

本文引用:徐维国,崔蓉,岳崇梅,吴君华,李丹,谢佳俊.慢性阻塞性肺病患者 $\beta 2$ -AR基因多态性与复方薤白胶囊疗效的相关性研究[J].湖南中医药大学学报,2018,38(12):1440-1443.

慢性阻塞性肺病患者 $\beta 2$ -AR基因多态性与 复方薤白胶囊疗效的相关性研究

徐维国,崔蓉,岳崇梅,吴君华,李丹,谢佳俊
(绵阳市中心医院,四川绵阳621000)

[摘要] **目的** 研究慢性阻塞性肺病(COPD)患者 $\beta 2$ -肾上腺素受体($\beta 2$ -AR)编码区16、27位点基因多态性与复方薤白胶囊疗效的相关性。**方法** 选择2015年1月至2018年1月本院收治的COPD患者210例,均进行基因突变类型测序和复方薤白胶囊治疗,分别于治疗前、治疗第3天和第7天进行第1秒用力呼气量(FEV1)检测,并于治疗前、治疗第7天和第14天进行圣乔治呼吸问卷(SGRQ)调查及慢性阻塞性肺疾病评估测试(CAT)。**结果** 210例患者根据基因型分为野生型纯合子组97例、野生型与突变型基因杂合子组83例、突变型基因纯合子或杂合子组30例。治疗第3天和第7天,3组FEV1水平均显著升高且组间有差异($P < 0.05$),其中野生型纯合子组 $>$ 野生型与突变型基因杂合子组 $>$ 突变型基因纯合子或杂合子组($P < 0.05$)。治疗第7天和第14天,3组SGRQ评分及CAT评分均显著降低且组间有差异($P < 0.05$),其中野生型纯合子组低于野生型与突变型基因杂合子组及突变型基因纯合子或杂合子组($P < 0.05$)。**结论** $\beta 2$ -AR基因多态性会影响复方薤白胶囊疗效。

[关键词] 慢性阻塞性肺病; $\beta 2$ -肾上腺素受体;基因多态性;复方薤白胶囊

[中图分类号]R256.1;R563.1 **[文献标志码]**B **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2018.12.020

Association Between $\beta 2$ -Adrenergic Receptor Gene Polymorphisms and Clinical Outcome in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease Treated with Compound Xiebai Capsule

XU Weiguo, CUI Rong, YUE Chongmei, WU Junhua, LI Dan, XIE Jiajun
(Mianyang Central Hospital, Mianyang, Sichuan 621000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the association of the polymorphisms of loci 16 and 27 of $\beta 2$ -adrenergic receptor ($\beta 2$ -AR) coding region with the clinical outcome of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) treated with Compound Xiebai Capsule. **Methods** A total of 210 patients with COPD who were admitted to our hospital from January 2015 to January 2018 were enrolled and treated with Compound Xiebai Capsule. Gene mutation detection and sequencing were performed for all patients. Forced expiratory volume in 1 second (FEV1) was measured before treatment and on days 3 and 7 of treatment, and St. George's Respiratory Questionnaire (SGRQ) survey and COPD assessment test (CAT) were conducted before treatment and on days 7 and 14 of treatment. **Results** According to the genotype, 210 patients were divided into wild-type homozygote group with 97 patients, wild-mutant heterozygote group with 83 patients, and mutant homozygote/heterozygote group with 30 patients. On days 3 and 7 of treatment, the three groups had a significant increase in FEV1 and there was a significant difference between these groups ($P < 0.05$); the wild-type homozygote group had the highest FEV1, followed by the

[收稿日期]2018-05-16

[基金项目]四川省绵阳市卫生局科研计划(201314)。

[作者简介]徐维国,男,主任医师,博士,研究方向:慢性气道疾病,慢性阻塞性肺疾病、哮喘、睡眠呼吸暂停综合征等,E-mail:spownt@163.com。

wild-mutant heterozygote group and the mutant homozygote/heterozygote group ($P < 0.05$). On days 7 and 14 of treatment, the three groups had significant reductions in SGRQ and CAT scores and there were significant differences between these groups ($P < 0.05$); the wild-type homozygote group had significantly lower scores than the wild-mutant heterozygote group and the mutant homozygote/heterozygote group ($P < 0.05$). **Conclusion** $\beta 2$ -AR gene polymorphisms will affect the clinical outcome of patients treated with Compound Xiebai Capsule.

[**Keywords**] chronic obstructive pulmonary disease; $\beta 2$ -adrenergic receptor; gene polymorphism; Compound Xiebai Capsule

慢性阻塞性肺病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是慢性加重性呼吸系统性疾病,随着生活环境的改变,其患病人数逐年上升,相关调查显示, COPD 在中老年人群中发病率可达到 8% 以上^[1-2]。COPD 重要特征是不完全可逆性气流受限,慢性咳嗽、咳痰、气短、喘息、呼吸困难等是其主要临床表现^[3]。目前临床对 COPD 以药物治疗为主,复方薤白胶囊具有止咳平喘、祛痰抗炎之效^[4],是 COPD 治疗较为常用药物,但是其疗效并不相近。 $\beta 2$ -肾上腺素受体 ($\beta 2$ -AR) 是介导儿茶酚胺作用的一类组织受体,研究表明,其与 COPD 发生及发展相关^[5]。为探讨 $\beta 2$ -AR 基因多态性与复方薤白胶囊疗效的相关性,本研究对 210 例 COPD 患者进行 $\beta 2$ -AR 基因多态性分析,具体报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

将 2015 年 1 月至 2018 年 1 月本院收治的 210 例 COPD 患者作为研究对象,纳入标准:(1)符合中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组制定的 COPD 诊治指南^[6];(2)患者出现咳嗽、咳痰、胸闷、喘息、呼吸困难等症状;(3)肺功能测定结果显示混合性通气功能障碍;(4)患者及家属均签署知情同意书。排除标准:(1)合并严重心、肝、肾功能不全;(2)对相关药物过敏者;(3)哮喘;(4)合并弥漫性支气管炎;(5)合并放射性或过敏性肺炎;(6)拒绝参与本次研究。210 例患者中男 116 例,女 94 例,年龄 35~70(52.24±5.62)岁,病程 0.7~7(3.77±1.42)年。

1.2 方法

1.2.1 PCR 检测 (1)提取 DNA:抽取患者外周静脉血 2 mL,以水饱和酚/氯仿法提取染色体 DNA, DNA 浓度为 0.2~0.3 g/ μ L。(2)PCR 反应:引物根据相关文献^[7]设计,以等位基因特异性聚合酶链反应检测 $\beta 2$ -AR 编码区 16、27 位点基因 (分别为 Arg16Gly、Gln27Glu),Arg16Gly 多态性扩增引物序

列为正链 Arg16:5'-CTT CTT GCT GGC ACC CAA TA-3', Gly16:5'-CTT CTT GCT GGC ACC CAA TG-3', 反链:5'-CCA ATT TAG GAG GAT GTA AAC TTC-3'; Gln27Glu 多态性扩增引物序列为正链 Gln27:5'-GGA CCA CGA CGT CAC GCA GC-3', Glu27:5'-GGA CCA CGA CGT CAC GCA GG-3', 反链:5'-ACA ATC CAC ACC ATC AGA AT-3'。(3)PCR 产物测序:反应总体系 50 μ L (DNA 模板 1 μ L),于 94 $^{\circ}$ C 环境下预变性 5 min,再于 94 $^{\circ}$ C 环境下变性 2 min,16 位点和 27 位点分别于 55 $^{\circ}$ C 和 52 $^{\circ}$ C 退火 1 min,27 位点 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,循环 35 次,最后 1 次 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。

1.2.2 $\beta 2$ -AR 基因多态性检测 等位基因特异性聚合酶链反应产物+1%琼脂糖凝胶,电泳槽中进行电泳,电泳仪为 ECP3000 三恒电泳仪,以全自动紫外与可见分析装置观察分析,根据电泳带判断基因型。

1.2.3 治疗方法 所有患者均给予复方薤白胶囊 (江苏省中医院药材科制剂部,批号:370202A, 0.35 g/粒)口服,2.1 g/次,3 次/d,连续服用 14 d,治疗期间不再使用其他止咳平喘药物。

1.3 观察指标

(1)分别于治疗前、治疗第 3 天和第 7 天,采用意大利科时迈 PFT1 肺功能仪检测第 1 秒用力呼气量 (FEV₁)。(2)分别于治疗前、治疗第 7 天和第 14 天,对患者进行圣乔治呼吸问卷 (SGRQ)^[8]调查,一共包含 54 个条目与 3 个分问卷,分值范围为 0~100 分,分数越高表示对患者生活影响越严重。(3)分别于治疗前、治疗第 7 天和第 14 天,对患者进行慢性阻塞性肺疾病评估测试 (CAT)^[9],一共包含 8 个问题,各问题评分 0~5 分,总分值范围 0~40 分,分数越高表示患者健康状态越差。

1.4 统计学分析

数据分析采用 SPSS 20.0 软件。计数资料以 % 表示, χ^2 检验;计量资料采用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,两两比较行 t 检验,多组间比较行 F 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 β_2 -AR 基因多态性检测结果

210 例患者根据基因型分为野生型纯合子组、

野生型与突变型基因杂合子组、突变型基因纯合子或杂合子组,例数分别为 97 例、83 例、30 例。3 组患者一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 3 组患者一般资料比较

(例)

| 组别 | n | 性别 | | 年龄/ (岁, $\bar{x}\pm s$) | 病程/ (年, $\bar{x}\pm s$) | 吸烟史 | 饮酒史 | 合并症 | | |
|---------------|----|-------|----|-----------------------------|-----------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | 男 | 女 | | | | | 高血压 | 糖尿病 | 高脂血症 |
| 野生型纯合子组 | 97 | 53 | 44 | 52.57±5.81 | 3.66±1.39 | 35 | 29 | 23 | 16 | 11 |
| 野生型与突变型基因杂合子组 | 83 | 45 | 38 | 52.04±5.72 | 3.79±1.41 | 30 | 26 | 18 | 13 | 6 |
| 突变型基因纯合子或杂合子组 | 30 | 18 | 12 | 51.95±5.64 | 3.81±1.35 | 13 | 9 | 7 | 5 | 2 |
| χ^2/F 值 | | 0.324 | | 0.248 | 0.252 | 0.575 | 0.047 | 0.109 | 0.029 | 1.160 |
| P 值 | | >0.05 | | >0.05 | >0.05 | >0.05 | >0.05 | >0.05 | >0.05 | >0.05 |

2.2 3 组患者不同时间点 FEV1 水平比较

治疗前 3 组 FEV1 水平差异无统计学意义 ($P>0.05$);治疗第 3 天和第 7 天,3 组 FEV1 水平均显著升高且组间有差异,其中野生型纯合子组高于野生型与突变型基因杂合子组和突变型基因纯合子或杂合子组,突变型基因杂合子组高于突变型基因纯合子或杂合子组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 3 组患者不同时间点 FEV1 水平比较 ($\bar{x}\pm s, L$)

| 组别 | n | 治疗前 | 治疗第 3 天 | 治疗第 7 天 |
|---------------|----|-----------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| 野生型纯合子组 | 97 | 1.75±0.34 | 2.43±0.41* Δ \blacktriangle | 2.92±0.53* Δ \blacktriangle |
| 野生型与突变型基因杂合子组 | 83 | 1.69±0.37 | 2.15±0.39* Δ | 2.64±0.56* Δ |
| 突变型基因纯合子或杂合子组 | 30 | 1.67±0.38 | 1.96±0.42* | 2.39±0.51* |
| F 值 | | 0.917 | 20.221 | 13.319 |
| P 值 | | >0.05 | <0.05 | <0.05 |

注:与治疗前相比,* $P<0.05$;与突变型基因纯合子或杂合子组相比, $\Delta P<0.05$;与野生型与突变型基因杂合子组相比, $\blacktriangle P<0.05$

2.3 3 组患者不同时间点 SGRQ 评分比较

治疗前 3 组 SGRQ 评分差异无统计学意义($P>0.05$);治疗第 7 天和第 14 天,3 组 SGRQ 评分均显著降低且组间有差异,其中野生型纯合子组低于野生型与突变型基因杂合子组和突变型基因纯合子或杂合子组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

2.4 3 组患者不同时间点 CAT 评分比较

治疗前 3 组 CAT 评分差异无统计学意义($P>0.05$);治疗第 7 天和第 14 天,3 组 CAT 评分均显著降低且组间有差异,其中野生型纯合子组低于野生型与突变型基因杂合子组和突变型基因纯合子或杂合子组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

表 3 3 组患者不同时间点 SGRQ 评分比较 ($\bar{x}\pm s, 分$)

| 组别 | n | 治疗前 | 治疗第 7 天 | 治疗第 14 天 |
|---------------|----|------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 野生型纯合子组 | 97 | 61.42±5.54 | 57.03±4.82* Δ \blacktriangle | 53.41±4.56* Δ \blacktriangle |
| 野生型与突变型基因杂合子组 | 83 | 62.05±5.37 | 59.74±4.59* | 56.28±4.35* |
| 突变型基因纯合子或杂合子组 | 30 | 62.23±4.95 | 59.82±4.27* | 56.94±4.19* |
| F 值 | | 0.431 | 9.115 | 12.776 |
| P 值 | | >0.05 | <0.05 | <0.05 |

注:与治疗前相比,* $P<0.05$;与突变型基因纯合子或杂合子组相比, $\Delta P<0.05$;与野生型与突变型基因杂合子组相比, $\blacktriangle P<0.05$

表 4 3 组患者不同时间点 CAT 评分比较 ($\bar{x}\pm s, 分$)

| 组别 | n | 治疗前 | 治疗第 7 天 | 治疗第 14 天 |
|---------------|----|------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 野生型纯合子组 | 97 | 23.94±3.58 | 20.98±2.95* Δ \blacktriangle | 18.76±2.73* Δ \blacktriangle |
| 野生型与突变型基因杂合子组 | 83 | 24.36±3.71 | 22.71±3.04* | 20.33±2.51* |
| 突变型基因纯合子或杂合子组 | 30 | 24.58±3.64 | 22.74±3.15* | 20.61±2.64* |
| F 值 | | 0.498 | 8.802 | 10.459 |
| P 值 | | >0.05 | <0.05 | <0.05 |

注:与治疗前相比,* $P<0.05$;与突变型基因纯合子或杂合子组相比, $\Delta P<0.05$;与野生型与突变型基因杂合子组相比, $\blacktriangle P<0.05$

3 讨论

COPD 在中医中并无对应称呼,根据其症状表现,一般将之归为“喘证”“肺胀”“痹证”等范畴^[10]。患者咳嗽、哮喘、痰饮不退,迁延积重,导致阳气亏损,脏腑亏虚,气化失司,痰浊内生郁于肺,遏阻胸阳。复方薤白胶囊药物成分为薤白、瓜蒌、姜半夏、黄连,其中薤白化痰通阳,瓜蒌镇咳祛痰、解热利尿,姜半夏降逆止呕、化痰平喘,黄连清热燥湿、泻火解毒,合方共奏镇咳祛痰、清热解毒之效。曾亮等^[11]研究表示复方薤白胶囊能够明显减轻 COPD 模型大鼠支气管壁和平滑肌增厚,抑制气道重塑,延缓 COPD 发展。本

次结果中所有患者治疗后 FEV1 水平均显著升高, SGRQ 评分和 CAT 评分均显著降低,表明复方薤白胶囊对 COPD 患者具有一定治疗效果,可以改善患者肺功能,减轻疾病对生活造成的不良影响,提高机体健康水平。

研究表明,COPD 为环境与遗传因素共同作用的多基因疾病,且对相关影响基因进行分析,发现 $\beta 2$ -AR 基因改变会影响支气管和血管反应性^[12-13]。 $\beta 2$ -AR 基因完整序列最早是由 Kobika 等^[14]测出,该基因无内含子,由 7 个疏水残基组成跨膜结构,总共包含 413 个氨基酸。上世纪九十年代,Reishaus 等^[15]对 $\beta 2$ -AR 基因进行研究,结果发现其编码区存在多种碱基突变点,其中突变频率最高的两个位点是 16 和 27 位点。史有奎等^[16]研究表明, $\beta 2$ -AR 编码区 16、27 位点基因多态性可影响 COPD 患者肺功能。本次研究对 210 例患者进行外周静脉血 $\beta 2$ -AR 编码区 16、27 位点基因多态性检测,并根据基因型将其分为野生型纯合子组、野生型与突变型基因杂合子组、突变型基因纯合子或杂合子组。3 组 FEV1 水平检测结果显示,治疗第 3 天和第 7 天时,野生型纯合子组>野生型与突变型基因杂合子组>突变型基因纯合子或杂合子组,表示不同 $\beta 2$ -AR 编码区 16、27 位点基因型复方薤白胶囊治疗效果不一,肺功能改善程度不同。并且治疗第 7 天和第 14 天时,野生型纯合子组 SGRQ 评分和 CAT 评分均低于野生型与突变型基因杂合子组与突变型基因纯合子或杂合子组,说明带有突变型基因组复方薤白胶囊治疗效果会受到影响。

综上,本次研究从基因层次揭示了 COPD 患者外周静脉血 $\beta 2$ -AR 基因多态性,多角度评价了复方薤白胶囊对 COPD 患者治疗效果,并得出了 $\beta 2$ -AR 基因多态性会影响复方薤白胶囊疗效的结论,临床可通过分析 COPD 患者 $\beta 2$ -AR 基因多态性来评估复方薤白胶囊疗效。但本次研究亦存在不足,未探讨患者体内复方薤白胶囊浓度和其在体内产生的活性代谢产物对效果的影响,且仅研究 16 和 27 位点基因多态性,未分析 $\beta 2$ -AR 其它位点基因多态性对复方薤白胶囊疗效的影响,因此还需扩大样本量再

进行更加深入的研究。

参考文献:

- [1] 陈学昂,李素云,王明航,等.慢性阻塞性肺疾病急性加重期预后影响因素的研究进展[J].中华中医药学刊,2017,35(4):799-802.
- [2] 姚莉,刘维,李保兰.出院计划服务对 110 例慢性阻塞性肺病患者生命质量的影响[J].重庆医学,2015,44(22):3162-3163.
- [3] 刘秀丽,尹金植,李艳秋,等.COPD 继发肺动脉高压的诊治进展[J].中国老年学杂志,2014,34(15):4417-4419.
- [4] 袁永丰,曾亮.复方薤白胶囊对慢性阻塞性肺疾病大鼠模型气道重塑作用的研究[J].中国中医急症,2015,24(6):967-968.
- [5] 刘笑然,黄鑫炎,林耿鹏,等.COPD 患者 early-EPCs $\beta 2$ -肾上腺素受体的表达及其对细胞迁移的影响[J].中国病理生理杂志,2014,30(7):1196-1203.
- [6] 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(2007 年修订版)[J].中华结核和呼吸杂志,2007,46(1):8-17.
- [7] Ho L I, Harn H J, Chen C J, et al. Polymorphism of the beta (2)-adrenoceptor in COPD in Chinese subjects [J]. Chest, 2001, 120(5):1493.
- [8] 张锋英,俞烽,杭晶卿,等.社区呼吸康复对稳定期慢性阻塞性肺疾病患者疗效的影响[J].中华物理医学与康复杂志,2014,36(1):47-51.
- [9] 姜铁飞,杨猛,莫伟强.慢性阻塞性肺疾病评估测试评分对 AE-COPD 患者的临床评估价值[J].中国中西医结合急救杂志,2017,24(2):174-176.
- [10] 丁元华.健脾补肺法治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期的临床疗效观察[J].实用临床医药杂志,2016,20(13):117-118.
- [11] 曾亮,陈井亚,袁永丰,等.复方薤白胶囊对 COPD 模型大鼠 MMP-9 和 TIMP-1 表达的影响[J].南京中医药大学学报,2015,31(4):357-359.
- [12] 冯莹,郑翔,方志成.慢性阻塞性肺疾病的遗传学研究进展[J].广东医学,2016,37(17):2685-2687.
- [13] 王成,杨皓岚,李华,等.云南汉族老年人群 $\beta 2$ -AR 基因 Gln27Glu 多态性与 COPD 合并原发性高血压相关性的初步研究[J].实用医学杂志,2012,28(7):1100-1103.
- [14] SUN B, HERTING E, CURSTEST T, et al. Exogenous surfactant improves lung compliance and oxygenation in adult rats with meconium aspiration [J]. Journal of Applied Physiology, 1994,77(4):1961-71.
- [15] AUTEN R L, NOTTER R H, KENDIG J W, et al. Surfactant treatment of full-term newborns with respiratory failure [J]. Pediatrics, 1991, 87(1):101-107.
- [16] 史有奎,马娟,袁洲杰,等. $\beta 2$ -AR 多态性与慢性阻塞性肺疾病的关系[J].山东医药,2008,48(13):9-11.

(本文编辑 马薇)