

支链氨基酸有效预测慢性阻塞性肺病的急性加重

武小杰¹ 李伟² 毛莉娜¹ 杨硕¹武汉市第一医院¹ 呼吸与危重症医学科;² 内分泌科,湖北武汉 430022

摘要 目的:探讨支链氨基酸(BCAAs)代谢在慢性阻塞性肺病(COPD)发生机制中的作用。方法:收集42例COPD稳定期患者纳入COPD组,40例COPD急性加重(AECOPD)期患者纳入AECOPD组,收集同期46例健康体检者为对照组,采集外周血,应用液相色谱-质谱分析检测BCAAs水平,酶联免疫吸附(ELISA)法检测炎症因子水平,并对二者的相关性进行分析。结果:与对照组比较,COPD组及AECOPD组患者血浆亮氨酸、缬氨酸水平更低,且AECOPD组低于COPD组;血浆白介素(IL)-8、C-反应蛋白(CRP)水平更高,且AECOPD组高于COPD组(P 均 <0.001)。血浆中亮氨酸、缬氨酸水平与IL-8、CRP水平呈负相关($r = -0.64$ 、 -0.71 、 -0.73 、 -0.73 , P 均 <0.05)。结论:BCAAs代谢可能通过炎症反应参与COPD的发生,临床中BCAAs水平有可能成为检测COPD急性加重潜在的生物标志物。

关键词 慢性阻塞性肺病;支链氨基酸;细胞因子;炎症机制

中图分类号 R563.3

文献标识码 A

DOI 10.11768/nkjwzzzz20240310

Branched-chain amino acids effectively predict acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease WU

Xiao-jie, LI Wei, MAO Li-na, YANG Shuo. ¹Department of Respiratory and Critical Care Medicine; ²Department of Endocrinology, Hubei Wuhan No. 1 Hospital, Hubei Wuhan 430022, China

Corresponding author: WU Xiao-jie, E-mail: 463890611@qq.com

Abstract Objective: To investigate the role of branched-chain amino acids (BCAAs) metabolism in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Methods: Totally, 42 patients with stable COPD were included in the COPD group, 40 patients with acute exacerbation of COPD served as the AECOPD group, and 46 healthy subjects were fallen into the control group. BCAAs levels in peripheral blood were detected by liquid chromatography tandem mass spectrometry and the levels of cytokines in peripheral blood were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The correlation between them was analyzed. Results: Compared with the control group, the serum leucine and valine levels in COPD group and AECOPD group were lower, and those in the AECOPD group were lower than those in the COPD group. Compared with the control group, the plasma levels of IL-8 and CRP in the COPD group and AECOPD group were increased, and those in the AECOPD group were higher than those in the COPD group (all $P < 0.001$). Plasma leucine and valine levels were negatively correlated with IL-8 and CRP levels ($r = -0.64$, -0.71 , -0.73 , -0.73 , $P < 0.05$). Conclusion: BCAAs may be involved in the development of COPD through inflammatory response, and BCAAs may be potential biomarkers for detecting AECOPD.

Key words Chronic obstructive pulmonary disease; Branched-chain amino acids; Cytokines; Inflammatory pathogenesis

慢性阻塞性肺病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)以持续的气流受限和进行性肺功能下降为特征^[1]。急性加重是导致患者肺功能急剧下降和死亡最重要的原因^[2]。

气道的慢性炎症在COPD的发生发展中起重要的作用。稳定期的COPD患者体内存在炎症因子水平升高,而急性加重时炎症因子水平明显增高,表现为细胞因子如白介素(IL)-8等表达水平增高等^[3]。有研究报道,血清组织蛋白酶S、颗粒蛋白前体和趋

化因子配体12水平异常升高可显著增加COPD急性加重的风险^[4]。支链氨基酸(branched-chain amino acids, BCAAs)是维持人体代谢的必需氨基酸,包括缬氨酸、异亮氨酸和亮氨酸,作为信号分子参与蛋白质合成以及细胞的生长、增殖和衰老;异常的BCAAs可能通过影响细胞的增殖、凋亡和细胞因子分泌参与各种疾病的发生发展^[5,6]。本研究旨在研究BCAAs在COPD稳定期和急性加重期(acute exacerbations of COPD, AECOPD)的表达,结合相关性因

子水平,探讨 BCAAs 作为 COPD 急性加重的生物标志物的可能性。

资料与方法

1. 一般资料:选取 2022 年 1 月-6 月于武汉市第一医院呼吸内科住院确诊为 AECOPD 期患者 40 例为 AECOPD 组,均为男性,年龄 47 ~ 75 岁;门诊确诊为 COPD 稳定期患者 42 例为 COPD 组,均为男性,年龄 48 ~ 74 岁。纳入标准:符合《慢性阻塞性肺疾病诊治指南》^[7]中关于 COPD 及 AECOPD 的诊断标准。排除标准:COPD 合并自身免疫性疾病、心血管疾病、恶性肿瘤、严重感染、肝肾功能不全、糖尿病、精神类疾病患者。另选取同期健康体检者 46 例为对照组,均为男性,年龄 48 ~ 71 岁。另因氨基酸主要经肝脏代谢,BCAAs 主要在肌肉组织代谢,3 组均选取肝功能及肌酸激酶正常者。本研究经医院伦理委员会批准(批号:武卫一院伦审[2021]21 号),患者或家属均知情并签署同意书。

2. 方法:患者禁食 8 h 后,于次日清晨收集 3 组受试者的外周血 5 mL,加入到抗凝管内,室温下以 3 000 转/min 离心 10 min,采用液相色谱-质谱法检测血浆 BCAAs 中亮氨酸和缬氨酸的水平。采用酶联免疫吸附(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法检测炎症因子,包括 IL-8 及 C 反应蛋白(CRP),试剂盒购自武汉云克隆科技有限公司,操作步骤按照说明书执行。

3. 统计学分析:采用 R 语言软件(version 4.2.3)统计学软件,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示;多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),组间两两比较采用 Bonferroni 检验。不同指标间的相关分析采用 Spearman 秩相关分析法,采用双侧检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1. 临床特征:3 组年龄、吸烟指数、体重指数(body mass index, BMI)比较,差异无统计学意义(P 均 > 0.05),具有可比性,见表 1。

2. 血浆亮氨酸、缬氨酸的水平:COPD 组和 AECOPD 组的亮氨酸、缬氨酸水平低于对照组,且 AECOPD 组又低于 COPD 组(P 均 < 0.001),见图 1a、b。

3. 血浆 IL-8、CRP 的水平:COPD 组和 AECOPD 组的 IL-8、CRP 水平高于对照组,且 AECOPD 组的 IL-8、CRP 又高于 COPD 组(P 均 < 0.001),见图 2a、b。

4. 血浆亮氨酸、缬氨酸与 IL-8、CRP 的相关性

表 1 3 组临床特征($\bar{x} \pm s$)

组别	例	年龄(岁)	吸烟指数(包/年)	BMI(kg/m ²)
对照组	46	61.1 ± 6.5	20.3 ± 1.5	23.97 ± 2.71
COPD 组	42	61.7 ± 6.7	21.0 ± 2.1	23.01 ± 2.91
AECOPD 组	40	62.2 ± 7.5	23.2 ± 1.7	23.18 ± 3.35
P 值		0.76	0.06	0.28

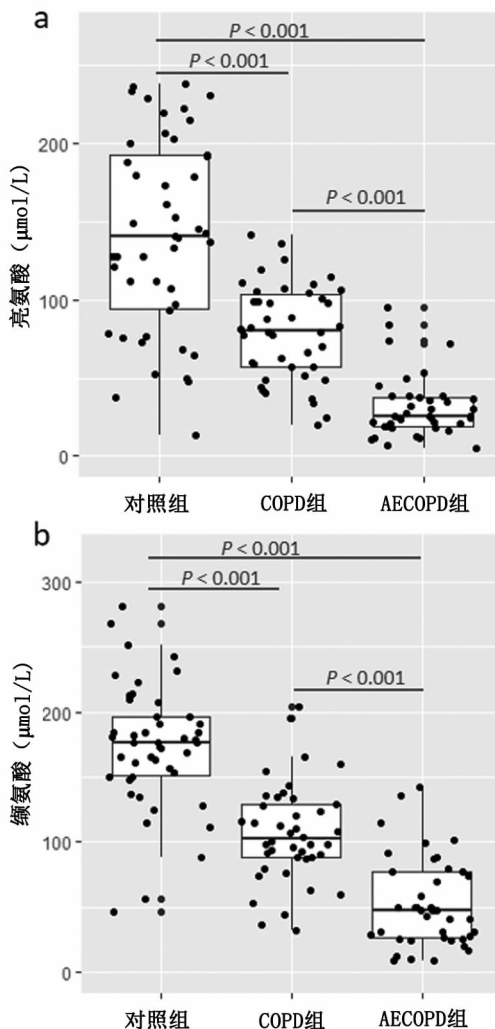


图 1 血浆亮氨酸、缬氨酸的水平比较(a 为亮氨酸水平;b 为缬氨酸水平)

分析:Spearman 相关分析显示,亮氨酸与 IL-8、CRP 水平呈负相关($r = -0.64, -0.71; P$ 均 < 0.01)。缬氨酸与 IL-8、CRP 水平呈负相关($r = -0.73, -0.73; P$ 均 < 0.05),见图 3。

5. 血浆亮氨酸、缬氨酸、IL-8、CRP 与疾病分期间的关联分析采用多元有序 Logistics 回归分析:有序 Logistic 回归分析示,COPD 患者血浆低水平亮氨酸或缬氨酸、高水平 IL-8 或 CRP,可能是 COPD 患

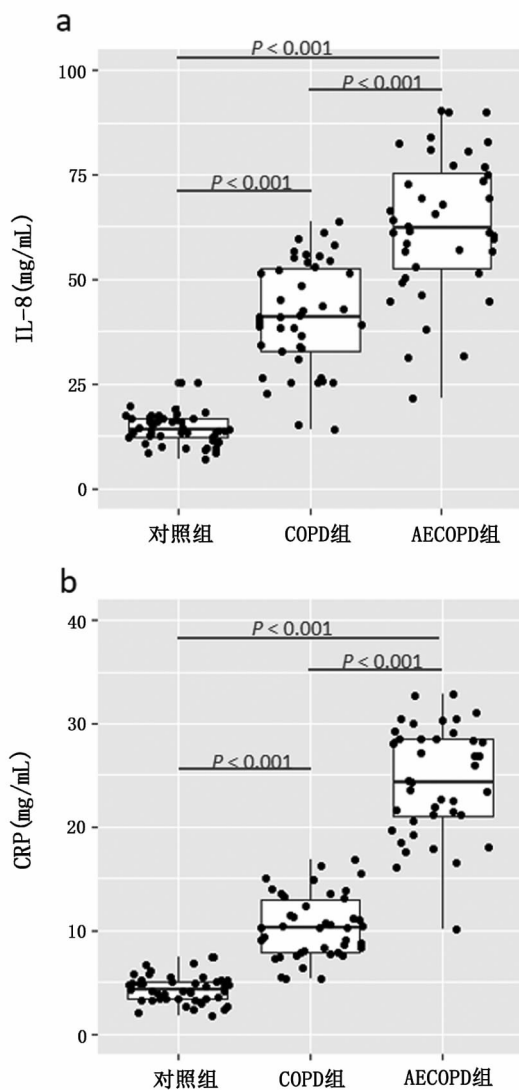


图2 3组血浆IL-8、CRP的水平比较(a为IL-8水平;b为CRP水平)

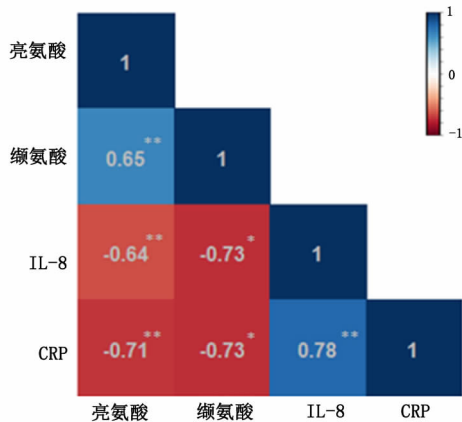


图3 3组血浆亮氨酸、缬氨酸与IL-8、CRP的相关性分析(* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$)

者急性加重的危险因素,见表2。

表2 多元有序 Logistic 回归分析结果

指标	OR 值	95% CI
亮氨酸	0.96	(0.94,0.97)
缬氨酸	0.96	(0.95,0.97)
IL-8	1.18	(1.13,1.24)
CRP	3.29	(2.27,5.51)

注:模型同时纳入年龄及 BMI

讨论

在 COPD 患者的气道壁和气道实质内巨噬细胞、T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞增多^[8],这些炎症细胞和气道结构细胞在 COPD 发病诱因如香烟烟雾的刺激下,产生炎症介质如 IL-6 及 IL-8 等。IL-6 及 IL-8 是中性粒细胞的趋化并引起组织损伤的重要细胞因子,趋化至炎症部位的中性粒细胞可产生中性粒细胞弹性蛋白酶和基质金属蛋白酶类物质,前者引起杯状细胞和黏膜腺体的增生及高分泌,阻塞小气道;后者可降解弹性蛋白、纤维连接蛋白和明胶等细胞外基质破坏正常肺泡结构,参与肺气肿的发生,共同参与 COPD 的发生发展^[9]。这些炎症介质在气道和周围组织中发挥作用,而外周血中的水平不能及时准确反映 COPD 患者的炎症变化。寻找 COPD 的炎症标志物,反映 COPD 患者在稳定期和急性加重期的炎症水平,可根据炎症水平制定不同的治疗方案。

人体内的 BCAAs 可以作为信号分子参与蛋白质合成、细胞的生长、增殖和衰老;既往研究发现 BCAAs 代谢在 2 型糖尿病、心血管、肿瘤等疾病中发挥重要作用^[10]。在糖尿病患者中,高水平的 BCAAs 可干扰肌肉细胞脂肪酸氧化代谢,进而导致脂酰肉碱堆积和胰岛素抵抗,影响胰岛细胞的代谢和分泌功能^[11];亮氨酸可以通过 mTOR 信号通路影响胰岛 β 细胞的衰老和增殖,抗糖尿病的药物可以阻断亮氨酸对 mTOR 的活化并改善胰岛细胞的异常增殖^[12]。有研究发现,心脏中增多的 BCAAs 可以通过 mTOR 信号通路促进大鼠心肌细胞凋亡、促进炎症因子 IL-6、肿瘤坏死因子(TNF)- α 、TNF- β 分泌以及胶原沉积,来加重心肌缺血导致的心脏重构和心力衰竭^[13],这些研究表明 BCAAs 可以影响心肌细胞的凋亡、炎症因子的分泌。在肿瘤的研究中发现,增多的 BCAAs 可能通过促进癌基因表达(如:

鼠肉瘤基因 Ras 和髓细胞原癌基因 Myc 等) 和 mTOR 信号通路促进肿瘤的生长^[13]。BCAAs 可以反映机体内的炎症水平。

有研究报道 COPD 稳定期血浆中 BCAAs 的表达水平下降,可能与肌肉蛋白质的分解代谢增强,低脂肪饮食及高胰岛素浓度相关^[15,16],在大豆蛋白中补充 BCAAs 可增强 COPD 患者的全身蛋白合成率,改变患者器官间蛋白质代谢,有利于 COPD 患者的外周肌肉蛋白的合成^[17]。通过检测 BCAAs,可区分 COPD 患者和健康者^[18]。有研究证实 AECOPD 患者中 BCAAs 的表达水平下降,与肺功能的下降相关,但目前没有研究报道 BCAAs 的表达水平与炎症水平的关系,验证 BCAAs 作为 AECOPD 生物标志物的可能性^[19,20]。本研究发现 COPD 组患者与对照组比较,血浆亮氨酸、缬氨酸水平明显降低(P 均 < 0.05),而在 AECOPD 组患者中血浆亮氨酸、缬氨酸水平下降程度更明显。在 COPD 稳定期和急性加重期,血浆亮氨酸、缬氨酸水平与炎症反应呈负相关,提示 BCAAs 可以反应炎症水平,也有可能成为 AECOPD 的血清学指标。本研究 COPD 患者亮氨酸、缬氨酸水平可反映 COPD 不同时期的炎症水平,可预测 COPD 的急性加重,为 COPD 的抗炎治疗提供依据。

参 考 文 献

- 1 Wang C, Xu J, Yang L, et al. Prevalence and risk factors of chronic obstructive pulmonary disease in China (the China Pulmonary Health CPH) study: a national cross-sectional study[J]. *Lancet*, 2018, 391(10131):1706-1717.
- 2 Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030[J]. *PLoS Med*, 2006, 3(11):e442.
- 3 李锋,周新.慢性阻塞性肺疾病的发病机制研究进展[J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2019, 18(1): 88-92.
- 4 石宝玉,张洁,张芬.血清组织蛋白酶 S、颗粒蛋白前体、趋化因子配体 12 与慢性阻塞性肺疾病急性加重风险的关系[J]. *内科急危重症杂志*, 2023, 29(5): 377-380, 396.
- 5 Arany Z, Neinst M, et al. Branched chain amino acids in metabolic disease [J]. *Curr Diab Rep*, 2018, 18(10): 76.
- 6 Shah SH, Bain JR, Muehlbauer MJ, et al. Association of a peripheral blood metabolic profile with coronary artery disease and risk of subsequent cardiovascular events[J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2010, 3:207-214.
- 7 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013 年修订版)[J]. *中国医学前沿杂志(电子版)*, 2014, 6(2): 67-80.
- 8 Di Stefano A, Maestrelli P, Roggeri A, et al. Upregulation of adhesion molecules in the bronchial mucosa of subjects with chronic obstructive bronchitis[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1994, 149(3 Pt 1): 803-810.
- 9 Barnes PJ. Cellular and molecular mechanisms of asthma and COPD [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2017, 131(13): 1541-1558.
- 10 Neinst M, Murashige D, Arany Z. Branched Chain Amino Acids [J]. *Annu Rev Physiol*, 2019, 81: 139-164.
- 11 White PJ, Lapworth AL, An J, et al. Branched-chain amino acid restriction in Zucker-fatty rats improves muscle insulin sensitivity by enhancing efficiency of fatty acid oxidation and acyl-glycine export [J]. *Mol Metab*, 2016, 5(7): 538-551.
- 12 Melnik BC. Leucine signaling in the pathogenesis of type 2 diabetes and obesity [J]. *World J Diabetes*, 2012, 3(3): 38-53.
- 13 Wang W, Zhang F, Xia Y, et al. Defective branched chain amino acid catabolism contributes to cardiac dysfunction and remodeling following myocardial infarction [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2016, 311(5): H1160-H1169.
- 14 Sivanand S, Vander Heiden MG. Emerging roles for branched-chain amino acid metabolism in cancer [J]. *Cancer Cell*, 2020, 37(2): 147-156.
- 15 刘佳,刘海文,姚婷,等.串联质谱法观察慢性阻塞性肺疾病患者外周血氨基酸水平变化特点[J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2021, 20(8): 542-548.
- 16 Engelen MP, Wouters EF, Deutz NE, et al. Factors contributing to alterations in skeletal muscle and plasma amino acid profiles in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Clin Nutr*, 2000, 72(6): 1480-1487.
- 17 Engelen MP, Rutten EP, De Castro CL, et al. Supplementation of soy protein with branched-chain amino acids alters protein metabolism in healthy elderly and even more in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Clin Nutr*, 2007, 85(2): 431-439.
- 18 Ubhi BK, Riley JH, Shaw PA, et al. Metabolic profiling detects biomarkers of protein degradation in COPD patients [J]. *Eur Respir J*, 2012, 40(2): 345-355.
- 19 Yu B, Claudia F, Robert MG, et al. Metabolomics identifies novel blood biomarkers of pulmonary function and COPD in the general population [J]. *Metabolites*, 2019, 9(4): 61.
- 20 Peng L, You H, Xu MY, et al. A novel metabolic score for predicting the acute exacerbation in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2023, 18: 785-795.

(2024-03-28 收稿 2024-04-19 修回)