DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2018.20171048

·短篇论著·

口服 N-乙酰半胱氨酸对稳定期慢性阻塞性肺疾病患者 Th1/Th2 平衡的影响

王 静，潘春峰*，胡志雄，周海英

复旦大学附属金山医院呼吸科，上海 201508

［摘要］ **目的**：探讨口服 N-乙酰半胱氨酸对稳定期慢性阻塞性肺疾病患者 Th1/Th2 平衡的影响。**方法**：80 例 C、D 型慢性阻塞性肺疾病稳定期患者分为 2 组，治疗组患者给予口服 N-乙酰半胱氨酸片 6 个月（每次 0.6 g，2 次/d），对照组患者给予安慰剂治疗。比较 6 个月期间两组患者急性加重发生的次数、急性加重的天数、急性加重事件严重程度。采用 ELISA 法测定两组患者治疗前后血清中 IL-4、IFN-γ 的浓度，流式细胞术测定两组患者治疗前后外周血 Th1、Th2 占 $CD4^+$ T 细胞的比值。**结果**：治疗组平均急性加重次数、平均急性加重天数、Ⅱ～Ⅲ级急性加重次数少于对照组，差异有统计学意义（$P<0.05$）；治疗组患者治疗后血清 IL-4 水平、Th2/$CD4^+$ T 细胞比值较治疗前及对照组升高，IFN-γ 水平、Th1/$CD4^+$ T 细胞比值较治疗前及对照组降低，Th1/Th2 比值较治疗前及对照组下降，差异有统计学意义（$P<0.05$）。对照组治疗前后血清 IL-4、IFN-γ 水平、Th1/$CD4^+$ T 细胞、Th2/$CD4^+$ T 细胞、Th1/Th2 比值比较差异无统计学意义。**结论**：长期每日口服 1 200 mg 的 N-乙酰半胱氨酸对 C、D 型稳定期 COPD 患者具有一定的疗效，用药期间能使 Th1/Th2 趋于平衡，降低患者急性加重次数，缩短其急性加重的天数，减少中重度急性加重事件发生。

［关键词］ 慢性阻塞性肺疾病；N-乙酰半胱氨酸；Th1/Th2 平衡

［中图分类号］ R 563.3 ［文献标志码］ A

Effects of N-acetylcysteine on Th1/Th2 balance in patients with chronic obstructive pulmonary disease

WANG Jing, PAN Chun-feng*, HU Zhi-xiong, ZHOU Hai-ying

Department of Respiratory, Jinshan Hospital, Fudan University, Shanghai 201508, China

［**Abstract**］ **Objective**: To assess the efficacy of N-acetylcysteine on Th1/Th2 balance in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Methods**: In our study, we enrolled 80 COPD patients aged 60-85 years old with type C and D. The patients were randomly allocated to receive N-acetylcysteine (one 600 mg tablet, twice daily) or placebo for 6 months. ELISA was used to detect the expression of interferon-γ (IFN-γ) and interleukin-4 (IL-4). Flow cytometry was used to compare the rate of Th1/Th2. The rate, duration and the severity of the exacerbation were compared between the two groups throughout the course of treatment. **Results**: Compared with the placebo group, patients treated with N-acetylcysteine had less acute exacerbation rate, duration time and the Ⅱ or Ⅲ grade severity acute exacerbation, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of IL-4 and Th2/$CD4^+$ T cell were significantly higher while the levels of IFN-γ and the Th1/$CD4^+$ T cell and Th1/Th2 were significantly lower in N-acetylcysteine group than those in the placebo group after 6 months treatment, the same results were observed compared with that before the treatment($P<0.05$). There was no difference of the IL-4, IFN-γ, Th1/$CD4^+$ T cell, Th2/$CD4^+$ T cell and Th1/Th2 level in placebo group before and after the treatment. **Conclusions**: Our study shows that in elderly COPD patients with group C and D, long-term use of 1 200 mg N-acetylcysteine can balance the rate of Th1/Th2 and prevent exacerbation, shorten the duration, and decrease the severity of exacerbation.

［**Key Words**］ chronic obstructive pulmonary disease; N-acetylcysteine; Th1/Th2

慢性阻塞性肺疾病（chronic obstructive pulmonary disease, COPD）是以持续进行性加重的气流受限为特点的慢性呼吸道疾病，影响着患者的劳动能力和生活质量[1]。慢性气道炎症、氧化应激和黏液高分

［收稿日期］ 2017-11-28 ［接受日期］ 2018-03-27

［基金项目］ 上海市金山区卫计委青年项目（JSKJ-KTQN-2016-07）. Supported by Youth Program of Health Planning Commission, Jinshan District, Shanghai (JSKJ-KTQN-2016-07).

［作者简介］ 王 静，硕士，主治医师. E-mail: yango213@sina.com

*通信作者（Corresponding author）. Tel: 021-527258980, E-mail: pcf49362728@163.com

泌是 COPD 发病的关键，COPD 患者还存在 Th1/Th2 的免疫平衡紊乱[2-3]。Th1 细胞可以通过分泌炎性细胞因子，使气道内嗜酸性粒细胞、中性粒细胞增多，从而导致肺组织、气道炎症和气道高反应，而 Th2 细胞对此具有抑制作用，两者相互制约保持平衡。Th1/Th2 免疫细胞平衡紊乱可能是导致 COPD 急性加重发作（acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease，AECOPD）的原因之一。

近来研究[4-6]发现，口服大剂量 N-乙酰半胱氨酸（N-acetylcysteine，NAC）可减少 COPD 患者急性加重的次数，改善 COPD 患者的肺功能和生活质量。NAC 对于 COPD 的治疗作用多被归结于其抗氧化及减少痰液黏性和弹性的作用[7]。新近研究表明，NAC 可干扰细胞因子活性，调节 T 淋巴细胞亚群[8]，但 NAC 能否调节 COPD 患者 Th1/Th2 平衡目前相关研究甚少。因此，本试验采用随机双盲对照研究，观察口服 N-乙酰半胱氨酸对 COPD 患者 Th1/Th2 平衡和急性加重的影响，以期为预防及治疗 COPD 提供新的依据。

1　资料与方法

1.1　一般资料　入选对象为 2016 年 9 月至 2017 年 3 月在复旦大学附属金山医院门诊就诊的慢性阻塞性肺疾病全球倡议（GOLD）分期为 C、D 型的慢性阻塞性肺疾病稳定期患者。采用随机数字表法将患者随机分为两组：治疗组男性 25 例，女性 15 例，年龄 62～87 岁，平均（78.25± 6.44）岁；对照组男性 24 例，女性 16 例，年龄 60～88 岁，平均（75.22±7.48）岁。本研究经复旦大学附属金山医院伦理委员会审核批准，所有入组对象参与本研究前均已获其同意，并签署知情同意书。

1.2　纳入标准和排除标准　纳入标准：COPD 患者均符合 2016 年 GOLD 指南诊断标准，C 型特征为：FEV_1 占预计值%＜50%和（或）每年急性加重≥2 次，或至少 1 次急性加重需住院；CAT（COPD assessment test）评分＜10 或 mMRC（modified British Medical Research Council）0～1 分。D 型特征：FEV_1 占预计值%＜50%和（或）每年急性加重≥2 次，或至少有 1 次急性加重需要住院；CAT 评分≥10 或 mMRC≥2 分。试验前所有受试者检查资料完整。排除标准：（1）年龄＜60 岁；（2）需要机械通气或长期家庭氧疗（每天 10 h 或以上）；（3）前 1 个月内使用过血制品、免疫调节剂、免疫抑制剂；（4）合并免疫缺陷病、结核病、恶性肿瘤、哮喘、严重肝肾疾病和心脏病等合并症者。

1.3　患者分组及处理　80 例 C、D 型 COPD 稳定期患者随机分为 2 组，治疗组患者给予口服大剂量 N-乙酰半胱氨酸片 6 个月（海南赞邦，富露施，0.6 g 4 片/盒，每次 0.6 g，2 次/d），对照组患者给予安慰剂治疗，其他治疗措施相同。两组患者在稳定期均规律吸入长效抗胆碱能药物（LAMA，噻托溴铵，每天吸入 18 μg），不使用其他化痰药、支气管扩张剂及糖皮质激素，研究周期 6 个月。患者治疗前使用流式细胞仪测定外周血单个核细胞（PBMC）中 Th1、Th2 占 $CD4^+$ T 细胞的比例，采用 ELISA 法测定血清 IL-4、IFN-γ 浓度，患者治疗 6 个月后复测上述指标。每 3 个月到院检查 1 次、每 2 周电话随访 1 次，记录 6 个月期间两组患者急性加重发生的次数、出现急性加重的天数，并将出现的急性加重事件进行分级。

急性加重的定义采用 GOLD 指南标准[1]：呼吸症状急性恶化（典型表现为呼吸困难加重、咳嗽加剧、痰量增多和/或痰液呈脓性），超出日常变异，并且导致需要改变药物治疗。根据 2017 年 AECOPD 诊治专家共识将急性加重分为Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ级[9]：Ⅰ级，无呼吸衰竭 AECOPD 患者；Ⅱ级，无生命危险的急性呼吸衰竭 AECOPD 患者；Ⅲ级，有生命危险的急性呼吸衰竭。

1.4　统计学处理　采用 SPSS 19.0 统计软件，计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示，组间比较采用单因素方差分析，组内比较采用配对 t 检验。计数资料以例数和百分率表示，采用 χ^2 检验比较，检验水准（α）为 0.05。

2　结　果

2.1　入选对象人口学特征及基线资料　根据预试验中 Th1/Th2 比值结果，选择 95%可信区间（CI），计算出最小样本量为 26 例。考虑到失访和急性加重等因素，共招募 80 例符合标准的 C、D 型 COPD 患者，其中 63 例最终完成了试验，治疗组 34 例，对照组 29 例。未能完成试验的主要原因：失随访（3

例)、稳定期使用了其他可能影响结果的药物,如其他化痰药、吸入糖皮质激素等(14 例)。对两组患者入组前一般资料进行比较,其基线特征及既往急性加重次数、肺功能参数、生活质量评分、Th1 占 $CD4^+$ T 细胞比值、Th1 占 $CD4^+$ T 细胞比值、Th1/Th2 比值、T 细胞总量、外周血中 IL-4 和 IFN-γ 浓度差异均无统计学意义(表 1)。

表 1 两组患者人口学特征、基线资料及免疫指标的对比

指标	治疗组 ($n=34$)	对照组($n=29$)	P 值
性别[1](男性/女性)	19/15	18/11	0.247
年龄[2]	78.15±6.82	74.41±7.12	0.117
吸烟指数[2]	367.6±255.05	365.5±283.2	0.297
FEV_1/预计值%[2]	52.17±15.90	51.89±15.74	0.685
既往 1 年内急性加重次数[2]	2.02±0.90	1.83±0.82	0.876
mMRC 评分[2]	2.15±0.78	1.97±0.78	0.654
免疫指标			
Th1/$CD4^+$ T 细胞(%)	14.66±0.86	14.29±0.91	0.098
Th2/$CD4^+$ T 细胞(%)	2.93±0.45	2.97±0.32	0.741
Th1/Th2	5.15±1.06	4.88±0.62	0.226
T 细胞总量	1 408.15±94.00	1 441.45±87.67	0.156
IL-4 ρ_B/(pg·mL^{-1})	49.26±24.38	49.34±26.84	0.855
IFN-γ ρ_B/(pg·mL^{-1})	127.65±7.54	126.31±6.50	0.458

[1] 采用卡方检验;[2] 采用单因素方差分析

2.2 两组患者出现急性加重次数和天数比较 结果表明:治疗组患者半年内急性加重次数(0.74±0.75 *vs* 1.34±0.67)及天数[(4.62±5.16) d *vs* (8.34±4.30) d]小于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 两组患者出现急性加重事件的分级比较 结果表明:治疗组共发生急性加重 32 次,其中Ⅰ级 AECOPD 共发生 18 次,Ⅱ级 10 次,Ⅲ级 4 次;对照组共发生急性加重 53 次,其中Ⅰ级 AECOPD 共发生 16 次,Ⅱ级 28 次,Ⅲ级 9 次。治疗组患者半年内Ⅱ级、Ⅲ级急性加重次数少于对照组,差异有统计学意义(0.41±0.56 *vs* 0.93±0.80,$P<0.05$)。

2.4 两组患者治疗前后血清 IL-4、IFN-γ 的变化 结果(表 2)表明:治疗组口服 N-乙酰半胱氨酸治疗后血清 IL-4 水平较治疗前升高,IFN-γ 水平较治疗前降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。对照组治疗前后血清 IL-4 及 IFN-γ 水平比较差异无统计学意义。与对照组相比,治疗后 N-乙酰半胱氨酸治疗组患者血清 IL-4 水平升高,IFN-γ 水平降低,两组治疗前后差值差异有统计学意义($P<0.01$)。

2.5 两组患者治疗前后外周血 Th1、Th2 占 $CD4^+$ T 细胞比值和 Th1/Th2 的变化 结果(表 3)表明:治疗组患者 Th1/$CD4^+$ T 细胞水平较治疗前降低,Th2/$CD4^+$ T 细胞水平较治疗前升高,Th1/Th2 比值较治疗前下降,差异有统计学意义($P<0.05$)。对照组(B 组)治疗前后 Th1/$CD4^+$ T 细胞、Th2/$CD4^+$ T 细胞、Th1/Th2 比值差异无统计学意义。与对照组相比,治疗后治疗组患者 Th1/$CD4^+$ T 细胞水平降低,Th2/$CD4^+$ T 细胞水平升高,Th1/Th2 比值下降,两组治疗前后差值差异有统计学意义($P<0.01$)。

表 2 两组患者血清 IL-4、IFN-γ 水平的比较

ρ_B/(pg·mL^{-1})

指标	治疗组($n=34$)			对照组($n=29$)		
	治疗前	治疗后	治疗前后差值	治疗前	治疗后	治疗前后差值
IL-4	49.26±24.38	72.26±14.36*△	22.98±28.97	49.34±26.84	46.72±12.17	3.31±2.33
IFN-γ	127.65±7.54△△	76.88±19.97*△	50.23±11.36	126.31±6.50	119.00±24.82	7.68±3.87

* $P<0.05$ 与治疗前相比;△△$P<0.01$,△$P<0.05$ 与对照组相比

表 3 两组患者 Th1/Th2 水平的比较

指标	治疗组($n=34$)			对照组($n=29$)		
	治疗前	治疗后	治疗前后差值	治疗前	治疗后	治疗前后差值
Th1/$CD4^+$ T 细胞(%)	14.66±0.86△△	8.77±2.63*△	5.89±2.88△△	14.29±0.91	13.46±2.81	0.83±2.93
Th2/$CD4^+$ T 细胞(%)	2.93±0.45△△	4.41±1.27*△	1.46±1.44△△	2.97±0.32	3.28±0.99	0.38±0.12
Th1/Th2	5.15±1.06△△	2.24±1.22*△	2.98±1.33△△	4.88±0.62	4.36±1.34	0.54±0.41

* $P<0.05$ 与治疗前相比;△△$P<0.01$,△$P<0.05$ 与对照组相比

3 讨　论

慢性气道炎症是 COPD 发病机制的关键环节[10]。COPD 患者炎症细胞分布部位不同，气道腔内主要为嗜中性粒细胞，而气道壁以淋巴细胞浸润为主，目前认为辅助 T 淋巴细胞（Th 淋巴细胞）具有调节 COPD 气道炎症的作用[10-11]。Th 淋巴细胞主要包括 Th1、Th2 细胞等，Th1 细胞产生 IL-2、IFN-γ 等细胞因子，在巨噬细胞的活化、细胞免疫、迟发性超敏反应等过程中发挥着重要作用。Th2 细胞分泌 IL-4，刺激机体体液免疫，参与变态反应性疾病。免疫学上以 IFN-γ 作为 Th1 的特征性细胞因子，IL-4 作为 Th2 细胞的特征性细胞因子，检测 IFN-γ、IL-4 可用来代表 Th1、Th2 功能。健康人体内 Th1/Th2 系统保持某种平衡状态，如果平衡被破坏将会导致 Th1 型或 Th2 型优势反应，最终引起免疫应答异常，机体出现病理状态。

研究表明，COPD 稳定期气道炎症主要与 Th1 细胞有关，Th1/Th2 平衡向 Th1 漂移[3]，COPD 稳定期 Th1 细胞分泌的 IFN-γ 与患者 FEV_1 负相关，说明疾病越严重 Th1 细胞功能越活跃。Th1 细胞分泌 IFN-γ 诱导体内产生和释放 MMP-9 和 MMP-12，而 MMP 能降解肺实质的细胞外基质。IFN-γ 还能抑制 α-抗胰蛋白酶，使蛋白酶/抗蛋白酶系统失衡，弹性蛋白水解[11]。Th2 细胞主要分泌 IL-4 等细胞因子，对 Th1 细胞介导的免疫应答有抑制作用，两者相互制衡。当 Th1 免疫增强而 Th2 免疫减弱时，两者平衡被打破，MMP 分泌增多，弹性蛋白酶活化、肺细胞外基质降解、弹性蛋白水解，最终导致肺气肿形成。因此，稳定期 COPD 患者存在 Th1/Th2 平衡向 Th1 漂移，可导致疾病进展，而 COPD 患者气道炎症的消退与 Th1/Th2 平衡的恢复相关[12]，因此干预稳定期 COPD 患者 Th1/Th2 平衡可能有助于预防 COPD 的病程进展。

高浓度 N-乙酰半胱氨酸（NAC）治疗可减少 COPD 患者急性加重的次数[4,13]。NAC 具有较强的抗氧化作用，同时也是一种化痰药。NAC 的化痰、祛痰的原理主要是其能使痰液黏蛋白溶解，分解黏蛋白，使痰液黏滞度降低，同时增加纤毛的生理运转能力和胃-肺迷走神经反射，加强气道对废物的运送清除能力。NAC 可降低吸烟人群的弹性蛋白酶活性和水平，防止弹性蛋白水解过量，使蛋白酶/抗蛋白酶系统趋于平衡，肺泡保持弹性。NAC 还可通过提高抗氧化物谷胱甘肽的浓度，使抗氧化水平增加，平衡氧化/抗氧化系统，使肺部慢性损伤减轻。近年来，一些研究指出，NAC 可干扰细胞因子的活性，调节 T 淋巴细胞亚群，改善患者免疫功能[8]。NAC 能否通过调节稳定期 COPD 患者的 Th1/Th2 平衡对 COPD 患者起到治疗作用目前相关研究甚少。

本研究通过连续 6 个月给予 C、D 型稳定期 COPD 患者口服 1 200 mg 的 NAC 发现，NAC 治疗组治疗后其血清 IFN-γ 水平低于治疗前，IL-4 水平高于治疗前，Th1 占 $CD4^+$ T 细胞比值下降，Th2 占 $CD4^+$ T 细胞比值升高，从而使 Th1/Th2 水平较治疗前下降，差异有统计学意义；而安慰剂组 IL-4、IFN-γ、Th1 占 $CD4^+$ T 细胞比值及 Th2 占 $CD4^+$ T 细胞比值与治疗前相比均无明显差异。与对照组相比，NAC 组治疗后的血清 IFN-γ 水平降低，IL-4 水平升高，Th1 占 $CD4^+$ T 细胞比值下降，Th2 占 $CD4^+$ T 细胞比例升高，Th1/Th2 水平较对照组下降，差异有统计学意义。结果提示经 1 200 mg 的 NAC 治疗后，其 Th1 免疫反应下降，Th2 免疫反应增强，Th1/Th2 趋于平衡。

本研究还发现，NAC 治疗组与对照组相比，其急性加重发生的次数、急性加重持续的天数，Ⅱ、Ⅲ级 AECOPD 的发生率均降低，且差异有统计学意义，与 Tse 等[4]、Bai 等[14]的观察结果一致。结果提示长期口服 1 200 mg 的 NAC 可降低 COPD 患者的急性加重次数，缩短其急性加重持续的天数，并且减少中重度 AECOPD 事件的发生。但本研究观察到的经 NAC 治疗后稳定期 COPD 患者 Th1/Th2 趋于平衡是导致 COPD 患者急性加重减少的原因还是结果目前尚不清楚，有待进一步的深入研究。

综上所述，长期每日口服 1 200 mg NAC 对 C、D 型稳定期 COPD 患者具有一定的疗效，用药期间能使 Th1/Th2 趋于平衡，并能有效降低患者的急性加重次数，缩短其急性加重天数，减少中重度急性加重事件发生。但由于本研究维持的时间仅为半年，而 COPD 呈慢性病程，故更长期的疗效尚需进一步的观察。

参考文献

[1] VOGELMEIER C F, CRINER G J, MARTINEZ F J, et al. Global strategy for the diagnosis, management and prevention of chronic obstructive lung disease 2017 report:

GOLD executive summary[J]. Respirology, 2017, 22(3): 575-601.

[2] EPPERT B L, WORTHAM B W, FLURY J L, et al. Functional characterization of T cell populations in a mouse model of chronic obstructive pulmonary disease[J]. J Immunol, 2013, 190(3): 1331-1340.

[3] 杨 晶, 邝相如. CD4+T 细胞亚群失衡在慢性阻塞性肺疾病中的临床意义[J]. 中国现代医学杂志, 2015, 25(1): 46-49.

[4] TSE H N, RAITERI L, WONG K Y, et al. High-dose N-acetylcysteine in stable COPD: the 1-year, double-blind, randomized, placebo-controlled HIACE study[J]. Chest, 2013, 144(1): 106-118.

[5] CAZZOLA M, CALZETTA L, PAGE C, et al. Influence of N-acetylcysteine on chronic bronchitis or COPD exacerbations: a meta-analysis[J]. Eur Respir Rev, 2015, 24(137): 451-461.

[6] FOWDAR K, CHEN H, HE Z, et al. The effect of N-acetylcysteine on exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: A meta-analysis and systematic review[J]. Heart Lung, 2017, 46(2): 120-128.

[7] CAZZOLA M, CALZETTA L, FACCIOLO F, et al. Pharmacological investigation on the anti-oxidant and anti-inflammatory activity of N-acetylcysteine in an *ex vivo* model of COPD exacerbation[J]. Respir Res, 2017, 18(1): 26.

[8] FAGHIHI M, ALIZADEH A M, KHORI V, et al. The role of nitric oxide, reactive oxygen species, and protein kinase C in oxytocin-induced cardioprotection in ischemic rat heart[J]. Peptides, 2012, 37(2): 314-319.

[9] 慢性阻塞性肺疾病急性加重(AECOPD)诊治专家组. 慢性阻塞性肺疾病急性加重(AECOPD)诊治中国专家共识(2017 年更新版)[J]. 国际呼吸杂志, 2017, 37(14): 1041-1057.

[10] AGARWAL R, ZAHEER M S, AHMAD Z, et al. The relationship between C-reactive protein and prognostic factors in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Multidiscip Respir Med, 2013, 8(1): 63.

[11] AMEDEI A, DELLA BELLA C, NICCOLAI E, et al. Moraxella catarrhalis-specific Th1 cells in BAL fluids of chronic obstructive pulmonary disease patients[J]. Int J Immunopathol Pharmacol, 2009, 22(4): 979-990.

[12] 刘 领, 赵淑敏, 杨 霁, 等. COPD 患者 Th1/Th2 平衡失调临床观察[J]. 临床肺科杂志, 2011, 16(9): 1335-1336.

[13] MATERA M G, CALZETTA L, CAZZOLA M. Oxidation pathway and exacerbations in COPD: the role of NAC[J]. Expert Rev Respir Med, 2016, 10(1): 89-97.

[14] ZHENG J P, WEN F Q, BAI C X, et al. Twice daily N-acetylcysteine 600 mg for exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease (PANTHEON): a randomised, double-blind placebo-controlled trial[J]. Lancet Respir Med, 2014, 2(3): 187-194.

[本文编辑] 廖晓瑜, 贾泽军