

综 述

慢性阻塞性肺疾病发生相关因素的研究进展

赵振钧, 邓 炯

上海交通大学 医学院病理生理学, 细胞分化与凋亡教育部重点实验室, 上海 200025

[摘要] 慢性阻塞性肺疾病(COPD)是一种以气流阻塞为特征的慢性肺部疾病,病死率已经上升至世界第4位。COPD的主要特点为肺细小气道的持续性阻塞、慢性炎症反应及肺细小气道组织重建,这些因素导致通气流减缓和肺泡弹性回缩力减弱。在我国,由于空气污染和吸烟等因素,COPD的发生率和病死率正逐年上升。该文从环境因素、细胞和亚细胞及分子水平,对COPD发生和发展的相关因素及可能机制进行综述。

[关键词] 慢性阻塞性肺疾病;环境;炎症;损伤和修复;氧化应激

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2016.01.026 [中图分类号] R563 [文献标志码] A

Advances of relevant factors to incidence of chronic obstructive pulmonary disease

ZHAO Zhen-jun, DENG Jiong

Department of Pathophysiology, Key Laboratory of Cell Differentiation and Apoptosis of Minister of Education, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

[Abstract] The chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a chronic pulmonary disease featured by airflow obstruction. The fatality rate of COPD has risen to the fourth among all diseases in the world. The main characteristics are persistent obstruction, chronic inflammation, and remodeling of small airways, which slow down the airflow and weaken the elastic retraction of alveoli. In China, the incidence and fatality rate of COPD rise year by year due to cigarette smoking and air pollution. This paper reviews factors and possible mechanisms of the incidence and development of COPD from perspectives of environmental factors and cellular, sub-cellular, and molecular levels.

[Key words] chronic obstructive pulmonary disease; environment; inflammation; damage and repair; oxidative stress

在我国,慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease,COPD)的发病率呈现持续上升趋势,这与诸多因素有关,如人口老龄化、环境空气污染,包括吸烟及吸入空气中大量有刺激性、生物活性的颗粒或烟尘等。此外,细胞水平的因素如细菌病毒感染、小气道的损伤和重建,以及杯状细胞的过度分泌也促进了COPD的发生和加重。研究表明,细胞器和分子水平的变化,如线粒体功能的异常、氧化呼吸链的损害、氧化应激的改变等,均与COPD的发生和加重有关。而这些发现对COPD的早期诊断、预防及治疗具有重要意义。

1 环境水平

1.1 吸烟

流行病学调查^[1]发现,吸烟是引起COPD的最重要因素,80%~90%的COPD患者有吸烟史。研究^[2]表明,戒烟或避免暴露于烟雾环境对于减轻COPD患者的呼吸系统症状和降低住院率有重要作用。

1.1.1 炎症反应 香烟烟雾中含有大量生物活性的氧自由基和有害颗粒,其可直接对气道上皮细胞造成破坏,可引起多种促炎介质的过量释放以及炎

[基金项目] 国家自然科学基金(91129303)(National Natural Science Foundation of China, 91129303)。

[作者简介] 赵振钧(1992—),男,2011级临床医学五年制本科生;电子信箱:g-l-o-r-y@sjtu.edu.cn。

[通信作者] 邓 炯,电子信箱:jiongden@shsmu.edu.cn。

症细胞的聚集和浸润。香烟的刺激作用于透明质烷(hyaluronan)和透明质酸受体(layilin),上皮细胞钙黏蛋白(E-cadherin)被降解,气道的跨上皮细胞电屏障(transepithelial electrical resistance, TEER)功能受损,导致气道上皮的完整性丧失^[3]。这些损伤直接影响了上皮细胞层对外界环境的抵抗能力,使得其对于炎症介质的敏感性增加。此外,ERK1/2和早期生长反应基因1(early growth response gene-1, *Egr-1*)在上皮细胞中表达也会增加,而*Egr-1*的表达上调可促使细胞过度表达白介素8(IL-8)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)这两种炎症介质^[4]。吸烟还会引起气道上皮细胞分泌表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)增多,引起IL-8和黏液素(mucin)过量释放,激活MAPK信号通路等。上述机制均可增加肺组织中促炎症介质含量,进而引起炎症细胞浸润、血管通透性增加等一系列炎症反应。

1.1.2 细胞凋亡 香烟中含有的氧自由基等刺激物可以通过细胞外途径激活半胱天冬酶类受体、蛋白酶和各种化学因子,通过IL-18R α 依赖的信号通路,诱导T细胞聚集和细胞凋亡^[5]。此外,香烟还可通过p38/MAPK通路的上调,参与诱导肺泡上皮细胞的凋亡^[6]。而在COPD患者中,香烟烟雾不仅导致气道和肺泡细胞凋亡的增加,干扰正常的细胞更新,同时也抑制气道和肺泡巨噬细胞的激活,使得机体对凋亡细胞的清除速率大幅下降,从而引起大量凋亡细胞的堆积^[7],而凋亡清除功能受损同样可引起气道的持续性炎症反应^[8]。另外,持续的烟雾还可抑制细胞呼吸、加速细胞器膜的去极化和ATP的流失,并介导释放损伤相关模式分子(damage-associated molecular patterns, DAMP),使中性粒细胞的凋亡转化为细胞坏死^[9]。

1.2 年龄

COPD是一种肺组织的慢性炎症性疾病,其发作和进展相对来说都非常缓慢。许多加速肺组织老化的因素,包括氧化应激,都参与COPD的发生和发展^[10]。环境、基因和机体这三者之间相互作用的失调,使分子损伤逐渐积累,最终导致机体无法维持正常功能。活性氧类(reactive oxygen species, ROS)的积累及DNA的损伤和端粒的缩短是引起老化相关炎症的最重要因素。

机体老化可引起一系列后果,包括氧自由基清除的障碍,许多促炎症转录因子(如NF- κ B、AP-1等)

的上调,以及相关促炎症细胞因子的释放增加。在老化的肺部组织中可见:①树突状细胞功能下降,包括TNF- α 、IL-1 β 、IL-6/8/18和IL-1ra在内的细胞因子水平上升。②免疫系统功能下降、IL-2水平下降,导致T细胞介导的特异性免疫功能下降。③弹性蛋白酶、弹性蛋白水解释放增加,导致肺部弹性回缩力减弱,促进肺气肿等慢性肺疾病的发生^[11,12]。

2 细胞水平

对COPD患者及小鼠COPD模型的细胞学检查发现,其病因来源于不同危险因素的协调作用和累积,如病毒和细菌对气道的侵袭感染、杯状细胞黏液的过度分泌及气道上皮细胞层的损伤和组织重构,这些危险因素相互协作,各种损伤不断积累,最终导致COPD的发生。

2.1 感染因素

病毒和细菌感染是COPD发生的重要危险因素,可促进COPD的急性加重,进而使病情恶化。病毒通过气道细胞表面的ICAM-1,黏附、侵入细胞,并诱发上皮细胞产生炎症调节物质,引起ENA-78、IL-8、IP-10、RANTES、MCP-1、MIP-1 α 等一系列趋化因子的过度表达,引起上皮细胞分泌炎症介质,促进炎症细胞的聚集和浸润。这些因子和细胞的激活,导致气道炎症反应,诱发气道的组织重建和杯状细胞的过度分泌。此外,病毒还可使上皮细胞中dsRNA含量增加,通过Toll样受体和EGFR等信号通路,引起炎症反应。而细菌可通过定殖和感染侵入小气道,加重病情。同时,细菌更易侵犯已经被病毒损伤的肺组织,从而产生混合感染。随着年龄增加、肺组织老化和免疫功能减退,细菌感染的损伤作用还会被放大^[2,13,14]。

2.2 杯状细胞功能异常

COPD的主要病变部位位于肺组织外周的小气道内,而这些部位的黏膜下腺体含量很少。研究^[15]发现,COPD患者的小气道内杯状细胞的含量有所增加。由此推测,小气道中富含的杯状细胞在COPD的发生和发展中可能有着独特的作用。

呼吸道上皮细胞通过细胞之间的紧密连接而形成一个具有屏障功能的整体,具有抵抗外界微生物或侵袭性分子损伤的作用。其保护作用包括黏膜的

机械清除功能、维持水和各种离子的转运以保稳态平衡、生化抗菌的屏障及抗氧化物、抗蛋白酶功能等。

在 COPD 的进展过程中,香烟烟雾、病原微生物以及污染空气都会刺激杯状细胞,使之分泌大量黏液,导致小气道中的黏液积聚,呼气功能受损,形成气道的慢性阻塞。有研究发现,细菌内毒素 LPS 可经 MAPK 途径,促使小支气管上皮细胞 MUC5AC 黏液素分泌的增加,引发炎症。用 G 蛋白信号调节剂 4 (G-protein signaling 4) 可抑制该过程^[16]。此外,某些细胞因子也有促进黏液分泌的作用,如 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-17A 能通过 NF- κ B 通路促进 MUC5AC 黏液素的产生^[17]。细、小支气管上皮中纤毛细胞周围黏液的含量、组成成分等都是被严格调控的,这对纤毛细胞的清除功能十分重要。例如:纤毛上皮细胞中跨膜转运受体的缺失将导致黏液清除能力的异常;而上皮细胞中的钠离子通道则对维持黏液中水和离子的合适含量起到调控作用。这两种通道都可直接参与低黏性纤毛细胞周围液体的产生,以维持正常纤毛细胞的清除功能。任何一种造成黏液的分泌异常或成分改变的因素都将影响气道的正常功能^[19]。

2.3 气道上皮细胞损伤和重建

细、小气道中的上皮细胞是机体内环境和外界环境直接接触的部位,因而气道上皮细胞的损伤十分常见。为了维持气道上皮的完整性并保证其发挥防御功能,针对气道上皮损伤的修复一直都在不间断地进行。损伤后的修复包括以下几个步骤:①临近损伤部位的细胞伸展,并迁移到受损部位。②细胞开始出现活跃的有丝分裂,并一直持续数日至数周^[19]。③纤毛再生以及假复层黏液纤毛上皮的重塑^[18]。

在 COPD 的发生过程中,很多吸入的氧化活性物质、有毒有害颗粒等,对气管上皮细胞有着持续、强烈的刺激,导致肺部小气道内出现黏液分泌细胞的增生,鳞状上皮的组织化生,使得黏液分泌增加,清除功能减退。因此,气道上皮的重建与 COPD 的发生有着密切的关系。

在修复过程中,基底细胞通过增加细胞伪足内肌动蛋白的含量来增加细胞的运动能力。此时,基底细胞变得扁平并去分化,使细胞与基质之间的附着力也随之增强。随后,基质金属蛋白酶(MMPs)降解原有的细胞外基质,重塑暂时细胞基质(provisional

matrix),为细胞的迁移提供便利。气道上皮细胞的顶端可以特异性表达 MMPs^[20]。在小气道上皮完整性受损时,纤毛细胞也发挥重要作用:在损伤 6 ~ 12 h 内,纤毛细胞分化为鳞状上皮细胞,并迁移到受损部位,停留在纤毛细胞的始祖细胞(Clara 细胞)的下方;12 h 后,又从鳞状上皮细胞分化为立方细胞,最后形成柱状上皮细胞。

3 细胞器水平

亚细胞水平的改变也是最终引起 COPD 的重要环节。香烟含有以焦油等形式存在的大量自由基,包括 ROS、活性氮(reactive nitrogen species, RNS)及多种以碳原子为中心的自由基。自由基造成的线粒体及氧化呼吸链的损伤和修复异常与 COPD 的产生关系密切^[21]。

机体内发生的各种生化反应都与氧代谢有着密切的联系。为了应对氧化还原反应中产生的多种氧化自由基、超氧离子等物质的损伤作用,机体内储存着能够化解其毒性的多种酶类,如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)等。它们大都存在于线粒体中,通过消耗 ATP,利用各种抗氧化物酶,将产生的自由基清除,进而维持细胞核内环境的稳态。

这些自由基损伤线粒体功能,使三羧酸循环和氧化呼吸链的功能发生异常,能量产生减少,并影响钙信号转导和离子转运,导致细胞凋亡,并使机体对氧化应激的抵抗能力降低。这些作用对 COPD 的发生非常重要。

4 分子水平

COPD 发生分子机制的研究成果颇丰,尤其是氧化应激和蛋白酶-抗蛋白酶失衡理论在近 20 年来已经得到了大多数研究者的支持。

4.1 蛋白酶-抗蛋白酶失衡

MMPs 和中性粒细胞弹性蛋白酶及其抑制物共同构成了肺部蛋白酶-抗蛋白酶系统,该系统的平衡对维持肺实质的正常功能有重要作用。部分 COPD 患者肺组织中编码 α 1-AT、弹性蛋白酶、丝氨酸蛋白酶等的相关基因突变,导致其合成异常增加。由于巨噬细胞和中性粒细胞是肺部蛋白酶的主要来源,所以香烟和感染等因素可通过促进其聚集,上调

蛋白酶的表达,使结构蛋白降解增加而引起肺组织弹性下降。此外,对 MMPs 家族的研究^[22-24]找到3种与 COPD 相关的 MMPs (MMP-2,9,12),其含量在 COPD 患者中增加,也会导致胶原蛋白、弹性蛋白等被过度降解。上述机制产生的弹性蛋白残端是重要的炎症细胞的化学诱导物,而这些机制形成的正反馈调节最终将导致肺实质持续性破坏。

4.2 氧化应激

目前认为,氧化应激参与了抗蛋白酶和表面活性剂的灭活、黏液的过度分泌、气管细胞外基质的重塑及细胞凋亡和细胞质膜的破坏。

吸烟可通过增高 ROS 水平,改变 GSH 浓度和谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 酶通路,促进肺部损伤^[25]。ROS 作用于内皮细胞,促进有关细胞因子 (如 TNF- α) 的表达。这些基因产物的表达将进一步诱发促炎症基因的表达,如 IL-1/8、ICAM-1、iNOS 和 GM-CSF 等,由此形成了一个自我放大的循环机制,使得炎症反应迅速增强。

此外,ROS 还可激活 MAPK 和 PI3K 途径及相应的转录因子,如 AP-1 等,改变促炎症调节物的水平。COPD 患者 4-羟基-2-壬烯醛修饰蛋白 (4-HNE) 水平有所升高。4-HNE 是一种可扩散的、有强反应性的脂质超氧化的终产物。它的修饰将导致上皮细胞功能调节的异常,如细胞增殖、T 细胞凋亡及各种信号通路的改变。在小鼠模型中发现,4-HNE 具有诱导小鼠产生 COPD 的作用^[26]。吸烟作用于呼吸道上皮细胞,诱导氧化应激反应基因的表达;鼻病毒 (RV) 侵袭呼吸道上皮细胞,耗竭 GSH。这两种机制共同作用,导致 ROS 的产生增加。COPD 患者还存在 NF- κ B p65 的上调,抑制 p65 可阻滞氧化应激,下调 IL-6/8 的水平,起到抗炎作用^[15]。

吸烟者中只有一部分会最终发展为 COPD。这表明,不同吸烟者对氧化应激的抵抗能力是不同的,因而对于“易感基因”的研究可能是未来研究的热点。此外,有研究^[27]还发现了 COPD 患者微粒体环氧化物水解酶的基因多样性,如 *GSTM1* 和 *GSTT1* 等位基因上的变异等。临床上 COPD 患者休息时的细胞抗氧化能力就低于正常水平。运动时,正常细胞为适应细胞内增加的氧化还原反应,会调节氧消耗和氧转运的能力,而 COPD 患者在此方面存在障碍。

4.3 抗衰老细胞因子对肺部的保护作用及治疗前景

机体中存在多种抗氧化和抗老化因子,如 SIRT 家族,包括 SIRT1-7,共 7 种蛋白,他们属于 III 型组胺去乙酰化酶,可以抑制氧自由基的活性。例如 SIRT1 可通过 FOXO3 依赖性机制降低吸烟对机体的负面影响^[28];另外,属于 I 型组胺去乙酰化酶的 HDAC-2 也有着相似的作用^[29]。

Klotho 基因敲除小鼠 (*KL*^{-/-}) 表现为衰老模型,该种小鼠存在肺气肿和其他老年化相关的症状。与此类似,SMP30 是一种随着年龄增长而下降的蛋白。该基因的敲除可导致暴露于香烟的小鼠易发肺气肿。另外,与 DNA 损伤修复有关的基因,包括 *DNA-PK* 和 *Ku80*,是抗老化分子中的成员,而 *FOXO* 转录因子与 DNA 损伤修复有关,因而具有抗氧化应激功能。

5 结 语

小鼠 COPD 模型的建立、分子和基因水平的研究,以及多中心的临床研究,正在逐步揭开 COPD 的发生之谜。然而由于解剖结构的差异,在小鼠模型中的发现是否同样适用于人体,还需要进一步实验的检验。此外,如何根据其发生机制,研发针对性的药物,以预防 COPD 的产生、延缓 COPD 的发展、提高 COPD 患者的生存质量,将成为后续研究的重点。就目前而言,环境和大气污染治理及戒烟也许是最好的预防措施,在临床实践上应给予充分重视。

[参考文献]

- [1] Postma DS, Bush A, van den Berge M. Risk factors and early origins of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Lancet*, 2015, 385(9971): 899-909.
- [2] Abu Hassan H, Abd Aziz N, Hassan Y, et al. Does the duration of smoking cessation have an impact on hospital admission and health-related quality of life amongst COPD patients? [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 9: 493-498.
- [3] Forteza RM, Casalino-Matsuda SM, Falcon NS, et al. Hyaluronan and layilin mediate loss of airway epithelial barrier function induced by cigarette smoke by decreasing E-cadherin [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(50): 42288-42298.
- [4] Lin K, Fang S, Cai B, et al. ERK/Egr-1 signaling pathway is involved in CysLT2 receptor-mediated IL-8 production in HEK293 cells [J]. *Eur J Cell Biol*, 2014, 93(7): 278-288.
- [5] Cero FT, Hillestad V, Løberg EM, et al. IL-18 and IL-12 synergy

- induces matrix degrading enzymes in the lung[J]. *Exp Lung Res*, 2012, 38(8): 406–419.
- [6] He B, Luo B, Chen Q, et al. Cigarette smoke extract induces the expression of GRP78 in A549 cells via the p38/MAPK pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2013, 8(6): 1683–1688.
- [7] Sauler M, Leng L, Trentalange M, et al. Macrophage migration inhibitory factor deficiency in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2014, 306(6): L487–L496.
- [8] McCubrey AL, Curtis JL. Efferocytosis and lung disease [J]. *Chest*, 2013, 143(6): 1750–1757.
- [9] Heijink IH, Pouwels SD, Leijendekker C, et al. Cigarette smoke-induced damage-associated molecular pattern release from necrotic neutrophils triggers proinflammatory mediator release[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2015, 52(5): 554–562.
- [10] Ito K, Barnes PJ. COPD as a disease of accelerated lung aging[J]. *Chest*, 2009, 135(1): 173–180.
- [11] Gupta S, Agrawal A. Inflammation & autoimmunity in human ageing: dendritic cells take a center stage[J]. *Indian J Med Res*, 2013, 138(5): 711–716.
- [12] Wertheimer AM, Bennett MS, Park B, et al. Aging and cytomegalovirus infection differentially and jointly affect distinct circulating T cell subsets in humans[J]. *J Immunol*, 2014, 192(5): 2143–2155.
- [13] Murphy TF. The role of bacteria in airway inflammation in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Curr Opin Infect Dis*, 2006, 19(3): 225–230.
- [14] Teijaro JR, Walsh KB, Cahalan S, et al. Endothelial cells are central orchestrators of cytokine amplification during influenza virus infection[J]. *Cell*, 2011, 146(6): 980–991.
- [15] Wang Y, Bai C, Li K, et al. Role of airway epithelial cells in development of asthma and allergic rhinitis[J]. *Respir Med*, 2008, 102(7): 949–955.
- [16] Song KS, Kim HJ, Kim K, et al. Regulator of G-protein signaling 4 suppresses LPS-induced MUC5AC overproduction in the airway[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2009, 41(1): 40–49.
- [17] Fujisawa T, Velichko S, Thai P, et al. Regulation of airway MUC5AC expression by IL-1 β and IL-17A; the NF- κ B paradigm[J]. *J Immunol*, 2009, 183(10): 6236–6243.
- [18] Puchelle E, Zahm JM, Tournier JM, et al. Airway epithelial repair, regeneration, and remodeling after injury in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2006, 3(8): 726–733.
- [19] Crosby LM, Waters CM. Epithelial repair mechanisms in the lung [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2010, 298(6): L715–L731.
- [20] Coraux C, Martinella-Catusse C, Nawrocki-Raby B, et al. Differential expression of matrix metalloproteinases and interleukin-8 during regeneration of human airway epithelium *in vivo*[J]. *J Pathol*, 2005, 206(2): 160–169.
- [21] Szarka A, Bánhegyi G, Sümegi B. Mitochondria, oxidative stress and aging[J]. *Orv Hetil*, 2014, 155(12): 447–452.
- [22] Sinden NJ, Baker MJ, Smith DJ, et al. alpha-1-antitrypsin variants and the proteinase/antiproteinase imbalance in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2015, 308(2): L179–L190.
- [23] Vijayan VK. Chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Indian J Med Res*, 2013, 137(2): 251–269.
- [24] Ishii T, Abboud RT, Wallace AM, et al. Alveolar macrophage proteinase/antiproteinase expression in lung function and emphysema [J]. *Eur Respir J*, 2014, 43(1): 82–91.
- [25] Bazzini C, Rossetti V, Civello DA, et al. Short- and long-term effects of cigarette smoke exposure on glutathione homeostasis in human bronchial epithelial cells[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2013, 32(7): 129–145.
- [26] Takimoto T, Yoshida M, Hirata H, et al. 4-Hydroxy-2-nonenal induces chronic obstructive pulmonary disease-like histopathologic changes in mice[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 420(1): 84–90.
- [27] Mehrotra S, Sharma A, Kumar S, et al. Polymorphism of glutathione S-transferase M1 and T1 gene loci in COPD[J]. *Int J Immunogenet*, 2010, 37(4): 263–267.
- [28] Yao H, Sundar IK, Ahmad T, et al. SIRT1 protects against cigarette smoke-induced lung oxidative stress via a FOXO3-dependent mechanism[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2014, 306(9): L816–L828.
- [29] Mercado N, Thimmulappa R, Thomas CM, et al. Decreased histone deacetylase 2 impairs Nrf2 activation by oxidative stress[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 406(2): 292–298.

[收稿日期] 2015-03-25

[本文编辑] 王淑平