

连花清瘟(LHQW)胶囊对慢性阻塞性肺疾病急性加重期(AECOPD)患者诱导痰炎症因子的影响

夏敬文 董 樑 龚 益 陈小东[△]

(复旦大学附属华山医院呼吸科 上海 200040)

【摘要】 目的 探讨连花清瘟胶囊对慢性阻塞性肺疾病急性加重期(acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease, AECOPD)患者的疗效和诱导痰炎症因子的影响。方法 将60例AECOPD患者分为连花清瘟治疗组和常规治疗组,每组各30例。两组患者均予以AECOPD基础治疗,对连花清瘟治疗组患者加用连花清瘟胶囊,评估CAT量表、肺功能和诱导痰细胞因子IL-8、TNF- α 、IL-17、IL-23水平的变化。结果 治疗后所有患者的CAT量表评分均有改善($P < 0.01$)。连花清瘟治疗组治疗后FEV₁%预计值从49.48% \pm 15.66%上升至59.90% \pm 15.82% ($P < 0.05$),诱导痰各细胞因子水平下降($P < 0.05$),特别是TNF- α 、IL-23分别从(54.49 \pm 24.93) pg/mL和(27.30 \pm 12.11) pg/mL下降至(36.21 \pm 21.18) pg/mL和(18.56 \pm 8.81) pg/mL ($P < 0.01$),而常规治疗组则未出现有统计学意义的变化。结论 连花清瘟胶囊可以显著改善AECOPD患者的临床疗效,其作用机制可能是通过抑制AECOPD患者炎症因子的释放,从而达到减轻气道炎症反应的作用。

【关键词】 慢性阻塞性肺疾病急性加重期(AECOPD); 连花清瘟(LHQW); 细胞因子; 诱导痰

【中图分类号】 R 562.2 **【文献标志码】** A **doi:** 10.3969/j.issn.1672-8467.2014.02.018

Effects of LianhuaQingwen (LHQW) capsule on induced-sputum cytokines in acute exacerbation of COPD (AECOPD) patients

XIA Jing-wen, DONG Liang, GONG Yi, CHEN Xiao-dong[△]

(Department of Respiratory, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China)

【Abstract】 Objective To explore the clinical effect of LianhuaQingwen (LHQW) capsule on induced-sputum cytokine changes in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD) patients. **Methods** Sixty COPD patients with an acute exacerbation were divided into two groups, LHQW therapy group and conventional therapy group with 30 cases each. Both groups were given based treatments, then LHQW therapy group was added LHQW capsule. Meanwhile we evaluated the CAT scale, lung function and the expression of IL-8, TNF- α , IL-17 and IL-23 in induced-sputum.

Results The CAT scale of all patients were obviously improved after treatment ($P < 0.01$). In LHQW therapy group, the FEV₁%Pred was increased from 49.48% \pm 15.66% to 59.90% \pm 15.82% ($P < 0.05$), and the induced sputum cytokine levels were lower compared with those before treatment ($P < 0.05$), particularly TNF- α and IL-23 ($P < 0.01$), but there was no significant change in conventional therapy group. **Conclusions** LHQW capsule had a better clinical effect during AECOPD. It may suppress bronchioles inflammatory reaction through controlling the release of inflammatory cytokines.

[△]Corresponding author E-mail: xdchen8@hotmail.com

【Key words】 acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD); Lianhua Qingwen (LHQW); cytokine; induced-sputum

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种在全世界范围内发病率和死亡率均较高的重要疾病,造成严重的经济和社会负担。根据世界银行/世界卫生组织(WHO)发表的研究报告,预计到2030年COPD将占全球死亡原因的7.8%,成为世界上第4位最常见的致死疾病^[1]。最新观点表明,COPD不仅是一种慢性炎症疾病^[2],而且是一种自身免疫性疾病^[3],它分为稳定期和急性加重期,其中以急性加重期的危害性更大,是临床治疗的重点。既往研究显示,感染是引起慢性阻塞性肺疾病急性加重(acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease, AECOPD)的最主要因素,细菌和病毒混合感染的患者亦不少见^[4]。COPD防治全球倡议(GOLD)建议以激素、抗菌药物、支气管扩张剂以及对症支持治疗作为AECOPD的主要治疗方案,但是仍未达到令人满意的效果,而且大剂量激素的使用可能导致患者的感染机会增加^[5],因此我们需要寻找更加有效的治疗AECOPD的药物。

莲花清瘟胶囊是银翘散与麻杏石甘汤配伍大黄和红景天组合而成的中药复方制剂,从中医组方来看,它兼具抗感染和调节免疫的功效。莫红缨等^[6]通过在甲型人流感病毒感染的同时段给予莲花清瘟胶囊,发现它具有预防病毒吸附、抑制病毒吸附后的复制增殖以及直接杀伤病毒等多环节的抗甲型人流感病毒作用。我们的研究小组在动物实验中发现,莲花清瘟胶囊可以显著抑制COPD大鼠的气道炎症^[7]。但对于莲花清瘟胶囊对AECOPD患者气道炎性因子的影响,目前尚无相关的研究报道。本研究选用代表固有免疫的IL-8、TNF- α 和代表获得性免疫的IL-17、IL-23来探索其作用机制,从而探讨莲花清瘟在AECOPD中的应用价值。

资料和方法

研究对象 2012年1月至12月在复旦大学附属华山医院呼吸科住院或门诊治疗的AECOPD患者60例,所有患者均自愿签署知情同意书。纳入标准为:(1)根据GOLD指南,明确诊断为COPD的患

者;(2)伴有呼吸系统症状恶化或超出日常的变异,且需要改变药物治疗。排除标准为:(1)年龄 <50 或 >85 岁;(2)患者血气分析示呼吸衰竭(平静呼吸,不吸氧时 $\text{PaO}_2 < 60$ mmHg和/或 $\text{PaCO}_2 > 50$ mmHg;1 mmHg = 0.133 kPa,下同),并需使用机械通气;(3)合并心、脑血管等严重原发性疾病者,或合并肿瘤、自身免疫性疾病等免疫功能受损者,精神病患者;(4)自研究之日起前2个月内有上、下呼吸道感染史者;(5)36 h内使用过中药治疗本病者;(6)3个月内参加过其他临床试验者。

仪器与试剂 超声雾化器(德国PARI公司);肺功能测定仪 Master Screen(德国Jaeger公司);血气分析仪(瑞士罗氏公司);台式离心机(型号:TGL-16B,上海安亭科学仪器厂);振荡器(美国Thermo公司);酶标仪(美国Thermo公司);数字显示隔水式电热恒温培养箱(上海跃进医疗器械厂);二硫苏糖醇(dithiothreitol, DDT);万托林(沙丁胺醇气雾剂)(葛兰素史克公司);人IL-8、TNF- α 、IL-17、IL-23定量酶联检测试剂盒(上海森雄科技实业有限公司)。

研究方法 采用随机对照的研究方法,随机数字通过随机数字表产生。将所有患者分为两组:莲花清瘟治疗组(A组)和常规治疗组(B组),每组30例。两组患者均予以AECOPD的常规基础治疗,包括吸入药物沙美特罗氟替卡松250/50 μg ;支气管扩张剂茶碱;祛痰解痉剂氨溴索;抗菌药物 β -内酰胺类,如过敏给予氟喹诺酮类;控制性氧疗等,A组患者加用莲花清瘟胶囊1.4 g/次,3次/日,口服7天。药物来源:石家庄以岭药业股份有限公司;药物规格:0.35 g/粒;批准文号:国药准字Z20040063。本研究通过复旦大学附属华山医院伦理委员会审核,所有患者均签署知情同意书。

诱导痰标本采集和处理 配制3%和4.5%的高渗生理盐水和0.1%的DTT。根据Sutherland等^[8]和Bathoorn等^[9]的诱导痰操作方案,制定出一套规范的操作流程:(1)患者在诱导前测定 FEV_1 ,然后吸入沙丁胺醇200 μg ;(2)15 min后再次测定 FEV_1 作为基础值,若 $\text{FEV}_1\%$ 预计值 $<50\%$,则以0.9%生理盐水雾化吸入,若 $\text{FEV}_1\%$ 预计值 \geq

50%,则以3%生理盐水雾化吸入;(3) 2 min后测FEV₁,漱口,擤鼻,将痰咳入无菌容器中;(4)继续雾化吸入,每隔2 min测定FEV₁,收集痰液,依此类推,直至12 min;(5)若仍未取得足够量的痰液,可试用更高浓度的高渗盐水(3%或4.5%)雾化吸入,其间严密监测患者症状;(6)在诱导过程中,若患者出现发绀、呼吸困难等难以忍受的临床症状或FEV₁/基础值>20%,则停止诱导,若FEV₁/基础值为10%~20%,吸入沙丁胺醇200 μg后恢复至基础值的90%以上,则继续进行痰诱导,如不能恢复则停止雾化吸入;(7)诱导结束后,再予沙丁胺醇200 μg,复查FEV₁,直至FEV₁恢复至基础值90%以上才终止监测。

痰液收集后应于2 h内处理,具体步骤如下:(1)选择比较黏稠的痰标本,称重,加入4倍体积的0.1%DTT,以巴氏滴管反复吹打15 s后,振荡器振荡2 min,然后置于37℃恒温水浴孵育15 min(期间反复颠倒混匀),最后以48 μm尼龙网过滤;(2)取少许滤液涂片,使用革兰氏染色法确定为合格痰标本;(3)将滤液离心(3 000 r/min,10 min,离心半径6 cm),收集上清液于-80℃储存,以待后续的检测。

观测指标 所有患者均在治疗第1天和第7天行以下各项评分和检测:(1)CAT(COPD assessment test)评分;(2)肺功能测定:使用肺功能仪测定研究对象第1秒用力呼气容积占预计值的百分比(FEV₁%预计值)和第1秒用力呼气容积占用力肺活量的百分比(FEV₁/FVC);(3)诱导痰细胞因子浓度检测:使用人IL-8、TNF-α、IL-17、IL-23定量酶联检测试剂盒测定诱导痰内各细胞因子的浓度,严格按照试剂说明书操作。

统计学方法 统计学软件使用Windows SPSS 19.0,正态分布的计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组比较采用独立样本 t 检验,多组均数比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),如组间差异有统计学

意义,则使用最小显著差数法(LSD)进行两组间比较。假设检验统一使用双侧检验,检验水准 $\alpha = 0.05$,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

患者基本资料和评估 本研究共纳入60名AECOPD患者,其中连花清瘟治疗组(A组)30例,常规治疗组(B组)30例,两组之间年龄、性别、体质指数(body mass index, BMI)、吸烟史、肺功能和血气分析指标的差异均无统计学意义($P > 0.05$,表1)。在治疗过程中,所有患者均未出现明显的不良反应。

表1 患者基线情况比较

Tab 1 Comparison of patients' baselines

Item	A group	B group	P value
Age (y)	71.55 ± 11.19	72.36 ± 10.55	>0.05
Sex (male/female)	27/3	28/2	>0.05
BMI (kg/m ²)	22.85 ± 3.86	22.98 ± 4.12	>0.05
Smoking index	765.89 ± 495.26	786.73 ± 512.37	>0.05
FEV ₁ /FVC (%)	64.74 ± 10.18	63.27 ± 18.53	>0.05
PO ₂ (mmHg)	75.65 ± 16.22	74.52 ± 17.58	>0.05
PCO ₂ (mmHg)	42.49 ± 6.74	45.84 ± 7.87	>0.05
SPO ₂ (%)	94.55 ± 8.93	91.84 ± 7.38	>0.05

A group: LHQW therapy group; B group: Conventional therapy group.

临床疗效比较 对两组患者在治疗前后分别行CAT量表评分和肺功能检测,结果发现,两组治疗前比较差异无统计学意义($P > 0.05$),治疗后两组的临床表现均有改善,CAT量表评分下降显著($P < 0.01$)。但在肺功能的检测中发现,A组患者治疗后FEV₁%预计值较治疗前有所升高($P < 0.05$),而B组则未出现有统计学意义的变化($P > 0.05$,表2)。

表2 两组治疗前后CAT量表和FEV₁%预计值比较

Tab 2 Comparison of CAT scale and FEV₁%Pred in two groups before and after treatment

($\bar{x} \pm s$)

Index	LHQW therapy group			Conventional therapy group		
	Before	After	P value	Before	After	P value
CAT scale (point)	25.27 ± 8.20	19.77 ± 7.21	0.006	25.13 ± 7.25	19.8 ± 7.59	0.007
FEV ₁ %Pred	50.28 ± 15.73	58.91 ± 16.31	0.043	49.71 ± 18.66	54.22 ± 14.32	0.296

诱导痰细胞因子比较 治疗前两组差异无统计学意义($P>0.05$),治疗后 A 组各细胞因子 IL-8、

TNF- α 、IL-17、IL-23 均显著下降,差异有统计学意义($P<0.05$),而 B 组则无显著变化($P>0.05$,图 1)。

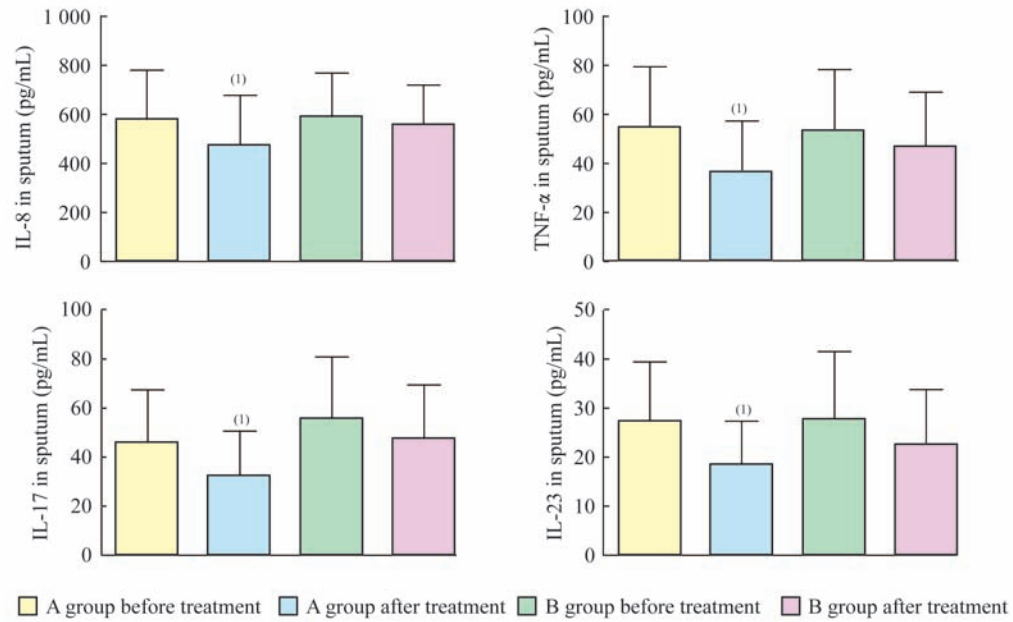


图 1 两组治疗前后诱导痰细胞因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 1 Comparison of cytokines in induced-sputum in two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

(1) vs. before treatment, $P<0.05$.

讨 论

连花清瘟的主要成分为连翘、金银花、炙麻黄、炒杏仁、石膏、板蓝根、绵马贯众、鱼腥草、广藿香、大黄、红景天、薄荷脑、甘草。其中连翘、薄荷、麻黄外散风寒,石膏、银花、板蓝根内清气热,杏仁、鱼腥草解毒排脓,大黄通腑泄肺,红景天益气养阴、调节免疫、扶正祛邪。既往研究发现连花清瘟具有中医药多靶点、多环节、多途径和整体治疗的优势,不仅能够抗病毒抗细菌,同时可以调节免疫。本研究中,我们对 60 例 AECOPD 患者分别采用连花清瘟胶囊加常规西药治疗与单独常规西药治疗,通过对患者 CAT 量表评分和肺功能的比较,发现连花清瘟胶囊可以显著改善 AECOPD 患者的临床疗效。

IL-8 和 TNF- α 均是重要的炎症介质,具有趋化中性粒细胞、诱导呼吸爆发、活化内皮细胞、促进白细胞黏附等作用^[10-11]。当 COPD 急性加重时,呼吸道受到病毒和/或细菌感染,它们所含的某些抗原成分或代谢产物如脂多糖、内毒素等可以激活巨噬细胞和中性粒细胞,产生 IL-8、TNF- α 等炎性因子。IL-8 和 TNF- α 相互促进,不断诱导中性粒细胞趋

化,进一步导致了肺泡弹性纤维破坏,气道重塑狭窄,慢性炎症反应加重,COPD 病情进展。本研究通过临床症状体征的比较,已经明确了连花清瘟胶囊对 AECOPD 患者的临床疗效,为了进一步研究其抗炎机制,对两组患者的诱导痰进行检测,发现连花清瘟治疗后 IL-8 和 TNF- α 水平分别从 (576.90 ± 198.93) pg/mL 和 (54.49 ± 24.93) pg/mL 降低至 (473.88 ± 204.69) pg/mL ($P<0.05$) 和 (36.21 ± 21.18) pg/mL ($P<0.01$),而常规治疗组则未出现有统计学意义的变化,说明连花清瘟胶囊可以通过抑制 IL-8 和 TNF- α 达到针对 AECOPD 患者的抗炎作用。

IL-17 是一种主要由辅助性 T 细胞 17(Th17 细胞)分泌的细胞因子,它在 IL-23 诱导下分化成熟。IL-23/IL-17 轴在许多慢性炎症性疾病及自身免疫性疾病的发生发展中均发挥了重要的作用^[12]。在发生 AECOPD 时,气道抗原呈递细胞活化,分泌 IL-23,它与 Th17 细胞表面的 IL-23 受体结合促使该细胞分泌 IL-17。IL-17 进一步刺激 GM-CSF 与 G-CSF 等粒细胞刺激因子的产生,从而募集大量的中性粒细胞到气道并增强局部炎症,导致上皮纤维化;同时诱导其他致炎细胞因子(包括 IL-1 β 和

TNF- α)进入炎性组织,增加 CD8⁺ T 细胞在气道壁的表达,引起组织损害,造成气道重构,发生肺气肿^[13]。本研究结果显示,在 AECOPD 患者中,莲花清瘟治疗组治疗前后诱导痰中 IL-17 和 IL-23 的表达水平分别从(49.63 ± 21.64) pg/mL 和(27.30 ± 12.11) pg/mL 下降至(36.63 ± 17.78) pg/mL ($P < 0.05$)和(18.56 ± 8.81) pg/mL ($P < 0.01$),而常规治疗组未出现有统计学意义的变化,说明莲花清瘟胶囊可以通过调节获得性免疫来发挥治疗作用。目前认为 COPD 是一种自身免疫性疾病,莲花清瘟是否对 COPD 稳定期患者有类似作用,有待于进一步研究。

综上所述,莲花清瘟胶囊可以显著改善 AECOPD 患者的临床疗效,为 AECOPD 的中医中药治疗提供了一种新的选择和补充。其作用机制可能为通过抑制 AECOPD 患者炎性因子的释放,从而达到减轻气道炎症反应的作用。

致谢 本研究受石家庄以岭药业股份有限公司资助。

参 考 文 献

- [1] Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030 [J]. *PLoS Med*, 2006, 3(11): e442.
- [2] Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of COPD, 2013 [EL/OL]. <http://www.goldcopd.org/guidelines-global-strategy-for-diagnosis-management.html>.
- [3] Kheradmand F, Shan M, Xu C, et al. Autoimmunity in chronic obstructive pulmonary disease: clinical and experimental evidence [J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2012, 8(3): 285 - 292.
- [4] De Serres G, Lampron N, La Forge J, et al. Importance of viral and bacterial infections in chronic obstructive pulmonary disease exacerbations [J]. *J Clin Virol*, 2009, 46(2): 129 - 133.
- [5] Calverley PM, Anderson JA, Celli B, et al. Salmeterol and fluticasone propionate and survival in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *N Engl J Med*, 2007, 356(8): 775 - 789.
- [6] 莫红缨,柯昌文,郑劲等. 莲花清瘟胶囊体外抗甲型流感病毒的实验研究 [J]. *中药新药与临床药理*, 2007, 18(1): 5 - 9.
- [7] 夏敬文,陈小东,张静等. 莲花清瘟胶囊对慢性阻塞性肺病的治疗作用 [J]. *复旦学报:医学版*, 2008, 35(3): 441 - 444.
- [8] Sutherland ER, Pak J, Langmack EL, et al. Safety of sputum induction in moderate-to-severe chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Respir Med*, 2002, 96(7): 482 - 486.
- [9] Bathoorn E, Liesker J, Postma D, et al. Safety of sputum induction during exacerbations of COPD [J]. *Chest*, 2007, 131(2): 432 - 438.
- [10] Mukaida N. Pathophysiological roles of interleukin-8/CXCL8 in pulmonary diseases [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2003, 284(4): L566 - L577.
- [11] Almansa R, Sanchez-Garcia M, Herrero A, et al. Host response cytokine signatures in viral and nonviral acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2011, 31(5): 409 - 413.
- [12] Ivanov S, Bozinovski S, Bossios A, et al. Functional relevance of the IL-23-IL-17 axis in lungs *in vivo* [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2007, 36(4): 442 - 451.
- [13] Cazzola M, Matera MG. IL-17 in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Expert Rev Respir Med*, 2012, 6(2): 135 - 138.

(收稿日期:2013-06-05;编辑:张秀峰)