



哮喘患者中性粒细胞内 RelA 的表达变化研究

黄进 朱黎明*

湖南省人民医院马王堆院区 老年呼吸内科 湖南长沙 410016

摘要：目的：明确支气管哮喘患者外周血中性粒细胞内 RelA 的表达变化。方法：收集健康正常人及支气管哮喘轻、中、重度急性发作期患者，抽取哮喘患者外周血，分离纯化中性粒细胞，通过 RT-PCR 检测 RelA 在中性粒细胞内的表达。结果：轻、中、重度哮喘组中性粒细胞内 RelA 比值较正常对照组升高 ($P < 0.001$)。结论：哮喘患者外周血中性粒细胞内 RelA 的表达增加。

关键词：RelA；中性粒细胞；支气管哮喘

Expression of RelA in neutrophils of asthmatics

HUANG jin, ZHU Li-ming*

(Elderly respiratory department, Hunan People's Hospital, Changsha, 410016, China)

Objective: To determine the expression of RelA in peripheral blood of patients with bronchial asthma. **Methods:** Blood were collected from healthy people and mild, moderate and severe bronchial asthma patients followed by separation of neutrophils. The expression of RelA were tested by RT-PCR. **Results:** The expression of RelA in the mild, moderate and severe asthma group was higher than that in the normal control group ($P < 0.001$). **Conclusion:** There is increased expression of RelA in peripheral blood neutrophils.

Key words: RelA; Neutrophils; Apoptosis; Asthma

中图分类号：R562.2+5

文献标识码：A

文章编号：1009-5187(2017)15-005-02

前言：

哮喘是由多种细胞参与的气道异质性疾病，气道炎症学说是目前公认的支气管哮喘最重要的发病机制。但有研究发现嗜酸性粒细胞型哮喘在儿童哮喘中占 46%，在成人哮喘中占 53%[1]，由此可见非嗜酸性粒细胞型哮喘在儿童和成人哮喘中都很常见。非嗜酸性粒细胞型哮喘中基本上存在着中性粒细胞的增加[2-3]，这提示我们中性粒细胞性炎症可能是非嗜酸性粒细胞型哮喘的一个重要发病机制。

转录因子 RelA (p65) 属于 NF- κ B/Rel 蛋白家族，RelA 参与机体的多种病理生理过程，RelA 在延迟及抑制中性粒细胞凋亡中发挥中心性的作用[4-5]。本研究拟明确 RelA 在不同严重程度哮喘患者外周血中性粒细胞内的表达变化。

1. 材料、对象与方法

1.1 对象

本实验中轻度哮喘患者 13 例，中度哮喘 17 例，重度哮喘 9 例。哮喘患者的入选标准和病情分级参照 2013 年中华医学会呼吸病学分会哮喘学组制定的支气管哮喘防治指南，且 1 个月内未使用过静脉及口服糖皮质激素及免疫调节剂。另选 15 例健康体检者为正常对照组。4 组受试者的年龄、性别差异无统计学意义。

1.2 方法

1.2.1 中性粒细胞的分离纯化：抽取外周血加于 Ficoll-Paque 淋巴细胞分离液上面，2000rpm/min 离心 15min。小心吸取淋巴细胞层上的血浆备用，弃去淋巴细胞层和 Ficoll-Paque 淋巴细胞分离液层。细胞沉淀内加入备用的血浆和 0.6ml 0.6%右旋糖酐，室温静置 30min。吸取上清，1000 rpm/min 离心 5min 既得中性粒细胞，其中所混红细胞用红细胞裂解液除去红细胞污染。

1.2.2 RT-PCR：利用 Trizol 裂解法提取总 RNA，依据 M-MLV 1st

Strand Kit 试剂盒说明书，将中性粒细胞总 mRNA 逆转录成 cDNA。严格按照 Taq MasterMix Kit 试剂盒说明书进行 PCR 反应。用 2%琼脂糖凝胶电泳比较 RelA 与 β -actin 相对吸光度值并进行半定量分析。

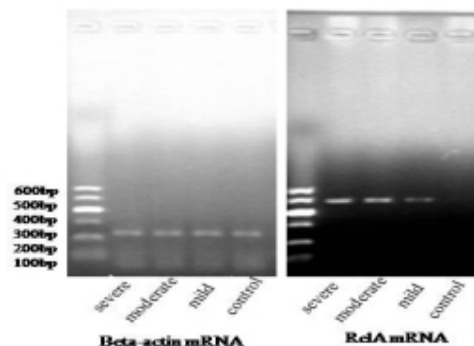
1.3 统计分析

在这篇文章中，所有实验数据均用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{X} \pm S$) 表示，应用 GraphPad Prism5.0 统计软件分析，Bartlett 检验判断 4 组计量资料两两之间方差齐性 ($P > 0.1$ ，认为满足方差齐性)后，多组间比较采用单因素方差分析比较，满足方差齐性时采用 SNK-q 检验， $P < 0.05$ 认为有统计学意义；相关分析采用 Pearson 相关检验， $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

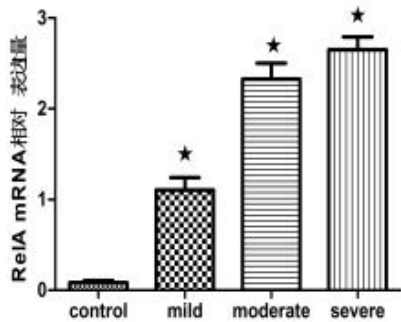
2 结果

2.2 哮喘患者外周血中性粒细胞 RelA 表达增加

轻、中、重度哮喘组 RelA mRNA 相对表达量较健康对照组上升 ($P < 0.01$)，中度哮喘组与重度哮喘组之间比较，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，如图 1。



通讯作者 (corresponding author): zhuliming3298@sina.com



The expression of RelA were tested by RT-PCR. * $P < 0.01$ compared with control group.

图1 哮喘患者外周血中性粒细胞 RelA 表达增加

3 讨论

哮喘气道内中性粒细胞增多的机制与中性粒细胞凋亡延迟密切相关[1], 我们的研究发现哮喘患者外周血中性粒细胞凋亡率也较健康对照组中性粒细胞凋亡率减少。RelA 是一种关键的抗凋亡信号[4-5], 本研究发现支气管哮喘组 RelA 的表达较健康对照组上升 (P

< 0.01)。鉴于 RelA 在中性粒细胞凋亡中发挥着中心性的作用, 以上结果提示 RelA 可能抑制哮喘患者外周血中性粒细胞的凋亡, 加重哮喘患者全身及气道炎症, 但具体机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] Helen Parfrey, Neda Farahi, Linsey Porter, et al. Live and let die: is neutrophil apoptosis defective in severe asthma? [J]. Thorax August, 2010, Vol 65 No 8.
- [2] Kuo CT, Veselits ML, Leiden JM. LKLF: A transcriptional regulator of single-positive T cell quiescence and survival[J]. Science, 1997,277(5334):1986-90.
- [3] Nie FQ, Sun M, Yang JS, et al. Long noncoding RNA ANRIL promotes non-small cell lung cancer cell proliferation and inhibits apoptosis by silencing KLF2 and P21 expression[J]. Mol Cancer Ther, 2015,14(1):268-77.
- [4] Geering B, Simon HU. Peculiarities of cell death mechanisms in neutrophils[J]. Cell Death Differ, 2011,18(9):1457-69.
- [5] Ward C, Chilvers ER, Lawson MF, et al. NF- κ B activation is a critical regulator of human granulocyte apoptosis in vitro[J]. J Biol Chem, 1999,274(7):4309-18.

(上接第4页)

表2 实验组与常规组的并发症情况分析[n (%)]

分组	尿潴留	下腹疼痛	吻合口出血	肛周感染	总发生率 (%)
实验组 (n=29)	0 (0.00)	1 (3.45)	0 (0.00)	0 (0.00)	3.45
常规组 (n=29)	2 (6.89)	2 (6.89)	1 (3.45)	1 (3.45)	20.69

3 讨论

对于直肠脱垂患者来说, 其属于临床上一类较为严重的肛肠科疾病, 以幼年期与老年期作为常见的发病时期, 导致对患者的生活质量造成了严重的影响, 分析其主要发病因素包括营养不良、直肠炎症等, 使得患者直肠黏膜与基层之间的结缔组织纤维引发断裂情况, 导致逐渐脱落了黏膜, 且容易在肛外脱出, 导致患者的直肠黏膜往下脱垂, 对其直肠造成牵拉现象, 引发直肠附近的上提肌群出现松弛无力的状态, 使得其固定作用减弱, 引发直肠全程脱垂, 导致直肠脱垂等疾病的出现[4]。

为此, 对于该类疾病患者, 医学工作者多半给予硬化剂注射+肛门环缩术进行治疗, 便于帮助患者将其病情进行有效控制, 具有出血量少、对患者造成的创伤小等优势, 利于术后身体的早日恢复, 但是随着肛周感染、下腹疼痛等不良情况的发生, 导致其手术治疗安全性难以保证[5]。为此, 本次研究对实验组采取直肠黏膜点状缝扎联合肛门环缩术进行治疗, 便于将直肠脱垂问题及时改善, 利于早日恢复

盆底支持结构, 导致缝扎的肠黏膜出现点片状瘢痕粘连现象, 降低了直肠再次脱垂的情况, 且肛门环缩术便于帮助其将肛管延长, 将肛门口径缩短, 利于缩小外括约肌之间的夹角, 将骶尾部的浮托力增强[6]。本次研究结果显示, 实验组患者的治疗总有效率达到 96.55%, 明显高于采用硬化剂注射+肛门环缩术进行治疗的常规组, 且实验组的手术安全性较高, 术后并发症情况较少。

综上所述, 对直肠脱垂患者给予直肠黏膜点状缝扎+肛门环缩术进行治疗的安全性较高, 便于促进疾病的早日恢复, 改善生活质量。

参考文献

- [1]李春雨, 杨树庆. 直肠黏膜点状缝扎加肛门环缩术治疗直肠脱垂的临床疗效分析[J]. 现代诊断与治疗, 2015, 26(13): 2892-2893.
- [2]张智娟. 直肠黏膜排列固定注射术联合肛门环缩术治疗直肠脱垂的临床疗效[J]. 中国保健营养, 2016, 26(30): 162-162.
- [3]王景新, 王君华, 宁秋娜等. 直肠脱垂采用直肠黏膜排列固定注射术加肛门环缩术治疗效果分析[J]. 中国实用医刊, 2015, 42(1): 36-37.