

- 2013, 31(7): 1032-1038.
- [5] LIAO J, WANG S, LIU R. Effects of diacerein on apoptosis of chondrocytes induced by interleukin-1 beta [J]. *Chin J Tiss Eng Res*(中国组织工程研究), 2012, 16(7): 1161-1164.
- [6] SUN X, YAO S, YE Y, et al. Effect of intraarticular injection of diacerein on osteoarthritis in Sprague-Dawley rats: cartilage morphology and expression of ED1 and COL2 [J]. *Orthop J Chin*(中国矫形外科杂志), 2014, 22(6): 539-543.
- [7] ZHANG X, XU X, XU T, et al. beta-Ecdysterone suppresses interleukin-1beta-induced apoptosis and inflammation in rat chondrocytes via inhibition of NF-kappaB signaling pathway [J]. *Drug Dev Res*, 2014, 75(3): 195-201.
- [8] ZHANG X H, XU X X, XU T. Ginsenoside Ro suppresses interleukin-1beta-induced apoptosis and inflammation in rat chondrocytes by inhibiting NF-kappaB [J]. *Chin J Nat Med*, 2015, 13(4): 283-289.
- [9] ROMAN-BLAS J A, JIMENEZ S A. NF-kappaB as a potential therapeutic target in osteoarthritis and rheumatoid arthritis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2006, 14(9): 839-848.
- [10] WANG H, WANG Z, CHEN J, et al. Apoptosis induced by NO via phosphorylation of p38 MAPK that stimulates NF-kappaB, p53 and caspase-3 activation in rabbit articular chondrocytes [J]. *Cell Biol Int*, 2007, 31(9): 1027-1035.
- [11] KILLIAN M L, HAUT R C, HAUT D T. Acute cell viability and nitric oxide release in lateral menisci following closed-joint knee injury in a lapine model of post-traumatic osteoarthritis [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2014(15): 297. Doi: 10.1186/1471-2474-15-297.
- [12] KUMAGAI K, KUBO M, IMAI S, et al. The COX-2 selective blocker etodolac inhibits TNF alpha-induced apoptosis in isolated rabbit articular chondrocytes [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(10): 19705-19715.
- [13] RYU B, QIAN Z J, KIM S K. Purification of a peptide from seahorse, that inhibits TPA-induced MMP, iNOS and COX-2 expression through MAPK and NF-kappaB activation, and induces human osteoblastic and chondrocytic differentiation [J]. *Chem Biol Interact*, 2010, 184(3): 413-422.
- 收稿日期: 2015-05-14

谷氨酰胺对慢性阻塞性肺疾病患者外周血单个核细胞中 P38MAPK 及 IL-17 的影响

吴伟¹, 黄美健^{2*}, 张云霞², 董洪英², 梁斌², 冷报浪², 王洪峰²(1.安徽医科大学杭州临床学院, 杭州 310009; 2.杭州市第三人民医院呼吸科, 杭州 310009)

摘要:目的 通过观察谷氨酰胺(glutamine, Gln)对慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)患者外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)中 P38 丝裂原活化蛋白激酶(P38 mitogen-activated protein kinases, P38MAPK)活性和白介素 17(IL-17)水平的影响, 探讨 Gln 在 COPD 患者治疗中的抗炎作用。方法 选择 32 例 COPD 患者在 COPD 急性加重期(acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease, AECOPD)和经治疗后转为稳定期(stable chronic obstructive pulmonary disease, SCOPD)的 PBMC 各 32 例为研究对象, 各分为 Gln 组和空白对照组, 并选择 16 例健康体检者的 PBMC 为健康对照组。采用实时定量荧光 PCR(RT-PCR)法检测 5 组 PBMC 中 P38MAPK、IL-17 的基因表达水平。结果 AECOPD 空白对照组、SCOPD 空白对照组 P38MAPK、IL-17 的表达水平均高于健康对照组($P<0.01$ 或 $P<0.05$), 且 AECOPD 空白对照组高于 SCOPD 空白对照组($P<0.05$); AECOPD Gln 组 P38MAPK、IL-17 的表达水平高于健康对照组($P<0.05$), 而 SCOPD Gln 组 P38MAPK、IL-17 的表达水平与健康对照组比较差异无统计学意义; AECOPD Gln 组、SCOPD Gln 组 P38MAPK、IL-17 的表达水平分别低于其对应的空白对照组($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结论 Gln 可抑制 COPD 患者炎细胞中 P38MAPK 通路的活化并下调 IL-17 的表达水平。

关键词: 肺疾病; 慢性阻塞性; 谷氨酰胺; P38 丝裂原活化蛋白激酶; 白介素-17

中图分类号: R969.4 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2015)12-1452-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.12.010

Effect of Glutamine on P38MAPK and IL-17 Expression in PBMC of Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease

WU Wei¹, HUANG Meijian^{2*}, ZHANG Yunxia², DONG Hongying², LIANG Bin², LENG Baolang², WANG Hongfeng²(1.Hangzhou Clinical College Affiliated to Anhui Medical University, Hangzhou 310009, China; 2.Department of Respiratory, Third People's Hospital of Hangzhou, Hangzhou 310009, China)

作者简介: 吴伟, 男, 硕士生 Tel: (0571)87823137 E-mail: powelwu@163.com
(0571)87823137 E-mail: hmeijian@163.com

***通信作者:** 黄美健, 女, 硕导, 主任医师 Tel:

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine the effects of glutamine on the p38 mitogen-activated protein kinases(P38MAPK) activity and IL-17 expression in peripheral blood mononuclear cells(PBMC) of patients with chronic obstructive pulmonary disease(COPD). **METHODS** Thirty-two patients with acute exacerbation of COPD(AECOPD) were enrolled. After the treatment, all patients' conditions were controlled in stable COPD(SCOPD). Venous blood of patients was collected in the acute and stable period, and PBMC were extracted immediately. Then divided into glutamine(Gln) group and blank control group. Sixteen healthy people's PBMC were used as the normal group. The levels of P38MAPK and IL-17 gene expression in PBMCs were detected by real-time PCR. **RESULTS** The levels of P38MAPK and IL-17 gene expression were higher in AECOPD blank control group and SCOPD blank control group than those in the normal group ($P<0.01$ and $P<0.05$, respectively). Moreover, there was a significantly increase both P38MAPK and IL-17 gene expression in AECOPD blank control group compared with SCOPD blank control group ($P<0.05$); The levels of P38MAPK and IL-17 gene expression were higher in AECOPD Gln group than those in the normal group ($P<0.05$), while there was no significant difference between SCOPD Gln group and the normal group; The levels of P38MAPK and IL-17 gene expression in AECOPD Gln group and SCOPD Gln group were significantly lower than those in blank control group ($P<0.01$ and $P<0.05$, respectively). **CONCLUSION** Gln plays an anti-inflammatory role on COPD patients by inhibiting P38MAPK Cell signaling pathway and reducing the expression of IL-17. **KEY WORDS:** pulmonary disease; chronic obstructive; glutamine; P38MAPK; IL-17

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种严重危害人类健康的常见病和多发病,患病率及病死率均较高,直接影响患者的生命质量。全球疾病负担研究项目估计,2020年COPD将成为全球死亡原因的第三位^[1]。目前COPD发病机制尚未完全清楚,肺部炎症、氧化/抗氧化失衡以及蛋白酶/抗蛋白酶的失衡是其发病的主要原因^[2],越来越多的研究表明,肺部炎症反应的发生与发展过程与炎症细胞活性密切相关,炎症细胞通路的激活和转录是其主要环节,因此有效抑制或阻断炎症细胞通路及促炎症因子的活化环节以达到防治COPD,是目前国内外研究的热点。P38丝裂原活化蛋白激酶(P38 mitogen-activated protein kinases, P38MAPK)通路、IL-17作为人体内重要细胞通路和炎症因子,与COPD发病有一定的相关性,近些年备受广大学者的关注。而谷氨酰胺(glutamine, Gln)作为人体的一种条件必需氨基酸,对COPD合并营养不良患者有营养免疫调节和抗氧化作用。但有关其对COPD抗炎作用的研究甚少,尤其是其能否可以通过抑制P38MAPK通路,降低IL-17水平,从而达到对COPD患者的抗炎作用在国内外尚未见报道。因此本研究采用RT-PCR法,观察Gln对COPD急性加重期(acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease, AECOPD)和稳定期(stable chronic obstructive pulmonary disease, SCOPD)患者外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)中P38MAPK、IL-17基因表达水平的影响,进一步探讨Gln在COPD治疗中的抗炎作用机制,为临床应用Gln治疗COPD提供新的理

论依据。

1 资料和方法

1.1 研究对象

1.1.1 一般资料 选择安徽医科大学杭州临床学院呼吸内科2014年5月—2015年4月确诊为AECOPD的住院患者为研究对象,其中男17例,女15例,年龄56~78岁,平均 (73.2 ± 6.7) 岁;AECOPD患者经常规治疗10~20d病情稳定进入缓解期后设为SCOPD组;健康对照组为安徽医科大学杭州临床学院同期健康体检者16例,男性9例,女性7例,年龄53~77岁,平均 (67.4 ± 7.3) 岁;经详细询问病史在近1个月内未患过呼吸道感染疾病和其他排除标准中的相关疾病且不吸烟或已戒烟>5年。所有纳入研究的患者均签署知情同意书,并经医学伦理委员会批准。所有COPD患者和健康对照组比较,性别、年龄差异均无统计学意义。

1.1.2 纳入标准 ①符合2013年COPD诊治指南修订版^[3]的诊断标准。②近2周内未接受过糖皮质激素治疗(包括静脉、口服或吸入用药等)。③未高流量吸氧(吸氧浓度 $\leq 35\%$)及未行机械通气。④不吸烟或已戒烟5年以上。

1.1.3 排除标准 ①患有严重心脑血管系统疾病、较严重的消化系统疾病、肾脏疾病、内分泌血液系统疾病、恶性肿瘤和重大手术等。②合并有可致咳嗽、咳痰、气短的其他疾病,如支气管扩张、肺结核、矽肺、闭塞性细支气管炎、弥漫性泛细支气管炎等。

1.2 方法

1.2.1 试剂及仪器 人淋巴细胞分离液(美国

SIGMA 公司, 批号: 108K2031); 无 Gln RPMI 1640 细胞培养液(美国 GIBCO 公司, 批号: 14091406); L-Gln(美国 GIBCO 公司, 批号: 1353655); 氯仿(Biotech 公司, 批号: 0326S09); TRIzol(加拿大 BioBasic 公司, 批号: 40950732); 磷酸盐缓冲液(美国 GIBCO 公司, 批号: 1615932); 定量试剂盒 Power SYBR[®] Green PCR Master Mix(Applied Biosystems, 美国应用生物系统中国公司, 批号: 4367659); 反转录试剂盒[宝生物工程(大连)有限公司, 批号: D2640A-CK101D]; Du-640 紫外分光光度计(Beckman 公司); CFX384 多重实时荧光定量仪、电泳系统(Mini-Proten Tetra System)、凝胶成像仪(Chemidoc XRS+System)均为美国 Bio-RAD 公司产品。

1.2.2 PBMC 的提取 所有研究对象在清晨空腹抽取其肘静脉血 5 mL, 置于肝素锂抗凝管中, 加入 5 mL 磷酸盐缓冲液将静脉血充分稀释。室温下, 将 4 mL 人淋巴细胞分离液加入 15 mL 离心管, 然后将稀释后的 10 mL 静脉血缓慢地沿着管壁加入离心管, 使其均匀覆盖在人淋巴细胞分离液上, 并保持二者界面清晰, 缓慢地将离心管放入离心机内, 以 $2\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20 min, 离心后管内共分为界限清晰的 4 层, 自上而下依次为稀释的血浆层、单个核细胞层、分离液层、红细胞和粒细胞层, 小心缓慢地吸取第 2 层单个核细胞, 移到 10 mL 离心管, 加入 5 倍体积 PBS 液洗涤、 $1\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 弃去上清液, 相同条件重复洗涤 1 次, 弃去上清液, 底层沉淀为 PBMC。

1.2.3 分组 用无 Gln RPMI 1640 培养液将上述提取的 PBMC 调节细胞浓度至每毫升 2.0×10^6 个, AECOPD 组和 SCOPD 组各随机分成 Gln 组和空白对照组, Gln 组: PBMC 中加入终浓度为 $8\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Gln; 空白对照组: 仅用无 Gln RPMI 1640 培养液培养。健康对照组仅用无 Gln RPMI 1640 培养液培养。所有细胞均在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 含 25% CO_2 温箱里培养 24 h。

1.2.4 RT-PCR 法检测 P38MAPK、IL-17 基因的表达 实验采用 Real-time PCR 法检测。用 Trizol 法提取上述培养后细胞的总 RNA, 并测定 RNA 的浓度和纯度。用反转录试剂盒合成 cDNA。PCR 引物按照引物设计原则采用 Primer 5.0 和 Beacon designer 7.8 设计软件设计, 由上海生物工程有限

公司负责合成。其中 P38MAPK 引物序列: 上游 5'-GACTTGCTGGAGAAGATGCTTGT-3', 下游 5'-GTCCCTGCTTTCAAAGGACTGAT-3'; IL-17 引物序列: 上游 5'-CCTCTGTGATCTGGGAGGCAAA-3', 下游 5'-CTGGATGGGGACAGAGTTTCATGT-3'; 18sRNA 内参序列: 上游 5'-GACTCAACACGGGAAACCTCAC-3', 下游 5'-CCAGACAAATCGCTCCACCAAC-3'。三者的扩增长度分别为 147, 92, 122 bp。PCR 反应条件: $95\text{ }^{\circ}\text{C}$, 1 min; 40 个循环: $95\text{ }^{\circ}\text{C}$, 15 s; $63\text{ }^{\circ}\text{C}$, 25 s(收集荧光); 熔点曲线分析 $55\sim 95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。20 μL 反应体系如下: 双蒸水 8.0 μL , Power SYBR[®] Green Master Mix 10.0 μL , 上游和下游引物各 0.5 μL , cDNA 模板 1.0 μL 。实验样本经定量 PCR 得到各反应孔循环数(Ct 值), 并以其为统计参数, 运用相对表达量 ΔCt 或 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 进行相对定量结果分析。其中 ΔCt =目的基因 Ct 值-内参 Ct 值, ΔCt 值越大说明基因表达量越低, ΔCt 值小说明基因表达量越高。

1.3 统计学分析

统计分析使用 SPSS 13.0 统计软件, 计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 两两比较采用 SNK- q 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 目的基因及内参电泳图

电泳条带和设计的扩增条带长度全部符合, 扩增条带为目的条带, 电泳图中无杂质, 表明 RT-PCR 扩增为特异性扩增, 见图 1; RT-PCR 扩增显示各个引物扩增产物熔点曲线图均具有单一主峰, 表明引物 RT-PCR 扩增具有较强特异性, 见图 2。

2.2 检测 PBMC 中 P38MAPK、IL-17 ΔCt 值变化

AECOPD 空白对照组、SCOPD 空白对照组 P38MAPK、IL-17 的表达水平均高于健康对照组($P<0.01$ 或 $P<0.05$), 且 AECOPD 空白对照组高于 SCOPD 空白对照组($P<0.05$)。AECOPD Gln 组 P38MAPK、IL-17 的表达水平高于健康对照组($P<0.05$), 而 SCOPD Gln 组 P38MAPK、IL-17 的表达水平与健康对照组比较差异无统计学意义。AECOPD Gln 组、SCOPD Gln 组 P38MAPK、IL-17 的表达水平分别低于其空白对照组($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结果见表 1。

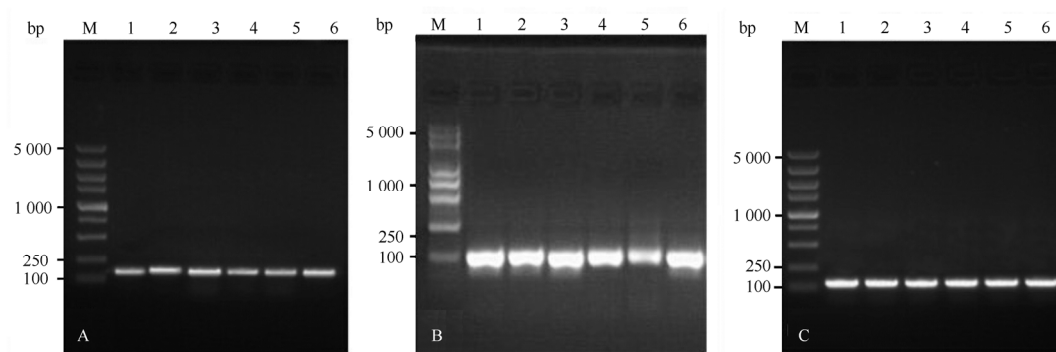


图1 目的基因及内参电泳图

A-P38MAPK; B-IL-17; C-18S rRNA; M-内标; 1-6-各目的基因扩增条带。

Fig. 1 The electrophoretogram of target gene and reference gene

A-P38MAPK; B-IL-17; C-18S rRNA; M-Maker; 1-6-amplified band of each target gene.

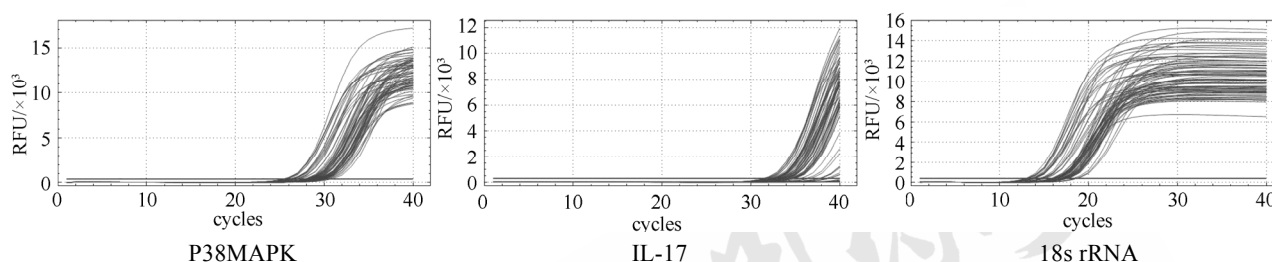


图2 目的基因及内参扩增曲线图

Fig. 2 The amplification curve of target gene and reference gene

表1 各组 PBMC 中 P38MAPK、IL-17 ΔC_t 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of P38MAPK、IL-17 ΔC_t value in PBMC of each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	P38MAPK	IL-17
AECOPD Gln 组	32	12.95 $\pm$ 0.91 ¹⁾	16.59 $\pm$ 1.18 ¹⁾
AECOPD 空白对照组	32	11.35 $\pm$ 0.76 ²⁾³⁾⁴⁾	14.96 $\pm$ 0.90 ²⁾³⁾⁴⁾
SCOPD Gln 组	32	14.23 $\pm$ 0.92	18.47 $\pm$ 0.93
SCOPD 空白对照组	32	12.17 $\pm$ 0.61 ¹⁾⁵⁾	16.78 $\pm$ 1.03 ¹⁾⁵⁾
健康对照组	16	15.17 $\pm$ 0.52	19.99 $\pm$ 0.91

注: 与健康对照组比较, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与 AECOPD Gln 组比较, ³⁾ $P < 0.01$; 与 SCOPD 空白对照组比较, ⁴⁾ $P < 0.05$; 与 SCOPD Gln 组比较, ⁵⁾ $P < 0.05$ 。

Note: compared with healthy normal group, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; compared with AECOPD Gln group, ³⁾ $P < 0.01$; compared with SCOPD blank control group, ⁴⁾ $P < 0.05$; compared with SCOPD Gln group, ⁵⁾ $P < 0.05$.

3 讨论

在 COPD 的整个病程中, 炎症一直被认为是最重要的机制之一^[2]。P38MAPK 通路作为 MAPK 家族中的重要成员, 可被多种应激刺激激活, 从而影响细胞的转录、蛋白合成和细胞表面受体表达生物效应, 是启动炎症细胞释放大量细胞因子触发炎症反应的关键^[4-5]。Kate 等^[6]在研究中证实: P38MAPK 在 COPD 患者的肺支气管上皮细胞和巨

噬细胞中的表达是增加的, 而使用 P38MAPK 抑制剂可以减少炎症介质(TNF- α 、IL-8)的释放。Amano 等^[7]发现在小鼠的 COPD 模型中, P38MAPK 的激活加速了小鼠肺气肿的形成。IL-17 主要是由 Th17 细胞分泌, 前者是中性粒细胞特别有效的活化剂。有研究发现 COPD 患者的外周血中 IL-17 是明显增加的^[8]。研究人员认为 IL-17 通过介导中性粒细胞及巨噬细胞的募集与激活而参与 COPD 的发生发展^[9]。Zhang 等^[10]等发现 IL-17 在 COPD 患者肺组织中的 CD4⁺细胞中高表达。由此可见, P38MAPK 通路作为炎症细胞活化、炎症介质产生的一条重要通路, 在 COPD 发病的炎症机制中起着重要作用。那么选择一种有效物质, 抑制 P38MAPK 通路, 提高或降低某种介质或因子的表达, 应该是一种可尝试的治疗 COPD 的新思路和方法。

Gln 是人体中的一种条件性必需氨基酸, 是免疫系统的主要能源, 具有广泛的生物学活性, 对 COPD 合并营养不良患者免疫功能有显著改善作用^[11]。Singleton 等^[12]在对败血症小鼠治疗的研究中发现 Gln 能抑制 P38MAPK、核因子 κ B(NF- κ B) 等通路的激活及细胞因子的表达, 其 Gln 治疗组

显著降低肺中 TNF- α 和 IL-18 的表达。研究人员在小鼠动物模型中发现 Gln 可以通过阻断由 P38MAPK 及其下游通路丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶-1(MKP-1) 通路介导的细胞质磷脂酶 A2(CPA2)来减少气道内中性粒细胞的聚集^[13]。基于上述研究内容发现,既往多数有关 Gln 的研究尚局限于探讨 Gln 的免疫调节和抗氧化功能,而关于 Gln 能抑制 P38MAPK 通路的激活及细胞因子表达的抗炎机制研究也仅限于动物实验。笔者前期通过应用 Gln 干预 COPD 患者 PBMC,观察其对 NF- κ B 通路和热休克蛋白 70 的影响,结果显示 Gln 可抑制 COPD 患者 NF- κ B 通路的活性,升高热休克蛋白 70 的表达^[14]。这更促使笔者思考, Gln 是否也可抑制 COPD 患者 P38MAPK 通路并降低 IL-17 的表达,进一步起到对 COPD 的抗炎作用,目前国内外尚未见关于 Gln 对 COPD 患者 PBMC 中 P38MAPK 及 IL-17 表达影响的研究报道。因此在前期研究的基础上进一步研究了 Gln 对 COPD 患者 PBMC 中 P38MAPK 及 IL-17 表达的影响。

研究结果显示,正常对照组 P38MAPK、IL-17 较 AECOPD 治疗前、后空白对照组表达量低,且急性加重期较稳定期高,证实了 P38MAPK、IL-17 在 COPD 急性加重期和稳定期中长期存在,进一步揭示了 COPD 是一种慢性气道炎症的实质。研究结果还发现 AECOPD 和 SCOPD 的空白对照组较 Gln 组的 P38MAPK、IL-17 表达显著升高,提示了 Gln 可抑制 COPD 患者 PBMC 中 P38MAPK 活化,并减少炎症介质 IL-17 的释放。同时 AECOPD Gln 组和健康对照组比较有明显差异,但 SCOPD Gln 组与健康对照组比较差异不明显,这可能与 SCOPD 患者炎性细胞数量减少、炎症因子表达降低以及 Gln 的干预作用有相关性。本实验采用 COPD 患者外周血中 PBMC 为研究对象,应用 Gln 进行干预,观察干预前后细胞中 P38MAPK 和 IL-17 表达水平的变化,证实了 Gln 可抑制 COPD 患者外周血 PBMC 中 P38MAPK 活化,并减少炎症介质 IL-17 的释放。

综上所述,本研究进一步表明 P38MAPK、IL-17 参与了 COPD 炎性反应的发生和发展; Gln 能明显抑制 COPD 患者 PBMC 中 P38MAPK、IL-17

表达,从而减轻 COPD 患者的气道炎症。为临床应用 Gln 或其模拟物对 COPD 的抗炎治疗提供新的理论和实验依据。由于本实验仅限于离体细胞水平以及样本量的局限,有关 Gln 抗炎作用更深入的分子机制仍有待今后扩大样本量和进一步临床实验研究和发现。

REFERENCES

- [1] LOZANO R, NAGHAVI M, FOREMAN K, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010 [J]. *Lancet*, 2012, 380(9859): 2095-2128.
- [2] 肖建, 杜春玲. 慢性阻塞性肺疾病病因及发病机制研究进展[J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(11): 3191-3194.
- [3] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013 年修订版)[J]. *中国医学前沿杂志(电子版)*, 2014, 6(2): 67-80.
- [4] MAOSONG Q I, ELAINE A. ELION. MAP kinase pathways [J]. *J Cell Science*, 2005, 118(16): 3569-3572.
- [5] CHUNG K F. p38 mitogen-activated protein kinase pathways in asthma and COPD [J]. *Chest*, 2011, 139(6): 1470-1479.
- [6] KATE G, SOPHIE R, JONATHAN P, et al. Increased phosphorylated p38 mitogen-activated protein kinase in COPD lungs [J]. *Eur Respir J*, 2013, 42(1): 28-41.
- [7] AMANO H, MURATA K, MATSUNAGA H, et al. P38 Mitogen-activated protein kinase accelerates emphysema in mouse model of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2014, 34(4): 299-306.
- [8] VARGAS-ROJAS M I, RAMÍREZ-VENEGAS A, LIMÓN-CAMACHO L, et al. Increase of Th17 cells in peripheral blood of patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Respir Med*, 2011, 105(11): 1648-1654.
- [9] DASGUPTA A, NEIGHBOUR H, NAIR P. Targeted therapy of bronchitis in obstructive airway diseases [J]. *Pharmacol Ther*, 2013, 140(3): 213-222.
- [10] ZHANG J, CHU S, ZHONG X, et al. Increased expression of CD4+IL-17+ cells in the lung tissue of patients with stable chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and smokers [J]. *Int Immunopharmacol*, 2013, 15(1): 58-66.
- [11] 闫莉, 刘春霞, 魏欣, 等. 谷氨酰胺对慢性阻塞性肺病患者营养免疫调节和抗氧化治疗的作用[J]. *中国老年学杂志*, 2010, 30(16): 2277-2279.
- [12] SINGLETON K D, WISCHMEYER P E. Glutamine attenuates inflammation and NF-kappaB activation via Cullin-1 deneddylation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 373(3): 445-449.
- [13] LEE C H, KIM H K, KIM J M, et al. Glutamine suppresses airway neutrophilia by blocking cytosolic phospholipase A2 via an induction of MAPK phosphatase-1 [J]. *J Immunol*, 2012, 189(11): 5139-5146.
- [14] HUANG M J, TANG X Y, ZHOU L Y. Effects of glutamine on expression of nuclear factor- κ b and heat shock protein 70 in PBMC of patients with COPD [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2013, 30(2): 122-125.

收稿日期: 2015-06-13