

葡萄籽原花青素辅助治疗哮喘的临床研究

顾一航^{1,2}, 顾浩¹, 马元¹, 查王健¹, 吴艳³, 黄茂¹, 曾晓宁^{1*}

(¹南京医科大学第一附属医院呼吸与危重症医学科, 江苏 南京 210029; ²江阴市人民医院老年医学科, 江苏 江阴 214400; ³无锡市人民医院呼吸内科, 江苏 无锡 214000)

[摘要] 目的:探讨葡萄籽原花青素(oligomeric proanthocyanidins, OPC)辅助治疗哮喘的临床价值。方法:60例以布地奈德福莫特罗吸入剂作为常规治疗的非急性发作期哮喘患者,随机分为安慰剂组及 OPC 高、中、低剂量干预组,药物干预持续 8 周;分别于受试前、干预第 4 周末、第 8 周末行哮喘控制测试(asthma control test, ACT)、外周血嗜酸性粒细胞(eosinophils, EOS)计数及肺功能检测。结果:OPC 干预 4 周后,仅高剂量组外周血 EOS 数量显著下降($P<0.05$);持续干预至 8 周后,高剂量组 ACT 评分显著升高($P<0.05$),中、高剂量组外周血 EOS 数量显著下降($P<0.05$),中、高剂量组第 1 秒用力呼气容积占预计值百分比(FEV1%)显著升高,组间差异显著($P<0.05$)。剂量及干预时间两个因素分别与 ACT 评分及 FEV1%呈正相关($P<0.05$),与外周血 EOS 数量呈负相关($P<0.05$)。结论:OPC 可有效抑制气道炎症、改善通气功能、提高哮喘患者的生活质量,是极具潜力的哮喘辅助治疗候选药物。

[关键词] 葡萄籽原花青素;哮喘;ACT;嗜酸性粒细胞;肺功能

[中图分类号] R562.2*5

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2017)11-1402-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20171106

Adjuvant curative effects of grape seed oligomeric proanthocyanidins on asthma

Gu Yihang^{1,2}, Gu Hao¹, Ma Yuan¹, Zha Wangjian¹, Wu Yan³, Huang Mao¹, Zeng Xiaoning^{1*}

(¹Department of Respiratory & Critical Care Medicine, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029; ²Department of Geriatrics Medicine, Jiangyin People's Hospital, Jiangyin 214400; ³Department of Respiratory Medicine, Wuxi People's Hospital, Wuxi 214000, China)

[Abstract] **Objective:** This study investigated the impacts of oligomeric proanthocyanidins (OPC) on patient with asthma to develop new therapeutic options for asthma treatment. **Methods:** A total of 60 non-acute attack patients with asthma who conventionally received budesonide/formoterol inhalation were randomly divided into the placebo, high-, intermediate-and low-dosage OPC groups. The duration of OPC treatment ranged 8 weeks. Asthma control test(ACT) score, eosinophils(EOS) count and pulmonary function were analyzed. **Results:** A significant decrease of EOS in peripheral blood was observed in the high-dosage group who received OPC treatment after 4 weeks($P<0.05$). When the treatment expended up to 8 weeks, an elevated ACT score ($P<0.05$) and forced expiratory volume in one second to forced vital capacity ratio (FEV1%) as well as a declined EOS count ($P<0.05$) were found in the high-dosage group, while intermediate-dosage OPC only presented improvements in EOS count and FEV1% ($P<0.05$). Dosage and intervention duration were positively correlated with ACT score and FEV1% ($P<0.05$), and negatively correlated with the number of peripheral blood EOS ($P<0.05$). **Conclusion:** Our results exhibited a novel profile of OPC as a potent option for airway inflammation relief and ventilation rescue, highlighting a promising role of OPC in asthma management.

[Key words] oligomeric proanthocyanidins; asthma; ACT; eosinophils; pulmonary function

[Acta Univ Med Nanjing, 2017, 37(11):1402-1405, 1413]

支气管哮喘(简称哮喘)是由多种细胞组分(嗜酸性粒细胞、肥大细胞、气道上皮细胞、平滑肌细胞、

中性粒细胞、T 淋巴细胞等)介导的气道慢性炎症性疾病^[1]。其发病机制复杂,多种因素相互交叠、互为因果,导致疾病无法治愈、不断进展。尽管目前 β_2 受体激动剂、抗胆碱药及糖皮质激素作为哮喘的一线用药已取得较好疗效,但仍有部分患者对其不敏感、且出现诸多不良反应而少有获益^[2]。因此,寻找安全

[基金项目]江苏省青年医学人才项目(QNRC2016599)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: zeng_xiao_ning@hotmail.com

有效的治疗药物是目前哮喘研究中亟待解决的问题。

大量研究证实,多个环节决定了哮喘的发生发展,包括免疫功能紊乱、重塑功能异常、神经体液失衡、氧化/抗氧化系统平衡被打破等^[3]。其中,氧化应激是哮喘领域近年来尤为关注的重要机制之一^[4]。有研究发现伴随哮喘气道炎症的同时,活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)大量产生、肺组织抗氧化能力显著下降,引起支气管上皮凋亡增多、上皮屏障功能受损、气道异常重塑^[5]。因此,维持气道氧化/抗氧化平衡或可成为极富潜力的哮喘治疗新策略^[6],而天然抗氧化中药因其高效、低毒等特点备受学界关注^[7]。葡萄籽原花青素(oligomeric proanthocyanidins, OPC) 作为一类天然的黄酮类化合物,具有极强的抗氧化性,体内抗氧化能力远优于维生素 D、维生素 E、没食子酸等抗氧化剂^[8],且抗氧化能力呈浓度依赖性^[9]。本研究主要以 OPC 为研究对象,对纳入的哮喘病例予以不同剂量、不同疗程进行干预,通过随访其哮喘控制测试(asthma control test, ACT)评分、外周血嗜酸性粒细胞(eosinophils, EOS)及第 1 秒用力呼气容积占预计值百分比(FEV1%),评估各组患者的转归,旨在探索有效的哮喘治疗候选药物,为临床提供新选择。

1 对象和方法

1.1 对象

选取 2016 年 4 月—2017 年 4 月江阴市人民医院收治的 60 例非急性发作期哮喘患者作为研究对象,依照入组时间编号,根据样本量估计公式所得结果^[10],按随机信封法分为安慰剂组(9 例)及 OPC 高(300 mg/d, 18 例)、中(200 mg/d, 17 例)、低(100 mg/d, 16 例)剂量干预组(共 51 例),分别于受试前及干预 4、8 周末行 ACT、外周血 EOS 计数及 FEV1%检测;安慰剂组的给药方式、维持时间及各时间节点检测项目与 OPC 干预组完全一致;各组患者性别、年龄、病程、哮喘程度等一般临床资料差异无统计学意义($P>0.05$);所有患者均对本研究知情并签署知情同意书。

入组标准:自愿参加此项研究,了解并遵守、配合相应检查,遵守用药剂量、随访计划,自愿签署书面知情同意书;年龄 18~65 岁,性别及种族不限;按照 GINA 定义的诊断标准,诊断哮喘 ≥ 3 个月;心、肺、肝、肾功能基本正常;遵医嘱用药,未自行停药或服用其他药物。

排除标准:不能配合本项目相关检查或其他原

因不能合作者;就诊时合并有以下任何一种疾病,如肺癌、肺炎、肺结核或严重免疫缺陷;严重心、肺、肝、肾功能不全;酗酒或麻醉药物滥用、吸毒史,或精神病史、对抗性格或其他情感或智力问题等可能影响参与本研究知情有效的情况;正在参加其他药物临床试验项目,或停止时间 < 3 个月;女性处于妊娠期。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法

本组研究中所有患者均处于非急性发作期,常规治疗均采用布地奈德福莫特罗吸入剂(商品名:信必可)1 吸/次,2 次/d。安慰剂组采用常规治疗和口服安慰剂;OPC 干预组在常规治疗基础上接受口服葡萄籽(OPC 含量 $\geq 95\%$)的辅助治疗方案,据 OPC 抗氧化能力呈浓度依赖性分别为高、中、低剂量组;4 周为 1 个疗程,受试者接受 2 个疗程的干预,每日完整记录常规治疗吸入量和干预治疗服用量。

1.2.2 观察指标

患者受试前进行 ACT、血常规检测外周血 EOS 及肺功能 FEV1%检查;治疗满 4、8 周后分别再次接受以上指标的评估检测。

1.3 统计学方法

数据统计分析使用 SPSS19.0 软件,计量数据用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,进行方差齐性检验和正态性检验,如满足方差分析要求,采用单因素方差分析并用 SNK 法两两比较,相关分析采用 Pearson 相关; $P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同干预剂量对患者病程的影响

ACT 评分:干预前,4 组 ACT 评分差异无统计学意义($P>0.05$);干预 4 周后,各组 ACT 评分差异尚无统计学意义($P>0.05$);干预 8 周后,高剂量组的 ACT 评分显著高于安慰剂组和低剂量组($P<0.05$,图 1)。

外周血 EOS 计数:干预前,4 组外周血 EOS 差异无统计学意义($P>0.05$);干预 4 周后,高剂量组患者外周血 EOS 较其余 3 组显著下降($P<0.05$);干预 8 周后,中、高剂量组患者的外周血 EOS 显著下降($P<0.05$,图 2)。

FEV1%:干预前,4 组 FEV1%差异无统计学意义($P>0.05$);干预 4 周后,各组 FEV1%差异尚无统计学意义($P>0.05$);干预 8 周后,中、高剂量组 FEV1%显著升高($P<0.05$),且中、高剂量组间亦有显著差异($P<0.05$,图 3)。

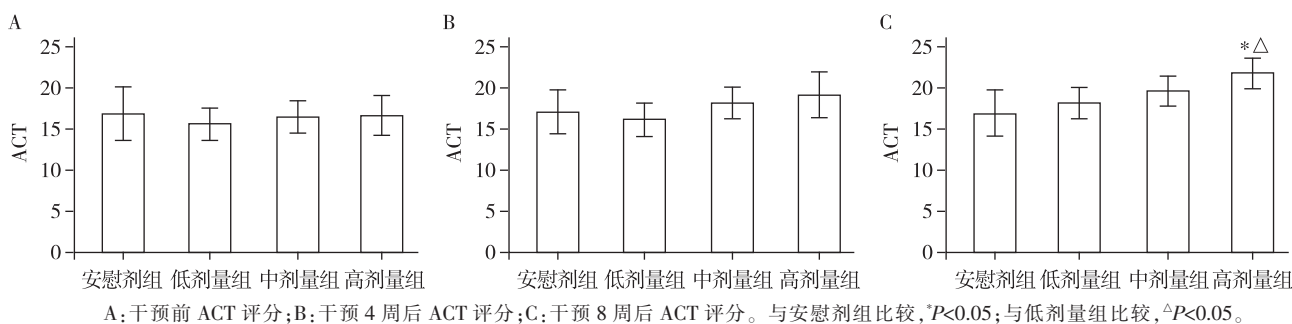


图 1 不同剂量 OPC 干预前后 ACT 评分

Figure 1 ACT score before and after intervention with different doses of OPC

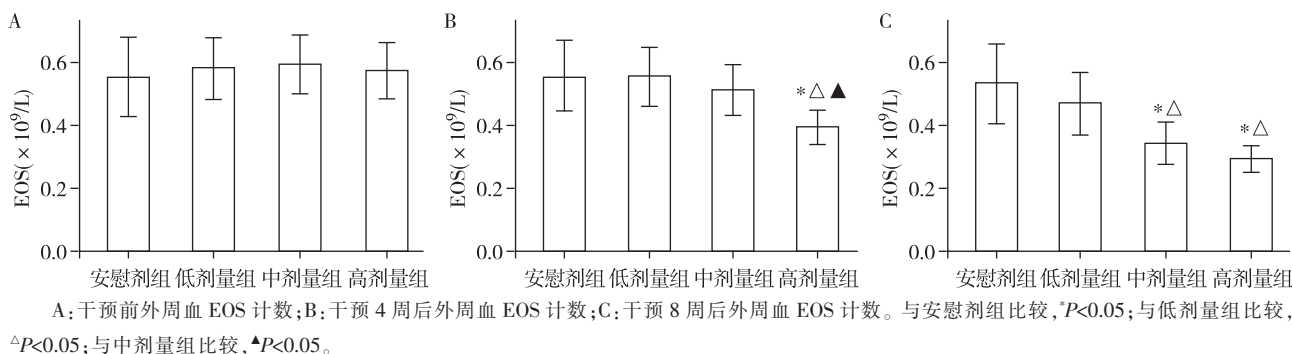


图 2 不同剂量 OPC 干预前后外周血 EOS 计数

Figure 2 EOS counts in peripheral blood before and after intervention with different doses of OPC

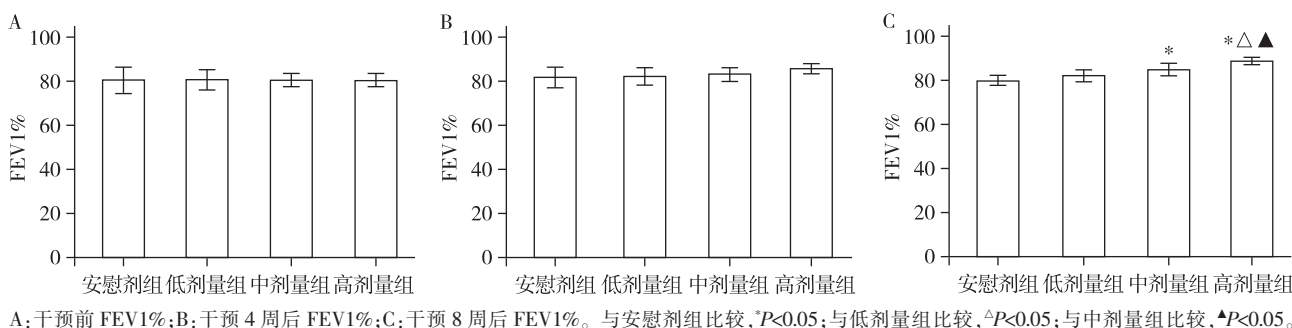


图 3 不同剂量 OPC 干预前后 FEV1%

Figure 3 FEV1% before and after intervention with different doses of OPC

2.2 剂量、干预时间与 ACT 评分、FEV1% 及外周血 EOS 计数的相关性

不同剂量对患者病程的影响:干预 4 周后,药物剂量与外周血 EOS 数量呈负相关 ($P<0.05, r<0$);干预 8 周后,药物剂量与受试者 ACT 评分及 FEV1% 值呈正相关 (P 均 $<0.05, r>0$),与外周血 EOS 数量呈负相关 (P 均 $<0.05, r<0$, 表 1)。

不同干预时间对患者病程的影响:中、高剂量组的药物干预时间与受试者 ACT 评分及 FEV1% 值呈正相关 (P 均 $<0.05, r>0$),与外周血 EOS 数量呈负相关 (P 均 $<0.05, r<0$, 表 2)。

3 讨论

研究显示,哮喘患者气道中存在过度的氧化应

激反应,ROS 水平异常增高,引起上皮细胞脱落、黏液分泌增加^[11-12]、平滑肌收缩^[11,13]、气道反应性增高^[11]。ROS 作为氧化应激所产生的重要生物活性基团之一,其化学性强、不稳定,可作为胞内重要的信号分子、参与调节多种细胞功能,包括增殖与凋亡、分化与迁移等^[14-15]。肺组织因直接与外界环境接触而成为氧化损伤的重要靶,内源性或外界吸入的氧化剂均可诱导哮喘的致病和发作^[16]。研究证实,哮喘患者气道内的氧化/抗氧化失衡,氧化物水平升高、抗氧化能力降低,是哮喘发生发展的重要机制之一^[17],最终可引起支气管黏膜损伤、非肾上腺素能非胆碱能功能障碍,气道痉挛、狭窄。

本研究对接受不同剂量 OPC 干预、不同干预时间的患者进行了 ACT 评分、外周血 EOS 计数及

表 1 不同剂量与观察指标相关性分析

Table 1 Correlation analysis of different doses and observation index

时间	ACT 评分		外周血 EOS		FEV1%	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
0 周	0.031	0.814	0.033	0.800	-0.030	0.980
4 周	0.233	0.073	-0.381	0.003	0.236	0.069
8 周	0.433	0.001	-0.539	<0.001	0.579	<0.001

表 2 不同干预时间与观察指标相关性分析

Table 2 Correlation analysis between different intervention duration and observation index

组别	ACT 评分		外周血 EOS		FEV1%	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
安慰剂组	0.013	0.095	-0.051	0.801	0.008	0.969
低剂量组	0.275	0.058	-0.243	0.095	0.128	0.348
中剂量组	0.339	0.015	-0.553	<0.001	0.338	0.015
高剂量组	0.415	0.002	-0.664	<0.001	0.626	<0.001

FEV1%测定。结果显示,OPC 可显著改善患者 ACT 评分、降低外周血中 EOS 数量、增加 FEV1%值,其疗效与药物剂量及疗程相关,提示黄酮类 OPC 具有抑制气道炎症、改善通气功能的作用,可显著提高哮喘患者的生活质量。ACT 是一份包含 5 项内容的哮喘调查问卷表,包括:活动受限、喘息症状、夜间症状、急救药物的使用频次和患者对哮喘控制的自我评估^[19]。其通过具体数值评分反映哮喘的控制程度,在哮喘患者管理中具有重要价值^[19]。本研究显示,OPC 干预能增加 ACT 分值,即延缓哮喘病情进展、提高哮喘患者生活质量。目前,氧化应激与慢性气道炎症性疾病如支气管哮喘、COPD 的关系已得到证实^[20],研究表明哮喘患者体内呈高氧化应激状态,ROS 水平升高,抗氧化储备如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)等含量降低。有证据显示^[21],OPC 可减轻疲劳导致呼吸肌组织内 ROS 升高所引起的损伤、改善肺部通气,提示本研究中 OPC 对哮喘进程的良好缓解效应,可能与其提高机体抗氧化容量密切相关。

EOS 的募集与浸润是哮喘的重要特征^[22]。作为哮喘病程中的重要次级效应细胞,EOS 在气道黏膜内的聚集和激活可直接触发气道炎症反应^[23]。EOS 激活后,大量表达各种细胞因子受体、释放多种炎症介质,引起免疫炎症^[24]。已证实 EOS 是慢性哮喘患者气道中的主要炎症细胞,在气道重塑中起重要作用,与气道高反应性和气道上皮细胞损伤脱落密切相关^[25]。一般情况下,外周血 EOS 计数与支气管

组织 EOS 计数结果平行,可有效反映气道内炎症的严重程度^[26]。本研究结果显示,患者口服 OPC 不同疗程,外周血 EOS 数量明显下降。由于哮喘进展中 Th2 细胞被过敏原过度激活,可释放白细胞介素(interleukin, IL)-4、IL-13 等促炎因子调节 EOS 的活化、募集^[27],而有研究显示 OPC 可显著抑制 Th2 相关细胞因子的合成与释放^[28],因此我们认为 OPC 抑制 EOS 浸润的效应可能通过阻断 Th2 类细胞因子依赖性途径实现。

综上所述,天然黄酮类药物 OPC 可有效抑制哮喘患者的气道炎症反应、缓解临床症状、改善疾病预后,对临床哮喘防治具有重要价值,本研究为 OPC 辅助治疗哮喘提供了重要理论基础与实验依据。

[参考文献]

- [1] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2016, 39(9): 675-697
- [2] Ivancsoi M, Bocskei C, Muller V, et al. Extrafine inhaled corticosteroid therapy in the control of asthma[J]. J Asthma Allergy, 2013, 6(6): 69-80
- [3] Hoffman S, Nolin J, Nolin D, et al. Thiol redox chemistry: role of protein cysteine oxidation and altered redox homeostasis in allergic inflammation and asthma[J]. J Cell Biochem, 2015, 116(6): 884-892
- [4] Holguin F. Oxidative stress in airway diseases[J]. Ann Am Thorac Soc, 2013, 10 (Suppl): 150-157
- [5] 蓝楠. 氧化应激与重症哮喘研究进展[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(3): 508-510
- [6] Dozor AJ. The role of oxidative stress in the pathogenesis and treatment of asthma [J]. Ann NY Acad Sci, 2010, 1203: 133-137
- [7] Magalhaes AS, Silva BM, Perelraja MS, et al. Protective effect of quince (Cydonia oblonga Miller) fruit against oxidative hemolysis of human erythrocytes[J]. Food Chem Toxicol, 2009, 47(6): 1372-1377
- [8] Ariga T. The antioxidative function, preventive action on disease and utilization of proanthocyanidins[J]. Biofactors, 2004, 21(14): 197-201
- [9] 丁黎敏, 黄小民, 张卓一, 等. 原花青素对过氧化氢损伤内皮细胞 SOD、GSH-PX 活性的影响[J]. 中国中医急症, 2013, 22(5): 714-716
- [10] CCTS 工作组. 临床试验中样本量确定的统计学考虑[J]. 中国卫生统计, 2015, 32(4): 727-733
- [11] Zuo L, Otenbaker NP, RoseBA, et al. Molecular mechanisms of reactive oxygen species-related pulmonary inflammation and asthma[J]. Mol Immunol, 2013, 56 (1-

(下转第 1413 页)

- ceptor blockade reduces newonset atrial fibrillation and subsequent stroke compared to atenolol: the Losartan Intervention For End Point Reduction in Hypertension (Life) study[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 45(5): 712-719
- [14] Parthenakis FI, Patrianakos AP, Skolidis EI, et al. Atrial fibrillation is associated with increased neurohumoral activation and reduced exercise tolerance in patients with non-ischemic dilated cardiomyopathy[J]. *Int J Cardiol*, 2007, 118(2): 206-214
- [15] Guo YT, Lip GY, Apostolakis S. Inflammatory biomarkers and atrial fibrillation: potential role of inflammatory pathways in the pathogenesis of atrial fibrillation-induced thromboembolism[J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2015, 13(2): 192-201
- [16] Polovina MM, Ostojic MC, Potpara TS. Relation of biomarkers of inflammation and oxidative stress with hypertension occurrence in lone atrial fibrillation[J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015: 653026
- [17] Lubbers ER, Murphy NP, Mohler PJ. Defining the links between oxidative stress-based biomarkers and postoperative atrial fibrillation[J]. *J Am Heart Assoc*, 2015, 4(5): e002110
- [18] Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D, et al. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults[J]. *Circulation*, 1993, 88(5 Pt 1): 2149-2155
- [19] Johnson HM, Gossett LK, Piper ME, et al. Effects of smoking and smoking cessation on endothelial function: 1-year outcomes from a randomized clinical trial[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2010, 55(18): 1988-1995
- [20] Masoura C, Pitsavos C, Aznaouridis K, et al. Arterial endothelial function and wall thickness in familial hypercholesterolemia and familial combined hyperlipidemia and the effect of statins. A systematic review and meta-analysis[J]. *Atherosclerosis*, 2011, 214(1): 129-138
- [收稿日期] 2017-07-27
-
- (上接第 1405 页)
- 2): 57-63
- [12] Nabe T, Ikedo A, Hosokawa F, et al. Regulatory role of antigen-induced interleukin-10, produced by CD4 (+) T cells, in airway neutrophilia in a murine model for asthma[J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 677(1-3): 154-162
- [13] Zuo L, Nogueira L, Hogan MC. Reactive oxygen species formation during tetanic contraction in single isolated *Xenopus* myofibers[J]. *J Appl Physiol*, 2011, 111(3): 898-904
- [14] Geiszt M, Leto TL. The Nox family of NAD(P)H oxidases: host defense and beyond[J]. *Biol Chem*, 2004, 279(50): 51715-51718
- [15] Lambeth JD. NOX enzymes and the biology of reactive oxygen[J]. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4(3): 181-189
- [16] Lee IT, Yang CM. Role of NADPH oxidase/ROS in pro-inflammatory mediators-induced airway and pulmonary diseases[J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 84(5): 581-590
- [17] Ökrös Z, Endreffy E, Novak Z, et al. Changes in NADPH oxidase mRNA level can be detected in blood at inhaled corticosteroid treated asthmatic children[J]. *Life Sci*, 2012, 91(19/20): 907-911
- [18] 刘国梁. 哮喘控制测试对成人哮喘控制水平的实际检测效能评价[J]. *国际呼吸杂志*, 2016, 36(9): 641-644
- [19] Tsukagoshi H, Shimizu Y, Iwamae S, et al. Evidence of oxidative stress in asthma and COPD; potential inhibitory effect of theophylline[J]. *Respir Med*, 2000, 94(6): 548-588
- [20] 乌日娜, 杨敬平, 徐喜媛, 等. 肺功能及哮喘控制测试(ACT)在哮喘患者管理中的价值[J]. *临床肺科杂志*, 2012, 17(7): 1232-1233
- [21] 李立群, 郝正玮, 戈艳蕾, 等. 葡萄籽原花青素对中老年 OSAHS 患者肺通气及炎症水平的影响[J]. *实用预防医学*, 2016, 23(7): 784-788
- [22] 徐晓光, 李 立, 方 圆. 支气管哮喘和慢性阻塞性肺病患者血清嗜酸性粒细胞趋化因子的变化及临床意义[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2008, 31(7): 533-534
- [23] Foster PS, Rosenberg HF, Asquith KL, et al. Targeting eosinophils in asthma[J]. *Curr Mol Med*, 2008, 8(6): 585-590
- [24] 朱广卿. 嗜酸粒细胞及其毒性蛋白与哮喘[J]. *国外医学: 呼吸系统分册*, 1995, 15(2): 67-69
- [25] Peng T, Hao I, Madri JA, et al. Role of C5 in the development of airway inflammation, airway hyperresponsiveness, and ongoing airway response[J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(6): 1590-1600
- [26] Draper DW, Gowdy KM, Madenspacher JH, et al. ATP binding cassette transporter G1 deletion induces IL-17-dependent dysregulation of pulmonary adaptive immunity[J]. *J Immunol*, 2012, 188(11): 5327-5336
- [27] Wills-Karp M. Interleukin-13 in asthma pathogenesis[J]. *Immunol Rev*, 2004, 202: 175-190
- [28] Lee T, Kwon HS, Bang BR, et al. Grape seed proanthocyanidin extract attenuates allergic inflammation in murine models of asthma[J]. *J Clin Immunol*, 2012, 32(6): 1292-1304
- [收稿日期] 2017-07-22