

• 论著 •

胞质型磷脂酶 A₂α 与慢性阻塞性肺疾病的关系

雒云祥¹, 吴瑞萍¹, 程红颖², 张睿华¹, 刘凤娟¹,
路小燕¹, 孙莉姬¹, 闫晓林¹, 汲海燕¹, 宋英¹

(1. 天津中医药大学附属武清中医院重症医学科, 天津 301700; 2. 天津市武清区人民医院, 天津 301700)

【摘要】目的 探讨慢性阻塞性肺疾病(COPD)患者体内胞质型磷脂酶 A₂α(cPLA₂α)和一氧化氮(NO)的变化及意义。**方法** 选取天津中医药大学附属武清中医院重症医学科收治的 COPD 患者 100 例,按照 COPD 严重程度分级标准分为轻度组 25 例,中度组 25 例,重度组 26 例,极重度组 24 例,以同期 90 例肺功能正常的健康体检者为健康对照组。用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测受试者 cPLA₂α 水平;用酶法检测各组受试者血尿酸(UA)、总胆固醇(TC)及三酰甘油(TG)水平;用硝酸还原酶法测定血清 NO 代谢产物硝酸盐和亚硝酸盐(NO_x)。**结果** 与健康对照组比较,不同严重程度 COPD 各组血清 cPLA₂α 和血 UA 水平均显著升高;随着 COPD 分级严重程度加重, COPD 轻、中、重、极重度组患者 cPLA₂α、UA 水平逐渐升高、NO_x 水平逐渐下降[cPLA₂α (ng/L): 125.60±8.17、155.20±6.42、190.20±9.32、255.80±11.28 比 88.50±7.99, UA (μmol/L): 381.23±32.22、434.95±87.71、464.81±52.65、487.45±82.61 比 241.95±52.33, NO_x (μmol/L): 59.90±17.52、45.60±6.17、38.20±4.08、25.70±3.04 比 74.90±18.31, 均 $P<0.05$]。不同严重程度 COPD 各组间血 cPLA₂α 和血清 NO_x 水平差异均有统计学意义($P<0.05$)。各组 TC、TG 水平比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。cPLA₂α 和 NO_x 水平呈显著负相关($r_s=-0.798$, $P=0.013$)。**结论** 联合检测血中 cPLA₂α 和 NO_x 可诊断 COPD 严重程度, cPLA₂α 可以作为 COPD 分级的新靶标。

【关键词】 胞质型磷脂酶 A₂α; 一氧化氮; 肺疾病, 慢性, 阻塞性

Research on relationship between cytosol phospholipase A₂α and chronic obstructive pulmonary disease
Luo Yunxiang*, Wu Ruiping, Cheng Hongying, Zhang Ruihua, Liu Fengjuan, Lu Xiaoyan, Sun Liji, Yan Xiaolin, Ji Haiyan, Song Ying *Department of Critical Care Medicine, Affiliated Wuqing Traditional Chinese Medicine (TCM) Hospital of Tianjin University of TCM, Tianjin 301700, China
Corresponding author: Luo Yunxiang, Email: 1837882053@qq.com

【Abstract】Objective To approach the changes of cytosol phospholipase A₂α(cPLA₂α) and nitric oxide(NO) in patients with chronic obstructive pulmonary disease(COPD) and its significance. **Methods** One hundred patients with COPD admitted into Department of Critical Care Medicine of Affiliated Wuqing Traditional Chinese Medicine(TCM) Hospital of Tianjin University of TCM were enrolled, and according to the COPD severity grading standards, they were divided into mild group(25 cases), moderate group(25 cases), severe group(26 cases) and extremely severe group(24 cases); simultaneously, 90 cases with normal pulmonary function who had taken health examination were chosen and assigned to the healthy control group. The cPLA₂α level was detected by enzyme linked immunosorbent assay(ELISA), the level of uric acid(UA), total cholesterol(TC), triacylglycerol(TG) were detected by enzymatic method, and serum NO metabolites(NO_x) level was detected by nitrate reductase method. **Results** Compared with the healthy control group, the serum levels of cPLA₂α and UA in patients with different severity of COPD were significantly increased; along with the increase of patient's COPD grade of severity, the cPLA₂α, UA levels were gradually increased, while NO_x level was gradually decreased in mild, moderate, severe, extremely severe groups [cPLA₂α (ng/L): 125.60±8.17, 155.20±6.42, 190.20±9.32, 255.80±11.28 vs. 88.50±7.99; UA (μmol/L): 381.23±32.22, 434.95±87.71, 464.81±52.65, 487.45±82.61 vs. 241.95±52.33; NO_x (μmol/L): 59.90±17.52, 45.60±6.17, 38.20±4.08, 25.70±3.04 vs. 74.90±18.31, all $P<0.05$]. The differences in blood cPLA₂α and serum NO_x level among groups with different severity of COPD were of statistical significance($P<0.05$). The levels of TC, TG among these different severity groups had no statistical significance(all $P>0.05$). The cPLA₂α and NO_x levels presented significant negative correlation($r_s=-0.798$, $P=0.013$). **Conclusion** The combined examination of blood cPLA₂α and serum NO_x levels can evaluate the severity degree of COPD patients, and cPLA₂α can be used as a new target index for COPD grading.

【Key words】 Cytosol phospholipase A₂α; Nitric oxide; Chronic obstructive pulmonary disease

慢性阻塞性肺疾病(COPD)以气道、肺实质和肺血管的慢性病变为特征,表现为肺的不同部位有

肺泡巨噬细胞、T淋巴细胞、中性粒细胞增加,激活的炎性细胞可释放多种介质,从而破坏肺的结构和促进多种炎性细胞的反应,使得抗菌药物的临床使用变得困难,故该病是严重危及人类身体健康的疾病之一^[1]。近年来 COPD 的治疗以抗氧化为主,已

使 COPD 的发病率明显下降。氧化损伤的发病机制是机体产生大量自由基,一氧化氮(NO)是身体中重要的氧化剂,它与氧离子反应形成过氧化物亚硝酸盐,当 NO 被氧化成为二氧化氮时,进一步使自由基产生增多^[2],形成过氧化反应,影响机体各种代谢的进行,这种过氧化反应损伤在肺脏疾病中最常见,尤其在 COPD 患者比较明显^[3]。目前有关抗氧化机制的研究已成为各国学者关注的焦点,因此探讨 NO 导致 COPD 的发病机制具有重大意义。

胞质型磷脂酶 A₂α (cPLA₂α) 作为重要的胞质型磷脂酶 A₂ 家族成员之一,与炎症及自身免疫性疾病关系密切。前列腺素 E₂ (PGE₂) 作为 cPLA₂α 激活炎性细胞的重要介质,有抗炎和细胞保护作用。既往研究证实,阻断或减少 Toll 样受体 4 (TLR4) 信号通路中的某些信号分子,是抑制过度炎症反应的有效方法,并且发现 PGE₂ 有同样通路^[4]。可见, COPD 与 cPLA₂α 以 PGE₂ 为媒介可能存在一定的关系。本研究旨在阐明 cPLA₂α 与 NO 在 COPD 发病中的作用,为预防和治疗 COPD 寻求新的靶标。

1 资料和方法

1.1 研究对象纳入和排除标准:选择 2011 年 3 月至 2013 年 3 月本院门诊和住院的 COPD 患者,诊断符合 2007 年中华医学会制定的 COPD 诊治规范的标准^[5]。排除合并肿瘤、结核病活动期、甲状腺功能亢进、糖尿病和肝、肾功能衰竭等疾病,以及并发水肿的 COPD 患者^[6]。

1.2 疾病分级:根据 COPD 病情严重程度分级标准分为 4 级 ① 轻度:1 秒用力呼气容积/用力肺活量 (FEV₁/FVC) < 0.70, FEV₁ ≥ 80% 预计值,有或无慢性咳嗽、咳痰症状;② 中度:FEV₁/FVC < 0.70, 50% ≤ FEV₁ < 80% 预计值,有或无慢性咳嗽、咳痰症状;③ 重度:FEV₁/FVC < 0.70, 30% ≤ FEV₁ < 50% 预计值,有或无慢性咳嗽、咳痰症状;④ 极重度:FEV₁/FVC < 0.70, FEV₁ < 30% 预计值,或 FEV₁ < 50% 预计值并伴有呼吸衰竭(呼衰)。

1.3 一般资料 (表 1):共 100 例 COPD 患者纳入本研究,其中男性 53 例,女性 47 例;年龄 55 ~ 88 岁,平均 (71.2 ± 8.5) 岁;将患者按 COPD 严重程度分级标准分为 COPD 轻、中、重、极重度组。选择同期经肺功能检测证实肺功能正常的 90 例健康体检者作为健康对照组。COPD 各分级组及健康对照组性别、年龄差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$),有可比性。

本研究符合医学伦理学标准,并经医院伦理委员会批准,取得患者或家属知情同意。

表 1 各组受试者基线资料比较

组别	例数 (例)	性别 (例)		年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)
		男性	女性	
健康对照组	90	47	43	71.8 ± 8.8
COPD 轻度组	25	13	12	70.1 ± 8.2
COPD 中度组	25	13	12	74.1 ± 6.2
COPD 重度组	26	14	12	68.7 ± 5.3
COPD 极重度组	24	12	12	78.1 ± 8.9

1.4 检测指标及方法:抽取所有受试者空腹外周静脉血 5 mL,测定下列指标。

1.4.1 cPLA₂α 含量测定:用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测所有受试者血清 cPLA₂α 含量,试剂盒由美国 Cayman 公司提供,操作按试剂盒说明书步骤进行。

1.4.2 NO_x 水平测定:取 3 mL 静脉血,离心分离血清, -20 °C 储存,用硝酸还原酶法测定血清 NO_x (硝酸盐和亚硝酸盐) 来反映基础的內皮 NO 释放水平。

1.4.3 血尿酸 (UA)、总胆固醇 (TC) 和三酰甘油 (TG) 水平测定:取 2 mL 静脉血,离心分离血清,采用酶法用全自动生化分析仪检测血 UA、TC 和 TG 水平。

1.5 统计学处理:使用 SPSS 13.0 统计软件处理数据,计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多个样本均数比较用方差分析,两两比较用 LSD- t 检验,相关性用 Spearman 等级相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组受试者 cPLA₂α、NO_x、UA、TC 及 TG 比较 (表 2):与健康对照组比较, COPD 组 cPLA₂α、UA 水平明显升高, NO_x 水平明显降低 (均 $P < 0.05$)。随着 COPD 病情加重,各 COPD 组 UA 和 cPLA₂α 水平逐渐升高, NO_x 水平逐渐降低,各 COPD 组间比较差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。各组间 TC 和 TG 比较差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。

2.2 COPD 各组患者 cPLA₂α 水平和 NO_x 水平的相关性分析: COPD 各组 cPLA₂α 异常患者的 NO_x 水平为 (40.2 ± 8.4) μmol/L,明显低于 cPLA₂α 正常患者的 NO_x 水平 (62.1 ± 12.5) μmol/L,差异有统计学意义 ($t = 9.665$, $P < 0.01$);且血 cPLA₂α 和 NO_x 呈显著负相关 ($r_s = -0.798$, $P = 0.013$)。

3 讨论

COPD 是一种可以预防和治疗的疾病,以不完全的气流受限为特征,病变呈持续发展态势^[7];临床诊断主要依靠肺功能实验,生物学标志物与 COPD

表 2 各组受试者 cPLA₂α、NO_x、UA、TC 及 TG 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数 (例)	cPLA ₂ α (ng/L)	NO _x (μmol/L)	UA (μmol/L)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)
健康对照组	90	88.50 ± 7.99	74.90 ± 18.31	241.95 ± 52.33	4.00 ± 0.52	0.81 ± 0.35
COPD 轻度组	25	125.60 ± 8.17 ^a	59.90 ± 17.52 ^a	381.23 ± 32.22 ^a	4.19 ± 1.22	1.02 ± 0.55
COPD 中度组	25	155.20 ± 6.42 ^{ab}	45.60 ± 6.17 ^{ab}	434.95 ± 87.71 ^{ab}	4.20 ± 0.66	1.09 ± 0.09
COPD 重度组	26	190.20 ± 9.32 ^{abc}	38.20 ± 4.08 ^{abc}	464.81 ± 52.65 ^{abc}	4.14 ± 0.66	1.19 ± 0.05
COPD 极重度组	24	255.80 ± 11.28 ^{abcd}	25.70 ± 3.04 ^{abcd}	487.45 ± 82.61 ^{abcd}	4.30 ± 0.66	1.08 ± 0.06

注:与健康对照组比较,^a $P < 0.05$;与 COPD 轻度组比较,^b $P < 0.05$;与 COPD 中度组比较,^c $P < 0.05$;与 COPD 重度组比较,^d $P < 0.05$

的严重程度分级有一定联系,但依靠其作为确定 COPD 的病变程度还有一定局限性^[6]。COPD 的病理表现复杂多样,由于患者个体差异大,疾病严重程度、进展速度和临床症状也存在很大差异,仅使用一种检测指标很难预测患者的临床预后。COPD 主要是累及肺脏,同时会引起全身不良反应,虽致病机制尚未明确,但氧化损伤却是学术界普遍认同的假说之一。肺部受到氧化损伤后其黏膜功能减弱,通过通透性强的内皮,减弱中性粒细胞的变形能力^[8]。NO 为强氧化剂,能迅速与氧反应形成过氧化物亚硝酸盐,NO 水平已成为肺部损伤的敏感指标之一,其水平与肺功能呈负相关^[9]。

有研究发现,COPD 严重程度越大,cPLA₂α 含量越高,患者 UA 排泄减少,使血中的 UA 含量增高^[10]。UA 是体内重要的内生性水溶性抗氧化剂之一,NO 可通过抑制黄嘌呤氧化酶(XO)活性而抑制 UA 水平。cPLA₂α 是一种促进脂质介质产生的关键酶,当细胞受刺激时,它会首先水解磷脂,释放花生四烯酸,继而产生前列腺素(PGs)、白细胞三烯(LTs)。cPLA₂α 在体内表达的升高可促进肺内表面活性剂的水解。从而发生慢性阻塞性肺炎、甚至急性呼吸窘迫综合征(ARDS)^[11]。cPLA₂α 在氧自由基产生过程中发挥重要的作用。最新研究发现,活化的 cPLA₂α 可以增加溶血磷脂的生成,提高环氧合酶-2(COX-2)和脂氧合酶(LOX)活性,并大量产生廿碳烷酸类,同时促使炎症细胞因子、氧自由基及其他生物活性物质的释放,表现出不同的临床特征^[12]。从理论上讲,对炎性病变的治疗对策中,抑制 cPLA₂α 活性会是一项很有前途的方法。故检测 cPLA₂α 和 NO_x 水平对于研究 COPD 的发病机制及尽早诊断 COPD 的严重程度具有重要意义,且为进一步阐明 COPD 发病的抗氧化学说提供了

佐证。另外,随着 COPD 严重程度的加重,患者血 cPLA₂α 水平逐渐升高,而 NO_x 水平明显下降的现象足以证明这两个指标可作为鉴别 COPD 严重度新的生物学靶分子,值得临床医生及实验室检测人员高度关注。

参考文献

- [1] Gorska K, Krenke R, Domagala-Kulawik J, et al. Comparison of cellular and biochemical markers of airway inflammation in patients with mild-to-moderate asthma and chronic obstructive pulmonary disease: an induced sputum and bronchoalveolar lavage fluid study [J]. J Physiol Pharmacol, 2008, 59 Suppl 6: 271-283.
- [2] 阿不都苏甫尔·米吉提,海热萨·阿布力米提,田刚. 尿酸和一氧化氮联合检测在慢性阻塞性肺疾病中的意义[J]. 现代检验医学杂志, 2012, 27 (3): 106-108.
- [3] Nishio K, Suzuki K, Ito Y, et al. Possible interactions of the endothelial constitutive nitric oxide synthase genotype with alcohol drinking and walking time for high serum uric acid levels among Japanese [J]. Metabolism, 2005, 54 (10): 1302-1308.
- [4] 黄萍,刘芬,曾振国,等. 微小 RNA-146a 调控肺泡巨噬细胞中白细胞介素-1 受体相关激酶 1 和肿瘤坏死因子受体相关因子 6 的表达[J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26 (5): 300-303.
- [5] 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]. 中华内科杂志, 2007, 46 (3): 254-261.
- [6] 蒋萍. COPD 急性期患者血清尿酸水平的相关性研究[J]. 临床肺科杂志, 2008, 13 (12): 1565-1567.
- [7] 周明华. 慢性阻塞性肺疾病治疗进展[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2010, 17 (2): 124-125.
- [8] 井军虎,李立宇. 氧化损伤在慢性阻塞性肺疾病中的作用机制研究进展[J]. 实用心脑血管病杂志, 2010, 18 (12): 1912-1914.
- [9] 李瑞. 哮喘患者呼出气一氧化氮(FeNO)与气流阻塞的相关性研究[D]. 广州:南方医科大学, 2012.
- [10] Niedowicz DM, Daleke DL. The role of oxidative stress in diabetic complications [J]. Cell Biochem Biophys, 2005, 43 (2): 289-330.
- [11] Caiazza F, Harvey BJ, Thomas W. Cytosolic phospholipase A₂ activation correlates with HER2 overexpression and mediates estrogen-dependent breast cancer cell growth [J]. Mol Endocrinol, 2010, 24 (5): 953-968.
- [12] 田刚. cPLA₂α 在乳腺癌细胞运动侵袭中作用的研究[D]. 天津:天津医科大学, 2011.

(收稿日期: 2014-10-16)

(本文编辑:李银平)