支气管及肺的局部病变,同时也是引发 COPD 肺外表现和病情持续进展的主要因素^[13]。本研究也同样发现 COPD 稳定期患者血清 IL-6、IL-8、TNF- α 和 TGF- β_1 水平较健康者显著升高。

香烟烟雾刺激或自身基因缺陷使 COPD 患者血清 TNF- α 水平明显升高^[14,15],其释放主要来源于肺泡巨噬细胞。TNF- α 可激活 TNF- α 受体从而促进包括 IL-8 在内的多种炎症介质的释放^[16-18],同时 TNF- α 水平升高可以促进粘液细胞化生及其高分泌状态^[19],加重肺气肿损伤。另外,血清中 TNF- α 水平升高会引起患者氧分压下降和呼吸困难的加重,降低其水平有益于减缓 COPD 进展和避免 COPD 导致的残

疾^[20,21]。TNF- α 还参与系统炎症性反应中的骨骼肌功能失调和骨质疏松,降低其水平可以增强运动耐受能力和减少活动受限^[13]。IL-8 对于炎症细胞,尤其是中性粒细胞,具有明显的趋化作用^[22],可以导致组织蛋白酶释放和氧化应激增加,以及炎症反应的扩大,同时中性粒细胞通过激活杯状细胞可引起粘液高分泌状态^[23],造成 COPD 的病情不断进展。TGF- β_1 除具有抗炎作用外,还可能是气道纤维化和细胞外基质中胶原沉积的诱发因素^[24]。COPD 稳定期患者气道上皮中 TGF- β_1 表达增加与气道纤维化重塑密切相关^[25]。另外,TGF- β_1 信号通路的改变和 TGF- β_1 的多态性在 COPD 和肺气肿的病理过程中起重要作用^[26-27]。本研究发现,治疗 4 周末,补肺颗粒可显著降低患者血清 TNF- α 、IL-8 和 TGF- β_1 水平,并且随着用药时间延长,在治疗 12 周末这一作用更加明显。因此,这可能是补肺颗粒改善患者生活质量,减轻炎症反应、改善肺功能及延缓患者病情进展的中心和重要环节。

在治疗 4、12 周末,补肺颗粒对 COPD 稳定期患者血清 IL-6 水平无明显作用。一方面,可能由于 IL-6 可以上调局部免疫应答并诱导系统性急性期反应物的释放,抑制巨噬细胞释放 TNF- α ,最终减低 COPD 患者气道炎症反应和气道重塑,维持 IL-6 水平可以增强肺部免疫功能^[28];另一方面,不同肺功能水平的 COPD 患者均可见到痰液中 IL-6 表达增加,其水平升高有益于肺功能保护^[28]。所以补肺颗粒对 IL-6 高水平状态的维持可能与其减轻炎症反应和改善肺功能的作用有关。

研究还发现补肺颗粒对上述炎性因子的调控作用在完成治疗后 12 周末时仍然存在,说明其对 COPD 稳定期患者慢性炎症反应的调节作用具有持续性,使患者的炎症反应在一段较长时间内得到有效抑制,从而减缓 COPD 的病情进展。

综上所述,补肺颗粒对 COPD 稳定期患者体内炎症反应具有一定的调节作用,且可能是发挥临床治疗效果的重要作用机制之一。

参 考 文 献

- [1] Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. (updated 2013) [OL]. http://www.goldcopd.org/uploads/users/files/GOLD_Report_2013_Feb20.pdf.
- [2] Buist AS, McBurnie MA, Vollmer WM, et al. International variation in the prevalence of COPD (the BOLD Study): a population-based prevalence

- study[J]. *Lancet*, 2007, 370(9589): 741-750.
- [3] Murray CJ, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study[J]. *Lancet*, 1997, 349(9064): 1498-1504.
 - [4] Moermans C, Heinen V, Nguyen M, et al. Local and systemic cellular inflammation and cytokine release in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Cytokine*, 2011, 56(2): 298-304.
 - [5] Keatings VM, Jatakanon A, Worsdell YM, et al. Effects of inhaled and oral glucocorticoids on inflammatory indices in asthma and COPD[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1997, 155(2): 542-548.
 - [6] Culpitt SV, Maziak W, Loukidis S, et al. Effect of high dose inhaled steroid on cells, cytokines, and proteases in induced sputum in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1999, 160(5 Pt 1): 1635-1639.
 - [7] Barnes PJ. Inhaled corticosteroids in COPD: a controversy[J]. *Respiration*, 2010, 80(2): 89-95.
 - [8] 孙增涛,刘恩顺,封继宏,等.补肺颗粒治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期临床疗效评价[J]. *新中医*, 2009, 41(3): 37-38.
 - [9] 孙增涛,付敏,李月川,等.补肺颗粒对慢性阻塞性肺疾病稳定期患者生活质量的影响[J]. *中医杂志*, 2012, 53(11): 930-932.
 - [10] 付敏,孙增涛,刘恩顺,等.补肺颗粒对稳定期 COPD 患者肺功能的影响[J]. *上海中医药杂志*, 2012, 46(1): 37-38.
 - [11] 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[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2007, 30(8): 7-16.
 - [12] 郑筱萸主编.中药新药临床研究指导原则(试行)[M].北京:中国医药科技出版社, 2002: 57-58.
 - [13] Barnes PJ, Celli BR. Systemic manifestations and comorbidities of COPD[J]. *Eur Respir J*, 2009, 33(5): 1165-1185.
 - [14] Mio T, Romberger DJ, Thompson AB, et al. Cigarette smoke induces interleukin-8 release from human bronchial epithelial cells[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1997, 155(5): 1770-1776.
 - [15] Sakao S, Tatsumi K, Lgari H, et al. Association of tumor necrosis factor alpha gene promoter polymorphism with the presence of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, 163(2): 420-422.
 - [16] Cromwell O, Hamid Q, Corrigan CJ, et al. Expression and generation of interleukin-8, IL-6 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor by bronchial epithelial cells and enhancement by IL-1 beta and tumor necrosis factor-alpha[J]. *Immunology*, 1992, 77(3): 330-337.
 - [17] von Asmuth EJ, Dentener MA, Ceska M, et al. IL-6, IL-8 and TNF production by cytokine and lipopolysaccharide-stimulated human renal cortical epithelial cells *in vitro* [J]. *Eur Cytokine Netw*, 1994, 5(3): 301-310.
 - [18] Standiford TJ, Kunkel SL, Phan SH, et al. Alveolar macrophage-derived cytokines induce monocyte chemoattractant protein-1 expression from human pulmonary type II like epithelial cells[J]. *J Biol Chem*, 1991, 266(15): 9912-9918.
 - [19] Takeyama K, Jung B, Shim JJ, et al. Activation of epidermal growth factor receptors is responsible for mucin synthesis induced by cigarette smoke[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2001, 280(1): L165-L172.
 - [20] Takabatake N, Nakamura H, Abe S, et al. The relationship between chronic hypoxemia and activation of the tumor necrosis factor-alpha system in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, 161(4 Pt 1): 1179-1184.
 - [21] Garrod R, Marshall J, Barley E, et al. The relationship between inflammatory markers and disability in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) [J]. *Prim Care Respir J*, 2007, 16(4): 236-240.
 - [22] Paone G, Conti V, Vestri A, et al. Analysis of sputum markers in the evaluation of lung inflammation and functional impairment in symptomatic smokers and COPD patients[J]. *Dis Markers*, 2011, 31(2): 91-100.
 - [23] 何智辉,陈平,陈燕,等.慢性阻塞性肺病患者痰和血中炎性细胞及炎症介质的变化[J]. *中国现代医学杂志*, 2006, 16(11): 1725-1728.
 - [24] Kenyon NJ, Ward RW, McGrew G, et al. TGF-beta₁ causes airway fibrosis and increased collagen I and III mRNA in mice[J]. *Thorax*, 2003, 58(9): 772-777.
 - [25] Takizawa H, Tanaka M, Takami K, et al. Increased expression of transforming growth factor-beta₁ in small airway epithelium from tobacco smokers and patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, 163(6): 1476-1483.
 - [26] Hersh CP, DeMeo DL, Silverman EK. National emphysema treatment trial state of the art: genetics of emphysema[J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2008, 5(4): 486-493.
 - [27] Ito M, Hanaoka M, Droma Y, et al. The association of transforming growth factor beta₁ gene polymorphisms with the emphysema phenotype of COPD in Japanese [J]. *Intern Med*, 2008, 47(15): 1387-1394.
 - [28] O'Donnell R, Breen D, Wilson S, et al. Inflammatory cells in the airways in COPD [J]. *Thorax*, 2006, 61(5): 448-454.

(收稿:2013-01-30 修回:2013-11-20)