

doi: 10.16252/j.cnki.issn1004-0501-2019.01.018

论著

慢性阻塞性肺疾病急性发作期患者血清 CG、NT-pro BNP、HIF-1 α 及 NLRP3 蛋白表达水平的意义

赵开顺¹, 楚亚萍², 余艳芳¹, 屠春林^{1 Δ}

(1. 上海健康医学院附属嘉定区中心医院呼吸内科, 上海 201800; 2. 潍坊医学院临床医学院, 山东 潍坊 261053)

【摘要】 目的 探讨慢性阻塞性肺疾病急性发作期(AECOPD)患者血清甘胆酸(CG)、N端B型脑钠肽(NT-pro BNP)、缺氧诱导因子1 α (HIF-1 α)及核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(NLRP3)蛋白表达特点及意义。方法 选取我院2016年1月~2018年4月收治的COPD患者128例,其中急性加重期68例,稳定期60例,选取同期在我院门诊体检的健康患者100例作为对照组,分析COPD患者血清CG、NT-pro BNP、HIF-1 α 及NLRP3蛋白表达水平的意义。结果 COPD组患者CG、NT-pro BNP、HIF-1 α 、NLRP3 mRNA表达水平高于对照组,且AECOPD组高于稳定期COPD组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。轻度组、中度组、重度组三组间CG、NT-pro BNP、HIF-1 α 、NLRP3 mRNA表达水平呈逐渐升高的趋势,差异有统计学意义($P < 0.05$)。生存组患者CG、NT-pro BNP、HIF-1 α 、NLRP3 mRNA表达水平低于死亡组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 AECOPD患者血清CG、NT-pro BNP、HIF-1 α 及NLRP3蛋白表达水平升高,相关表达水平与患者的病情程度和预后有一定的相关性。

【关键词】 慢性阻塞性肺疾病急性发作期;血清甘胆酸;N端B型脑钠肽;缺氧诱导因子1 α ;核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3

【中图分类号】R 33 R 54

【文献标志码】A

【文章编号】1004-0501(2019)01-0079-04

The Significance of Serum CG, NT-pro BNP, HIF-1 α and NLRP3 Protein Expression Levels in Patients with Acute Onset of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Zhao Kaishun¹, Chu Yaping², Yu Yanfang¹, et al. 1. Jiading Central Hospital, Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai 201800; 2. Wefang Medical University Clinical Medical College, Weifang, Shandong 261053, China

【Abstract】 Objective To investigate the expression characteristics and significance of serum glycolic acid (CG), n-terminal B-type brain natriuretic peptide (NT-pro BNP), hypoxic-inducing factor 1 α (HIF-1 α) and nucleotides combined with oligopoly domain-like receptor protein 3 (NLRP3) protein in patients with acute onset of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD). **Methods** 128 cases of COPD patients treated in our hospital from January 2016 to April 2018 were selected, including 68 cases in acute exacerbation and 60 cases in stable period. 100 cases of healthy patients with outpatient examination in our hospital in the same period were selected as control group, and the significance of the expression level of the serum CG, NT-pro BNP, HIF-1 α and NLRP3 protein in COPD patients was analyzed. **Results** The expression level of CG, NT-pro BNP, HIF-1 α and NLRP3 mRNA in COPD group was higher than that in control group, and the AECOPD group was higher than that in stable COPD group, statistically significant ($P < 0.05$). The expression levels of CG, NT-pro BNP, HIF-1 α and NLRP3 mRNA in mild group, moderate group and severe group were gradually increasing, statistically significant ($P < 0.05$). The expression level of CG, NT-pro BNP, HIF-1 α and NLRP3 mRNA in survival group was lower than that in death group, statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression level of serum CG, NT-pro BNP, HIF-1 α and NLRP3 protein increased in patients with AECOPD, and the correlation expression level was correlated with the patient's condition and prognosis.

【Key words】 AECOPD; serum CG; NT-pro BNP; HIF-1 α ; NLRP3 protein

* 上海市嘉定区医学重点专科建设项目(No.JDYXZDZK-4) Δ 通信作者

流行病学研究证实,慢性阻塞性肺疾病急性发作期(AECOPD)的发病率可达 274~933/1 万人左右^[1]。临床上 AECOPD 的发生,能够导致患者肺功能的恶化,增加不良心肺临床结局的发生风险^[2]。临床上对于 AECOPD 患者的病情评估具有重要的意义,其能够指导临床上 AECOPD 患者的治疗方案的制定和疗效的评估。血清学指标的检测,能够在 AECOPD 患者的病情评估的过程中发挥作用。甘胆酸(CG)是反应患者肝脏功能损伤的指标,在 AECOPD 患者中,由于肝脏血氧灌注能力的下降,可以导致肝脏上皮细胞的损伤,促进了 CG 的释放;N 端 B 型脑钠肽(NT-pro BNP)是心血管系统的分子标志物,在 AECOPD 患者中,由于继发性的心肌细胞的损伤或者心肌细胞的顺应性的下降,可以导致心房内壁细胞显著分泌 NT-pro BNP^[3];缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)的表达,能够通过诱导缺氧性的环境,进而促进肺泡上皮细胞的损伤,促进缺氧缺血性病理过程的进展^[4];核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(NLRP3)的表达,能够通过诱导 NLRP3 炎症性小体的形成,进而促进患者体内的脏器组织的损伤^[5]。为了揭示 CG、NT-pro BNP、HIF-1 α 及 NLRP3 的表达与 AECOPD 的病情关系,从而为临床上 AECOPD 患者的病情评估提供参考,本次研究选取我院收治的 COPD 患者 128 例,探讨 CG、NT-pro BNP、HIF-1 α 及 NLRP3 的表达特点及其与患者的病情或者临床预后的关系,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料:选取我院 2016 年 1 月至 2018 年 4 月收治的 COPD 患者 128 例,其中急性加重期 68 例,男 38 例,女 30 例;年龄 55~75 岁,平均(65.02 \pm 8.22)岁;其中轻度 20 例,中度 24 例,重度 24 例。稳定期 60 例,男 37 例,女 23 例;年龄 54~75 岁,平均(64.85 \pm 8.12)岁。选取同期在我院门诊体检的健康患者 100 例作为对照组,男 65 例,女 46 例;年龄 54~75 岁,平均(65.21 \pm 8.21)岁。纳入标准:①符合中华医学会呼吸病学分

会制定的 COPD 诊断标准;②近期末使用过免疫抑制剂;③4 周内无胸腹手术史者。排除标准:①并支气管哮喘、肺纤维化、肺结核等肺部疾病;②合并严重心、肝、肾功能不全者;③合并其他部位细菌感染者;④合并血液系统、内分泌系统疾病;⑤恶性肿瘤、精神疾病者。各组 COPD 患者一般资料比较,具有均衡性($P > 0.05$)。

1.2 检测方法:采集入院后静脉血,1000r/min 离心 5min,离心半径 10cm,离心后收集上清液,采用免疫发光法检测 NT-pro BNP、HIF-1 α 水平,加入检测试剂,检测仪器为美国 Bio-Bad 全自动酶标仪,配套试剂盒购自罗氏检测公司;收集上清液后加入采用全自动生化法检测 CG 值,加入 CG 检测试剂盒,配套试剂盒购自南京碧云天生物检测公司,微型离心机 HITETIC 购自上海精密仪器有限公司。采集患者的清晨 08:00 空腹血 5mL,加入 0.2 mL 的氯仿,2 $^{\circ}$ C-8 $^{\circ}$ C 冰冻离心机中离心(12000g/min,15 min),反复一次洗涤 RNA,弃上清,在管底部可见一乳白色小沉淀物,加入 1mL 75% 乙醇,0.1% DEPC 水溶解。加入 GAPDH 上下游引物、0.1% DEPC 使其终浓度均为 20pmol/ μ L,制备反应体系,RT-PCR 扩增的条件与参数:48 $^{\circ}$ C 45 min,94 $^{\circ}$ C 2 min;94 $^{\circ}$ C 30s,58 $^{\circ}$ C 60s,68 $^{\circ}$ C 2 min 共 40 个循环;循环完毕后 68 $^{\circ}$ C 延伸 7 min。

1.3 统计学方法:采用 SPSS19.0 对数据进行处理,计量指标采用($\bar{x} \pm s$) 进行描述,组间两两比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用重复方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者 CG、NT-pro BNP、HIF-1 α 、NLRP3 mRNA 水平比较: COPD 组患者 CG、NT-pro BNP、HIF-1 α 、NLRP3 mRNA 表达水平高于对照组,且 AECOPD 组高于稳定期 COPD 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1

表 1 两组患者 CG、NT-pro BNP、HIF-1 α 、NLRP3 mRNA 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CG(mg/L)	NT-pro BNP(pg/mL)	HIF-1 α (ng/mL)	NLRP3 mRNA
对照组	100	2.15 \pm 0.59	126.33 \pm 21.42	0.16 \pm 0.04	1.02 \pm 0.10
稳定期 COPD 组	60	4.95 \pm 0.88	178.23 \pm 61.22	0.89 \pm 0.11	5.11 \pm 1.82
AECOPD 组	68	11.86 \pm 1.10	688.33 \pm 75.89	1.38 \pm 0.19	7.33 \pm 1.97

2.2 不同严重程度 AECOPD 组患者 CG、NT-pro BNP、HIF-1 α 、NLRP3 mRNA 水平比较: 不同严重程度 AECOPD 组患者 CG、NT-pro BNP、HIF-1 α 、NLRP3 mRNA

表达水平比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。轻度组、中度组、重度组三组间呈逐渐升高的趋势($P < 0.05$)。见表 2

表 2 不同严重程度 AECOPD 组患者 CG、NT-pro BNP、HIF-1 α 、NLRP3 mRNA 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CG(mg/L)	NT-pro BNP(pg/mL)	HIF-1 α (ng/mL)	NLRP3 mRNA
轻度组	20	8.12 \pm 0.81	382.33 \pm 61.02	0.16 \pm 0.10	6.85 \pm 1.28
中度组	24	11.26 \pm 1.08	641.33 \pm 72.02	1.40 \pm 0.12	7.22 \pm 1.83
重度组	24	18.69 \pm 1.18	862.33 \pm 75.89	1.67 \pm 0.20	9.10 \pm 1.92

2.3 不同结局 AECOPD 组患者 CG、NT-pro BNP、HIF-1 α 、NLRP3 mRNA 水平比较: 生存组患者 CG、

NT-pro BNP、HIF-1 α 、NLRP3 mRNA 表达水平低于死亡组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 不同结局 AECOPD 组患者 CG、NT-pro BNP、HIF-1 α 、NLRP3 mRNA 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CG(mg/L)	NT-pro BNP(pg/mL)	HIF-1 α (ng/mL)	NLRP3 mRNA
生存组	62	11.30 \pm 1.38	642.25 \pm 70.11	1.34 \pm 0.18	7.30 \pm 1.80
死亡组	6	19.01 \pm 1.91	886.59 \pm 76.85	1.78 \pm 0.22	9.51 \pm 2.02

3 讨论

自身氧化应激性损害、慢性支气管炎或者肺气肿, 均能够促进 AECOPD 的发生, 特别是在长期吸烟的慢性支气管炎患者中, AECOPD 的发生率可进一步的上升^[6]。AECOPD 的发生, 不仅能够导致患者肺功能的障碍, 同时还能够增加肺动脉高压、肺心病或者心力衰竭的发生风险, 导致患者致残率和病死率的提高^[7,8]。现阶段临床上缺乏对于 AECOPD 患者的病情评估手段, 虽然肺功能指标能够评估患者的肺通气或者肺换气过程, 但一项囊括了 109 例样本量的 AECOPD 患者的病情分析研究可见, 通过肺功能预测 AECOPD 患者临床转归的灵敏度不足 45%, 其诊断患者临床预后的一致性率不足 50%^[9]。而本次研究对于 AECOPD 患者体内的血清学蛋白的研究, 不仅能够深入揭示 AECOPD 的发病机制, 同时还能够为临床上 AECOPD 患者的病情评估提供依据。

血清中 CG 是评估肝脏上皮细胞损伤的指标, 在 AECOPD 患者中, 由于肺通气的障碍, 肝脏门静脉的血氧灌注水平明显的下降。鉴于肝脏的特殊的结构和功能特征, 其更容易受到缺氧缺血的影响而发生损伤, 损伤的肝脏上皮细胞可以显著促进 CG 的释放; NT-pro BNP 是心房细胞分泌的糖蛋白, 在 AECOPD 患者中, 由于呼吸道平滑肌的痉挛、肺动脉高压的形成, 可以导致心房细胞的顺应性明显的下降, 心房细胞在机械性刺激下分泌的 NT-pro BNP 明显的上升^[10]; HIF-1 α 是

缺氧缺血性相关指标, 其能够诱导患者体内的缺氧微环境的形成, 增加肺泡上皮细胞或者平滑肌细胞的损伤和痉挛, 加剧了肺通气和肺功能功能障碍^[11]; NLRP3 是炎症性相关因子, 其能够诱导 NLRP3 炎症小体和凋亡小体的形成, 进而导致多器官脏器组织的炎症性损伤。

本次研究发现, 在 COPD 患者特别是 AECOPD 患者中, CG、NT-pro BNP、HIF-1 α 、NLRP3 mRNA 的表达明显的上升, 高于正常对照人群, 差异较为明显, 提示了 CG、NT-pro BNP、HIF-1 α 、NLRP3 mRNA 的高表达均能够促进患者病情的进展。通过汇集不同的相关文献, 笔者认为这主要与相关指标的下列几个方面的作用有关^[10,12-13]: ① AECOPD 患者的肝脏血氧灌注水平的下降, 能够导致肝脏上皮细胞膜完整性的破坏, 促进了 CG 的上升, 而 NT-pro BNP 的上升则主要由于心房细胞的机械性刺激诱导的过度分泌有关; ② HIF-1 α 的上升能够导致氧化应激性损伤, 促进了缺氧条件下的线粒体功能障碍, 导致 AECOPD 患者的多器官功能障碍的发生; ③ NLRP3 mRNA 的上升, 能够促进炎症性小体的激活程度, 促进炎症性因子和炎症细胞对于组织器官的损伤。马乐等^[14]研究者也认为, 在 COPD 患者中, NT-pro BNP 的表达浓度可平均上升 30% 以上, 特别是在合并有明显的多器官功能障碍的患者中, NT-pro BNP 的表达浓度上升更为明显。在不同的病情患者中, 可以发现重度组患者体内的 CG、NT-pro BNP、HIF-1 α 、NLRP3 mRNA 的上升较为明显, 提示了

相关指标与 AECOPD 患者的病情严重程度密切相关,这主要由于相关指标的改变,能够通过影响到缺氧缺血性损伤、加剧瀑布式炎症反应程度,进而促进 AECOPD 患者的病情进展。但部分研究者认为 NT-pro BNP 的表达与 AECOPD 患者的病情并无明显的线性关系^[15],存在相关临床结论的差别,考虑可能与 NT-pro BNP 检测灵敏度或者检测时机的差别有关。在生存组患者中,CG、NT-pro BNP、HIF-1 α 、NLRP3 mRNA 的表达明显下降,提示相关指标与 AECOPD 患者的临床预后密切相关,临床上可以通过检测血清中相关指标,进而评估 AECOPD 患者的临床结局。

本次研究的创新性在于探讨 CG、NT-pro BNP、HIF-1 α 、NLRP3 mRNA 的表达与 AECOPD 患者的临床预后的关系。综上所述,在 AECOPD 患者中,CG、NT-pro BNP、HIF-1 α 、NLRP3 mRNA 的表达浓度明显上升,同时相关指标的表达与 AECOPD 患者的病情或者临床预后密切相关。

参考文献:

[1] Liu S, Zhou Y, Liu S *et al.* Clinical impact of the lower limit of normal of FEV1 /FVC on detecting chronic obstructive pulmonary disease: A follow-up study based on cross-sectional data [J]. *Respiratory Medicine* 2018, 139(6) : 27-33.

[2] Sun Z, Li F, Zhou X *et al.* Stem cell therapies for chronic obstructive pulmonary disease: current status of pre-clinical studies and clinical trials [J]. *Journal of Thoracic Disease* 2018, 10(2) : 1084-1098.

[3] 董晓辉, 何海云. B 型脑钠肽对慢性阻塞性肺病急性加重伴 II 型呼吸衰竭患者机械通气的影响 [J]. *中国现代医生*, 2016, 54(30) : 33-35.

[4] 赵乌云, 施金云. 慢性阻塞性肺疾病急性发作期患者治疗前后血清缺氧诱导因子 1 α 及甘胆酸的检测分析 [J]. *中国医学装备*, 2018, 15(1) : 85-87.

[5] 何子凡, 高岩, 王晓玲, 等. NLRP3 炎性小体在慢性阻塞性肺疾病患者机体炎症反应中作用的研究 [J]. *中国呼吸与危重监护杂志*,

2018, 17(2) : 119-123.

[6] Quint J K, Moore E, Lewis A *et al.* Recruitment of patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) from the Clinical Practice Research Datalink (CPRD) for research [J]. *npj Primary Care Respiratory Medicine* 2018, 28(1) : 56-57.

[7] Wu Y, Xu B, He X *et al.* Correlation between autophagy levels in peripheral blood mononuclear cells and clinical parameters in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Molecular Medicine Reports* 2018, 28(6) : 90-93.

[8] Seyedi Chegeni P, Gholami M, Azargoon A *et al.* The effect of progressive muscle relaxation on the management of fatigue and quality of sleep in patients with chronic obstructive pulmonary disease: A randomized controlled clinical trial [J]. *Complementary Therapies in Clinical Practice* 2018, 31(5) : 64-70.

[9] 潘丽娟, 毛毅敏, 孙瑜霞, 等. 慢性阻塞性肺病患者肺部感染程度与肺功能的相关性分析 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2017, 27(14) : 3161-3164.

[10] 郑国峰, 张军. 氨基末端脑钠肽前体和 D-二聚体在慢性阻塞性肺疾病患者中检测的临床意义 [J]. *中国医师进修杂志*, 2015, 38(4) : 273-275.

[11] 李芳, 关文霞, 任飞, 等. Sirt-1 和 Hif-1 α 在慢性阻塞性肺病患者外周血单个核细胞中的表达及其意义 [J]. *吉林大学学报(医学版)* 2015, 41(2) : 356-361.

[12] 毛琴, 屈晓雯, 方芳, 等. 慢性阻塞性肺疾病并肺动脉高压与氨基末端脑钠肽前体的关系及疗效观察 [J]. *中国医药科学*, 2016, 6(17) : 20-22.

[13] 闫莹, 何凌, 鲁玉婷, 等. HIF-1 α 基因多态性与 COPD 相关肺动脉高压易感性的关系 [J]. *宁夏医科大学学报*, 2016, 38(06) : 634-639.

[14] 马乐, 孙凤. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期检测其血浆脑钠肽水平的临床意义 [J]. *中国实用医药*, 2015, 10(5) : 45-46.

[15] 王丹萍, 曹奇峰, 瞿美君, 等. 缺血修饰白蛋白和 N 末端 B 型脑钠肽前体对慢性阻塞性肺疾病合并肺源性心脏病患者的诊断及预后判断意义 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2017, 27(8) : 1125-1127.

(收稿日期: 2018-06-09)