

·临床研究·

## 加味参附姜苓汤对围月经期咳嗽变异性哮喘患者血清 MMP-2、MMP-9 及 TIMP-1 表达的影响

陈世伟<sup>1,2</sup>, 李卫青<sup>1,2</sup>, 李巨奇<sup>1,2</sup>, 王建国<sup>3\*</sup>

(1.深圳市罗湖区人民医院, 广东 深圳 518001; 2.深圳市第五人民医院, 广东 深圳 518001;

3.湖南中医药大学中医诊断学湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410007)

**[摘要]** **目的** 研究加味参附姜苓汤对围月经期咳嗽变异性哮喘患者血清金属基质蛋白酶-2(MMP-2)、金属基质蛋白酶-9(MMP-9)及金属基质蛋白酶抑制剂-1(TIMP-1)表达的影响,探讨其治疗围月经期咳嗽变异性哮喘的作用机制。**方法** 将围月经期咳嗽变异性哮喘患者80例,随机分为治疗组和对照组各40例。治疗组服用加味参附姜苓汤治疗,对照组口服氨茶碱缓释片联合酮体芬片治疗,疗程3个月。观察两组疗效及治疗前后血清MMP-2、MMP-9及TIMP-1表达变化。**结果** 治疗组总有效率为90.0%,对照组为72.5%,治疗组疗效优于对照组( $P<0.05$ )。治疗后两组血清MMP-2、MMP-9及TIMP-1表达水平显著降低( $P<0.05, P<0.01$ ),且治疗组降低较对照组显著( $P<0.05, P<0.01$ )。**结论** 加味参附姜苓汤对围月经期咳嗽变异性哮喘具有较好的疗效,其可能通过下调患者血清MMP-2、MMP-9及TIMP-1表达而发挥治疗作用。

**[关键词]** 咳嗽变异性哮喘;围月经期;加味参附姜苓汤;金属基质蛋白酶-2;金属基质蛋白酶-9;金属基质蛋白酶抑制剂-1

[中图分类号]R256.12

[文献标识码]B

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2016.02.018

### Effect of Modified Shenfu Jiangling Decoction on the Expression of Serum MMP-2, MMP-9 and TIMP-1 in Premenstrual and Menstrual Cycle Patients with Cough Variant Asthma

CHEN Shiwei<sup>1,2</sup>, LI Weiqing<sup>1,2</sup>, LI Juqi<sup>1,2</sup>, WANG Jianguo<sup>3\*</sup>

(1.Shenzhen Luohu People's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518001, China; 2.The Fifth People's Hospital of Shenzhen City, Shenzhen, Guangdong 518001, China; 3.Hunan Provincial Key Laboratory of Diagnostics in Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the influence of modified Shenfu Jiangling Decoction on serum MMP-2, MMP-9 and TIMP-1 in premenstrual and menstrual cycle patients with cough variant asthma. **Methods** 80 patients with cough variant asthma in premenstrual and menstrual cycle were randomly divided into the treatment group (40 cases) and the control group (40 cases). The treatment group was treated with modified Shenfu Jiangling Decoction, the control group was treated with aminophylline sustained-release tablets combined with finland ketone tablets, the course for 3 months. The serum MMP-2, MMP-9 and TIMP-1 expression levels by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results** The total effective rate in the treatment group was 90%, the control group with 72.5%, the effect of treatment group was superior to the control group ( $P<0.05$ ). The level of MMP-2, MMP-9 and TIMP-1 of the treatment group were significantly decreased ( $P<0.05, P<0.01$ ), and the decrease degree of treatment group was better than control group ( $P<0.05, P<0.01$ ). **Conclusion** The modified Shenfu Jiangling Decoction showed good curative effect on patients with cough variant asthma in premenstrual and menstrual cycle. Its mechanism may be associated with down-regulation the expression levels of serum MMP-2, MMP-9 and TIMP-1.

**[Keywords]** cough variant asthma; premenstrual and menstrual cycle; Jiawei Shenfu Jiangling Decoction; MMP-2; MMP-9; TIMP-1

[收稿日期]2015-08-01

[基金项目]广东省中医药科学技术计划项目(20142133)

[作者简介]陈世伟,男,副主任中医师,研究方向:肺系疾病中医证治规律的临床研究。

[通讯作者]\*王建国,男,副主任医师, E-Mail: 707973244@qq.com.

围月经期咳嗽变异性哮喘是一种特殊的咳嗽变异性哮喘,多发于育龄期妇女,约占哮喘妇女的30%~40%<sup>[1-2]</sup>。围月经期咳嗽变异性哮喘仅表现为慢性、反复发作性咳嗽,月经前及月经期加重,临床体查、辅助检查均无明显肺部阳性及感染性指征<sup>[3-4]</sup>。当前研究显示,围月经期咳嗽变异性哮喘病理生理表现为气道慢性非特异性炎症及气道细胞外基质降解与结构重塑<sup>[3-4]</sup>;细胞外基质合成与降解平衡失衡是引起围月经期咳嗽变异性哮喘气道炎症与气道重塑的重要因素<sup>[5-6]</sup>,而金属基质蛋白酶-2(MMP-2)、金属基质蛋白酶-9(MMP-9)及其抑制剂-1(TIMP-1)是重要的细胞外基质代谢限速酶,其中MMP-2、MMP-9具有促进基质降解的作用,TIMP-1抑制MMP-2、MMP-9活性,使细胞外基质降解减少,沉积增多,导致结构重塑<sup>[7-8]</sup>。陈世伟教授认为,围月经期咳嗽变异性哮喘基本病机是热入血室,肺肾阳虚,痰瘀内结<sup>[9]</sup>,临证每以加味参附姜苓汤治之,疗效显著。本研究拟探讨加味参附姜苓汤对围月经期咳嗽变异性哮喘患者血清MMP-2、MMP-9及TIMP-1的影响,以明确其作用机制,为临床应用提供科学依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2014年9月-2015年1月于深圳市罗湖区人民医院中医科就诊的围月经期咳嗽变异性哮喘患者80例,随机分为治疗组和对照组各40例。治疗组平均年龄(32.72±5.48)岁,平均病程(54.17±24.99)月;对照组平均年龄(32.90±6.11)岁,平均病程(51.72±23.72)月。两组患者年龄、病程差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。本研究经深圳市罗湖区人民医院伦理委员会审查通过。

### 1.2 病例选择

1.2.1 诊断标准 符合咳嗽的诊断与治疗指南(2009版)<sup>[10]</sup>中咳嗽变异性哮喘相关诊断标准,并且符合月经前期4d、月经期及月经后3d哮喘发作或者加重的标准。

1.2.2 纳入标准 (1)符合诊断标准;(2)年龄18~40岁;(3)自愿参加,签署知情同意书。

1.2.3 排除标准 (1)肺结核、肺癌、哮喘;(2)严重肝、肾功能不全、心功能衰竭等心、肺、肾疾病;(3)

精神意识障碍者;(4)入选本次研究前2周曾使用过糖皮质激素者;(5)2周内服用过白三烯受体调节剂者。

### 1.3 治疗方法

治疗组服用加味参附姜苓汤,方药组成:制附片10g(先煎1h),干姜15g,红参15g(另炖,冲服),茯苓30g,五味子15g,细辛10g,柴胡15g,黄芩10g,法半夏10g,乌药10g(后下),鸡血藤30g,淫羊藿30g,炙甘草15g。所有中药饮片均由深圳市罗湖区人民医院药剂科统一购制及发药。每日1剂,水煎,早晚2次分服。对照组予以口服氨茶碱缓释片(修正药业集团股份有限公司,0.1g/片)0.1~0.2g,3次/d;酮体芬片(海南制药厂有限公司制药一厂,1mg/片)1mg,1次/d。两组连续治疗3个月。

### 1.4 血清MMP-2、MMP-9及TIMP-1表达水平检测

两组患者均于治疗前日清晨和治疗结束后次日清晨,空腹采集外周静脉血,3000r/min,离心10min,取血清,采用双抗体夹心酶联免疫吸附法检测血清MMP-2、MMP-9及TIMP-1表达水平。试剂盒由博士德生物工程有限公司提供。按试剂盒说明书进行检测。

### 1.5 疗效评价标准<sup>[10]</sup>

显效:治疗期间和疗程结束后,哮喘消失,随访3个月不复发;有效:治疗期间和治疗结束后,哮喘发作明显减少、程度减轻;无效:治疗前后,哮喘发作次数无明显减少,程度也无明显减轻。

### 1.6 统计学分析

采用SPSS19.0进行统计学分析。计量资料用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,采用 $t$ 检验;计数资料采用 $\chi^2$ 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组疗效比较

治疗组的临床疗效优于对照组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。结果见表1。

表1 两组临床疗效比较 (例)

组别	<i>n</i>	显效	有效	无效	总有效率(%)
治疗组	40	28	8	4	90.0*
对照组	40	19	10	11	72.5

注:与对照组比较 \* $P<0.05$ 。

## 2.2 两组治疗前后 MMP-2、MMP-9 及 TIMP-1 表达水平比较

治疗前两组患者血清 MMP-2、MMP-9 及 TIMP-1 表达水平差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ); 治疗后两组各项指标均明显降低 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), 且治疗组降低更显著 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。提示加味参附姜苓汤可下调围月经期咳嗽变异性哮喘血清 MMP-2、MMP-9 及 TIMP-1 表达。结果见表 2。

表 2 两组血清 MMP-2、MMP-9 及 TIMP-1 表达水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别		MMP-2	MMP-9	TIMP-1
		(pg/L)	(ng/L)	(ng/L)
治疗组 (n=40)	治疗前	2017.07±73.81	370.30±17.77	292.16±21.35
	治疗后	1401.94±148.86 <sup>##△</sup>	250.25±26.34 <sup>##△</sup>	204.52±27.19 <sup>##△△</sup>
对照组 (n=40)	治疗前	2014.88±73.40	367.20±14.72	304.58±19.75
	治疗后	1516.81±140.96 <sup>#</sup>	274.36±23.29 <sup>#</sup>	234.38±37.37 <sup>#</sup>

注:与治疗前比较 #  $P<0.05$ , ##  $P<0.01$ ; 与对照组治疗后比较  $\Delta P<0.05$ ,  $\Delta\Delta P<0.01$ 。

## 3 讨论

作为咳嗽变异性哮喘的一种特殊的亚型,围月经期咳嗽变异性哮喘临床症状较单纯的月经性哮喘更为隐匿。李卫青、陈世伟教授认为,女性生理特点表现为:月经前期阳盛阴消,阴充阳盛肾阳由盛趋衰;月经期激素水平降低,阳气至重,重阳转阴;月经后期,血海空虚,肾阴不充;月经间期重阴转阳,阴阳转化。当上述周期循环失常时,病情日久,反复发作,肾精虚耗,累及肺中阳气,水津输布失职,聚液生痰,久病成瘀,痰瘀互结,则形成围月经期咳嗽变异性哮喘“肺肾阳虚,痰瘀内结”的基本病机<sup>[5]</sup>,临床多采用加味参附姜苓汤治疗,取得满意疗效。加味参附姜苓汤以苓甘五味姜辛汤温补肺阳,四逆汤温固肾阳,小柴胡汤调畅枢机,解血室之邪,三方合一,三阴同治;并纳入乌药温肾纳气,法夏降气化痰,鸡血藤补血调经、活血通络,淫羊藿温肾助阳,固元阳之根本。诸药合用,共奏温补肺肾、化痰祛瘀调畅枢机之功。然其确切的作用机制尚不明确,科学的实证依据缺失,极大影响了该方药的临床应用。

有研究认为,围月经期咳嗽变异性哮喘的主要病机是气道慢性非特异性炎症及气道细胞外基质降解与结构重塑<sup>[3-4,11]</sup>。新近研究表明,细胞外基质代谢限速酶 MMP-2、MMP-9 及其抑制剂 TIMP-1 系统

失衡是引起炎症及气道细胞外基质降解与结构重塑的关键因素<sup>[6-7]</sup>。MMP-2、MMP-9 是降解 IV 型胶原的主要蛋白酶,通过激活基质 TGF- $\beta$ 1 等释放及诱导细胞增殖、分化参与气道重塑,并通过降解血管及上皮下胶原成分促进新的血管及上皮形成而导致气道纤维化<sup>[8-9,12-13]</sup>。TIMP-1 是 MMPs 活性主要抑制剂之一,通过与 MMP-2、MMP-9 的催化位点结合或与酶原的某些位点结合而抑制 MMP-2、MMP-9 活性,使细胞外基质降解减少,并使其降解产物在黏膜下层聚集,引起气道壁增厚,促使气道重塑的发生及进展<sup>[8-9,14]</sup>,被认为是气道重塑的标志。因此,调节 MMP-2、MMP-9 及 TIMP-1 表达水平,抑制气道慢性非特异性炎症及气道重塑是治疗围月经期咳嗽变异性哮喘的新的策略和药物靶点。

本研究结果显示,治疗前两组患者 MMP-2、MMP-9 水平均较高,提示 MMP-2、MMP-9 通过激活基质 TGF- $\beta$ 1 等释放及诱导细胞增殖、分化,降解血管及上皮下胶原成分促进新的血管及上皮形成而参与围月经期咳嗽变异性哮喘的慢性非特异性炎症及气道重塑。在 MMP-2、MMP-9 高表达的同时, TIMP-1 亦随之升高,提示炎症反应过程中 MMP-2、MMP-9 的增高刺激 TIMP-1 反应性增高,促进胶原纤维的异常增生及过度沉积,促使气道重塑的发生及进展。经加味参附姜苓汤治疗后,实验组患者 MMP-2、MMP-9 及 TIMP-1 表达均下降,且显著优于对照组,提示加味参附姜苓汤可能通过调节 MMP-2、MMP-9 及 TIMP-1 的表达而发挥其治疗作用。

## 参考文献:

- [1] Skoczyński S, Semik-Orzech A, Szanecki W, et al. Perimenstrual asthma as a gynecological and pulmonological clinical problem[J]. Adv Clin Exp Med, 2014,23(4):665-668.
- [2] Rao CK, Moore CG, Bleecker E, et al. Characteristics of perimenstrual asthma and its relation to asthma severity and control: data from the Severe Asthma Research Program [J]. Chest, 2013,143(4):984-992.
- [3] Suzuki K, Hasegawa T, Sakagami T, et al. Analysis of perimenstrual asthma based on questionnaire surveys in Japan[J]. Allergol Int, 2007,56(3):249-255.
- [4] Dratva J, Schindler C, Curjurić I, et al. Perimenstrual increase

虚、心虚、肾虚、阴虚、阳虚证素所占比例逐渐增多,符合久病必虚,久病及肾,久病必瘀临床特点。人的情志活动依赖于气的升降出入功能正常,肝主疏泄,调畅气机,协调脾胃升降,协助心调节情志活动,而久患慢性前列腺炎易致肝气郁结,气机不畅,肝木克土,脾失运化,升降失调,痰湿内生,郁久化热,蕴结下焦,阻塞精窍,升至上焦,蒙蔽清窍,表现精神抑郁。《血证论》曰:“运血者,即是气”,肝气郁滞,气血不畅,气滞血瘀,瘀阻精道。《医方集解》说:“人之精与志皆藏于肾,肾精不足则志气衰,不能上通于心,故迷惑善忘也。”肾虚则水火不济,心肾不交,心主神志功能失调,亦表现情志抑郁。

通过对该病证候要素分布研究,可看出慢性前列腺炎伴抑郁症病机早期多以实证为主,后期表现为虚实夹杂证候,实证多以肝郁气滞、痰湿证、气滞血瘀、湿热蕴结常见,虚证多以心脾气虚、肾阴、肾阳、肾气亏虚常见。可见肾虚肝郁、肝郁脾虚、心脾两虚是其本,肝郁气滞、痰湿蕴结、气滞血瘀是其标,病性为虚实夹杂证。如有学者<sup>[9-11]</sup>亦认为湿热挟瘀是其基本病机,随病程延长,出现肾虚兼证。该病辨证分型是多种多样的,临床以复合证型多见。本次调查样本量有限,如果能通过大样本多中心的调查分析,使证候要素的辨证标准更加客观、实用,再运用证候要素进行证候组合,则既能使辨证更加规范

性,论治上也更有整体性和针对性,必将为其临床的诊治和科研带来新的生机。

#### 参考文献:

- [1] 郑筱萸.中药新药临床研究指导原则(试行)[S].北京:中国医药科技出版社,2002:168-172.
- [2] 那彦群,叶章群,孙颖浩,等.中国泌尿外科疾病诊断治疗指南[S].北京:人民卫生出版社,2014:442-445.
- [3] 中华医学会精神科分会.中国精神障碍分类与诊断标准(第3版)(CCMD 3)[S].济南:山东科学技术出版社,2001:87.
- [4] 中华中医药学会脑病专业委员会.抑郁症中医证候诊断及治疗方案[J].北京中医药大学学报,2011,34(12):810-811.
- [5] 国家技术监督局.中华人民共和国标准-中医临床诊疗术语证候部分[S].北京:中国标准出版社,1997:1-17.
- [6] 国家中医药管理局.中华人民共和国中医药行业标准·中医病证诊断疗效标准[S].南京:南京大学出版社,1994:50.
- [7] 姚乃礼.中医证候鉴别诊断学[M].北京:人民卫生出版社,2002:37-455.
- [8] 邓云山.慢性前列腺炎患者抑郁状况分析[J].中国性科学,2012,21(9):5-6.
- [9] 周青,贺菊乔,王大进,等.1 083例慢性前列腺炎中医证型分布调查研究[J].湖南中医药大学学报,2008,28(6):71-73.
- [10] 贺哲淳,朱文雄,周亮,等.贺菊乔教授治疗慢性前列腺炎用药规律研究[J].湖南中医药大学学报,2013,33(11):68-70.
- [11] 陈好远,周安方,冯新玲,等.周安方教授辨证施治慢性前列腺炎[J].吉林中医药,2015,36(7):665-668.

(本文编辑 李杰)

#### (上接第67页)

- in bronchial hyperreactivity in premenopausal women: results from the population-based SAPALDIA 2 cohort [J]. J Allergy Clin Immunol,2010,125(4):823-829.
- [5] Birbian N, Singh J, Jindal SK. Highly Protective Association of MMP-2 -1306C/T Promoter Polymorphism With Asthma in a North Indian Population: A Pilot Study [J]. Allergy Asthma Immunol Res,2014,6(3):234-241.
  - [6] Barbaro MP, Spanevello A, Palladino GP, et al. Exhaled matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in different biological phenotypes of asthma[J]. Eur J Intern Med,2014,25(1):92-96.
  - [7] Kim JS, Kang JY, Ha JH, et al. Expression of nerve growth factor and matrix metalloproteinase-9/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in asthmatic patients [J]. J Asthma,2013,50(7):712-717.
  - [8] Firszt R, Francisco D, Church TD, et al. Interleukin-13 induces collagen type-1 expression through matrix metalloproteinase-2 and transforming growth factor-β1 in airway fibroblasts in asthma [J]. Eur Respir J,2014,43(2):464-473.

- [9] 方宇林,李卫青.李卫青治疗月经性咳嗽变异性哮喘经验[J].陕西中医,2015,31(2):7-8.
- [10] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组.咳嗽的诊断与治疗指南(2009版)[J].中华结核和呼吸杂志,2009,32(5):422-425.
- [11] Niimi A. Cough, asthma, and cysteinyl-leukotrienes [J]. Pulm Pharmacol Ther,2013,26(5):514-519.
- [12] Chen Y, Chen P, Hanaoka M, et al.Enhanced levels of prostaglandin E2 and matrix metalloproteinase-2 correlate with the severity of airflow limitation in stable COPD[J]. Respirology, 2008,13(7):1 014-1 021.
- [13] Grzela K, Zagorska W, Krejner A, et al.Prolonged Treatment with Inhaled Corticosteroids does not Normalize High Activity of Matrix Metalloproteinase-9 in Exhaled Breath Condensates of Children with Asthma[J]. Arch Immunol Ther Exp(Warsz),2015,63(3): 231-237.
- [14] Chaudhuri R, McSharry C, Brady J, et al.Low sputum MMP-9/TIMP ratio is associated with airway narrowing in smokers with asthma[J]. Eur Respir J,2014,44(4):895-904.

(本文编辑 马薇)