

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.26.020  
文章编号: 1005-8982 (2018) 26-0104-04

## 支气管哮喘患者血清细胞因子、NLRP3 mRNA 及诱导痰黏蛋白水平的变化

王春娜

(内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院, 内蒙古 包头 014010)

**摘要: 目的** 探讨支气管哮喘患者外周血中单个核细胞 Nod 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NLRP3) mRNA、血清白细胞介素-2 (IL-2)、IL-6、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、诱导痰黏蛋白水平的变化及其意义。**方法** 选取 2013 年 1 月-2014 年 12 月在该院确诊的 80 例支气管哮喘患者作为哮喘组, 同期收集健康自愿者 80 例作为对照组。检测两组患者外周血 NLRP3 mRNA, 以及血清 IL-2、IL-6、TNF- $\alpha$ 、诱导痰黏蛋白 MUC5AC 水平, 并进行分析。**结果** 哮喘组患者 NLRP3 mRNA, 以及血清 IL-6、TNF- $\alpha$ 、MUC5AC 水平高于对照组 ( $P < 0.05$ ); 哮喘组患者 IL-2 水平低于对照组 ( $P < 0.05$ ); 急性发作期哮喘组患者 NLRP3 mRNA, 以及血清 IL-6、TNF- $\alpha$ 、MUC5AC 水平高于慢性持续期哮喘患者 ( $P < 0.05$ ); 急性发作期哮喘组患者 IL-2 水平低于慢性持续期哮喘患者 ( $P < 0.05$ )。哮喘组患者治疗后 NLRP3 mRNA, 以及血清 IL-6、TNF- $\alpha$ 、MUC5AC 水平较治疗前降低 ( $P < 0.05$ ); 哮喘组患者治疗后 IL-2 水平高于治疗前 ( $P < 0.05$ )。**结论** 哮喘患者 NLRP3 mRNA 及血清 IL-6、TNF- $\alpha$ 、MUC5AC 水平升高, IL-2 水平降低, 并且与患者病情变化有关。

**关键词:** NLRP3 mRNA; 细胞因子; 诱导痰; 黏蛋白; 支气管哮喘

**中图分类号:** R562.2

**文献标识码:** A

## Changes of serum cytokines, NLRP3 mRNA and induced sputum mucin in patients with bronchial asthma

Chun-na Wang

(The First Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou, Inner Mongolia Autonomous Region 014010, China)

**Abstract: Objective** To investigate the expression of NOD-like receptor heat protein domain-related protein 3 (NLRP3) mRNA in peripheral blood mononuclear cells, and serum levels of interleukin 2 (IL-2), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and induced sputum mucin in the patients with bronchial asthma and their significance.

**Methods** Eighty patients with bronchial asthma (asthma group) and 80 healthy volunteers (control group) diagnosed in our hospital from January 2013 to December 2014 were selected. The levels of NLRP3 mRNA, IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$ , induced sputum mucin MUC5AC were compared and analyzed. **Results** The level of NLRP3 mRNA, and the serum levels of IL-6, TNF- $\alpha$  and MUC5AC in the asthmatic group were significantly higher than those in the control group ( $P < 0.05$ ); the level of IL-2 in the asthmatic group was significantly lower than that in the control group ( $P < 0.05$ ). The levels of NLRP3 mRNA, serum IL-6, TNF- $\alpha$  and MUC5AC in the patients with acute asthma were significantly higher than those in the patients with chronic persistent asthma ( $P < 0.05$ ); the level of IL-2 in the patients with acute asthma was significantly lower than that in the patients with chronic persistent asthma ( $P < 0.05$ ). In the asthma group, the levels of NLRP3 mRNA, serum IL-6, TNF- $\alpha$ , and MUC5AC after treatment decreased significantly compared to those before treatment ( $P < 0.05$ ); the level of IL-2 after treatment was significantly higher

than that before treatment ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The levels of NLRP3 mRNA, serum IL-6, TNF- $\alpha$  and MUC5AC increase and IL-2 decreases in asthmatic patients, and these indicators are correlated with the patients' condition.

**Keywords:** NLRP3 mRNA; cytokine; induced sputum; mucin; bronchial asthma

支气管哮喘是临床常见的肺部过敏性疾病, 由多种炎症细胞、炎症因子所致气道高反应性, 以缺乏喘息、可逆性气道阻塞、气道高分泌为主要特征, 病程较长, 病情易迁延, 反复发作, 对患者的日常生活、工作产生严重影响<sup>[1]</sup>。支气管哮喘一旦确诊后应及时治疗, 避免延误最佳治疗时机而引发一系列并发症。该疾病的发病机制较为复杂, 部分研究指出, 气道黏液过度分泌、炎症反应是其病理特征, 与气道重塑有关<sup>[2]</sup>。外周血中, 单个核细胞 Nod 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (nucleotide-binding oligomerization domain-leucine-rich repeats containing pyrin domain 3, NLRP3) mRNA、血清炎症因子, 如血清白细胞介素-2 (interleukin-2, IL-2)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、诱导痰黏蛋白 MUC5AC 水平在支气管哮喘的发病中发挥重要作用, 但其发病机制尚未明确。本文选取 80 例支气管哮喘患者与 80 例健康志愿者并检测其 NLRP3 mRNA、血清因子、诱导痰黏蛋白水平, 分析以上因子在支气管哮喘发病中的变化, 现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2013 年 1 月-2014 年 12 月在该院确诊的 80 例支气管哮喘患者作为哮喘组, 同期收集健康自愿者 80 例作为对照组。哮喘组男性 48 例、女性 32 例; 年龄 26 ~ 72 岁, 平均 (48.1 $\pm$ 11.0) 岁; 其中, 急性发作期 43 例、慢性持续期 37 例; 病程 12 ~ 60 个月, 平均 (34.0 $\pm$ 16.0) 个月。对照组男性 44 例、女性 36 例; 年龄 22 ~ 70 岁, 平均 (46.7 $\pm$ 12.8) 岁。两组研究对象的年龄、性别比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 具有可比性。

### 1.2 纳入与排除标准

**1.2.1 纳入标准** ①支气管哮喘患者的诊断标准参考 2008 年中华医学会呼吸病学分会哮喘学组制定的《支气管哮喘防治指南》<sup>[3]</sup>; ②年龄  $\geq 18$  岁; ③健康自愿者经肺功能检查、胸片等检查均正常; ④实验经本院伦理委员会审批, 所有患者知情同意。

**1.2.2 排除标准** ①肺癌; ②慢性阻塞性肺疾病、

肺炎、肺间质性疾病等肺部疾病; ③心力衰竭、高血压、糖尿病、脑卒中病史; ④近 2 个月有免疫抑制剂、糖皮质激素类药物应用史。

### 1.3 检测方法

所有患者在入院后第 2 天上午 8:00 空腹抽取肘静脉血 3 ml, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液。采用放射免疫法检测 IL-2、IL-6、TNF- $\alpha$  水平, 试剂盒购自上海西唐生物科技有限公司。采用酶联免疫吸附法检测 MUC5AC 水平, 试剂盒由北京博奥森生物技术有限公司提供。使用荧光定量聚合酶链反应检测 NLRP3 mRNA 水平, 试剂盒由北京爱必信生物技术有限公司提供。

### 1.4 治疗方法

所有患者吸入福莫特罗粉/布地奈德吸入剂 (批准文号: 国药准字 H20060454, 江苏正大天晴药业股份有限公司), 1 次/d, 1 喷/次, 18  $\mu$ g/喷, 共治疗 7 d。

### 1.5 统计学方法

数据分析采用 SPSS 16.0 统计软件, 计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 比较用独立样本  $t$  检验或配对  $t$  检验; 计数资料以率 (%) 表示, 比较用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组患者血清细胞因子、NLRP3 mRNA 及诱导痰黏蛋白水平比较

两组患者 NLRP3 mRNA, 以及血清 IL-2、IL-6、TNF- $\alpha$ 、MUC5AC 水平比较, 经  $t$  检验, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 哮喘组患者的 NLRP3 mRNA, 以及血清 IL-6、TNF- $\alpha$ 、MUC5AC 水平高于对照组, IL-2 水平低于对照组。见表 1。

### 2.2 不同病情患者血清细胞因子、NLRP3 mRNA 及诱导痰黏蛋白水平比较

急性发作期与慢性持续期哮喘患者的 NLRP3 mRNA, 以及血清 IL-2、IL-6、TNF- $\alpha$ 、MUC5AC 水平比较, 经  $t$  检验, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 急性发作期哮喘患者的 NLRP3 mRNA, 以及血清 IL-6、

表 1 两组患者血清细胞因子、NLRP3 mRNA 及诱导痰黏蛋白水平比较 ( $n=80, \bar{x} \pm s$ )

组别	NLRP3 mRNA	IL-2/ (pg/ml)	IL-6/ (mg/L)	TNF- $\alpha$ / ( $\mu$ g/L)	MUC5AC/ ( $\mu$ g/ml)
哮喘组	1.70 $\pm$ 0.20	21.63 $\pm$ 3.18	70.51 $\pm$ 4.96	1.55 $\pm$ 0.41	26.82 $\pm$ 5.39
对照组	1.05 $\pm$ 0.16	38.17 $\pm$ 4.90	56.84 $\pm$ 5.51	0.59 $\pm$ 0.14	12.33 $\pm$ 2.07
<i>t</i> 值	22.699	25.326	16.492	19.819	22.447
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

TNF- $\alpha$ 、MUC5AC 水平高于慢性持续期哮喘患者，IL-2 水平低于慢性持续期哮喘患者。见表 2。

### 2.3 治疗前后患者血清细胞因子、NLRP3 mRNA 及诱导痰黏蛋白水平比较

治疗前后患者 NLRP3 mRNA, 以及血清 IL-2、

IL-6、TNF- $\alpha$ 、MUC5AC 水平比较, 经 *t* 检验, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 哮喘组患者治疗后的 NLRP3 mRNA, 以及血清 IL-6、TNF- $\alpha$ 、MUC5AC 水平较治疗前降低, IL-2 水平高于治疗前。见表 3。

表 2 不同病情患者血清细胞因子、NLRP3 mRNA 及诱导痰黏蛋白水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	NLRP3 mRNA	IL-2/ (pg/ml)	IL-6/ (mg/L)	TNF- $\alpha$ / ( $\mu$ g/L)	MUC5AC/ ( $\mu$ g/ml)
急性发作期组( $n=43$ )	2.21 $\pm$ 0.19	17.69 $\pm$ 2.96	76.63 $\pm$ 4.12	1.89 $\pm$ 0.40	30.11 $\pm$ 4.93
慢性持续期组( $n=37$ )	1.53 $\pm$ 0.18	25.03 $\pm$ 3.00	66.21 $\pm$ 4.48	1.26 $\pm$ 0.36	21.06 $\pm$ 5.00
<i>t</i> 值	23.239	15.578	15.313	10.471	11.528
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 3 治疗前后患者血清细胞因子、NLRP3 mRNA 及诱导痰黏蛋白水平比较 ( $n=80, \bar{x} \pm s$ )

时间	NLRP3 mRNA	IL-2/ (pg/ml)	IL-6/ (mg/L)	TNF- $\alpha$ / ( $\mu$ g/L)	MUC5AC/ ( $\mu$ g/ml)
治疗前	1.70 $\pm$ 0.20	21.63 $\pm$ 3.18	70.51 $\pm$ 4.96	1.55 $\pm$ 0.41	26.82 $\pm$ 5.39
治疗后	1.28 $\pm$ 0.21	32.29 $\pm$ 5.51	60.49 $\pm$ 4.77	0.83 $\pm$ 0.37	15.96 $\pm$ 4.11
<i>t</i> 值	17.737	20.522	17.833	15.967	19.623
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

## 3 讨论

支气管哮喘是一种慢性炎症性疾病, 其发病率约为 1% ~ 4%, 因淋巴细胞、肥大细胞、嗜酸性粒细胞等多种炎症细胞所致气道高反应性, 诱发咳嗽、胸闷、痰鸣音为主要病症, 对患者生活质量产生影响。早期诊断对临床治疗、改善患者预后具有重要作用<sup>[4]</sup>。临床发现, NLRP3 mRNA、IL-2、IL-6、TNF- $\alpha$ 、MUC5AC 在支气管哮喘的发病过程中具有重要作用<sup>[5]</sup>。

NLRP3 mRNA 属于一种细胞质内的多蛋白聚合物, 是固有免疫系统的重要组成部分, 其成分为核苷酸结合寡聚化结构域受体、半胱氨酸蛋白酶-1、凋亡相关点样蛋白<sup>[6-7]</sup>。NLRP3 mRNA 在细胞质内有重要的模式识别受体, 可以感知细胞内病原微生物、代谢物, 组装炎症复合体, 调控促炎细胞因子进行修

饰、活化<sup>[8]</sup>。气道黏液高分泌是支气管哮喘的临床病理特征, MUC5AC 是黏液中的重要分泌黏蛋白成分, 属于大分子糖蛋白, 常表达于气管与主支气管中<sup>[9]</sup>。MUC5AC 主要通过上调 MUC5AC 基因表达、刺激黏蛋白颗粒胞吐作用, 增加气道黏液分泌量, 在气道黏液与纤毛间相互作用, 影响气道黏膜黏弹性与排痰量<sup>[10]</sup>。

TNF- $\alpha$  具有双重生物学作用, 是机体免疫防护介质, 同时也参与机体免疫病理损伤, 在正常机体内含量较少, 但当患者机体出现感染, 防卫能力下降时, 会刺激单核细胞产生大量 TNF- $\alpha$ , 促进炎症反应<sup>[11-12]</sup>。IL-6 是单核巨噬细胞产生的小分子量活性多肽, 是炎症反应中的重要调节介质, 能够有效诱导纤维蛋白原启动凝血因子, 促进血管炎症部位的纤维母细胞增生<sup>[13-14]</sup>。IL-2 也被称为 T 细胞生长因子, 由 Th1 细

胞分泌，能够有效调控免疫系统中白细胞活性<sup>[15]</sup>。本研究中，哮喘组患者 NLRP3 mRNA，以及血清 IL-6、TNF- $\alpha$ 、MUC5AC 水平的高于对照组；哮喘组 IL-2 水平低于对照组，这佐证了上述分析，同时也提示血清细胞因子、NLRP3 mRNA、MUC5AC 的确参与了支气管哮喘的发病过程，与哮喘、支气管扩张关系密切。

布地奈德福莫特罗作为治疗支气管哮喘的常规用药，其主要成分为布地奈德与福莫特罗，具有高效局部抗炎作用，抑制嗜酸性粒细胞、T 淋巴细胞等炎症细胞活性，舒张痉挛支气管，减轻气道炎症，改善肺功能。本研究发现，哮喘组患者治疗后 NLRP3 mRNA，以及血清 IL-6、TNF- $\alpha$ 、MUC5AC 水平较治疗前降低，IL-2 水平高于治疗前，提示血清细胞因子、NLRP3 mRNA、MUC5AC 水平能够作为评判支气管哮喘预后的指标，其水平变化与疗效相关。

为进一步明确血清细胞因子、NLRP3 mRNA、MUC5AC 水平在支气管哮喘疾病中的变化，本研究观察其在不同病情患者机体中的变化，结果显示，急性发作期哮喘患者的 NLRP3 mRNA，以及血清 IL-6、TNF- $\alpha$ 、MUC5AC 水平高于慢性持续期哮喘患者；急性发作期哮喘患者的 IL-2 水平低于慢性持续期哮喘患者，这说明血清细胞因子、NLRP3 mRNA、MUC5AC 水平能够准确反映患者气道炎症的严重程度，对临床观察病情、诊断疾病具有重要作用。临床应对可疑支气管哮喘患者定期检测以上因子水平变化，为预防疾病恶化、临床制定治疗方案、改善患者预后具有重要价值。

本研究创新性在于不仅对比支气管哮喘与健康者的血清细胞因子、NLRP3 mRNA、诱导痰黏蛋白水平，而且还分析以上因子在不同病情患者机体中的变化，以准确、有效的实验数据证实以上因子在支气管哮喘病中的作用，其表达水平可作为临床评价支气管哮喘病情的有效指标，对临床治疗提供新的思路。但因样本量有限，其结论仍需大样本、前瞻性研究加以证实。

综上所述，哮喘患者 NLRP3 mRNA 及血清 IL-6、TNF- $\alpha$ 、MUC5AC 水平升高，IL-2 水平降低，并且与患者病情变化有关。

#### 参 考 文 献：

- [1] CHEN C L, LI H, XING X H, et al. Effect of TRPV1 gene mutation on bronchial asthma in children before and after treatment[J]. Allergy Asthma Proceedings, 2015, 36(2): 29.
- [2] 刘力兴, 贾钦尧. 支气管哮喘患者外周血单个核细胞 NLRP3 mRNA 和血清 IL-18、IL-1 $\beta$  的表达和研究 [J]. 临床和实验医学杂志, 2016, 28(4): 345-347.
- [3] 陈连保, 柴协力, 史员聪. 支气管哮喘患者肺炎支原体感染的临床分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2015, 17(3): 613-614.
- [4] 王至婉, 李建生, 余学庆, 等. 支气管哮喘不同时期证候演变规律的临床调查研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2016, 39(2): 136-139.
- [5] 张涵, 马晶, 张云凌, 等. 肺炎支原体经 ROS 激活 NLRP3 炎性体诱导 RAW264.7 细胞分泌 IL-1 $\beta$  [J]. 中国病理生理杂志, 2015, 31(12): 2244-2248.
- [6] ROGALA B, BOZEK A, GLUCK J, et al. Prevalence of IgE-mediated allergy and evaluation of Th1/Th2 cytokine profiles in patients with severe bronchial asthma[J]. Advances in Dermatology Allergology, 2015, 32(4): 274-280.
- [7] 张维康, 潘灵辉. NOD 样受体蛋白 3 炎症小体在呼吸机相关性肺损伤中的作用机制研究 [J]. 中华危重病急救医学, 2015, 29(10): 821-825.
- [8] 吴彪, 庄探月, 程东良, 等. 支气管哮喘合并感染性肺炎患儿对血小板指标、炎症因子水平及 Th1/Th2 比值的影响观察 [J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(24): 5716-5719.
- [9] 罗炜, 杨超培, 王慧, 等. 诱导痰 MUC5AC 在嗜酸性粒细胞性支气管炎和支气管哮喘患者中的差异分析 [J]. 重庆医学, 2016, 45(11): 1560-1562.
- [10] 罗炜, 杨超培, 王慧, 等. 嗜酸性粒细胞性支气管炎与支气管哮喘患者诱导痰黏蛋白水平的差异机制研究 [J]. 实用医学杂志, 2015, 10(17): 2815-2818.
- [11] 罗庆, 朱恒涛, 冯琨, 等. 慢性鼻-鼻窦炎中缺氧诱导因子 1 $\alpha$  的表达及与黏蛋白分泌的关系 [J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2015, 50(2): 138-144.
- [12] 唐丹, 梁萍, 郑燕, 等. 小儿支气管哮喘 H2S 表达情况及其与炎性介质的相关性分析 [J]. 现代预防医学, 2017, 44(6): 1019-1022.
- [13] 丁伟伟, 杨程, 童佳兵, 等. 细菌脂多糖对 16HBE 细胞 IL-6、TNF- $\alpha$  和 MUC5AC 表达的影响 [J]. 广东医学, 2015, 36(17): 2673-2675.
- [14] 陈啸洪, 李华浚, 姚欢银, 等. 外周血 Th17 和 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> 调节性 T 细胞 - 变化与患儿支气管哮喘活动状态的相关性研究 [J]. 中国全科医学, 2015, 19(8): 969-971.
- [15] 黄伟强, 李惠, 袁梅, 等. 支气管哮喘患者外周血 T 细胞亚群 Th1、Th2 及其相关细胞因子水平变化及意义 [J]. 山东医药, 2015, 16(20): 40-41.

(童颖丹 编辑)