

支气管哮喘急性发作期血氧饱和度水平与磷脂酶 C ϵ 的关系

西安市中心医院 张惠民 李建英 任志超^{1*}, 西安 710003

摘要 目的:探讨磷脂酶 C ϵ (PLC ϵ)与支气管哮喘患者急性发作期血氧饱和度(SaO₂)的关系。方法:243 例支气管哮喘患者,根据 SaO₂ 水平将患者分成 3 组,分别为 SaO₂ >95% 组、91% ≤ SaO₂ ≤ 95% 组和 SaO₂ <91% 组,比较 3 组患者一般临床资料、磷脂酶 C ϵ (PLC ϵ)水平、趋化因子 Ccl2、Cxcl2 及炎症因子 IL-4、IL-5 和 IL-13 水平,并多因素回归分析 PLC ϵ 水平与 SaO₂ 及第 1 秒用力呼气容积(FEV₁)的相关性。结果:3 组患者年龄间差异有统计学意义($P < 0.05$);SaO₂ <90% 组血清 PLC ϵ 水平最高(均 $P < 0.05$),且 91% ≤ SaO₂ ≤ 95% 组高于 SaO₂ >95% 组($P < 0.05$),SaO₂ <90% 组 Ccl2、Cxcl2、IL-4、IL-5 和 IL-13 表达水平最高(均 $P < 0.05$),且 91% ≤ SaO₂ ≤ 95% 显著高于 SaO₂ >95% 组($P < 0.05$);多因素回归分析患者血清 PLC ϵ 水平与 SaO₂ 呈显著负相关,与 FEV₁ 水平呈正相关(均 $P < 0.05$)。结论:支气管哮喘急性发作期 SaO₂ 与血清 PLC ϵ 呈负相关,PLC ϵ 可能通过影响支气管哮喘患者气道炎症反应而影响患者 SaO₂ 及肺通气功能。

关键词 支气管哮喘; PLC ϵ ; 血氧饱和度

中图分类号 R562.2⁺5 **文献标识码** A **DOI** 10.11768/nkjwzzzz20180106

Relationship between PLC ϵ and Oxygen Saturation in Patients during the Acute Episode of Asthma ZHANG Hui-min, LI Jian-ying, REN Zhi-chao^{1*}. Central Hospital of Xi'an, Xi'an 710003, China

Abstract Objective: To investigate the relationship between PLC ϵ and oxygen saturation in patients with acute episode of asthma. Methods: According to the oxygen saturation level, 243 cases of bronchial asthma were divided into 3 groups (>95% group, 91% -95% group and <90% group). The clinical data, PLC ϵ , chemokines Ccl2 and Cxcl2, and inflammatory factors IL-4, IL-5 and IL-13 were compared among three groups. The correlation between PLC ϵ level with oxygen saturation and FEV₁ was analyzed. Results: There was significant difference in age among three groups ($P < 0.05$). The expression level of PLC ϵ in <90% group was highest ($P < 0.05$), and that in 91%-95% group was significantly higher than in >95% group ($P < 0.05$). The expression levels of Ccl2, Cxcl2, IL-4, IL-5 and IL-13 in <90% group were highest ($P < 0.05$). The expression levels of Ccl2, Cxcl2, IL-4, IL-5 and IL-13 in 91%-95% group were significantly higher than those in >95% group ($P < 0.05$). The PLC ϵ was negatively correlated with the levels of blood oxygen saturation and positively with the levels of FEV₁. Conclusion: There was a significant negative correlation between the oxygen saturation and PLC ϵ in acute bronchial asthma. PLC ϵ may influence the blood oxygen saturation and pulmonary ventilation function probably by influencing the inflammation of respiratory tract in patients with bronchial asthma.

Key words Bronchial asthma; PLC ϵ ; Oxygen saturation

支气管哮喘是一种常见的慢性炎症性疾病,以气道高反应性为特征^[1]。大量嗜酸性粒细胞的聚集导致气道上皮分泌大量的黏液,上调了血清特异性免疫球蛋白 IgE 和 IgG 表达。在支气管哮喘炎症反应过程中,Th2 细胞通过相关的细胞因子发挥着重要作用,如通过 IL-4 促进 IgE 在淋巴细胞中表达和转换、促进 IL-5 表达从而促进嗜酸性粒细胞诱导的炎症反应,以及促进作用于肥大细胞和杯状细胞

的细胞因子表达^[2,3]。磷脂酶 C(PLC ϵ)对细胞内信号通路有重要作用,其可催化 PIP2 分解产生 1,4,5-肌醇三磷酸(IP3)和二酰甘油(DAG)两个第二信号分子^[4]。PLC ϵ 可通过上调促炎症因子的表达而扩大炎症反应。敲除或者下调 PLC ϵ 的表达,可抑制促炎症因子的产生^[5-7]。由此,我们推测 PLC ϵ 可能在哮喘急性发作期炎症反应中可能发挥一定的作用,因此,本研究观察哮喘急性发作期患者血清中 PLC ϵ 的表达水平与患者血氧饱和度(SaO₂)水平及肺通气功能的关系。

¹咸阳市第一人民医院

*通信作者:任志超,E-mail:rzc19760630@163.com

资料与方法

一般资料 选取 2014 年 1 月~2016 年 1 月西安市中心医院呼吸内科就诊的 243 例支气管哮喘急性发作期患者,所有患者均符合支气管哮喘的诊断、分期和分级标准^[1],纳入标准:年龄 18~75 岁,此次发作哮喘距离上次发作 ≥ 1 个月,且在此期间未使用药物治疗。排除标准:①危重度支气管哮喘患者;②患有心源性哮喘、急慢性支气管炎、肺癌等肺部疾病的患者;③伴有影响其生存的严重疾病,如急性心肌梗死、急性脑血管意外、肿瘤、严重的肝肾疾患、获得性免疫缺陷综合征等。本研究经医院伦理委员会研究后通过,所有研究对象均签署知情同意书。

方法 对所有患者的年龄、性别、是否吸烟、病程长短及支气管哮喘严重程度进行基线资料统计。根据支气管哮喘防治指南 2013 版、对支气管哮喘慢性持续期分级和支气管哮喘急性发作时严重程度分级^[1]。病程长短分为 ≤ 5 年、5~10 年、 > 10 年 3 个级别。

所有患者抽取新鲜静脉血加入 PLC ϵ 对应的抗体(Santa Cruz PLC ϵ 抗体),在室温下避光孵育 1 h,向其内加入红细胞裂解液,裂解红细胞 5 min,加入 PBS 液洗去血红蛋白,并重新悬浮于 1 mL PBS 中,以流式细胞仪检测 PLC ϵ 表达情况。全血标本于室温放置 2 h 后于 1000r/min 离心 20 min,取上清置于 -80°C 保存。分别用于检测 Ccl2 和 Cxcl2 及 IL-4、IL-5、IL-13,ELISA 试剂购自上海信裕生物科技有限公司,严格按说明书操作。将酶标版每孔加入终止液后于 450 nm 和 540 nm 波长处测定各孔的 OD 值。

所有患者均未接受吸氧治疗,采用美国迈心诺

Masimo SET 脉搏血氧测量仪检测患者 SaO₂,并采用德国耶格尔 MS 型肺功能检测仪测定患者 FEV₁ 水平。根据患者 SaO₂ 将其分成 3 组,分别为 SaO₂ $> 95\%$ 组(80 例),SaO₂ 91%~95% 组(100 例)和 SaO₂ $< 90\%$ 组(63 例)。比较 3 组患者 PLC ϵ 及其相关因子的表达水平,采用多因素回归分析 PLC ϵ 与 SaO₂ 相关性。

统计学处理 采用 SPSS19.0 统计学软件,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,2 组间比较采用独立样本 t 检验,计数资料采用频数表示,组间比较采用 χ^2 检验;各组 PLC ϵ 及其相关因子分析采用方差分析。PLC ϵ 与 SaO₂ 及 FEV₁ 关系采用多因素回归分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一般资料 3 组患者年龄存在显著性差异($P < 0.05$),性别、吸烟史、病程以及慢性期严重程度比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

PLC ϵ 及趋化因子和细胞因子表达水平 SaO₂ 水平 $< 90\%$ 组血清 PLC ϵ 表达水平最高,91% $\leq$ SaO₂ $\leq 95\%$ 组显著高于 $> 95\%$ 组(均 $P < 0.05$),SaO₂ 水平 $< 90\%$ 组 Ccl2、Cxcl2、IL-4、IL-5 和 IL-13 表达水平最高,91% $\leq$ SaO₂ $\leq 95\%$ 组显著高于 $> 95\%$ 组(均 $P < 0.05$),见表 2。

多因素回归分析 PLC ϵ 水平与 SaO₂ 水平相关性 因年龄、病程长短及疾病严重程度对 SaO₂ 有一定的影响,因此建立多因素回归模型。模型 a:为未调整年龄、性别、是否吸烟、病程长短及支气管哮喘严重程度等影响因素的回归分析模型;模型 b:为调整了模型 a 所涉及的影响因素的回归分析模型,主要为 PLC ϵ 与 SaO₂ 水平的关系分析^[8]。多因素模

表 1 3 组患者一般资料比较

SaO ₂ 分组	例	年龄* (岁)	性别(例)		吸烟 (例)	病程 <5 年(例)	病程 (年)	慢性严重程度分期(例)			
			男	女				1	2	3	4
$> 95\%$ 组	80	48.2 $\pm$ 12.2	44	36	30	40	6.8 $\pm$ 3.4	28	22	18	12
91%~95% 组	100	56.8 $\pm$ 10.7	52	48	34	55	7.4 $\pm$ 4.8	42	26	23	9
$< 90\%$ 组	63	62.5 $\pm$ 8.8	32	31	27	28	8.2 $\pm$ 6.8	28	17	11	7

注:3 组间比较,* $P < 0.05$

表 2 3 组患者 PLC ϵ 及趋化因子和细胞因子表达水平比较

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

SaO ₂ 分组	例	PLC ϵ 相对值	Ccl2 (ng/mL)	Cxcl2 (ng/mL)	IL-4 (ng/mL)	IL-5 (ng/mL)	IL-13 (ng/mL)
$> 95\%$ 组	80	0.2 $\pm$ 0.04 [#]	25.6 $\pm$ 5.6 [#]	28.3 $\pm$ 7.7 [#]	44.3 $\pm$ 5.2 [#]	46.8 $\pm$ 7.3 [#]	36.3 $\pm$ 6.5 [#]
91%~95% 组	100	0.3 $\pm$ 0.06 [*]	32.5 $\pm$ 7.6 [*]	34.6 $\pm$ 6.4 [*]	49.8 $\pm$ 5.9 [*]	53.1 $\pm$ 4.6 [*]	42.4 $\pm$ 5.9 [*]
$< 90\%$ 组	63	0.5 $\pm$ 0.03 ^{**}	39.2 $\pm$ 6.5 ^{**}	41.2 $\pm$ 8.2 ^{**}	55.8 $\pm$ 6.6 ^{**}	58.8 $\pm$ 6.3 ^{**}	50.8 $\pm$ 5.2 ^{**}

注:与 $> 95\%$ 组比较,* $P < 0.05$,与 91%~95% 组比较,[#] $P < 0.05$

型 a 和 b 分析均显示,PLCε 表达水平与 SaO₂ 水平呈显著负相关($r = -0.568, r = -0.514$),见表 3。

表 3 多因素回归分析 PLCε 水平与 SaO₂ 相关性

	HR	95% CI	P
模型 a	0.69	0.74 ~ 0.83	0.010
模型 b	0.78	0.68 ~ 0.96	0.015

肺功能及多因素回归分析 PLCε 与 FEV₁ 相关

表 4 3 组患者肺功能比较

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

SaO ₂ 分组	例	FEV ₁ (L)	FEV ₁ %	PEF (%)	FEV ₁ /FVC (%)	MMEF75/25 (%)
>95% 组	80	3.2 ± 0.2	62.1 ± 6.6	56.1 ± 8.8	65.1 ± 8.8	63.5 ± 8.2
91% ~ 95% 组	100	2.6 ± 0.2	58.1 ± 6.1	50.1 ± 9.0	58.7 ± 9.5	55.2 ± 8.2
<90% 组	63	1.9 ± 0.2	53.2 ± 5.9	44.2 ± 10.1	52.9 ± 8.3	46.6 ± 8.8

注:FEV₁/FVC:第一秒钟用力呼气量/用力肺活量;PEF:呼气流量峰值;MMEF:最大呼气中期流量

表 5 PLCε 水平与 FEV₁ 相关性

	HR	95% CI	P
模型 a	0.49	0.28 ~ 0.86	0.014
模型 b	5.57	1.68 ~ 20.06	0.010

讨论

本研究结果显示,在支气管哮喘急性发作期,血中可检测到 PLCε 的表达,并且证实 SaO₂ 水平较低的患者,PLCε 及其相关因子表达水平较高。Ccl2 和 Cxcl2 已被证实对支气管哮喘患者气道高反应性及白细胞趋化有一定的作用^[9,10],本研究发现 SaO₂ 较低患者中 Ccl2 和 Cxcl2 表达水平较高。有研究表明,PLCε 可通过促进 Ccl2 和 Cxcl2 的表达从而促进促炎症因子的释放^[10]。因此,PLCε 可能通过对趋化因子 Ccl2 和 Cxcl2 的调节进而影响支气管哮喘急性发作期的炎症反应。但 Th2 对支气管哮喘的气道高反应性的影响不仅仅只是表现为对气道上皮的作用,还涉及到聚集的免疫细胞^[11,12]。本研究发现,在 SaO₂ < 90% 组,IL-4、IL-5 及 IL-13 表达水平均较高。因此,本研究推测 PLCε 可能在支气管哮喘患者急性发作期通过促进促炎症因子释放,加重患者气道炎症反应,从而使患者气流受限,SaO₂ 水平下降。

支气管哮喘患者肺功能障碍,主要表现为通气功能降低,而其中 FEV₁ 及其占预计值百分比可反应患者通气功能。本研究证实,PLCε 水平与 FEV₁ 水平呈负相关,在 SaO₂ > 95% 组患者中 FEV₁ 水平较高,同时 PLCε 水平较低。综上所述,支气管哮喘急性发作期 SaO₂ 与磷脂酶 Cε 显著负相关,而与 FEV₁ 呈正相关关系,PLCε 可能通过影响支气管哮喘患者急性发作期气道炎症反应来影响患者 SaO₂,

性 SaO₂ 水平越高肺功能及肺通气的指标则越好,反之则越差,见表 4。回归分析结果显示,3 组 FEV₁ 水平与 PLCε 呈负相关。模型 a:未调整年龄、性别、是否吸烟、病程长短及支气管哮喘严重程度等影响因素的回归分析模型;模型 b:调整了模型 a 所涉及的影响因素的回归分析模型,主要为 PLCε 与 FEV₁ 水平的关系分析,见表 5。

同时影响患者肺通气功能,肺通气功能与 SaO₂ 水平又是相辅相成,相互影响,值得进一步深入研究。本研究不足之处在于,样本量有限,以及检测技术有限,目前仅仅检测了血中 PLCε 的表达,后期应该进一步加上患者支气管肺泡灌洗液的相关检测。

参考文献

- 1 支气管哮喘防治指南 2013 版[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2013, 36(5): 331-336.
- 2 Holgate ST. Innate and adaptive immune responses in asthma[J]. Nat Med, 2012, 18(5): 673-683.
- 3 Lambrecht BN, Hammad H. The airway epithelium in asthma[J]. Nat Med, 2012, 18(5): 684-692.
- 4 Suh PG, Park JI, Manzoli L, et al. Multiple roles of phosphoinositide-specific phospholipase C isozymes[J]. BMB Rep, 2008, 41(6): 415-434.
- 5 Oka M, Edamatsu H, Kunisada M, et al. Phospholipase Ce has a crucial role in ultraviolet B-induced neutrophil associated skin inflammation by regulating the expression of CXCL1/KC[J]. Laboratory investigation, 2011, 91(5): 711-718.
- 6 Harada Y, Edamatsu H, Kataoka T. PLCε cooperates with the NF-κB pathway to augment TNFα-stimulated CCL2/MCP1 expression in human keratinocyte[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 414(1): 106-111.
- 7 Edamatsu H, Takenaka N, Hu L, et al. Phospholipase Ce as a potential molecular target for anti-inflammatory therapy and cancer prevention[J]. Inflamm, Regen, 2012, 31(4): 370-374.
- 8 Yunpeng Ding, MSc, Gard FT, et al. Associations of plasma kynurenines with risk of acute myocardial infarction in patients with stable angina pectoris[J]. J Am Heart Assoc, 2016, 5(1): e002621.
- 9 Schneider D, Hong JY, Bowman ER, et al. Macrophage/epithelial cell CCL2 contributes to rhinovirus-induced hyperresponsiveness and inflammation in a mouse model of allergic airways disease[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2013, 304(3): L162-169.
- 10 杨旭. Spred-2 缺乏可加重 LPS 诱导的急性肺损伤[D]. 哈尔滨医科大学, 2014.
- 11 夏梦玲, 戴元荣, 徐慧. Th2 和非 Th2 相关性支气管哮喘表型的研究进展[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2014, 37(12): 931-937.
- 12 金蕊, 佟金平, 苗姝. 哮喘患者血清中巨噬细胞炎症蛋白-1 的表达及其临床意义[J]. 内科急危重症杂志, 2017(5): 362-364.

(2017-03-11 收稿 2017-09-25 修回)