

## 戒烟对慢性阻塞性肺疾病肺功能的影响及机制探讨

周倩倩 徐晓玲 夏大庆

**摘要** 目的 观察戒烟干预对慢性阻塞性肺疾病(COPD)患者肺功能的影响,及干预后肺功能的变化与超氧化物歧化酶3(SOD3)基因多态性与其浓度的关系,进一步探讨戒烟干预对COPD肺功能影响的机制。方法 采用便携式肺功能仪检测60例给予戒烟干预的COPD患者、40例未干预COPD患者(对照组)干预前、干预3个月后及6个月后的肺功能,联合应用聚合酶链式反应(PCR)与连接酶检测反应(LDR)测序分型技术检测两组患者SOD3基因多态性的分布,并通过酶联免疫吸附测定(ELISA)方法检测血清中SOD3浓度。结果 ① COPD戒烟干预组戒烟3个月及6个月一秒钟用力呼气容积(FEV1%)及一秒率(FEV1/FVC%)均有升高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),而戒烟3个月与6个月的肺功能差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。② SOD3基因型对干预组戒烟后的肺功能改变值差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。③ COPD干预组与对照组3个月及6个月前后血清SOD3浓度改变值差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。干预组CC和CG/GG基因型个体血清SOD3浓度3个月后及6个月后改变值差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 戒烟干预对COPD患者短期肺功能改善有意义,而SOD3基因型不同对干预后肺功能无影响。戒烟干预对COPD患者的血浆SOD3浓度无影响,且与SOD3基因型表达无关。

**关键词** 慢性阻塞性肺疾病;基因多态性;超氧化物歧化酶;肺功能;一秒率

中图分类号 R 446

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)09-1317-04

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)由于其患病人数多,致残率高,社会经济负担沉重,已成为一个重要的公共问题。由于COPD早期诊断、早期治疗是有效减缓其进展的方法,早期戒烟干预成为重要防治手段,但是不同人群戒烟后肺功能改善情况不同。所以,开展早期干预治疗对不同基因型COPD肺功能的影响可能具有重要意义。对COPD早期诊断患者干预治疗,有助于探讨COPD吸烟者肺功能改善的原因和提高吸烟者戒烟率,也为今后COPD的可防可治性提供依据。

2014-04-28 接收

基金项目:安徽省科技攻关项目(编号:08010302183)

作者单位:安徽医科大学附属省立医院呼吸内科,合肥 230001

作者简介:周倩倩,女,硕士研究生;

徐晓玲,女,副教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-

mail: Xxlh08@163.com

## 1 材料与方法

**1.1 病例资料** 收集2008年7月~2009年10月安徽医科大学附属省立医院体检中心体检人员资料。将早期无症状COPD患者随机分为两组:干预组和对照组,并进行戒烟干预治疗。其中早期无症状COPD患者戒烟干预时间在2009年11月~2010年4月之间的6个月。COPD戒烟干预组60例、COPD未干预组(对照组)40例。见表1。

表1 COPD戒烟干预组与对照组基本参数比较( $\bar{x} \pm s$ )

项目	干预组 (n=60)	对照组 (n=40)	P值	t值
年龄(岁)	59.3 ± 8.9	63.5 ± 15.2	0.428	0.856
吸烟史(年)	27.2 ± 11.9	30.1 ± 9.4	0.381	0.912
支/d	24.5 ± 9.8	26.6 ± 8.6	0.263	1.321
FEV1%	60.2 ± 17.6	57.9 ± 16.1	0.626	0.584
FEV1/FVC%	61.5 ± 8.5	59.9 ± 7.8	0.357	0.981

FEV1%:一秒钟用力呼气容积;FEV1/FVC%:一秒率

## 1.2 方法

**1.2.1 诊断标准** 采用意大利产Pony FX型便携式肺功能仪行肺功能FEV1%及FEV1/FVC%检测。被检者吸入短效支气管扩张剂(万托林)15 min后,行肺功能检测,参照中华医学会2007年慢性阻塞性肺疾病的诊治指南,将FEV1/FVC% < 70%定义为不可逆的气流受限,同时结合危险因素分析、临床表现即可确诊<sup>[1]</sup>。

**1.2.2 标本采集** 戒烟干预3个月及6个月后,分别对COPD两组实验对象统一集合在安徽医科大学附属省立医院体检中心复测肺功能和抽取外周血。

**1.2.3 基因检测** 采用连接酶检测反应测序分型技术(ligase detection reaction polymerase chain reaction, LDR-PCR)检测基因型。根据测序胶电泳检测(加入内参79、105和131 bp以确定LDR产物所在位置)并运用Genemapper进行数据分析,以判读基因型。

**1.2.4 浓度测定** 采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测人超氧化物歧化酶-3(superoxide dismutase, SOD-3)定量浓度。

**1.3 统计学处理** 采用SPSS 13.0统计软件进行

分析,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,两者之间基因型频率比较采用  $\chi^2$  检验,肺功能检测值及 SOD3 浓度进行  $t$  检验及  $F$  检验。

### 2 结果

**2.1 SOD3 基因测序分型** SOD3 检出 CC、CG、GG 基因型,并按照基因型给戒烟干预组重新分组,以了解基因型在戒烟对肺功能的影响的情况。两组的基因型分布差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 2.87, P = 0.756$ )。见表 2。

表 2 SOD3 等位基因、基因频率在各组中分布情况 [n(%)]

组别	基因型频率		
	野生型(CC)	杂合突变型(CG)	纯合突变型(GG)
干预	54(90.0)	5(8.3)	1(1.7)
对照	37(92.5)	3(7.5)	0(0)

**2.2 肺功能复测结果对比及不同基因型 COPD 患者 3 个月及 6 个月前后肺功能分析** COPD 干预组戒烟 3 个月及 6 个月后肺功能 FEV1% 升高均值为  $6.7 \pm 1.5$ 、 $7.5 \pm 2.0$ , FEV1/FVC% 升高均值为  $3.8 \pm 1.3$ 、 $4.0 \pm 1.6$ 。两组 3 个月前后及 6 个月前后肺功能差异有统计学意义 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ),而戒烟 3 个月与 6 个月后的肺功能差异无统计学意义。SOD3 基因型不同对干预前后肺功能影响差异无统计学意义。见表 3、4。

**2.3 血清 SOD3 浓度测定及分析** 干预组与对照组在 3 个月及 6 个月后的 SOD3 浓度比较,戒烟对 COPD 干预组血清 SOD3 浓度改变差异无统计学意义。COPD 干预组不同 SOD3 基因型的人群血浆 SOD3 浓度戒烟前后差异无统计学意义。见表 5、6。

### 3 讨论

吸烟早期引起小气道阻力的增加,在停止吸烟后有可能逆转,至少可以停止病理变化的继续发展和延缓肺功能下降。吸烟引起肺损伤的机制虽做过许多研究,但其确切机制仍不十分明了,因此,就对

吸烟者的肺保护而言,除戒烟之外尚无其他更有效的方法<sup>[2]</sup>

在本随访研究中,COPD 患者戒烟干预 3 个月及 6 个月后与对照组的肺功能相比有较明显改善,干预组肺功能 FEV1% 及 FEV1/FVC% 均有改善,但干预组戒烟 3 个月与 6 个月后的肺功能比较改善不佳。且发现戒烟对短期肺功能改善更有意义,这与本试验的随访时间有限可能有关。另外,随访研究存在误差,因为不能保证随访者戒烟过程的真实性,但减少吸烟量比持续吸烟量仍然有助于肺功能的改善。Willemse et al<sup>[3]</sup> 研究发现许多前瞻性研究都表明无慢性症状的吸烟者戒烟后比不吸烟者减缓肺功能下降速度更明显,甚至有研究戒烟 2 年后 FEV1% 改善至正常水平,但是也有研究<sup>[4]</sup> 报道 FEV1% 下降速度在戒烟者和不吸烟者之间无明显差异。Nicholas et al<sup>[5]</sup> 对有气道阻塞但无明显症状的吸烟者进行 11 年的随访研究,也发现戒烟干预后的肺功能比持续吸烟的人肺功能 FEV1% 明显改善。这与本实验戒烟减缓肺功能下降速度和改善肺功能的结果一致。但也有肺部健康研究<sup>[6]</sup> 的数据表明 FEV1% 一旦低于 50%,戒烟在随后的肺功能下降方面作用甚微。这可能与早期 COPD 患者的天然免疫系统破坏导致下呼吸道细菌感染和气流受阻严重有关。

在我国约 40% 的 COPD 患者为非吸烟者,而仅有不到 20% 的吸烟者发展为 COPD 患者,因此亟须通过基因多态性研究确定吸烟易导致 COPD 的人群。有研究<sup>[7]</sup> 显示成年人 SOD3 与肺功能下降和 COPD 易感性有关,在本试验中检测到 SOD3 3 种基因多态性。比较野生型 CC 和突变型 CG/GG 两组基因型人群肺功能比较无明显差别,未发现基因型不同对肺功能的保护作用。在研究这两组基因型在戒烟干预对 COPD 肺功能的影响中的作用中,发现干预后不同基因型之间的肺功能 FEV1% 及 FEV1/FVC% 的改变值差异无统计学意义。这似乎有悖于突变型基因对吸烟者的保护作用,可能与此研究的试验人群样本量小,其中突变基因型人群太少有关。

表 3 干预前后肺功能 FEV1% 及 FEV1/FVC% 比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	FEV1%			FEV1/FVC%		
	干预前	3 个月后	6 个月后	干预前	3 个月后	6 个月后
干预 (n=60)	60.2 ± 17.6	67.5 ± 9.3	68.4 ± 7.5	61.7 ± 7.6	65.1 ± 5.7	65.2 ± 6.9
对照 (n=40)	61.5 ± 8.5	59.8 ± 8.4 <sup>##</sup>	60.5 ± 2.8 <sup>##</sup>	59.9 ± 7.8	56.0 ± 7.2 <sup>##</sup>	57.4 ± 4.3 <sup>#</sup>

与干预组比较: #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$

表4 干预组内不同基因型人群干预前后肺功能比较( $\bar{x} \pm s$ )

COPD	FEV1%		FEV1/FVC%	
	野生型	杂合/纯合突变型	野生型	杂合/纯合突变型
干预前	58.7 ± 13.4	61.2 ± 16.9	60.8 ± 4.0	62.4 ± 3.5
3个月后	65.5 ± 4.5	67.6 ± 15.5	63.2 ± 5.4	66.4 ± 4.2
6个月后	66.9 ± 6.7	68.1 ± 10.3	64.3 ± 8.1	66.8 ± 12.5

表5 对照组与干预组干预前后 SOD3 浓度改变值比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	血清 SOD3 浓度(U/L)		
	干预前	3个月后	6个月后
干预	104.67 ± 91.51	105.23 ± 72.98	104.12 ± 89.36
对照	102.82 ± 80.78	103.74 ± 81.15	103.54 ± 90.21

表6 干预组内 SOD3 浓度干预前后的改变( $\bar{x} \pm s$ )

COPD	血清 SOD3 浓度(U/L)	
	野生型	杂合/纯合突变型
干预前	98.29 ± 87.50	165.50 ± 216.81
3个月后	99.14 ± 84.62	166.04 ± 220.60
6个月后	100.02 ± 79.75	166.28 ± 205.51

而且本实验对象全是吸烟者,可能在已患有疾病的吸烟者中这种基因多态性并不能表现与正常吸烟者相似的保护作用。本试验结果可推测在早期 COPD 患者吸烟水平是肺功能最主要的下降因素。此外由于样本量少与试验干预时间总共仅半年,各种基因型人群的肺功能改变还没有真正体现出来也不无关系。然而,若戒烟对改善肺功能及减缓其下降的程度与本试验所检测的此种基因多态性无相关性,这为戒烟干预早期 COPD 患者减少了基因水平的障碍,让戒烟干预改善肺功能的作用愈显重要。当然对 FEV1 年递减率下降超过健康者的吸烟者,劝其戒烟是最有效的防治手段<sup>[8]</sup>。

在本实验中 COPD 患者的血清 SOD3 浓度与基因型无明显相关性。戒烟干预后两组基因型人群的 SOD3 浓度改变差异无统计学意义,而干预组中不同基因型人群戒烟 3 个月及 6 个月后 SOD3 浓度比

较并无明显改变,这可能说明戒烟对 SOD3 浓度影响并不大,可能 SOD3 浓度水平与基因多态性存在最直接的联系,而并不表现在戒烟干预后的浓度改变上,也可能存在样本偏倚。虽然 Juul et al<sup>[9]</sup>发现突变型与野生型血清 SOD3 浓度高 10 倍以上,但是 COPD 损害的是整个肺,故此处 SOD3 浓度对肺脏的保护作用显得尤为重要,而血浆 SOD3 浓度可能不能直接代表肺泡上皮衬液中 SOD3 的浓度。

## 参考文献

- [1] 刘辉国,徐永健.慢性阻塞性肺疾病:从气道慢性炎症到全身慢性炎症[J].中国呼吸与危重监护杂志,2007,6(6):410-2.
- [2] 赵燕妮,王广发.吸烟与慢性阻塞性肺疾病[J].中国医学前沿杂志,2012,4(1):16-9.
- [3] Willemsse B W, Postma D S, Timens W, et al. The impact of smoking cessation on respiratory symptoms, lung function, airway hyperresponsiveness and inflammation[J]. Eur Respir J, 2004, 23(3): 464-6.
- [4] Xu X, Weiss S T, Rijcken B, et al. Smoking, changes in smoking habits, and rate of decline in FEV1: new insight into gender differences[J]. Eur Respir J, 1994, 7:1056-61.
- [5] Nicholas R, John E, Robert P. Smoking and lung function of lung health study participants after 11 years[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2002, 166(5): 675-9.
- [6] Jones R. Can early diagnosis and effective management combat the irresistible rise of COPD? [J]. Br J Gen Pract, 2006, 56(530): 652-4.
- [7] Young R P, Hopkins R, Black P N, et al. Functional variants of antioxidant genes in smokers with COPD and in those with normal lung function[J]. Thorax, 2006, 61(5):394-9.
- [8] 钟南山.早发现、早诊断和早期干预是我国慢性阻塞性肺疾病的主要研究方向[J].中华结核和呼吸感染杂志,2012,4(35): 243-5.
- [9] Juul K, Tybjaerg-Hansen A, Marklund S, et al. Genetically increased antioxidative protection and decreased chronic obstructive pulmonary disease [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2006, 173(8):858-64.

## The smoking cessation effect on pulmonary function of chronic obstructive pulmonary disease and its mechanism

Zhou Qianqian, Xu Xiaoling, Xia Daqing

(Dept of Respiration, The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001)

**Abstract Objective** To explore the smoking cessation intervention impact on lung with genetic polymorphism of SOD3. The aim is to further reveal the importance of smoking cessation intervention on early COPD patients. **Methods** 60 COPD patients with smoking cessation intervention and 40 COPD patients without intervention (the control group) were enrolled in this study. Limosis peripheral blood was taken and whole blood corpuscle genomic DNA

## 多途径标本检测 aNSCLC 患者 EGFR 基因突变

冷再君<sup>1</sup> 徐 傲<sup>2</sup> 徐修才<sup>3</sup> 徐 飞<sup>1</sup> 伍 权<sup>3</sup> 操乐杰<sup>1</sup>

**摘要** 目的 多途径标本检测进展期非小细胞肺癌(aNSCLC)患者表皮生长因子受体(EGFR)突变,及突变状态与患者临床病理学特征、标本来源及血清癌胚抗原(CEA)的关系。方法 收集 aNSCLC 患者组织、细胞学及血浆标本,采用 QIAGEN 公司新推出的 QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit 提取血浆循环游离 DNA(cfDNA),使用蝎形探针扩增阻滞突变系统(sARMS)对提取 DNA 进行 EGFR 突变检测。结果 103 例 aNSCLC 患者组织(或细胞)学标本检测 EGFR 突变率为 48.5%(50/103),与吸烟史、病理类型相关( $P < 0.05$ );与性别、年龄、身体状态评分、分期、血清 CEA 值无关;转移灶突变率(58.6%)较原发灶(35.6%)高,含有恶性胸腔积液(MPE)患者 EGFR 突变率(67.5%)较无 MPE 者(36.5%)高( $P < 0.05$ );29 例血浆与组织(或细胞)学标本配对检测中,血浆阳性率为 37.9%(11/29),敏感性为 43.7%(7/16),特异性为 69.2%(9/13)。结论 aNSCLC 患者 EGFR 突变在非吸烟、腺癌人群中高发,与性别、年龄、血清 CEA、分期、身体状态无关。转移灶 EGFR 突变率较原发灶

高,并发 MPE 患者 EGFR 突变率较无 MPE 者高。使用 QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit 提取血浆 cfDNA 检测 EGFR 突变敏感性尚可,如降低成本,可作为组织标本的补充。由于肿瘤异质性的存在,应尽可能获取不同部位的肿瘤组织用于检测。

**关键词** 非小细胞肺癌;表皮生长因子受体;血浆

中图分类号 R 734.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)09-1320-05

表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, EGFR-TKI)如吉非替尼、厄罗替尼,已用于进展期非小细胞肺癌(advanced non-small cell lung cancer, aNSCLC)患者治疗<sup>[1]</sup>。而 EGFR 基因突变阳性已公认成为 EGFR-TKI 疗效的预测指标。美国国家综合癌症网络(NCCN)中国版(V. 3. 2011)推荐:除了腺癌、大细胞癌和未分类的 NSCLC 患者,鳞癌也均需进行 EGFR 基因突变检测。该研究旨在关注取材方便的外周血循环游离 DNA(cell-free DNA, cfDNA)用于 EGFR 突变检测的实用性及 EGFR 基因突变状态与患者临床、病理特征、标本来源、血清癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)的关系。研究采用 aNSCLC 患者组织(或细胞)学标本与血浆配对的方法验证外周血 cfDNA 用于 EGFR 突变检测的可靠

2013-12-30 接收

基金项目:安徽省卫生厅医学科研课题计划(编号:13ZC001);安徽省科技攻关计划项目(编号:1301042216)

作者单位:安徽医科大学附属省立医院<sup>1</sup>呼吸内科,<sup>2</sup>病理科,<sup>3</sup>中心实验室,合肥 230001

作者简介:冷再君,女,硕士研究生;

操乐杰,男,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail:sycaolejie@163.com

was extracted. The genetic polymorphism of SOD3 genes was determined by ligase detection reaction and polymerase chain reaction (LDR-PCR) and serum SOD3 concentration was measured using ELISA. Lung function between the two groups before and after intervention were detected by microspirometry. **Results** ①The FEV1% and the FEV1/FVC% were increased after 3 and 6 months intervention in smoking cessation group( $P < 0.05$ ). But there was no significant difference ( $P < 0.05$ ) between 3 and 6 months. ② Different SOD3 genotypes have no significant on COPD pulmonary function after intervention( $P > 0.05$ ). ③ The serum of SOD3 concentration of COPD intervention group and the control have no significance after intervention( $P > 0.05$ ). ④ The serum of SOD3 concentration about CC and CG/GG genotype in COPD intervention group have no significance after 3 and 6 months intervention ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** Smoking cessation interventions for patients with COPD pulmonary function improves significance in short-term. But different SOD3 genotypes have no effect on lung function after intervention. Smoking cessation intervention has no effect on in serum SOD3 concentration of COPD patients, and has no relationship between the expression of SOD3 genotype.

**Key words** chronic obstructive pulmonary disease; genetic polymorphism; superoxide dismutase; lung function; FEV1/FVC%