

# 支气管哮喘急性发作时血清 1-磷酸鞘氨醇水平及其临床意义

赵蕴伟 徐意芹 王春玲 李爽 马雪梅 李树民

154002 黑龙江佳木斯, 佳木斯大学附属第一医院呼吸内科

通讯作者: 赵蕴伟, Email: 1178785934@qq.com

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2017.02.018

**【摘要】** 目的 观察成人支气管哮喘(简称哮喘)急性发作时血清 1-磷酸鞘氨醇(S1P)水平变化,探讨其在哮喘发病中的临床意义。方法 选择 2015 年 11 月至 2016 年 7 月佳木斯大学附属第一医院呼吸内科门诊及住院患者 45 例为哮喘组,以同期本院健康体检者 25 例为健康对照组。采用酶联免疫吸附试验检测受试者血清 S1P 水平,比较其肺功能指标 1 秒用力呼气容积(FEV1)占预计值的百分比(FEV1%)、FEV1/用力肺活量(FVC)比值的差异,采用 Pearson 法分析 FEV1%、FEV1/FVC 与 S1P 水平的相关性。结果 哮喘组血清 S1P 水平明显高于健康对照组( $\mu\text{mol/L}$ :  $1.90 \pm 0.32$  比  $0.89 \pm 0.17$ ,  $P < 0.01$ ), FEV1%、FEV1/FVC 水平明显低于健康对照组[FEV1%: ( $68.26 \pm 22.83$ )% 比 ( $97.46 \pm 10.44$ )%, FEV1/FVC:  $0.69 \pm 0.13$  比  $0.82 \pm 0.05$ , 均  $P < 0.01$ ]。哮喘组患者 FEV1%、FEV1/FVC 与血清 S1P 水平呈负相关( $r$  值分别为  $-0.801$  和  $-0.648$ , 均  $P < 0.01$ )。健康对照组患者 FEV1%、FEV1/FVC 与血清 S1P 水平均无相关性( $r$  值分别为  $-0.048$  和  $0.183$ , 均  $P > 0.05$ )。结论 哮喘患者血清 S1P 明显升高,其作为一种重要的炎性介质在哮喘发病中可能发挥了重要作用。

**【关键词】** 哮喘; 1-磷酸鞘氨醇; 肺功能

**基金项目:** 黑龙江省医药卫生研课题(2016-299); 佳木斯大学研究生科技创新项目(YM2016-015)

**Clinical significance of serum sphingosine-1-phosphate level in patients with acute attack of bronchial asthma** Zhao Yunwei, Xu Yiqin, Wang Chunling, Li Shuang, Ma Xuemei, Li Shumin

Department of Respiratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Jiamusi University, Jiamusi, 154002, Heilongjiang, China

Corresponding author: Zhao Yunwei, Email: 1178785934@qq.com

**【Abstract】 Objective** To observe the changes of serum sphingosine-1-phosphate (S1P) level in acute attack of adult bronchial asthma (simplified as asthma) and explore its clinical significance in the pathogenesis of the disease. **Methods** Forty-five patients of outpatient and hospitalized admitted to the Department of Respiratory Medicine in First Affiliated Hospital of Jiamusi University from November 2015 to July 2016 were arranged to an asthma group; in the same period, 25 healthy peoples in our hospital having passed physical examination were chosen and assigned in a healthy control group. Serum S1P levels were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the subjects, the differences of pulmonary function indexes, the percentage of 1 second forced expiratory volume (FEV1) in predicted FEV1 value, FEV1/forced vital capacity (FVC) ratio were compared between the two groups, and the correlations between FEV1%, FEV1/FVC and S1P level were analyzed by Pearson analysis. **Results** The level of S1P in serum of asthma group was significantly higher than that of the healthy control group ( $\mu\text{mol/L}$ :  $1.90 \pm 0.32$  vs.  $0.89 \pm 0.17$ ,  $P < 0.01$ ), the levels of FEV1%, FEV1/FVC were significantly lower in the asthma group than those in healthy control group [FEV1%: ( $68.26 \pm 22.83$ )% vs. ( $97.46 \pm 10.44$ )%, FEV1/FVC:  $0.69 \pm 0.13$  vs.  $0.82 \pm 0.05$ , both  $P < 0.01$ ]. In the asthma group, the levels of FEV1%, FEV1/FVC were negatively correlated to the serum S1P level ( $r = -0.801$  and  $-0.648$ , both  $P < 0.01$ ). While the levels of FEV1%, FEV1/FVC were not correlated to the serum S1P level in the healthy control group ( $r = -0.048$  and  $0.183$ ,  $P > 0.05$ ). **Conclusion** The serum S1P is increased significantly in patients with asthma, and it being an important inflammatory mediator may play a crucial role in the pathogenesis of asthma.

**【Key words】** Asthma; Sphingosine-1-phosphate; Pulmonary function

支气管哮喘(简称哮喘)是由肥大细胞、嗜酸粒细胞、气道上皮细胞、平滑肌细胞等炎性细胞和气道固有细胞共同参与的气道慢性炎症性疾病,气道高反应性、气道炎症和气道重塑是支气管哮喘的病理学特征,也是呼吸道慢性炎症的特点,其发病机制不明,也无特异性的治疗方法<sup>[1-3]</sup>。目前认为肥大细胞的活化脱颗粒、平滑肌收缩及气道重塑为哮喘的重要发病机制<sup>[4]</sup>。研究表明,1-磷酸鞘氨醇

(S1P)/鞘氨醇激酶信号通路在哮喘发病中起重要作用<sup>[5]</sup>。哮喘患者致敏可发现其支气管肺泡灌洗液(BALF)中 S1P 水平显著升高,而发作缓解后 S1P 又降至正常水平<sup>[6]</sup>。本研究采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测哮喘患者和健康成人血清 S1P 水平,探讨 S1P 在哮喘发作中的临床意义。

## 1 资料及方法

**1.1 研究对象的选择:** 收集 2015 年 11 月至 2016

年 7 月在佳木斯大学附属第一医院呼吸内科门诊及住院患者 45 例为哮喘组,以同期本院健康体检者 25 例为健康对照组。

**1.1.1 诊断标准:** 所有病例诊断符合中华医学会呼吸病学分会哮喘学组制定的《中国支气管哮喘防治指南》<sup>[7]</sup>标准。

**1.1.2 排除标准:** 排除肿瘤、心血管疾病、肺炎、合并慢性阻塞性肺疾病(COPD)、肺纤维化、支气管扩张、自身免疫性疾病及其他部位炎症等疾病者。

**1.1.3 伦理学:** 本研究符合医学伦理学标准,并经医院医学伦理委员会批准,所有治疗和检测方法取得受试者知情同意。

**1.2 一般资料(表 1):** 哮喘组与健康对照组性别、年龄等一般资料比较差异均无统计学意义(均  $P > 0.05$ ),说明两组资料均衡,有可比性。

表 1 两组受试者一般资料比较

组别	例数(例)	性别(例)		年龄(岁)	
		男性	女性	范围	$\bar{x} \pm s$
健康对照组	25	10	15	23~71	48.60 ± 13.74
哮喘组	45	24	21	19~75	43.91 ± 14.95

**1.3 观察指标及方法**

**1.3.1 两组血清 S1P 水平测定:** 受试者均于入组当日清晨空腹取外周静脉血 5 mL,肝素抗凝,置于 37 °C 孵育 10 min 后,离心 10 min,分离血清置于 -80 °C 冰箱保存待检。用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测两组血清 S1P 水平,试剂盒由上海信帆生物科技有限公司提供,操作严格按试剂盒说明书进行。

**1.3.2 两组肺功能测定:** 比较两组肺功能指标 1 秒用力呼气容积(FEV1)占预计值的百分比(FEV1%)、FEV1/用力肺活量(FVC)比值的差异。

**1.3.3 相关性分析:** 采用 Pearson 法分析 FEV1、FEV1/FVC 与 S1P 水平的相关性。

**1.4 统计学处理:** 使用 SPSS 20.0 统计软件分析数据,符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用  $t$  检验, Pearson 法分析哮喘患者 FEV1%、FEV1/FVC 与血清 S1P 水平的相关性,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 两组受试者血清 S1P 水平比较(表 2):** 哮喘组血清 S1P 水平明显高于健康对照组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。

**2.2 两组受试者 FEV1%、FEV1/FVC 水平比较(表 2):** 哮喘组肺功能指标 FEV1%、FEV1/FVC 均明显低于健康对照组(均  $P < 0.01$ )。

表 2 两组血清 S1P 水平及肺功能指标比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数(例)	S1P( $\mu\text{mol/L}$ )	FEV1(%)	FEV1/FVC
健康对照组	25	0.89 ± 0.17	97.46 ± 10.44	0.82 ± 0.05
哮喘组	45	1.90 ± 0.32	68.26 ± 22.83	0.69 ± 0.13
$t$ 值		-17.132	7.313	5.986
$P$ 值		0.000	0.000	0.000

**2.3 相关性分析(图 1):** 哮喘组患者 FEV1%、FEV1/FVC 与血清 S1P 水平呈负相关( $r$  值分别为 -0.801 和 -0.648, 均  $P < 0.01$ )。健康对照组 FEV1%、FEV1/FVC 与血清 S1P 水平均无相关性( $r$  值分别为 -0.048 和 0.183, 均  $P > 0.05$ )。

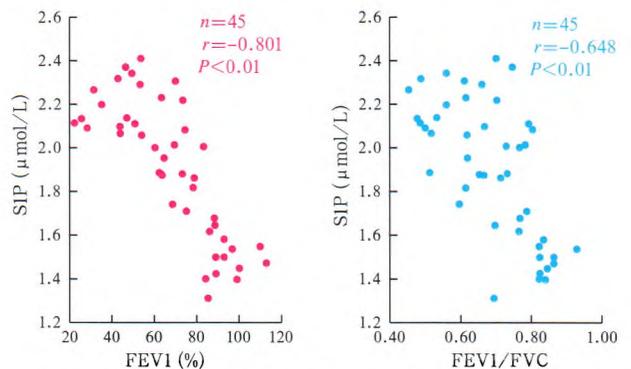


图 1 哮喘组患者血清 S1P 水平与 FEV1%(左)和 FEV1/FVC(右)的相关性分析

**3 讨论**

哮喘是一种以气道反应性增高、广泛多变的可逆性气流受限及不可逆性气道重塑为主要特征的慢性非特异性炎症<sup>[8]</sup>,是临床最常见的慢性呼吸道疾病之一,严重威胁着人们的身体健康,近年来其发病率有逐年增加趋势<sup>[9]</sup>。目前认为肥大细胞、平滑肌细胞、气道上皮细胞及细胞组分的相互作用参与了哮喘的形成。研究发现, S1P 作为一种重要的炎症介质在肺部疾病,尤其是哮喘的发病机制中发挥了重要作用<sup>[10]</sup>。S1P/鞘氨醇激酶信号通路在哮喘等变态反应性疾病发病机制及治疗方面的作用成为目前研究的热点。本研究表明哮喘发作时血清中 S1P 表达升高,这与 Ammit 等<sup>[5]</sup>的研究结果一致。阻断 S1P、鞘氨醇激酶的表达,有望为哮喘的治疗探索另一条新途径。

S1P 是鞘磷脂的一种代谢产物,通过鞘氨醇激酶催化而形成,在血清中主要由肥大细胞等分泌,浓度为 0.4 ~ 1.1  $\mu\text{mol/L}$ <sup>[11-12]</sup>。S1P 既可作为细胞外介质,又能作为细胞内第二信使参与细胞的生长、增殖、分化等生物学过程<sup>[13]</sup>。S1P 通过与 5 种 G 蛋白耦联受体亚型结合,调节细胞增殖、存活、凋亡及血管再生等生物学功能<sup>[14]</sup>。在不同的细胞中, S1P

受体亚型的种类和数量不同：S1P 通过 S1P 受体亚型 1 和 2 调节肥大细胞的迁移和脱颗粒等过程<sup>[15]</sup>。气道上皮细胞则只表达 S1P 受体亚型 3，S1P 通过 S1P 受体亚型 1 和 4 激活使 T 细胞迁移到血管内<sup>[16]</sup>。

S1P 可通过多种途径参与哮喘的发病过程：

① 诱导肥大细胞活化脱颗粒，产生和释放多种炎症介质如组胺、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-5 (IL-5) 等对支气管平滑肌细胞、黏液分泌、T 细胞激活产生影响，导致气道炎症渗出增加和反应性增高<sup>[17]</sup>。② 诱导应力纤维形成，促使支气管平滑肌细胞收缩，最终导致气道反应性升高。③ 促使气道平滑肌和纤维细胞的生长及向肌成纤维细胞分化，气道平滑肌增生及纤维细胞肌纤维化是气道重塑的主要原因之一。动物研究证实，S1P 可引起卵白蛋白致敏的哮喘动物模型气道平滑肌收缩，而在正常气道中，S1P 并不产生此作用<sup>[18-19]</sup>。

本研究还发现，哮喘急性发作时患者肺功能指标 FEV1%、FEV1/FVC 水平明显下降，而健康对照组肺功能指标未出现特异性改变，与马宏境<sup>[20]</sup>的研究结果一致，哮喘急性发作期肺功能呈阻塞性改变，哮喘缓解期肺功能相关指标可恢复正常，在临床上可用来辅助诊断支气管哮喘及评估治疗效果。此外，哮喘患者血清 S1P 水平与肺功能呈负相关，推测血清 S1P 升高可能预示哮喘患者病情加重。

目前哮喘治疗的常规药物不良反应较多亦不能控制病情进展，如二羟丙茶碱不良反应虽较其他茶碱类药物轻，但由于患者的个体差异，用量过大或与其他药物（如黄嘌呤类、喹诺酮类抗菌药物等）合用也会引起恶心、呕吐、易激动、失眠、心动过速、心律失常，甚至发热、脱水、惊厥等症状，严重者甚至出现呼吸、心搏骤停<sup>[21]</sup>。哮喘危重症病情进展迅速，即使采用经典药物治疗，甚至气管插管、机械通气等治疗手段，其病死率仍很高<sup>[22]</sup>。有研究表明，S1P 类似物 2-(4-正辛基苯乙基)-2-氨基丙二酸酐盐 (FTY720)、鞘氨醇激酶抑制剂二甲基鞘氨醇，可以改变气道 T 淋巴细胞、嗜酸粒细胞的分布及减少其数量，减轻气道炎症反应，降低 S1P 及鞘氨醇激酶水平，继而拮抗 S1P，减轻气道高反应性和气道重塑<sup>[23-25]</sup>。因此，阻断 S1P 及其限速酶鞘氨醇激酶表达能减少哮喘的急性发作，维持持续缓解水平，有望成为哮喘特异性治疗的靶点。但目前对于 S1P 生物学功能的了解还较少，尤其缺乏 S1P 各个生物学功能关联性的系统研究，还有待更多的研究探讨。

## 参考文献

- [1] 魏晓阳. 大蒜素对气道平滑肌细胞  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白表达的抑制作用及其机制研究[J]. 中华危重病急救医学, 2013, 25(3): 164-166.
- [2] 吴红军, 樊红, 韩继媛. 氯化可的松琥珀酸钠与甲泼尼龙治疗重度支气管哮喘的疗效比较[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2014, 21(1): 63-64.
- [3] 曲政海, 谢宁, 车淑玉, 等. 昆布多糖对急性哮喘小鼠气道炎症及重塑影响的研究[J]. 中华危重病急救医学, 2009, 21(4): 230-233.
- [4] Murphy DM, O'Byrne PM. Recent advances in the pathophysiology of asthma [J]. Chest, 2010, 137(6): 1417-1426.
- [5] Ammit AJ, Hastie AT, Edsall LC, et al. Sphingosine 1-phosphate modulates human airway smooth muscle cell functions that promote inflammation and airway remodeling in asthma [J]. FASEB J, 2001, 15(7): 1212-1214.
- [6] Murata N, Sato K, Kon J, et al. Interaction of sphingosine 1-phosphate with plasma components, including lipoproteins, regulates the lipid receptor-mediated actions [J]. Biochem J, 2000, 352 Pt 3: 809-815.
- [7] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组, 中华医学会全科医学分会. 中国支气管哮喘防治指南(基层版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2013, 36(5): 331-336.
- [8] 李美香, 杨召川, 曲政海, 等. 中药二步序贯治疗对哮喘小鼠肺组织基质金属蛋白酶-9 及基质金属蛋白酶抑制剂-1 表达的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2016, 23(3): 278-282.
- [9] Uhlig S, Gulbins E. Sphingolipids in the lungs [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2008, 178(11): 1100-1114.
- [10] Berdyshev EV, Gorshkova IA, Garcia JG, et al. Quantitative analysis of sphingoid base-1-phosphates as bisacetylated derivatives by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Anal Biochem, 2005, 339(1): 129-136.
- [11] 计玉兵, 朱黎明, 戴爱国. 1-磷酸鞘氨醇与支气管哮喘[J/CD]. 中华哮喘杂志(电子版), 2013, 7(5): 361-364.
- [12] 戴芳芳. 1-磷酸鞘氨醇与肺部疾病的研究进展[J]. 临床与病理杂志, 2015, 35(1): 111-117.
- [13] Oskeritzian CA, Alvarez SE, Hait NC, et al. Distinct roles of sphingosine kinases 1 and 2 in human mast-cell functions [J]. Blood, 2008, 111(8): 4193-4200.
- [14] Chen LY, Woszczek G, Nagineni S, et al. Cytosolic phospholipase A2alpha activation induced by S1P is mediated by the S1P3 receptor in lung epithelial cells [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2008, 295(2): L326-335.
- [15] Rivera J, Proia RL, Olivera A. The alliance of sphingosine-1-phosphate and its receptors in immunity [J]. Nat Rev Immunol, 2008, 8(10): 753-763.
- [16] Kume H, Takeda N, Oguma T, et al. Sphingosine 1-phosphate causes airway hyper-reactivity by rho-mediated myosin phosphatase inactivation [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2007, 320(2): 766-773.
- [17] Shifren A, Witt C, Christie C, et al. Mechanisms of remodeling in asthmatic airways [J]. J Allergy (Cairo), 2012, 2012: 316049.
- [18] Roviezzo F, Di LA, Bucci M, et al. Sphingosine-1-phosphate/sphingosine kinase pathway is involved in mouse airway hyperresponsiveness [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2007, 36(6): 757-762.
- [19] Karmouty-Quintana H, Siddiqui S, Hassan M, et al. Treatment with a sphingosine-1-phosphate analog inhibits airway remodeling following repeated allergen exposure [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2012, 302(8): L736-745.
- [20] 马宏境. 支气管哮喘患者呼出气一氧化氮与血 IgE、肺功能水平分析及相关性研究[D]. 天津: 天津医科大学, 2012.
- [21] 杨小敏, 闫卫利, 刘佳, 等. 人血浆中二羟丙茶碱的测定及临床应用[J]. 实用检验医师杂志, 2013, 5(2): 114-116.
- [22] 徐磊, 李智伯, 高心晶, 等. 连续性血液净化治疗危重哮喘的研究[J]. 中华危重病急救医学, 2012, 24(11): 665-669.
- [23] Idzko M, Hammad H, van Nimwegen M, et al. Local application of FTY720 to the lung abrogates experimental asthma by altering dendritic cell function [J]. J Clin Invest, 2006, 116(11): 2935-2944.
- [24] Jolly PS, Rosenfeldt HM, Milstien S, et al. The roles of sphingosine-1-phosphate in asthma [J]. Mol Immunol, 2002, 38(16-18): 1239-1245.
- [25] Price MM, Oskeritzian CA, Falanga YT, et al. A specific sphingosine kinase 1 inhibitor attenuates airway hyperresponsiveness and inflammation in a mast cell-dependent murine model of allergic asthma [J]. J Allergy Clin Immunol, 2013, 131(2): 501-511.e1. (收稿日期: 2016-10-24)