

银杏叶提取物对 COPD 肺泡巨噬细胞自噬相关蛋白的影响

苏醒, 齐红松, 陈高璞

河南大学第一附属医院呼吸与危重症医学科中医联合病区, 开封 475000

摘要 **目的** 观察银杏叶提取物 (GBE) 对慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 肺泡巨噬细胞自噬相关蛋白的影响。**方法** 选取河南大学第一附属医院 2021 年 6 月至 2023 年 10 月收治的 100 例 COPD 患者, 随机分为常规组和 GBE 组, 每组 50 例。常规组予以常规药物治疗, GBE 组采用 GBE 辅助常规药物治疗, 所选 GBE 为舒血宁注射液, 比较两组患者的炎症指标、氧化应激指标、肺泡巨噬细胞自噬相关蛋白及肺功能指标。**结果** 在不同治疗方案下, GBE 组的 $\text{TNF-}\alpha$ 、IL-8、IL-10、IFN- γ 水平均低于常规组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); GBE 组的 SOD、GSH 水平均高于常规组, LDH、NO 水平均低于常规组 ($P < 0.05$); GBE 组的 LC3 蛋白、PI3K 蛋白、Akt 蛋白、mTOR 蛋白的相对表达量均低于常规组 ($P < 0.05$); GBE 组的 FEV_1 、FVC、PEF、MVV 测得值均高于常规组 ($P < 0.05$)。**结论** 银杏叶提取物辅助治疗 COPD 能有效减轻气道炎症反应及氧化应激损伤, 并促进患者肺功能恢复, 其作用机制可能与抑制巨噬细胞 PI3K/Akt/mTOR 通路相关。

关键词: 慢性阻塞性肺疾病; 银杏叶提取物; 巨噬细胞; PI3K/Akt/mTOR 信号通路

中图分类号: R56

文献标志码: A

文章编号: 1008-2409(2025)01-0076-06

Effects of Ginkgo biloba extract on autophagy related proteins in COPD alveolar macrophages

SU Xing, QI Hongsong, CHEN Gaoying

Department of Respiratory and Critical Care Medicine, TCM Ward, the First Affiliated Hospital
of Henan University, Kaifeng 475000, China

Abstract **Objective** To observe the effect of Ginkgo biloba extract (GBE) on autophagy related proteins in alveolar macrophages chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Methods** 100 COPD patients admitted to the First Affiliated Hospital of Henan University from June 2021 to October 2023 were randomly divided into group and GBE group, with 50 patients in each group. The conventional group were received conventional drug treatment, while the GBE group were received GBE assisted conventional drug

基金项目: 2022 年度河南省医学科技攻关计划项目 (LHGJ20220648)。

第一作者: 苏醒, 硕士, 主治医师, 研究方向为肺部疾病诊治, suxingsx113@sina.com。

treatment. The selected GBE was Shuxuening injection. The inflammatory indicators oxidative stress indicators, autophagy related proteins, and lung function indicators were compared between the two groups of patients. **Results** Under different treatment regimens, the levels of TNF- α , IL-8, IL-10, and IFN- γ in the GBE group were lower than those in the conventional group, showing a statistically significant difference ($P < 0.05$). The SOD and GSH levels in the GBE group were higher than those in the control group, while LDH and NO levels were lower than those in the control group ($P < 0.05$). The relative expression levels of LC3, PI3K, Akt, and mTOR in the GBE group were lower than those in the conventional group ($P < 0.05$). The FEV1, FVC, PEF, and MVV the GBE group were higher than those the conventional group ($P < 0.05$). **Conclusion** Ginkgo biloba extract as an adjuvant therapy for COPD reduce airway inflammation and oxidative stress damage, and promote the recovery of lung function in patients mechanism be related to the inhibition of PI3K/Akt/mTOR pathway.

Keywords: chronic obstructive pulmonary disease; Ginkgo biloba leaf extract; macrophages; PI3K/Akt/mTOR signaling pathway

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种具有较高发病率及致死率的呼吸系统疾病,近年随我国经济水平的不断发展,气候环境的不断改变,其患病率正在逐渐上升^[1]。药物治疗是 COPD 的重要基石,茶碱类药及糖皮质激素类药均是用于缓解气道炎症、促使支气管舒张的常见药。除药物治疗外,酌情实施机械通气是缓解患者呼吸肌疲劳的重要措施^[2-3]。但有研究^[4-5]表明, COPD 患者体内血液多呈高凝状态,其肺动脉栓塞发生风险较高,若不及时进行干预还可能进一步诱发肺心病,并增加心力衰竭、休克风险。常规药物能一定程度减轻气道炎症和氧化应激反应,但难以纠正肺部微循环。银杏叶提取物(Ginkgo biloba extract, GBE)为一种具有多种药理特征的化合物,其成分中所含的黄酮类、酚类、萜内酯类物质均可改善血液高凝状态并降低循环压力^[6]。为进一步探讨 GBE 治疗机制,并指导临床治疗,本研究主要观察 GBE 对 COPD 肺泡巨噬细胞通路的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取河南大学第一附属医院 2021 年 6 月至 2023 年 10 月收治的 100 例 COPD 患者为研究对象,采用电脑随机分组法将入组患者分别列为常规组和 GBE 组,每组 50 例。常规组男 26 例,女 24 例;年龄

45~65 岁,平均(55.2 ± 5.2)岁;COPD 病程 3~5 年,平均(4.2 ± 0.4)年。GBE 组男 25 例,女 25 例;年龄 47~63 岁,平均(55.4 ± 5.1)岁;COPD 病程 3~5 年,平均(4.4 ± 0.2)年。两组患者一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究已获得河南大学第一附属医院医学伦理委员会批准(文号:HS2021-21102)。经系统健康宣教,所有患者充分了解本研究内容,并签署知情同意书。

纳入标准:①符合 COPD 诊断要点^[7];②经影像学检查确认肺部有点状、片状浸润性阴影;③入院时 COPD 自我评估测试(CAT)^[8]评分 >20 分。

排除标准:①经临床检查确认存在其他肺部器质性病变;②经病史调查确认存在恶性肿瘤;③经肺功能评估确认存在其他病理性通气障碍;④经病史调查确认存在精神疾病或先天性认知障碍。

1.2 方法

常规组予以常规药物治疗:经静脉注射 15 mg/kg 甲泼尼龙针(辽宁海思科制药有限公司,国药准字:H20133234,规格:40 mg),雾化吸入布地奈德溶液(澳大利亚 AstraZeneca Pty Ltd,国药准字:H20140475,规格:2 mL:1 mg),每次 4 mL,每日进行 2 次常规抗炎治疗;雾化吸入左沙丁胺醇溶液(浙江赛默制药有限公司,国药准字:H2023306,规格:3 mL:0.63 mg),每次 5 mL,每日 1 次以解除支气管痉挛;对于咳痰严重,需雾化吸入乙酰半胱氨酸溶液(河北仁合益康

药业有限公司,国药准字:H20223650,规格:3 mL:0.3 g)进行祛痰,每次3 mL,每日2次;对患者进行病原菌检测后,针对性予以单药、多药抗感染治疗,连续治疗14 d。

GBE组采用GBE辅助常规药物治疗:所选GBE为舒血宁注射液(山西振东制药股份有限公司,国药准字:Z14020748,规格:5 mL),每次取20 mL加入至250 mL浓度为5%的葡萄糖溶液稀释后经静脉缓慢滴注,每日用药1次,其余常规药物治疗措施与常规组一致,连续治疗14 d。

1.3 观察指标

①炎症指标:以清晨空腹时的5 mL肘静脉血为检测样本,在血液样本中加入EDTA抗凝剂作抗凝处理后,以3 000 r/min的速度离心3 min,取上层清液备用。经酶联免疫法检测两组患者肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-10(IL-10)、干扰素- γ (IFN- γ)等炎症指标水平,检测设备为Elx 800TS酶标仪(购自美国伯腾仪器有限公司,国械注进:20192220616),检测时间为治疗开始前1 d、治疗结束后次日。②氧化应激指标:检测两组患者超氧化物歧化酶(SOD)、还原型谷胱甘肽(GSH)、乳酸脱氢酶(LDH)、一氧化氮(NO)等氧化应激指标,检测样本、方法、设备及检测时间同上。③肺泡巨噬细胞自噬相关蛋白:检测样本为入组患

者的肺泡灌洗液,按照上述参数对肺泡灌洗液进行离心处理,并分离出巨噬细胞后,检测两组患者LC3蛋白、PI3K蛋白、Akt蛋白、mTOR蛋白等肺泡巨噬细胞自噬相关蛋白,检测样本、时间同上,检测方法为免疫组化法,检测设备为BenchMark ULTRA全自动免疫组化染色系统[购自罗氏诊断产品(上海)有限公司,国食药监械(进)字:2009第1411951号]。④肺功能指标:采用AS-507肺功能测定仪[购自荟翊医疗科技(上海)有限公司,国械注进:20162071982]检测两组第一秒用力呼气量(FEV₁)、用力肺活量(FVC)、呼气峰值流速(PEF)、最大自主通气量(MVV)等肺功能指标,检测时间同上。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件处理数据,计数资料以样本量 n 、样本量占比(%)表示,采用 χ^2 检验;计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,采用 t 检验。 $P<0.05$ 表示差异具统计学意义。

2 结果

2.1 炎症指标

治疗前,两组患者的炎症指标比较,差异无统计学意义($P>0.05$);治疗后,GBE组的TNF- α 、IL-8、IL-10、IFN- γ 均低于常规组,差异有统计学意义($P<0.05$),结果如表1所示。

表1 两组患者的炎症指标比较

组别	n /例	TNF- α /(ng/mL)		IL-8/(pg/mL)		IL-10/(pg/mL)		IFN- γ /(pg/mL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
GBE组	50	25.33 $\pm$ 5.28	10.23 $\pm$ 2.28*	60.28 $\pm$ 10.43	30.49 $\pm$ 5.45*	65.47 $\pm$ 10.28	38.33 $\pm$ 5.26*	62.25 $\pm$ 10.39	35.66 $\pm$ 5.45*
常规组	50	25.42 $\pm$ 5.14	12.49 $\pm$ 3.36*	60.33 $\pm$ 10.26	33.25 $\pm$ 5.37*	65.36 $\pm$ 10.24	41.23 $\pm$ 5.43*	62.33 $\pm$ 10.25	38.42 $\pm$ 5.33*
t		0.086	3.936	0.024	2.551	0.054	2.713	0.039	2.560
P		>0.05	<0.05	>0.05	<0.05	>0.05	<0.05	>0.05	<0.05

注:与治疗前比较,* $P<0.05$ 。

2.2 氧化应激指标

治疗前,两组患者的氧化应激指标比较,差异无统计学意义($P>0.05$);治疗后,GBE组的SOD、GSH

水平均高于常规组,LDH、NO水平均低于常规组,差异均具有统计学意义($P<0.05$),结果如表2所示。

表 2 两组患者的氧化应激指标比较

组别	n/例	SOD/(U/mL)		GSH/(U/L)		LDH/(U/L)		NO/(μmol/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
GBE 组	50	53.39±10.24	85.45±10.23 *	25.19±5.44	45.36±10.27 *	325.44±30.27	205.42±20.35 *	63.11±10.24	32.44±5.31 *
常规组	50	54.08±10.28	80.38±10.25 *	24.77±5.28	40.33±10.41 *	326.65±30.23	218.63±20.26 *	64.08±10.36	35.47±5.25 *
<i>t</i>		0.336	2.476	0.392	2.432	0.200	3.253	0.471	2.869
<i>P</i>		>0.05	<0.05	>0.05	<0.05	>0.05	<0.05	>0.05	<0.05

注:与治疗前比较,**P*<0.05。

2.3 肺泡巨噬细胞自噬相关蛋白

治疗前,两组患者的肺泡巨噬细胞自噬相关蛋白比较,差异无统计学意义(*P*>0.05);治疗后,GBE 组 LC3 蛋白、PI3K 蛋白、Akt 蛋白、mTOR 蛋白的相对表达量均低于常规组,差异有统计学意义(*P*<0.05),结果如表 3 所示。

表 3 两组患者的肺泡巨噬细胞自噬相关蛋白比较

组别	n/例	LC3 蛋白		PI3K 蛋白		Akt 蛋白		mTOR 蛋白	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
GBE 组	50	5.49±1.25	0.29±0.12 *	5.66±1.28	0.25±0.11 *	5.96±1.45	0.36±0.12 *	5.41±1.23	0.41±0.16 *
常规组	50	5.35±1.39	1.05±0.36 *	5.75±1.34	1.12±0.41 *	6.02±1.76	1.23±0.49 *	5.39±1.36	1.31±0.36 *
<i>t</i>		0.530	14.162	0.343	14.492	0.186	12.194	0.077	16.154
<i>P</i>		>0.05	<0.05	>0.05	<0.05	>0.05	<0.05	>0.05	<0.05

注:与治疗前比较,**P*<0.05。

2.4 肺功能指标

治疗前,两组患者的肺功能指标比较,差异无统计学意义(*P*>0.05);治疗后,GBE 组的 FEV₁、FVC、PEF、MVV 均高于常规组,差异有统计学差异(*P*<0.05),结果如表 4 所示。

表 4 两组患者的肺功能指标比较

组别	n/例	FEV ₁ /(%)		FVC/(L)		PEF/(L/min)		MVV/(L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
GBE 组	50	46.23±10.22	68.44±10.25 *	55.29±10.45	67.44±10.26 *	310.25±30.44	385.25±30.22 *	62.12±10.44	75.25±10.33 *
常规组	50	45.15±10.31	63.31±10.26 *	56.14±10.23	62.19±10.35 *	311.25±30.24	360.23±30.19 *	61.45±10.27	70.49±10.21 *
<i>t</i>		0.526	2.501	0.411	2.547	0.165	4.142	0.324	2.317
<i>P</i>		>0.05	<0.05	>0.05	<0.05	>0.05	<0.05	>0.05	<0.05

注:与治疗前比较,**P*<0.05。

3 讨论

COPD 是临床常见呼吸系统疾病,也是导致全球居民死亡的重要原因之一,相关数据显示,近年我国 COPD 患病率正逐渐上升。针对 COPD 患者,临床多会予以抗感染、止咳、化痰等对症支持治疗,除药物治疗外,机械通气也是改善 COPD 呼吸功能、缓解通气障碍的有效措施^[9]。但 COPD 是一种慢性肺部疾病,其发病多是由于慢性支气管炎及肺气肿引起,当

肺内组织弹性降低、气道塌陷时,部分患者则会出现不同程度支气管痉挛^[10-11]。且部分病情严重者还可能由于肺部血液长期处于高凝状态而继发不同程度肺动脉高压或肺心病,上述并发症的发生原因可能与肺血管床重建、肺部血容量增加及血液黏滞度升高等密切相关^[12-13]。机械通气及常规药物治疗均可一定程度缓解相关呼吸道症状,但在改善肺部血流动力学方面的效果并不理想^[14]。

舒血宁注射液为临床常见的 GBE 制剂,本研究通过采用舒血宁注射液辅助治疗 COPD 后的结果显示,GBE 组的 TNF- α 、IL-8、IL-10、IFN- γ 均低于常规组,提示 GBE 在改善 COPD 气道炎症反应方面具有一定优势。临床认为,COPD 通常是由于患者吸入大量有毒颗粒物引起,当气道长期暴露于有害分子时即可诱发异常炎症反应,持续炎症会导致气道与肺部不可逆结构改变并加重 COPD 的进展。其发病机制较为复杂,炎症反应及氧化应激反应为 COPD 的重要病理基础,也是导致患者气道重塑的危险因素^[15]。GBE 提取自干燥银杏叶,其成分含有多种活性物质及化学成分,具有抗氧化和抗炎作用,可通过中和自由基而减轻氧化应激反应,同时改善血管内皮炎症状态^[16]。本研究结果显示,GBE 组治疗后的各炎症因子水平均低于常规组;GBE 组治疗后的 SOD、GSH 水平均高于常规组,LDH、NO 水平均低于常规组,提示 GBE 在抑制气道炎症同时也能减轻氧化应激损伤。陈红梅等^[17]应用银杏叶提取物联合前列地尔治疗 COPD 合并肺动脉高血压结果显示,观察组治疗后的 IL-6、ET-1、hs-CRP、NO 水平低于对照组,与本研究结果具有一致性。临床认为,机体氧化-抗氧化机制失衡为 COPD 中药发病机制之一,当气道内吸入大量有害颗粒物或烟雾即可刺激产生大量活性氧并加重肺部炎症,内源性、外源性氧化物均会促使肺部组织细胞功能障碍或凋亡,还可通过破坏细胞外基质而进一步引起蛋白酶-抗蛋白酶失衡及氧化应激损伤,氧化应激损伤与炎症反应可相互作用、相互影响,二者均为 COPD 的主要致病机制^[17-18]。GBE 中所含黄酮类等多种有机酸物质均具有天然抗氧化作用,能通过清除氧自由基、NO 等促氧化物质而抑制脂质过氧化,还可通过增强 SOD、

GSH 等抗氧化物活性而产生减轻患者氧化应激损伤^[19]。自噬为真核细胞生理降解机制之一,也是细胞关键修复途径之一,细胞自噬能清除内部受损、衰老的蛋白质及细胞器,以此维持细胞结构、功能的完整性,细胞自噬功能会在机体遭受缺氧性损伤时增强,其作为一种细胞的自我保护机制,可参与多种疾病的病理、生理过程。炎症因子、氧化应激因子均是细胞自噬后的重要病理产物,而 PI3K/Akt/mTOR 则是细胞自噬的主要信号通路^[19-20]。本研究结果显示,GBE 组治疗后的 LC3 蛋白、PI3K 蛋白、Akt 蛋白、mTOR 蛋白等巨噬细胞自噬相关蛋白的相对表达量均低于常规组,提示 GBE 对 COPD 的治疗机制可能在于抑制巨噬细胞自噬方面;GBE 组治疗后的肺功能指标水平平均高于常规组,提示在常规药物治疗基础上联合应用舒血宁等 GBE 制剂更有利于促进患者肺功能恢复。其治疗机制主要在于抑制巨噬细胞 PI3K/Akt/mTOR 自噬信号通路并减轻气道炎症反应及氧化应激反应方面。

4 结论

GBE 能通过抑制巨噬细胞 PI3K/Akt/mTOR 自噬信号通路而减轻 COPD 患者的气道炎症反应及氧化应激损伤,对促进患者肺功能恢复具有积极意义。

参考文献

- [1] LABAKI W W, ROSENBERG S R. Chronic obstructive pulmonary disease[J]. Ann Intern Med, 2020, 173(3): 17-32.
- [2] 刘欢,张明川.无创机械通气同步肺康复治疗对慢性阻塞性肺疾病急性加重的疗效[J].成都医学院学报, 2023, 18(1): 49-53.
- [3] 章秀,闻秀珍,夏斌,等.布地格福联合多索茶碱治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者的效果[J].华夏医学, 2022, 35(5): 54-58.
- [4] 冯文萍,宫志鹏,姚雪婷,等.思力华联合信必可治疗慢性阻塞性肺疾病合并肺心病的效果观察[J].实用临床医药杂志, 2023, 27(17): 88-92.
- [5] 马永华,王雅莉,祁向荣,等.从痰瘀论治 COPD 并高凝状态的中西医诊治概况[J].中国民族民间医药, 2022, 31(6): 70-74.

- [6] 哈建利.银杏叶提取物药理作用的生理基础及其临床应用[J].湖北职业技术学院学报,2024,27(3):102-106.
- [7] 王晓娟,方向阳.慢性阻塞性肺疾病全球倡议 2019:慢性阻塞性肺疾病诊断、治疗与预防全球策略解读[J].中国全科医学,2019,22(18):2141-2149.
- [8] THOMASHOW B, STIEGLER M, CRINER G J, et al. Higher COPD assessment test score associated with greater exacerbations risk: a post hoc analysis of the IMPACT trial[J].Chronic Obstr Pulm Dis, 2022,9(1):68-79.
- [9] YANG I A, JEBKINS C R, SALVI S S. Chronic obstructive pulmonary disease in never-smokers: risk factors, pathogenesis, and implications for prevention and treatment[J].Lancet Respir Med, 2022,10(5):497-511.
- [10] 黄菲菲,郑劲平.《慢性阻塞性肺疾病全球倡议(2024版)》解读:对肺功能的关键描述[J].国际呼吸杂志,2024,44(6):643-648.
- [11] 王蕾,王桐生,王雅娟.巨噬细胞在慢性阻塞性肺疾病发展及治疗中的研究进展[J].临床肺科杂志,2024,29(2):293-297.
- [12] 钱晶,金小乐.血乳酸、LCR 联合无创血流动力学监测对慢性阻塞性肺疾病急性加重期合并呼吸衰竭患者预后的预测价值[J].转化医学杂志,2023,12(5):235-240.
- [13] 张海波,孟晓利,折彩梅.不同通气模式对 COPD 合并呼吸衰竭患者呼吸力学及血流动力学的影响[J].检验医学与临床,2022,19(12):1635-1638.
- [14] 张炜,丁朵,王蕾.慢性阻塞性肺疾病相关肺动脉高压中肺动脉压力与肺功能的关联性研究[J].西安交通大学学报(医学版),2022,43(6):889-894.
- [15] 郭媛琦,方芳,顾媛媛,等.针刺治疗慢性阻塞性肺疾病的抗炎机制研究[J].针灸临床杂志,2024,40(8):90-95.
- [16] 夏江,姜京京,王晓玲,等.银杏叶提取物抗炎活性成分及作用机制研究进展[J].药学研究,2024,43(5):473-479.
- [17] 陈红梅,李洋,王琦,等.银杏叶提取物联合前列地尔对慢性阻塞性肺疾病合并肺动脉高压患者的临床疗效[J].中成药,2024,46(9):2963-2967.
- [18] 韵成才,雍文兴.TNF- α /NF- κ B 信号通路在慢性阻塞性肺疾病中的作用及中医药调控研究进展[J].临床医学研究与实践,2024,9(7):7-10.
- [19] 张鹏飞,潘玲,张华玲,等.基于 PI3K/Akt/mTOR 信号通路探讨银杏叶提取物防治慢性阻塞性肺疾病的机制[J].现代中西医结合杂志,2023,32(1):1-9.
- [20] 郭栋伟,张鹏飞,任明君,等.银杏叶提取物防治慢性阻塞性肺疾病的机制研究:基于 PI3K/Akt/mTOR 信号通路调控肺泡巨噬细胞自噬[J].中国全科医学,2023,26(3):293-303.
- [收稿日期:2024-09-11]
- [责任编辑:桂根浩 英文编辑:周寿红]