

引用本文: 吴佳佳, 吴戈, 胡海圣, 等. 变应性支气管肺曲霉病与过敏性哮喘病人血清免疫因子差异性的初步探讨 [J]. 安徽医药, 2021, 25(9): 1788-1792. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2021.09.021.



◇临床医学◇

## 变应性支气管肺曲霉病与过敏性哮喘病人血清免疫因子差异性的初步探讨

吴佳佳<sup>1</sup>, 吴戈<sup>2</sup>, 胡海圣<sup>2</sup>, 廖陈喜<sup>2</sup>, 梁翠莹<sup>2</sup>, 孙宝清<sup>2</sup>

作者单位:<sup>1</sup>广州医科大学南山学院, 广东 广州 511436; <sup>2</sup>广州医科大学附属第一医院/广州呼吸健康研究院/呼吸疾病国家重点实验室/国家呼吸系统疾病临床医学研究中心变态反应科, 广东 广州 510120

通信作者: 孙宝清, 女, 教授, 研究员, 博士生导师, 研究方向为过敏性疾病、哮喘与慢阻肺、间质性肺炎等呼吸系统疾病的免疫学机制及免疫学诊断, Email: sunbaoqing@vip.163.com

基金项目: 国家自然科学基金项目(81572063); 广医大高水平大学建设科研教学学术提升项目(B185004118)

**摘要:** **目的** 探索变应性支气管肺曲霉病(ABPA)与过敏性哮喘病人之间血清中细胞因子表达水平的差异, 并检测有差异的细胞因子是否能作为辅助诊断ABPA的生物标志物。**方法** 筛选2015年1月至2016年6月广州医科大学附属第一医院的ABPA病人23例和过敏性支气管哮喘病人24例, 病人血清中的胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)和胸腺活化调节趋化因子(TARC)通过酶联免疫吸附测定(ELISA)检测, 总免疫球蛋白E(IgE)和烟曲霉特异性IgE通过ImmunoCAP检测, 细胞因子 $\gamma$ 干扰素、白细胞介素(IL)-5、IL-8、IL-10、IL-13和IL-17A通过超敏多因子电化学发光免疫分析仪(MSD)检测。**结果** ABPA与哮喘病人之间血清中TARC以及TSLP水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。但ABPA病人血清中IL-5[(2.02±1.43)ng/L比(0.47±0.39)ng/L,  $P < 0.01$ ]以及IL-8[(73.31±59.00)ng/L比(36.87±41.95)ng/L,  $P < 0.05$ ]水平均显著高于过敏性哮喘病人。此外, 两组间血清中 $\gamma$ 干扰素、IL-10、IL-13和IL-17A细胞因子差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。在受试者工作特征曲线(ROC)分析中, IL-5和IL-8鉴别诊断ABPA与哮喘的最佳截断点分别为0.89 ng/L和16.41 ng/L, 此时的ROC曲线下面面积分别为0.902和0.720。**结论** 与哮喘病人相比, ABPA病人血清中IL-5和IL-8水平显著升高; 血清中IL-5和IL-8细胞因子水平或可作为辅助诊断ABPA的指标。

**关键词:** 曲霉菌病, 变应性支气管肺; 过敏性哮喘; 白细胞介素-5; 白细胞介素-8

### Preliminary study on the differences of serum immune factors between patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis and allergic asthma

WU Jiajia<sup>1</sup>, WU Ge<sup>2</sup>, HU Haisheng<sup>2</sup>, LIAO Chenxi<sup>2</sup>, LIANG Cuiying<sup>2</sup>, SUN Baoqing<sup>2</sup>

Author Affiliations:<sup>1</sup>Nanshan College, Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 511436, China;

<sup>2</sup>Department of Allergy and Clinical Immunology, State Key Laboratory of Respiratory Disease, National Clinical Research Center of Respiratory Disease, Guangzhou Institute of Respiratory Health, First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510120, China

**Abstract:** **Objective** To investigate the differences of levels of multiple cytokines between patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA) and allergic asthma, and to explore whether the cytokines could be indicators of differential diagnosis of ABPA. **Methods** A total of 23 patients with ABPA and 24 with allergic asthma in the First Hospital Affiliated to Guangzhou Medical University From January 2015 to June 2016 were enrolled. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detected thymic stromal lymphopoietin (TSLP) and thymus- and activation-regulated chemokine (TARC). Total IgE and *Aspergillus fumigatus* specific IgE were detected by ImmunoCAP, while cytokines (IFN- $\gamma$ , IL-5, IL-8, IL-10, IL-13 and IL-17A) were detected by Meso Scale Discovery (MSD). **Results** No significant difference was found in serum levels of either TARC or TSLP between patients with ABPA and asthma ( $P > 0.05$ ). Among the detected cytokines, serum levels of both IL-5 and IL-8 were significantly higher in patients with ABPA comparing with asthma [IL-5: (2.02±1.43) ng/L vs. (0.47±0.39) ng/L,  $P < 0.01$ ; IL-8: (73.31±59.00) ng/L vs. (36.87±41.95) ng/L,  $P < 0.05$ ]. There was no statistical difference in the comparison of other cytokines (IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-13 and IL-17A) between the two groups ( $P > 0.05$ ). In ROC analysis, the optimal cut-off value for IL-5 and IL-8 in differential diagnosis of ABPA and asthma was 0.89 ng/L and 16.41 ng/L.

L, respectively, and the area under the curve (AUC) at the cut-off values were 0.902 and 0.720, respectively. **Conclusions** Compared with asthma, patients with ABPA have significantly higher serum levels of IL-5 and IL-8. Additionally, both cytokines could be promising indicators in the diagnosis of ABPA.

**Key words:** Aspergillosis, allergic bronchopulmonary; Allergic asthma; IL-5; IL-8

变应性支气管肺曲霉病(allergic bronchopulmonary aspergillosis, ABPA)是一种以曲霉菌诱发的变态反应性炎症为特点的复杂肺部疾病,主要见于支气管哮喘或者囊性纤维化病人<sup>[1]</sup>。在我国,ABPA多见于哮喘和支气管扩张病人。根据不同的研究报告,ABPA在哮喘病人中的发病率约为2.5%~12.9%不等,而在真菌致敏的哮喘病人中,ABPA的发病率可达到40%<sup>[2-4]</sup>。

目前,ABPA的具体发病机制还不完全明确,普遍认为是定植在肺部的烟曲霉诱导机体的Th2型免疫应答,从而产生白细胞介素(IL)-4、IL-5和IL-13等细胞因子,导致免疫球蛋白E(IgE)异常升高以及嗜酸性粒细胞炎症等<sup>[5-8]</sup>。有研究认为,在过敏性哮喘病人中,若对烟曲霉致敏,随着体内Th2型免疫应答的增加,最终可发展为ABPA<sup>[9]</sup>。除了一些传统的Th2型细胞因子,胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)是近年发现的一种与过敏性疾病关系密切的上皮来源的细胞因子,其能以特有方式激活树突状细胞,上调其表面OX40配体分子的表达,从而诱导Th0细胞向Th2细胞分化<sup>[10-12]</sup>。此外,胸腺活化调节趋化因子(TARC/CCL17)也在多种过敏性疾病的发生和发展中起到重要作用,其主要作用为选择性诱导T细胞的迁移,尤其是将Th2细胞从外周募集至炎症部位<sup>[13-15]</sup>。ABPA与过敏性哮喘病人虽然同样存在常规的变态反应,但在临床症状、疾病发病机制方面却截然不同,所以对这两种疾病免疫因子稳态的研究可以为疾病的诊治防研提供证据<sup>[16-17]</sup>。然而,对于ABPA病人与普通的过敏性哮喘病人血清生物标志物差异的研究仍显不足。为补充我国ABPA与过敏性哮喘病人免疫因子稳态差异比较的空白,本研究分析了ABPA与过敏性哮喘病人血清中多种免疫因子的表达水平,并分析了这些因子对ABPA的诊疗价值。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取2015年1月至2016年6月广州医科大学附属第一医院接收诊治的ABPA病人23例和过敏性哮喘病人24例。入组标准为病人在临床上被诊断为ABPA或过敏性哮喘,同时排除囊性纤维化的ABPA病人,排除合并肺癌或恶性肿瘤、急性/慢性肺部疾病(如急性肺炎、COPD等)、免疫缺陷或自身免疫疾病以及心脏病的病人。哮喘的诊断

基于全球哮喘倡议(GINA)指南,其中包括病人的哮喘临床特征以及气流受限情况。在哮喘的病人中,结合相关病史资料,若临床上特异性IgE检测结果/或皮肤点刺试验结果为阳性,则可被诊断为过敏性哮喘。ABPA是根据国际人类和动物真菌学学会(ISHAM)的诊断标准来诊断的,即哮喘或囊性纤维化病人满足下列两个必要条件:(1)烟曲霉抗原皮肤点刺试验阳性或烟曲霉特异性IgE结果为阳性;(2)血清总IgE水平>1 000 kUI/L(若其他条件均满足,总IgE水平可<1 000 kUI/L);以及至少满足两个下列次要条件:(1)血清中存在针对烟曲霉的沉淀或免疫球蛋白G(IgG)抗体;(2)肺部影像学符合ABPA的特征;(3)血嗜酸性粒细胞计数>500/ $\mu$ L(包括以往的结果)。本研究获广州医科大学附属第一医院伦理委员会批准(GYFY-2016-73),所有病人或其近亲属对研究方案签署知情同意书。

## 1.2 检测方法

**1.2.1 肺功能检测与FeNO检测** 肺功能检测包括用力肺活量(FVC)、第一秒用力呼气容积(FEV<sub>1</sub>)预测值的百分比(FVC% pred, FEV<sub>1</sub>% pred)以及一秒率。呼出气一氧化氮(FeNO)的检测(NioxMino,瑞典Aerocrine AB公司在肺功能检测之前检测。

**1.2.2 血清IgE检测** 用含有分离胶的真空采血管收集病人的静脉血,并以3 000 r/min的转速离心10 min获得血清样本。将血清样本分装并保存在-80℃的超低温冰箱中,避免反复冻融。通过ImmunoCAP 1000系统(Thermo Fisher Scientific Inc.,美国)检测血清中的总IgE以及特异性IgE的水平。

**1.2.3 血清中TSLP、TARC和细胞因子的检测** 病人血清中胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)和胸腺活化调节趋化因子(TARC)的浓度用酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(R&D Systems Inc.,美国)进行检测。血清中的细胞因子 $\gamma$ 干扰素、IL-5、IL-8、IL-10、IL-13和IL-17A用电化学发光法(MSD, MESO QuickPlex SQ 120, Model 1300, USA)进行检测。

**1.3 统计学方法** 正态计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 显示,采用 $t$ 检验比较,非正态的采用中位数(下、上四分位数)[ $M(P_{25}, P_{75})$ ]表示,使用非参数Mann-Whitney检验分析;计数资料采用百分比显示,组间差异使用 $\chi^2$ 检验分析。使用受试者工作特征曲线(ROC曲线)和曲线下面积(AUC)分析免疫因子对ABPA的

诊断价值,根据约登指数选定截断点。使用 Graph-Pad Prism6.0 软件进行分析。检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

**2.1 ABPA 与哮喘病人基线特征对比** 如表 1 所示,两组病人在年龄、性别与体质量指数(BMI)方面,均差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。在肺功能方面,ABPA 组的 FEV<sub>1</sub>% pred 显著低于过敏性哮喘组( $P < 0.05$ );而 FeNO 则显著高于过敏性哮喘组( $P < 0.05$ )。血常规方面,ABPA 组中病人外周血嗜酸性粒细胞计数显著高于过敏性哮喘组( $P < 0.05$ )。对于 IgE 的相关检测结果,过敏性哮喘组中有 9 例病人(37.5%)的烟曲霉特异性 IgE 结果为阳性。此外,ABPA 组总 IgE 水平显著高于过敏性哮喘组( $P < 0.01$ )。而在用药方面,两组病人口服/吸入糖皮质激素的使用比例均差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**2.2 两组血清 TARC、TSLP 及细胞因子的水平** 两组之间血清中 TARC 水平以及 TSLP 水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。对于所检测的细胞因子,ABPA 病人血清中 IL-5 水平以及 IL-8 水平均显著高于过敏性哮喘病人(均  $P < 0.05$ )。此外,两组间血清中其他细胞因子的比较( $\gamma$ 干扰素、IL-10、IL-13 和 IL-17A)差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 2。

**2.3 血清 IL-5 和 IL-8 在 ABPA 中的诊断效能** 使用 ROC 曲线分析血清 IL-5 和 IL-8 水平在过敏性哮喘病人中诊断 ABPA 的效能。IL-5 和 IL-8 诊断 ABPA 的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.902( $P < 0.01$ )和 0.720( $P < 0.05$ )(图 1)。根据约登指数,IL-5

**表 2** ABPA 与过敏性哮喘病人血清中细胞因子的比较/(ng/L,  $\bar{x} \pm s$ )

细胞因子	ABPA (n=23)	过敏性哮喘 (n=24)	Z 值	P 值
TARC	2 061±2 809	2 188±2 240	3.072	0.414
TSLP	5.28±14.74	1.83±6.46	3.169	0.481
$\gamma$ 干扰素	12.55±10.77	8.92±11.71	0.985	0.067
IL-10	0.25±0.32	0.19±0.19	1.203	0.138
IL-13	1.36±1.71	0.98±1.74	2.330	0.266
IL-17A	0.76±0.95	0.30±0.29	1.451	0.171
IL-5	2.02±1.43	0.47±0.39	-3.820	0.001
IL-8	73.31±59.00	36.87±41.95	-2.090	0.037

注:1.ABPA 为变应性支气管肺曲霉病,TARC 为胸腺活化调节趋化因子,TSLP 为胸腺基质淋巴细胞生成素,IL 为白细胞介素。

2.两组各因子数据总体服从正态分布,但由于样本较少且方差不齐,故采用非参数 Mann-Whitney 检验。

的最佳截断点为 0.89 ng/L,在此截断点的灵敏度和特异度分别为 83.33% 和 90.91%;而 IL-8 的最佳截断点为 16.41 ng/L,在此截断点的灵敏度和特异度分别为 91.67% 和 54.55%。

## 3 讨论

ABPA 是一种慢性的肺部疾病,烟曲霉的长期暴露或定植会引起过敏性哮喘病人机体持续高水平的 Th2 型免疫反应,使血清 IgE 水平升高并同时出现嗜酸性粒细胞炎症,导致支气管扩张和持续性哮喘,并伴随肺纤维化以及肺功能的丧失<sup>[18]</sup>。支气管哮喘是 ABPA 的易感条件之一。对过敏性哮喘与 ABPA 病人更多有效的生物标志物进行研究对认识

**表 1** 研究人群基线特征对比

基线特征	ABPA(n=23)	过敏性哮喘(n=24)	$t(\chi^2)[Z]$ 值	P 值
年龄/(岁, $\bar{x} \pm s$ )	42.09 ± 16.09	33.05 ± 15.27	-1.843	0.06
性别(男/女)/例	15/8	12/12	(1.113)	0.29
BMI/(kg/m <sup>2</sup> , $\bar{x} \pm s$ )	21.33 ± 3.16	21.45 ± 4.95	-0.201	0.93
肺功能				
FVC% pred/[%, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	87.30(70.90, 103.00)	94.70(83.05, 102.06)	[-0.895]	0.38
FEV <sub>1</sub> % pred/[%, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	72.00(54.52, 86.25)	80.60(74.60, 94.94)	[-2.040]	0.04
一秒率/[%, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	81.00(77.25, 101.70)	93.46(81.00, 99.44)	[-1.288]	0.20
FeNO/[ppb, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	75.00(35.50, 102.00)	27.00(13.50, 40.00)	[-2.313]	0.02
血常规				
嗜酸性粒细胞/[ $\times 10^9/L, M(P_{25}, P_{75})$ ]	0.66(0.28, 1.07)	0.27(0.20, 0.39)	[-2.013]	0.04
中性粒细胞/[ $\times 10^9/L, M(P_{25}, P_{75})$ ]	4.25(2.98, 5.65)	4.20(2.98, 6.18)	[-0.148]	0.89
IgE 结果				
总 IgE 水平/[kU/L, $M(P_{25}, P_{75})$ ]	2 007(1 302, 3 269)	484(123, 735)	[-4.047]	<0.01
烟曲霉阳性率/%	100.0	37.5	(21.113)	<0.01
用药占比/%				
口服糖皮质激素	26.09	41.67	(1.270)	0.81
吸入糖皮质激素	43.48	25.00	(1.786)	0.18

注:ABPA 为变应性支气管肺曲霉病,BMI 为体质量指数,FVC 为用力肺活量,FEV<sub>1</sub> 为第一秒用力呼气容积,FeNO 为呼出气一氧化氮,IgE 为免疫球蛋白 E。

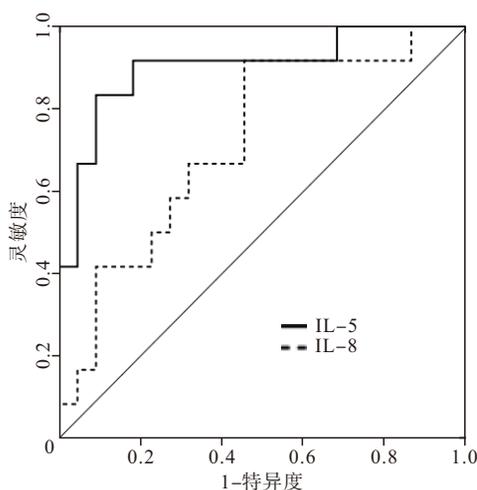


图1 血清白细胞介素(IL)-5和IL-8水平用于鉴别诊断变应性支气管肺曲霉病(ABPA)和哮喘的ROC曲线图

疾病的发展机制具有重要作用。

研究表明,气管上皮细胞分泌的多种细胞因子,如TSLP、骨膜蛋白等,均与Th2介导的哮喘相关<sup>[19-20]</sup>,本课题组先前的研究也发现血清骨膜蛋白水平可作为鉴别诊断ABPA和烟曲霉致敏的过敏性哮喘的一个潜在的生物标志物<sup>[21]</sup>。然而,本研究的结果显示在ABPA和过敏性哮喘病人间,血清TSLP的水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。与之类似,虽然已有研究表明TARC可有效诊断囊性纤维化(CF)病人中的ABPA<sup>[16]</sup>,但本研究的结果显示TARC在过敏性哮喘病人和ABPA中差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。在检测的细胞因子中,本研究发现在ABPA和过敏性哮喘病人中血清IL-5和IL-8的表达差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。ABPA病人血清IL-5水平的升高标志着相比于过敏性哮喘病人,其嗜酸性粒细胞炎症可能更为严重。而血清IL-8水平的升高可能与烟曲霉的定植、感染有关<sup>[5]</sup>。

此外,在其他细胞因子水平的比较中( $\gamma$ 干扰素、IL-10、IL-13和IL-17A),两组病人差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。过敏性哮喘是一种慢性疾病,主要是由Th2主导的炎症反应从而导致气管的损伤以及重塑。在ABPA中,机体通过模式识别受体(PRR)途径识别曲霉菌,导致Th2型细胞因子(IL-5和IL-13)增多以及 $\gamma$ 干扰素降低<sup>[22]</sup>。尽管有研究表明过敏性哮喘病人在病毒感染后会导致 $\gamma$ 干扰素升高<sup>[23]</sup>,但是本研究中并没有发现两组病人血清中 $\gamma$ 干扰素表达的差别( $P > 0.05$ )。而对于血清中IL-13的表达,结果与本课题组先前的研究一致<sup>[21]</sup>:虽然ABPA病人血清骨膜蛋白水平显著高于哮喘病人,但IL-13作为骨膜蛋白的上游细胞因子却在两组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。在过敏性哮喘病人中,IL-10的基因以及蛋白表达降低,在ABPA病人

中也会出现同样的现象,IL-10表达的降低会导致嗜酸性粒细胞炎症的增加<sup>[5]</sup>。严重的哮喘病人血清中IL-17A的表达上调<sup>[24]</sup>,而对于烟曲霉致敏的严重哮喘病人,他们最终可能发展为ABPA<sup>[9]</sup>。在本研究中,两组血清IL-17A差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

本研究通过ROC曲线分析了血清IL-5和IL-8鉴别ABPA和过敏性哮喘的诊断效力,结果显示两者的曲线下面积(AUC)均 $> 0.7$ ,而IL-5的AUC更是超过0.9。通过约登指数选择的截断点,在IL-5  $> 0.89$  ng/L时,其灵敏度和特异度均在80%以上。外周血嗜酸性粒细胞计数是诊断ABPA的次要条件之一,同时也有研究报道了这项指标的截断点<sup>[25]</sup>。在ABPA的病理变化过程中,IL-5和IL-8可促进嗜酸性粒细胞浸润以及激活,导致ABPA相比于过敏性哮喘病人会有更高水平的嗜酸性粒细胞炎症,因此在临床上检测血清IL-5和IL-8水平,可以辅助鉴别诊断ABPA与过敏性哮喘。

综上,与过敏性哮喘病人相比,ABPA血清IL-5和IL-8水平显著升高,这可能与嗜酸性粒细胞增多以及烟曲霉的定植相关。此外,IL-5和IL-8可作为生物标志物辅助诊断过敏性哮喘中的ABPA病人。

## 参考文献

- [1] SHAH A, PANJABI C. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: a perplexing clinical entity [J]. Allergy Asthma Immunol Res, 2016, 8(4):282-297.
- [2] MATURU V N, AGARWAL R. Prevalence of aspergillus sensitization and allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis: systematic review and meta-analysis [J]. Clin Exp Allergy, 2015, 45(12):1765-1778.
- [3] AGARWAL R, AGGARWAL AN, GUPTA D, et al. Aspergillus hypersensitivity and allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with bronchial asthma: systematic review and meta-analysis [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2009, 13(8):936-944.
- [4] DENNING DW, PLEUVRY A, COLE DC. Global burden of allergic bronchopulmonary aspergillosis with asthma and its complication chronic pulmonary aspergillosis in adults [J]. Med Mycol, 2013, 51(4):361-370.
- [5] WARK PA, GIBSON PG. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: new concepts of pathogenesis and treatment [J]. Respirology, 2001, 6(1):1-7.
- [6] KAUFFMAN HF. Immunopathogenesis of allergic bronchopulmonary aspergillosis and airway remodeling [J/OL]. Front Biosci, 2003, 8:e190-e196. DOI: 10.2741/990.
- [7] SCHUYLER M. The Th1/Th2 paradigm in allergic bronchopulmonary aspergillosis [J]. J Lab Clin Med, 1998, 131(3):194-196.
- [8] TRACY MC, OKORIE CUA, FOLEY EA, et al. Allergic bronchopulmonary aspergillosis [J]. J Fungi (Basel), 2016, 2(2):17.
- [9] AGARWAL R. Severe asthma with fungal sensitization [J]. Curr Allergy Asthma Rep, 2011, 11(5):403-413.
- [10] ROCHMAN Y, DIENGER-STAMBAUGH K, RICHGELSPK, et al.

- TSLP signaling in CD4+ T cells programs a pathogenic T helper 2 cell state [J]. *Sci Signal*, 2018, 11 (521) : aam8858. DOI: 10.1126/scisignal.aam8858.
- [11] HIROSE K, IWATA A, TAMACHI T, et al. Allergic airway inflammation: key players beyond the Th2 cell pathway [J]. *Immunol Rev*, 2017, 278(1):145-161.
- [12] VARRICCHI G, PECORARO A, MARONE G, et al. Thymic stromal lymphopoietin isoforms, inflammatory disorders, and cancer [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1595. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01595.
- [13] KATAOKA Y. Thymus and activation-regulated chemokine as a clinical biomarker in atopic dermatitis [J]. *J Dermatol*, 2014, 41 (3):221-229.
- [14] ROMAGNANI S. Cytokines and chemoattractants in allergic inflammation [J]. *Mol Immunol*, 2002, 38(12/13):881-885.
- [15] BISSET LR, SCHMID-GRENDELMEIER P. Chemokines and their receptors in the pathogenesis of allergic asthma: progress and perspective [J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2005, 11(1):35-42.
- [16] LATZIN P, HARTL D, REGAMEY N, et al. Comparison of serum markers for allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis [J]. *Eur Respir J*, 2008, 31(1):36-42.
- [17] HARTL D, LATZIN P, ZISSEL G, et al. Chemokines indicate allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with cystic fibrosis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006, 173(12):1370-1376.
- [18] GREENBERGER PA, BUSH RK, DEMAINE JG, et al. Allergic bronchopulmonary aspergillosis [J]. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2014, 2(6):703-708.
- [19] MITCHELL PD, O'BYRNE PM. Biologics and the lung: TSLP and other epithelial cell-derived cytokines in asthma [J]. *Pharmacol Ther*, 2017, 169:104-112.
- [20] PARULEKAR AD, ATIK MA, HANANIA NA. Periostin, a novel biomarker of TH2-driven asthma [J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2014, 20(1):60-65.
- [21] WU G, MENG X, ZHENG P, et al. Elevated serum levels of periostin in patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis [J]. *Mycoses*, 2019, 62(9):780-789.
- [22] BECKER KL, GRESNIGT MS, SMEEKENS SP, et al. Pattern recognition pathways leading to a Th2 cytokine bias in allergic bronchopulmonary aspergillosis patients [J]. *Clin Exp Allergy*, 2015, 45(2):423-437.
- [23] HANSEL TT, TUNSTALL T, TRUJILLO-TORRALBO MB, et al. A comprehensive evaluation of nasal and bronchial cytokines and chemokines following experimental rhinovirus infection in allergic asthma: increased interferons (IFN-gamma and IFN-lambda) and Type 2 Inflammation (IL-5 and IL-13) [J]. *EBioMedicine*, 2017, 19:128-138.
- [24] HASEGAWA T, UGA H, MORI A, et al. Increased serum IL-17A and Th2 cytokine levels in patients with severe uncontrolled asthma [J]. *Eur Cytokine Netw*, 2017, 28(1):8-18.
- [25] AGARWAL R, AGGARWAL AN, GARG M, et al. Cut-off values of serum IgE (total and *A. fumigatus*-specific) and eosinophil count in differentiating allergic bronchopulmonary aspergillosis from asthma [J]. *Mycoses*, 2014, 57(11):659-663.

(收稿日期:2019-12-02,修回日期:2020-01-01)

引用本文:杨隆良,郭虎林,马瑜.慢病毒载体介导的长链非编码RNA Rpph1 沉默对胆囊癌 GBC-SD 细胞增殖、细胞周期和凋亡的影响[J].安徽医药,2021,25(9):1792-1796.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.09.022.

◇临床医学◇



## 慢病毒载体介导的长链非编码 RNA Rpph1 沉默对胆囊癌 GBC-SD 细胞增殖、细胞周期和凋亡的影响

杨隆良<sup>1a</sup>,郭虎林<sup>1b</sup>,马瑜<sup>2</sup>作者单位:<sup>1</sup>青海省第五人民医院,<sup>a</sup>普外科,<sup>b</sup>肿瘤内科,青海 西宁 810000;<sup>2</sup>青海大学附属医院肝胆外科,青海 西宁 810000

**摘要:** 目的 研究长链非编码 RNA(lncRNA)Rpph1 对胆囊癌细胞增殖、细胞周期和凋亡的影响和潜在机制。方法 以人胆囊上皮细胞 HGBEC 为对照,实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)检测胆囊癌细胞系 GBC-SD、SGC-996 和 NOZ 中 lncRNA Rpph1 的表达。将 GBC-SD 细胞分为对照组、si-con 组、si-lnc Rpph1 组。蛋白质印迹法检测周期蛋白依赖性激酶 2(CDK2)、Ki-67、剪切型胱天蛋白酶 3(Cleaved caspase-3)、剪切型胱天蛋白酶 9(Cleaved caspase-9)、β 连环素(β-catenin)和 c-Myc 蛋白表达水平,细胞计数试剂盒(CCK-8)法和流式细胞术分别检测细胞增殖、细胞周期和凋亡率。结果 与对照相比,胆囊癌细胞系 GBC-SD、SGC-996 和 NOZ 组细胞中 lncRNA Rpph1 含量[(4.89±0.31)、(3.42±0.42)、(3.96±0.45)比(1.07±0.13)]显著升高( $P<0.05$ );与 si-con 组比较,si-lnc Rpph1 组 GBC-SD 细胞活力[(0.78±0.08)比(1.17±0.13)]降低,凋亡率[(12.89±1.96)%比(4.26±0.65)%]、G0~G1 期细胞比例[(63.67±2.62)%比(52.57±1.32)%]升高,CDK2[(0.22±0.04)比(0.41±0.05)]、Ki-67[(0.31±0.04)比(0.62±0.04)]、β-catenin[(0.32±0.05)比(0.63±0.05)]和[c-Myc(0.21±0.04)比(0.41±0.06)]蛋白表达降低( $P<0.05$ ),Cleaved caspase-3[(0.44±0.05)比(0.14±0.04)]和 Cleaved caspase-9[(0.54±0.05)比(0.17±0.03)]蛋白表达增加( $P<0.05$ )。结论 慢病毒载体沉默 lncRNA Rpph1 可能通过 Wnt/β-catenin 信号通路抑制胆囊癌 GBC-SD 细胞增殖,诱导细胞周期停滞和促