

益气活血消癥方对 COPD 患者的疗效及 TGF- β 1/smad 信号通路的影响*

王 玮¹, 吴海斌², 王晓然³, 王 琦^{2**}

(1. 重庆市中医院呼吸科 重庆 400011; 2. 北京中医药大学东方医院 北京 100078;
3. 唐山市中医院呼吸科 唐山 063000)

摘 要:目的:观察益气活血消癥方对 COPD 稳定期患者的临床疗效及可能的作用机制。方法:将 55 例慢性阻塞性肺疾病稳定期患者随机分为治疗组 28 例,对照组 27 例。对照组给予西医常规治疗。治疗组在常规治疗的基础上加用益气活血消癥方治疗。两组疗程均为 8 周。治疗前后检测中医主要症状、中医证候评分、CAT、SpO₂及治疗后检测血清因子(包括 TGF- β 1、smad2、smad3 和 smad7),然后评价主症总分、证候积分、CAT 量表、SpO₂及血清因子的疗效。结果:治疗 8 周后治疗组患者主症积分、中医证候积分、CAT 均较治疗前明显降低,SpO₂较前明显升高;且主症积分、肺气虚、脾气虚、痰阻症状评分、CAT 值明显低于对照组,SpO₂明显高于对照组。治疗组主症总分总有效率为 53.57%,明显高于对照组的 2.7%。治疗组治疗前后 CAT 差值 $d > 2$ 分且高于对照组。治疗组血清 TGF- β 1、Smad3 含量较对照组降低,Smad7 含量较对照组升高,以上差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论:益气活血消癥方治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期患者不仅能改善患者症状、生活质量、慢性缺氧状态等,同时对于血清中 TGF- β 1/Smad 信号通路上的相关蛋白也有影响,这可能是该方干预慢阻肺的分子生物学机制。该方以益气活血、消癥通络的治法从而影响“肺络微型癥瘕”形成,其聚散调节的关键点在于 TGF- β 1/Smad 信号通路。同时,也反证了“微型癥瘕痹阻肺络”这一病机假说的合理性。

关键词:慢性阻塞性肺疾病 微型癥瘕痹阻肺络 益气活血消癥 TGF- β 1/smad 信号通路

doi:10.11842/wst.2019.04.014 中图分类号:R259 文献标识码:A

慢性阻塞性肺疾病(Chronic Obstructive Pulmonary Disease, COPD)简称慢阻肺,是一种可以防治的常见疾病,其特征为持续存在的呼吸道症状和气流受限,通常由有害颗粒/气体暴露引起的气道和(或)肺泡异常所致***。COPD 发病率、致死率逐年上升,严重威胁人类健康。王琦教授通过多年临床实践经验总结,对 COPD 的病因病机、辨证分型、治法及方药有独到的见解,认为该病属于本虚标实,并立足于“微型癥瘕痹阻

肺络”的病机本质,通过培补肺、脾、肾之气虚,通达肺络中的痰、瘀、癥瘕达到“通”的目的,治法选用益气活血消癥法为主,方予益气活血消癥方。本试验以慢性阻塞性肺疾病稳定期患者为研究对象,通过收集相应的指标结果,同时予以检测血清中 TGF- β 1·smad⁻¹ 信号通路上的相关因子,以探讨益气活血消癥方对慢性阻塞性肺疾病稳定期患者的治疗作用并探讨其作用机制,为深入挖掘中医药治疗慢性阻塞性肺疾病的潜在优势提供依据。

收稿日期:2019-01-18

修回日期:2019-03-19

* 北京市科技重大专项(Z1714100001017020):基于“毒损肺络”理论采用中药干预小气道阻塞的多中心随机分组平行对照研究,负责人:王琦。

** 通讯作者:王琦,教授,主任医师,研究方向:中西医结合治疗慢性肺系疾病。

*** Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of COPD, Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 2017[DB/OL]. <http://goldcopd.org>.

1 材料与方法

1.1 研究对象

本研究病例来源于2014年9月至2016年12月北京中医药大学东方医院呼吸热病科门诊就诊的慢性阻塞性肺疾病稳定期患者共60例。按随机数字表分对照组30例,治疗组30例。试验过程中,对照组2例患者因急性加重退出,1例患者因缺乏疗效,违反研究方案剔除;治疗组1例患者因急性加重退出,1例患者因事不能继续试验退出。故共55例患者统计资料完整,其中对照组27例,治疗组28例。对照组男性18人,女性9人;年龄为 69.6 ± 7.50 岁;BMI为 24.83 ± 3.73 ;呼吸频率为 18.9 ± 1.06 次/分;心率为 76.97 ± 6.54 次/分;吸烟指数为 298 ± 370.80 ;非高危职业16人,高危职业患者13人;肺功能严重程度分级:I级11人,II级14人,III级2人。治疗组男性19人,女性19人;年龄为 67.83 ± 6.77 岁;BMI为 24.71 ± 3.70 ;呼吸频率为 18.73 ± 0.98 次/分;心率为 80.03 ± 6.52 次/分;吸烟指数为 202.79 ± 234.32 ;非高危职业者15人,高危职业患者13人;肺功能严重程度分级:I级8人,II级19人,III级1人。两组患者一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 纳入标准和排除标准

1.2.1 纳入标准

①西医诊断、分级、分期标准根据中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组《慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013年修订版)》^[1]制定;中医辨证标准参照国家中医药管理局《中医病证诊断疗效标准》^[2]、《慢性阻塞性肺疾病中医证候诊断标准(2011版)》^[3]及《中医内科学》^[4]中“肺胀”拟定COPD气虚血瘀痰阻证:主症:咳嗽、乏力、神疲、易感冒、喘息、气短、动则加重、纳呆、腰膝酸软、痰多、色白质粘,口黏腻、面色紫暗、唇甲青紫;次症:自汗、恶风、食少、胃脘痞满、腹胀、便溏、面目虚浮、头晕、耳鸣、小便频数、夜尿多、咳而遗尿、痰多泡沫、痰易咳出、胸闷、胸痛;舌苔:舌质暗或有瘀斑,舌下脉络可见甚至迂曲、粗乱,苔腻。脉象:滑或沉细涩。具备2项主症或1项主症2项兼证及舌脉特征者即可诊断为肺脾肾气虚血瘀痰阻证;②符合GOLD分级中的I级-III级;1符合病情严重程度分级标准中的稳定期;③符合中医辨证分型标准的气虚血瘀痰阻证;④年龄40岁-80岁;⑤自愿接受治疗并签署知情同意书。

1.2.2 排除标准

①近1周内急性加重;②合并心脑血管、肺、肾、

肝、造血系统等严重原发性疾病者;③精神病患者;④妊娠或哺乳期妇女;⑤对本试验药物过敏;⑥近3个月内同时参与其他临床试验者。

1.3 研究方法

本研究采用随机平行对照临床试验设计。

1.3.1 治疗方法

对照组:根据我国《慢性阻塞性肺疾病诊治指南》(2013修订版)结合本院药物使用情况制定给药。轻症患者在必要时吸入短效支气管扩张剂(异丙托溴铵气雾剂)或茶碱缓释片;中等程度患者(AECOPD平均每年 < 1 次)吸入长效支气管扩张剂(噻托溴铵粉吸入剂),若症状仍持续,应用沙美特罗替卡松;严重程度患者(AECOPD平均每年 > 1 次)应用沙美特罗替卡松联合长效支气管扩张剂(噻托溴铵粉吸入剂)±茶碱缓释片。

治疗组:以上西医治疗基础上加用益气活血消癥方加减。益气活血消癥方组成:生黄芪、鳖甲、水蛭、地龙、赤芍、当归等。中药颗粒剂,根据患者辨证施治,灵活加减,由北京康仁堂药业有限公司制作,1剂/日,2次/日,早晚饭半小时后服用。治疗时间2个月(共8周)。

1.3.2 观察指标和方法

(1)中医症状

主要症状:参照《中医病证诊断疗效标准》^[2]及《中药新药临床研究指导原则(试行)》^[5]制定症状分级量化标准。包括:喘息、胸闷、咳嗽频率、咳嗽持续时间、咯痰、痰量、气短、神疲、乏力、懒言等。

中医证候观察表:参照《中医病证诊断疗效标准》^[2]及《中药新药临床研究指导原则(试行)》^[5]制定证候观察表。包括:肺气虚证:咳嗽,气短,易患感冒,自汗,恶风;脾气虚证:乏力,纳呆,食后腹胀,大便异常,口淡不渴,恶心,呕吐;肾气虚证:喘息,腰膝酸软,耳鸣,浮肿,齿松,发脱,夜尿频;血瘀证:胸痛(刺痛、痛有定处),肌肤甲错,舌质紫暗,舌体瘀斑、瘀点;痰阻证:咳痰,胸闷,形体肥胖,苔腻。

中医疗效标准:参考《中药新药临床研究指导原则(试行)》^[5]将治疗后状况分为临床控制、显效、有效、无效四个等级,并将临床控制、显效和有效病例数合并计算总有效率。依据尼莫地平法判定:疗效指数(n) = (治疗前总积分-治疗后总积分)/治疗前总积分 $\times 100\%$ 临床控制:症状消失或基本消失, $n \geq 95\%$;显效:症状明显改善, $70\% \leq n < 95\%$;有效:症状好转, $30\% \leq n < 70\%$;无效:症状减轻不明显或加重, $n < 30\%$ 。

表1 两组症状积分疗效比较($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组($n=27$)		治疗组($n=28$)	
	入组时	治疗后	入组时	8周后
主症总分	14.93 ± 2.94	12.79 ± 2.21 [△]	13.73 ± 3.40	9.41 ± 3.34 ^{*△}
肺气虚	6.17 ± 2.55	4.59 ± 1.96 [△]	5.87 ± 2.56	3.36 ± 1.85 ^{*△}
脾气虚	6.43 ± 2.88	4.76 ± 2.43 [△]	5.53 ± 2.18	3.39 ± 1.79 ^{*△}
肾气虚	8.50 ± 3.77	6.72 ± 3.39 [△]	7.30 ± 3.77	6.00 ± 4.21 [△]
血瘀	3.00 ± 2.39	2.83 ± 1.97	3.07 ± 2.39	2.14 ± 2.10 [△]
痰阻	6.00 ± 1.36	5.52 ± 1.53 [△]	5.30 ± 1.86	4.43 ± 1.95 ^{*△}

注:^{*}与对照组比较 $P < 0.05$,[△]与入组时比较 $P < 0.05$ 。

表2 主症总分有效率比较(例[%])

组别	n	临床控制	显效	有效	无效	总有效率
对照组	27	0(0%)	0(0%)	1(3.7%)	26(96.30%)	3.70%
治疗组	28	0(0%)	0(0%)	15(53.57%)	13(46.43%)	53.57%

表3 CAT比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	入组时	8周后	d值
对照组	27	17.40 ± 5.10	15.34 ± 4.62 [△]	2.41 ± 2.96
治疗组	28	15.90 ± 5.77	10.64 ± 3.99 ^{*△}	5.64 ± 3.67 [*]

注:与对照组比较^{*} $P < 0.05$,[△]与入组时比较 $P < 0.05$ 。

表4 SpO₂比较($\bar{x} \pm s$, %)

组别	n	入组时	8周后
对照组	27	93.14 ± 1.99	93.89 ± 2.47 [△]
治疗组	28	93.96 ± 1.86	96.57 ± 1.40 ^{*△}

注:与对照组比较^{*} $P < 0.05$,[△]与入组时比较 $P < 0.05$ 。

表5 TGF- β 1/Smad信号通路相关蛋白比较/ng·L⁻¹($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组($n=27$)	治疗组($n=28$)
TGF- β 1	1392.76 ± 273.44	1159.95 ± 223.56 [*]
Smad2	1071.35 ± 185.22	1017.30 ± 169.56
Smad3	328.24 ± 82.64	233.48 ± 90.48 [*]
Smad7	163.93 ± 32.47	193.96 ± 28.80 [*]

注:与对照组比较^{*} $P < 0.05$ 。

(2) 生活质量评估问卷(CAT量表)

若治疗前后各指标差值CAT评估测试 ≥ 2 分即表示有效。

(3) 通过无创血氧饱和度测试仪测量手指经皮血氧饱和度(SpO₂)

治疗前后两次测的值比较,并比较两组治疗前后各项指标的前后差值(差值=治疗前数值-治疗后数值)。以上指标分别于入组时、治疗后8周各采集1次。

(4) 血清因子

经8周治疗后抽取静脉血,应用Elisa法测定TGF- β 1(Abcam公司,批号ab25121)、smad2(Abcam公司,批

号ab40855)、smad3(Abcam公司,批号ab40854)和smad7(Abcam公司,批号ab190987)。

1.4 统计学方法

采用SPSS22.0软件,组间比较,计量资料用独立样本t检验或非参数检验;计数资料用Wilcoxon秩和检验。组内比较,采用配对t检验或非参数检验进行比较。校验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 中医证候治疗前后比较

2.1.1 中医主症及证候积分前后比较

对照组和治疗组患者的各项目疗效积分(表1)。入组前,主症总分、肺气虚、脾气虚、肾气虚、血瘀、痰阻比较差异均无统计学差异($P > 0.05$)。两组治疗后的主症总分、肺气虚、脾气虚、肾气虚、痰阻积分及治疗组血瘀积分较治疗前减少差异有统计学差异($P < 0.05$)。治疗组治疗后的主症总分、肺气虚、脾气虚、痰阻积分较对照组低,差异有统计学差异($P < 0.05$)。

2.1.2 治疗前后中医主症积分疗效比较

由表2所示,治疗8周后,对照组主症总分总有效率为3.7%,治疗组总有效率为53.57%,两组患者有效率比较有统计学差异($P < 0.05$)。

2.2 治疗前后CAT量表比较

由表3所示,两组治疗前后组内比较均有统计学差异($P < 0.05$);8周后治疗组CAT较对照组低,差异有统计学意义($P < 0.05$);对照组和治疗组8周后CAT与入组时的CAT差值d均大于2,且治疗组d大于对照组d值,有统计学差异($P < 0.05$)。

2.3 SpO₂治疗前后比较

由表4所示,两组治疗前后SpO₂比较均有统计学差异($P < 0.05$);8周后治疗组SpO₂高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.4 血清因子

由表5所示,治疗组患者血清中的TGF- β 1、Smad3含量明显低于对照组,治疗组患者血清中的Smad7含量明显高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),但两组患者血清中Smad2的含量差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 总结与讨论

慢阻肺是一种主要累及肺脏,也可引起全身(肺

外)不良反应的疾病。由于解剖结构和病理生理的损伤,外周气道阻塞、肺血管异常及肺实质破坏等改变造成导致肺功能的下降,肺内气体交换降低,产生低氧血症,进一步发展可出现高碳酸血症,导致呼吸、循环、中枢神经系统及肝肾功能的损害,严重影响着患者的生活质量。细胞外基质(Extracellular matrix, ECM)成分改变与异常沉积是导致COPD气道重构的主要病理改变之一^[6]。TGF- β 1是至今为止发现的最强细胞外基质沉积促进剂。TGF- β 1/Smads信号通路可以趋化炎症细胞、单核巨噬细胞,趋化及促进成纤维细胞增殖、成熟分化,促进细胞外基质合成,促进血管生成以及其他细胞因子相互作用从而形成气道重构^[7]。

在“肺络微型癥瘕”病机^[9]的指导下,我们选用益气活血消癥方治疗慢性阻塞性肺疾病在临床及实验方面均取得了较好的效果^[9-10]。益气活血消癥方组成中,生黄芪是补气之要药,为君,补益肺脾肾之气虚。配伍水蛭、地龙、鳖甲可行可走之品,为臣药,起消癥通肺络之功。其中,水蛭咸、苦、平,归肝经,咸能走血,苦能散结。地龙味咸、寒,归肝、脾、膀胱经,功能清热熄风、通络、平喘、利尿。鳖甲咸、微寒,归肝、肾经,功能滋阴潜阳,软坚散结,主癥块。君臣合用,通补互参,动静相宜,使气虚得补,癥瘕可消;同时当归、赤芍等,起活血化癥之功,均为佐药。全方共奏益气活血,消癥通络之功。

益气活血消癥方能够较好的改善患者的主症、肺气虚、脾气虚、痰阻等症状,肾气虚及血瘀方面可能由于治疗时间不足,尚未体现出优势。也反证了慢阻肺患者的病机属于肺脾肾气虚,肺络微型癥瘕痹阻肺络。CAT量表反应了患者的生活质量,说明益气活血

消癥方能够较好的改善患者的生活质量,这与中医的“整体观念”也是分不开的。经皮血氧饱和度(SpO_2)可以反映患者的缺氧程度和呼吸功能状况,与动脉血氧水平有良好的相关性^[10],说明益气活血消癥方能够提高血液中的氧含量,改善慢阻肺患者慢性缺氧的状态。

研究表明,益气活血消癥方能够降低TGF- β 1浓度,从该通路的源头上减少信号的传递;Smad3作为TGF- β 1的下游执行因子,浓度降低能够减少将信号由细胞膜传递至细胞核,均能抑制细胞外基质的异常沉积,从而延缓气道重构。Smad7也是TGF- β 1受体的直接作用底物,但是作为该信号通路的抑制因子,它可以阻止Smad2/3与T β R II-TGF β s-T β R I三聚体复合物结合,其浓度增高可以增加防止信号传至细胞核的能力,更进一步抑制细胞外基质的异常沉积,从而防止气道重构的发生。这也说明益气活血消癥方治疗慢阻肺气道重构的潜在的分子学机制可能是通过降低TGF- β 1、Smad3,提高Smad7两个方面来调节TGF- β 1/Smad信号通路而抑制胶原沉积、改善气道重构,从而减轻以上临床症状、提高生活质量等。

综上所述,益气活血消癥方在临床指标及分子生物学指标方面均有一定的疗效。该方不仅能改善患者症状、生活质量、心肺功能、慢性缺氧状态等,同时对于血清中TGF- β 1/Smad信号通路上的相关蛋白也有影响,这可能是该方改善相应临床指标的分子生物学机制。同时,也反证了“微型癥瘕痹阻肺络”这一病机假说的合理性。该方以益气活血、消癥通络的治法通过聚散调节从而影响“肺络微型癥瘕”形成,其聚散调节的关键点在于TGF- β 1/Smad信号通路。

参考文献

- 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013年修订版). 中国医学前沿杂志(电子版), 2014, 6(2): 67-80.
- 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准. 中医药管理杂志, 1994, 7(6): 2.
- 中华中医药学会内科分会肺系病专业委员会. 慢性阻塞性肺疾病中医证候诊断标准(2011版). 中医杂志, 2012, 53(2): 177-178.
- 周仲瑛. 中医内科学. 北京: 中国中医药出版社, 2008.
- 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行). 北京: 中国医药科技出版社, 2002.
- Parameswaran K, Willems-Widyastuti A, Alagappan V K T, et al. Role of extracellular matrix and its regulators in human airway smooth muscle biology. *Cell Biochem Biophys*, 2006, 44(1): 139-146.
- Postma D S, Timens W. Remodeling in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 2006, 3(5): 434-439.
- 王琦, 吴海斌, 张永生, 等. “肺络微型癥瘕”与COPD气道重构的相关性探讨. 北京中医药大学学报, 2012, 35(2): 130-133.
- 王玮, 吴海斌, 王琦, 等. 益气化痰祛瘀方治疗COPD稳定期临床疗效观察. 北京中医药大学学报, 2015, 38(11): 777-780.
- 白晓旭, 焦扬, 王琦, 等. 益气消癥方对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠MMP-9和TIMP-1表达的影响. 中华中医药杂志, 2014, 29(6): 1974-1977.
- Liu J, Chen R, Zhong N S. Application of capnography and SpO_2 measurement in the evaluation of respiratory failure in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Journal of Southern Medical University*, 2010, 30(7): 1565-1568.

Effect of Yiqi Huoxue Xiaozheng Decoction on COPD Patients and Its Influence of TGF- β 1/sm α d Signaling Pathway

Wang Wei¹, Wu Haibin², Wang Xiaoran³, Wang Qi²

(1. Respiratory Department, Chongqing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 400011, China;

2. Dongfang Hospital Affiliated to Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China;

3. Respiratory Department, Tangshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hebei 063000, China)

Abstract: This study was aimed to explore the clinical effect of Yiqi Huoxue Xiaozheng Decoction on stable chronic obstructive pulmonary disease patients and its possible mechanism. A total of 55 stable COPD patients were randomly divided into the treatment group (28) and the control group (27). The control group was given conventional western medicine treatment and the treatment group was given conventional treatment western medicine treatment combined with Yiqi Huoxue Xiaozheng Decoction. The patients were treated for 8 weeks. Before and after treatment, main symptoms, TCM syndromes, CAT and SpO₂ of patients and serum factor including TGF- β 1, sm α d2, sm α d3 and sm α d7 were examined after treatment. Result: showed that after 8 weeks of treatment, the main symptom, TCM syndrome and CAT in the treatment group were significantly lower than those before treatment, and SpO₂ increased significantly compared with that before. After treatment, main symptoms, lung qi deficiency, spleen qi deficiency, phlegm resistance symptoms and CAT of the treatment group were significantly lower than those in the control group, and SpO₂ was significantly higher than that in the control group. The total effective rate of main symptom of the treatment group was 53.57%, which was significantly higher than that of the control group, and it was 2.7%. The difference of CAT before and after the treatment > 2 in the treatment group was higher than that of the control group. The content of TGF- β 1 and Sm α d3 in the treatment group was lower than that of the control group, and the content of Sm α d7 was higher than that of the control group. Those difference was statistically significant ($P < 0.05$). Conclusion: Yiqi Huoxue Xiaozheng Decoction can improve symptoms, quality of life and chronic hypoxia of stable COPD patients, While the decoction can influence the protein of TGF- β 1/sm α d Signaling Pathway. That may be a molecular biological mechanism for the decoction to intervene the chronic obstructive pulmonary disease. Yiqi Huoxue Xiaozheng Decoction affects the formation of "lung collaterals micro Zhengjia" by yiqi huoxue xiaozheng tongluo. Its key point is TGF- β 1/Sm α d signaling pathway. At the same time, it also reflects the rationality of the pathogenesis hypothesis of "micro Zhengjia blocks pulmonary collaterals".

Keywords: Chronic obstructive pulmonary disease, micro Zhengjia blocked pulmonary collaterals, yiqi huoxue xiaozheng, TGF- β 1/Sm α d signaling pathway

(责任编辑:刘 宁,责任译审:王 昭)