

慢性阻塞性肺疾病发病机制的研究进展

郑烯 胡雪峰*

(福建师范大学生命科学学院, 福建省发育与神经生物学重点实验室, 福州 350108)

摘要 慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是呼吸系统中的常见病和多发病, 其发病率和致死率居高不下。根据WHO调查数据显示, 预计到2020年, COPD将成为全球第三大致死病因。COPD的形成与发展涉及众多因素, 包括遗传因素和环境因素等。COPD的发病机制至今未明, 氧化应激、炎症机制、蛋白酶/抗蛋白酶失衡以及细胞凋亡与之密切相关。另外, 自身免疫反应、微生物组的变化以及无效的受损修复在COPD的发病机制中同样具有关键作用。因此, 深入了解并研究COPD的发病机制对预防与治疗该疾病具有重要意义。

关键词 慢性阻塞性肺疾病; 风险因素; 发病机制

Progress in the Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD)

Zheng Xi, Hu Xuefeng*

(Fujian Key Laboratory of Developmental and Neurobiology, College of Life Science, Fujian Normal University, Fuzhou 350108, China)

Abstract Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a common and frequently-occurring disease with high morbidity and mortality. According to WHO, COPD will become the third leading cause of death worldwide in 2020. The occurrence and development of COPD is multifactorial and the risk factors of COPD include genetic and environmental factors. The pathogenesis of COPD remains unclear. The proposed pathogenesis of COPD includes oxidative stress, immunological mechanisms, proteinase-antiproteinase imbalance and apoptosis. Besides, autoimmune process, deviated microbiota and destroyed repair mechanisms are also playing important roles in it. Further understanding and exploring the pathogenesis of COPD is crucial for prevention and treatment of the disease.

Keywords chronic obstructive pulmonary disease; risk factors; pathogenesis

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是一种可预防与治疗的常见疾病, 以持续存在的呼吸道症状和气流受限为主要特征, 通常由有害微粒或气体暴露引起气道和(或)肺泡异常而导致。在中国年龄大于40岁以上的人群中, COPD的发生率为8.2%。预计至2020年, COPD将成为世界第三大致死病因和疾病经济负担

的第五位。COPD的高发病率、高致死率以及造成的社会经济负担已使之成为一个不容忽视的世界公共卫生问题。

COPD的发病机制复杂, 至今仍未完全清楚。近年来, 通过临床资料与动物模型进行了大量的科学研究, 取得了令人瞩目的进展。在原有的氧化

收稿日期: 2018-06-26 接受日期: 2018-10-18

国家自然科学基金(批准号: 81570036)和福建省科技厅重点项目(批准号: 2015I0011)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0591-22868208, E-mail: bioxfh@fjnu.edu.cn

Received: June 26, 2018 Accepted: October 18, 2018

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81570036) and Key Program of Department of Science and Technology of Fujian Province (Grant No.2015I0011)

*Corresponding author. Tel: +86-591-22868208, E-mail: bioxfh@fjnu.edu.cn

网络出版时间: 2019-02-21 15:00:45 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190221.1500.024.html>

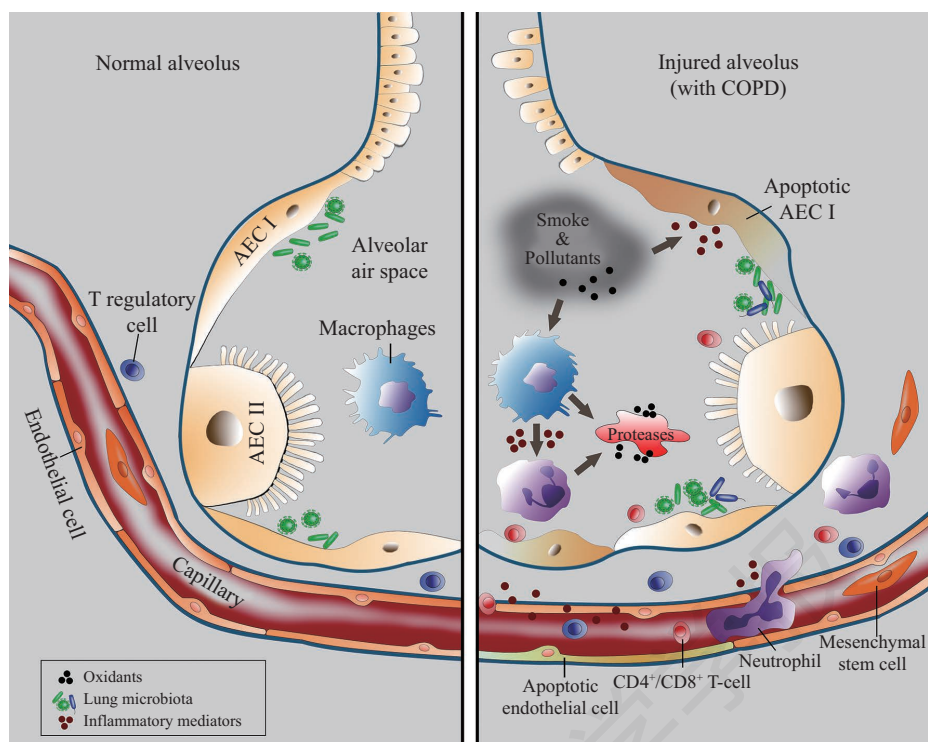


图1 COPD的发病机制(根据参考文献[1]修改)

Fig.1 The pathogenesis of COPD (modified from reference [1])

应激、炎症机制、蛋白酶/抗蛋白酶失衡以及细胞凋亡等假说基础上, 研究人员还提出了自身免疫反应、微生物组的变化以及无效的受损修复机制等^[1](图1)。本文将依据图1所示内容, 对上述假说逐一展开, 就国内外近年来对COPD发病机制的研究进展作一综述。

1 氧化应激

正常生理状态下, 机体内的氧化物和抗氧化物保持相对平衡。活性氧(reactive oxygen species, ROS)和活性氮(reactive nitrogen species, RNS)等活性分子过度产生或清除不足, 将破坏体内活性氧类与抗氧化系统之间的平衡, 引起氧化应激。

吸烟和空气污染是引起肺部氧化应激的主要外源性氧化剂。香烟燃烧产生的各类物质成分复杂, 其中含有较高浓度的自由基和氧化产物。据估计, 每口香烟烟雾中自由基数量超过 10^{15} ; 氧化产物则包括焦油相中的酚类与半醌类, 气相中的超氧化物(O_2^-)、环氧化物、过氧化物、一氧化氮(NO)、二氧化氮(NO_2)、过氧亚硝基阴离子($ONOO^-$)等^[2]。而污染的大气中存在臭氧(O_3)、二氧化氮(NO_2)、二氧化硫(SO_2)和多种碳

氢化合物, 这些物质都能显著增加自由基的数量。

吸烟或吸入污染空气可通过不同途径刺激肺内产生炎症反应。活化的炎症细胞如中性粒细胞(polymorphonuclear neutrophil, PMN)、肺泡巨噬细胞(alveolar macrophages, AM)等将释放多种内源性氧化剂。研究发现, 吸烟者肺部乃至全身的PMN和AM数量均超出正常水平, 且以更快的速率在产生ROS^[3]。体外实验也表明, 从吸烟者身上收集而来的PMN和AM会自发性释放大量的氧化剂如 O_2^- 和 H_2O_2 等^[4]。另外, 吸烟还会不断消耗体内的抗氧化剂。有数据表明, 吸烟者血清中的抗坏血酸浓度要比正常人低15%~20%, 而在戒烟后, 数值又可恢复正常^[5]。

内外源性氧化剂增多导致的氧化应激可造成脂质过氧化、蛋白质修饰、DNA损伤以及信号传导通路的改变等。尽管氧化剂无法直接降解细胞外基质(extracellular matrix, ECM), 但已有证据显示, 它们可对弹性蛋白进行修饰使之易于被水解。同时, 氧化应激会降低组蛋白脱乙酰化酶(HDAC-2)的活性, 激活由NF- κ B介导的信号通路途径, 从而增加PMN趋化因子如TNF- α 和IL-8基因, 以及中性粒细胞弹性蛋白酶(neutrophil elastase, NE)和基质金属蛋白

酶(matrix metalloproteinase, MMPs)的转录与表达^[6]。过多的NE和MMPs会不断水解ECM, 促进COPD的产生。

2 炎症机制

几乎每个吸烟者的肺内均有炎症发生。活体组织检查、痰液分析以及体外实验都表明, 吸烟者肺内存在大量的炎症细胞浸润和多种炎性细胞因子^[7-8]。在COPD患者中, 炎症对组织的损害是难以休止的, 即使患者戒烟后, 炎症依然会发生^[9]。此中涉及的各种炎症细胞和多种炎性细胞因子都在这不断持续的炎症反应过程中发挥着各自的作用。

2.1 巨噬细胞

巨噬细胞在COPD形成和发展中起着关键作用, 它可能协调着整个慢性炎症反应。已有研究数据表明, COPD患者中的巨噬细胞数量比正常人高出5到10倍, 与肺气肿的严重程度呈明显正相关^[10]。体外实验发现, 巨噬细胞在香烟提取物的刺激下可释放多种炎症介质, 如TNF- α 、CXCL1、CXCL8、CCL2(MCP-1)、LTB4等^[11]。此外, 肺泡巨噬细胞还会分泌组织水解酶, 包括MMP-2、MMP-9、MMP-12和组织蛋白酶K、L和S等^[12]。在COPD恶化期, 巨噬细胞的行为活动主要由NF- κ B信号通路所介导。转录激活蛋白-1(AP-1)和酪氨酸激酶c-Src信号途径的调控作用也有见报道^[13-14]。

2.2 中性粒细胞

中性粒细胞被认为是吸烟诱导组织损伤的主要参与者。在COPD患者的痰液和支气管肺泡灌洗液中能检测到大量增多的中性粒细胞^[15-16]。中性粒细胞可通过分泌丝氨酸蛋白酶如NE、Cathepsin G、Proteinase-3以及MMP-8和MMP-9等导致肺部组织的损伤。在香烟烟雾等外界因素刺激下, 中性粒细胞释放的酶与多肽可将胶原蛋白切割成片段, 趋化激活炎症细胞, 进一步驱动慢性炎症反应^[17]。中性粒细胞能受到IL-8的招募, 快速聚集到炎症部位。CXCL2、LTB4、fMLP等也可诱发中性粒细胞的迁移^[18-20]。体外实验也证实, 在肺气肿动物模型中, 一旦诱发病变, 中性粒细胞就会迅速聚集至气道并呈现大量分布^[21]。另外, NE、Cathepsin G和Proteinase-3可刺激气道黏膜腺体和杯状细胞分泌黏液, 因此, 中性粒细胞在气道黏液高分泌中同样具有重要作用。

2.3 T淋巴细胞

有数据显示, T淋巴细胞数量在COPD患者肺实质和气道中明显增多, 且与肺泡受损以及气流阻塞程度呈现相关性^[22]。与未有病征的吸烟者相比, COPD患者中浸润的炎症细胞的主要区别就在于T淋巴细胞的数量: 包括显著增多的CD8⁺细胞和轻微增多的CD4⁺细胞。CD8⁺细胞是一类可杀死已感染或受损细胞的T细胞亚群, 但也会通过释放穿孔素、颗粒酶B(granzyme B)和TNF- α 等造成肺泡上皮细胞的溶解与凋亡^[23]。而CD4⁺活化后可释放多种细胞因子并协调其他炎症细胞的活性。最近一项体外动物实验表明, 将从香烟烟雾暴露的小鼠中提取的T细胞(同时包括CD4⁺和CD8⁺)转移入正常野生型小鼠中, 可造成肺组织的破坏^[24]。这一结果也提示, 香烟烟雾暴露可引起自身免疫反应。

2.4 细胞因子

作为慢性炎症反应最主要的介质, 已有多种细胞因子被证实参与COPD的形成与发展。高浓度的TNF- α 能在COPD患者的痰液中被检测到, 并且还会随着病情恶化继续增加^[25]。TNF- α 可激活NF- κ B信号通路而增强免疫反应。在小鼠肺部过表达TNF- α 基因4个月后, 小鼠将出现明显的炎症反应并伴随肺泡扩张的现象, 同时MMP-2和MMP-12表达量也显著增加^[26]。但令人遗憾的是, 抗TNF疗法不仅未被证明对COPD患者有效, 还可能会出现明显的副作用^[27-29]。IL-1 β 和IL-18等促炎因子同样会增强免疫反应。已有研究表明, 在成体小鼠肺部过表达IL-1 β 将造成大量中性粒细胞和巨噬细胞浸润, 最终形成与肺气肿相一致的肺泡扩张等异常现象^[30]。同样, 在小鼠肺部过表达IL-18可检测到大量增多的IFN- γ 、IL-5、IL-13等细胞因子; 巨噬细胞、中性粒细胞、嗜酸细胞以及CD8⁺T淋巴细胞也明显增多, 出现类似肺气肿的形态变化^[31]。此外, 在COPD患者的痰液和支气管肺泡灌洗液中可检测到多种数量增加的趋化因子, 如CXCL8、CXCL1、CCL2、CCL5等^[32]。CXCL8可由巨噬细胞、中性粒细胞、T细胞及上皮细胞分泌, 通过CXCR2趋化中性粒细胞。CXCL1以相同受体趋化中性粒细胞和单核细胞, 且趋化作用比CXCL8更强^[33]。CCL2可激活CCR2行使趋化单核细胞的功能, 它与CXCL1相互协作, 一同招募单核细胞进入肺部组织。CCL5在COPD患者气道中表达, 通过CCR5趋化T细胞。而由巨噬细胞分

泌的CXCL9、CXCL10、CXCL11通过CXCR3可提高COPD患者中Tc1和Th1细胞的数量水平^[34]。

3 蛋白酶/抗蛋白酶失衡

肺气肿的一个主要病理特征在于肺泡壁的破坏,有观点认为,这种破坏是由蛋白酶与抗蛋白酶之间的失衡导致的。吸烟可造成在气道、肺泡腔内大量聚集中性粒细胞和巨噬细胞,而这两类细胞是肺部蛋白酶的主要来源。当中性粒细胞释放的NE超过可抵抗的抑制剂时,将促进肺气肿的发生。临床上,在肺气肿患者的支气管肺泡灌洗液中可检测到NE数量的提高^[35]。在体外,向实验动物气管内注入NE将会引起肺气肿^[36]。NE主要通过降解ECM成分,如弹性蛋白、胶原蛋白、纤维连接蛋白等对肺泡组织造成破坏。NE还可诱导上皮细胞和内皮细胞释放多种促炎因子,如IL-6、IL-8、TGF- β 等对中性粒细胞起到趋化和激活作用。此外,还有研究报道,NE基因缺陷型小鼠可抵抗香烟暴露导致的肺气肿,证明NE对肺气肿形成可能具有直接作用^[37]。

除NE外,MMPs在COPD致病过程中也发挥重要作用。在正常情况下,MMPs因表达量较低而难以被检测到,而在许多肺部疾病(包括COPD)可检测到其表达量明显增多^[38]。MMPs几乎可降解ECM的所有成分^[39]。目前已发现多个MMPs成员参与COPD的形成与发展。MMP-1通常由成纤维细胞产生,MMP-8主要由中性粒细胞表达。这二者具有胶原酶活性,可破坏肺泡间隔的正常结构。而被称为明胶酶的MMP-2和MMP-9可降解IV型胶原蛋白和弹性蛋白等多种ECM成分。MMP-9可由巨噬细胞、中性粒细胞和上皮细胞产生,不仅能降解ECM,还可通过产生N-乙酰脯氨酸-甘氨酸-脯氨酸(N-alpha-PGP)趋化因子激活免疫反应^[40]。此外,活化的MMP-9也与COPD的并发症,如皮肤起皱、动脉硬化等有关。在COPD患者的肺泡巨噬细胞中不仅能检测到MMP-9,还可检测到MMP-12的表达。MMP-12(也称为巨噬细胞弹性蛋白酶)可降解弹性蛋白成片段,而这些片段又将对单核细胞和成纤维细胞起趋化作用,从而促进炎症反应,加速肺组织的损伤。MMP-12基因缺陷型小鼠经香烟暴露后,未形成巨噬细胞在肺部的大量聚集,表明MMP-12在此免疫反应过程中起关键作用^[41]。目前也已发现MMP-12中的单核苷酸多态性可作为COPD的保护因素^[42]。

4 细胞凋亡

细胞凋亡对维持机体组织内稳态起重要作用。已有越来越多的证据表明,肺组织中异常的细胞凋亡可能是COPD的一个致病机制。

Segura-Valdez等^[43]发现,COPD患者肺组织切片中内皮细胞凋亡显著增加,有时也可检测到肺泡上皮细胞、间质细胞和炎症细胞出现凋亡。Hodge等^[44]从COPD患者支气管肺泡灌洗液中检测到上皮细胞和T细胞大量凋亡,在患者戒烟后,细胞凋亡依然在增加。而有趣的是,Imai等^[45]在肺气肿组织中不仅观察到凋亡的内皮细胞、肺泡上皮细胞和间充质细胞数量明显增多,也发现细胞增殖水平高于正常肺组织。这一结果与之前日本的一个研究组的报道类似,他们同样发现肺气肿患者肺泡壁细胞的增殖与凋亡同时提高^[46]。

另外,一些利用肺气肿动物模型的研究已发现,在没有发生炎症的情况下,因肺泡壁细胞或内皮细胞的异常凋亡就足以引起肺气肿。而在诱导肺组织细胞凋亡的过程中,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)发挥关键作用。Kasahara等^[47]在大鼠中阻断血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)可引起肺泡隔细胞凋亡,导致肺泡腔的明显扩张。但在Caspase抑制剂存在时,可防止上述情况的出现。在小鼠肺组织靶向失活VEGF基因同样将导致肺气肿表型,进一步说明VEGF在维持肺泡正常结构的过程中具有重要功能^[48]。此外,其他参与细胞凋亡的介质,如Caspase-3和神经酰胺等也有见报道。Aoshiba等^[49]在小鼠气管内注入活化的Caspase-3蛋白诱发上皮细胞凋亡,并最终形成肺气肿。同样地,小鼠气管滴注神经酰胺也能引起肺泡上皮细胞和内皮细胞的凋亡,造成肺泡扩张^[50]。值得注意的是,尽管上述结果可说明在特定条件下,细胞凋亡与COPD的发生密切相关,但依然存在一些矛盾尚未解决。例如,并不是在所有肺气肿患者组织中都能检测到明显的细胞凋亡^[23];吸烟既能诱导也可抑制细胞凋亡^[51-53]等。因此,进一步明确细胞凋亡在COPD发生过程中所占的地位并阐明其所涉及的具体途径,前景广阔但也面临挑战。

5 自身免疫反应

吸烟是COPD最主要的风险因素,但并不是每

一个吸烟者都会罹患COPD。戒烟可以适当延缓病情,但戒烟后仍然存在持续的炎症反应。针对这两种现象,有人提出COPD在一定程度上是种自身免疫性疾病^[54]。

香烟烟雾可通过不同途径促进肺组织产生新的表位引起自体攻击,造成组织结构的改变而产生更多新抗原。将特异性识别肺泡新抗原(血细胞凝集素)的CD8⁺T淋巴细胞过继转移至小鼠中,可引起肺的进程性破坏^[55]。另外,在COPD患者与COPD模型动物身上也发现了多种自身抗体。例如,在COPD患者中能检测到以肺泡上皮细胞为靶标的抗上皮细胞抗体,而通过COPD患者血浆激活后的单核细胞也将对肺上皮细胞产生毒性^[56]。除上皮细胞外,内皮细胞也同样暴露于自身免疫的攻击中。在COPD患者血清中可以检测到抗内皮细胞抗体^[57]。而向大鼠肺部注入异种内皮细胞可诱发产生自身抗体,最终出现肺气肿^[58]。

尽管自身免疫在COPD的形成与发展中的作用尚不明确,但在香烟烟雾暴露的小鼠肺组织中淋巴器官的新生,暗示着自身免疫可能是COPD的一种成因,而非病情发展出现的后果^[59]。CD56⁺T淋巴细胞可快速杀死肺部自身细胞的现象也可支持上述这种观点^[60]。但值得注意的是,个体的差异性可能导致每一个COPD患者中存在不同的表位组合,这就使每种抗原与对应的自身抗体如何参与COPD复杂化。但也在将来为每个患者或相同的患者群体揭示特定的自身抗体、设计COPD个性化的诊断和治疗提供可能。

6 微生物组的改变

传统观念认为健康人群的下呼吸道属于无菌状态,但随着科学技术的发展,尤其是基因测序技术出现之后,人们已经证实正常人群的下呼吸道中存在微生物。对COPD患者的研究表明,微生物组的组成会随着疾病严重程度、有无急性加重以及肠道微生物的不同而发生改变,这种改变可能参与COPD的形成、发展并与急性加重密切相关^[1]。

与健康人群相比,COPD患者下呼吸道微生物组在数量和多样性上均存在差异。在两者共同的“核心微生物群”,即包括普雷沃菌属、鞘氨醇单胞菌属、假单胞菌属、不动杆菌属、梭形杆菌属等基础上,COPD患者中存在更多的阿菲波菌属、短波单胞菌

属、丛毛单胞菌属、莫拉克斯氏菌属、奈瑟氏菌属、草酸杆菌属、棒杆菌属、二氧化碳噬纤维菌属、鞘丝藻属等^[61-63]。而引起COPD急性加重常见的致病菌则包括流感嗜血杆菌、卡他莫拉菌、肺炎链球菌和铜绿假单胞菌等^[64]。“恶性循环”理论解释了这些定植微生物如何参与COPD并引起急性加重的机制,即香烟烟雾等有害气体或颗粒的吸入,可损害肺部的天然免疫系统,使得下呼吸道微生物的数量、组成及系统多样性发生变化,导致不良的炎症反应发生,从而进一步破坏肺部的免疫防御系统,造成微生物组系统更为紊乱,最终形成不断破坏肺部组织的恶性循环^[65]。而当气道的微生物组出现明显的急性变化时,如突然引入一种新的呼吸道病原体,可能导致急剧的炎症反应,在临床上表现出COPD的急性加重症状。

此外,肠道微生物也可能对COPD产生影响。COPD可被视为一种系统性疾病,伴随有多种非肺部并发症。如恶病质在一些COPD患者中常见,而恶病质则与全身性炎症密切相关。肠道微生物可通过局部或全身的方式参与宿主的免疫反应,如肠内节丝杆菌可调节Th17细胞和调节性T细胞数量之间的平衡^[66]。而且,COPD多为老年性疾病,而衰老是众所周知影响肠道微生物的一个重要因素^[67]。然而至今为止,关于肠道微生物如何影响肺部疾病依然所知甚少。因此,阐明肠道微生物是否可通过免疫机制影响肺部疾病以及改善肠道微生物是否可作为防治COPD的有效手段,都为未来揭示COPD发病机制和影响因素提供了全新的思路,值得进一步探索。

7 无效的受损修复

有效的受损修复在维持组织稳态中至关重要,这一过程主要涉及各类干(祖)细胞的行为和功能。而在肺气肿中,肺内的干(祖)细胞无法修复受损的肺泡上皮,具体原因尚不清楚。通过肺气肿模型动物实验发现,全反式维甲酸(all-trans-retinoic acid, ATRA)可部分改善肺组织的病理改变,并且在人类身上也有类似的可能^[68]。另外,间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)也被认为有助于肺组织的受损修复。在博来霉素诱导的大鼠急性损伤模型中,将MSC移植到大鼠体内,可抑制组织纤维化,减少胶原沉积,降低MMPs的表达^[69]。在香烟烟雾诱导的大鼠肺气肿模型中,移植入羊水来源的MSC

可产生肺泡Ⅱ型上皮细胞,并整合到受损部位诱导肺泡上皮组织的局部再生^[70]。

尽管目前对肺内外干细胞种类及功能有了更为深入的了解,但对其如何参与肺组织的受损修复仍未有显著进展;干细胞用于临床治疗的安全性和有效性也有待进一步评估。我们期待再生医学和干细胞生物学的不断发展能早日解决上述问题。

8 结语与展望

COPD作为一类高发病率、高致死率的慢性疾病,严重危害人类身体健康,并可造成巨大的社会经济负担。因其成因复杂,目前在临床上仍未有有效的靶向药物与治疗手段。面对这一全球性公共卫生问题,国内外众多研究人员与机构在其诊断、分析、预防与治疗等方面不断提供新思路和新策略。吸烟仍然是COPD最主要的风险因素之一,戒烟与减少接触二手烟是最简单易行的预防措施。此外,控制环境污染、降低职业性对有害气体或有害颗粒的吸入、积极防治婴幼儿和儿童期的呼吸系统感染等,都可成为有效的预防手段。在临床上同时存在许多可用于缓解或减轻COPD症状的药物,如 β_2 -肾上腺素受体激动剂、抗胆碱能药、祛痰药、糖皮质激素等,但缺乏特定的有效药物,这是因为COPD的发病机制错综复杂。因此,早日阐明其具体准确的作用机制,还需要全人类多方面的共同努力。

参考文献 (References)

- Aldonyte R, Bagdonas E, Raudoniute J, Bruzauskaite I. Novel aspects of pathogenesis and regeneration mechanisms in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2015; 10: 995-1013.
- Rodgman A, Perfetti TA. The chemical components of tobacco and tobacco smoke, 2nd ed. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2013.
- Haugen TS, Skjonesberg OH, Kähler H, Lyberg T. Production of oxidants in alveolar macrophages and blood leukocytes. *Eur Respir J* 1999; 14(5): 1100-5.
- Heunks LM, Viña J, van Herwaarden CL, Folgering HT, Gimeno A, Dekhuijzen PN. Xanthine oxidase is involved in exercise-induced oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Physiol* 1999; 277(2): 1697-704.
- Lykkesfeldt J, Prieme H, Loft S, Poulsen HE. Effect of smoking cessation on plasma ascorbic acid concentration. *BMJ* 1996; 313(7049): 91.
- Fischer BM, Voynow JA, Ghio AJ. COPD: balancing oxidants and antioxidants. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2015; 10: 261-76.
- Cohen H, Matar MA, Zohar J. Increased levels of soluble interleukin-6 receptor and CCL3 in COPD sputum. *Respir Res* 2014; 15(1): 1-10.
- Kanai K, Koarai A, Shishikura Y, Sugiura H, Ichikawa T, Kikuchi T, *et al.* Cigarette smoke augments MUC5AC production via the TLR3-EGFR pathway in airway epithelial cells. *Respiratory Investigation* 2015; 53(4): 137-48.
- Shapiro SD. End-stage chronic obstructive pulmonary disease: the cigarette is burned out but inflammation rages on. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164(3): 339-40.
- Wang Y, Wei GU. Effect of macrophages in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *World Clinical Drugs* 2018; 01(39): 14-8.
- Barnes PJ, Shapiro SD, Pauwels RA. Chronic obstructive pulmonary disease: molecular and cellular mechanisms. *Eur Respir J* 2003; 22(4): 672-88.
- Russell RE, Thorley A, Culpitt SV, Dodd S, Donnelly LE, Demattos C, *et al.* Alveolar macrophage-mediated elastolysis: roles of matrix metalloproteinases, cysteine, and serine proteases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 283(4): 867-73.
- Walters MJ, Paulclark MJ, McMaster SK, Ito K, Adcock IM, Mitchell JA. Cigarette smoke activates human monocytes by an oxidant-AP-1 signaling pathway: implications for steroid resistance. *Mol Pharmacol* 2005; 68(5): 1343-53.
- Geraghty P, Hardigan A, Foronjy RF. Cigarette smoke activates the proto-oncogene c-src to promote airway inflammation and lung tissue destruction. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2014; 50(3): 559.
- Khurana S, Ravi A, Sutula J, Milone R, Williamson R, Plumb J, *et al.* Clinical characteristics and airway inflammation profile of COPD persistent sputum producers. *Respir Med* 2014; 108(12): 1761-70.
- Freeman CM, Crudgington S, Stolberg VR, Brown JP, Sonstein J, Alexis NE, *et al.* Design of a multi-center immunophenotyping analysis of peripheral blood, sputum and bronchoalveolar lavage fluid in the Subpopulations and Intermediate Outcome Measures in COPD Study (SPIROMICS). *J Transl Med* 2015; 13(1): 19.
- Overbeek SA, Braber S, Koelink PJ, Henricks PA, Mortaz E, LoTam Loi AT, *et al.* Cigarette smoke-induced collagen destruction; key to chronic neutrophilic airway inflammation? *PLoS One* 2013; 8(1): e55612.
- De FK, Dudeck A, Hasenberg M, Nye E, Van RN, Hartmann K, *et al.* Mast cell and macrophage chemokines CXCL1/CXCL2 control the early stage of neutrophil recruitment during tissue inflammation. *Blood* 2013; 121(24): 4930-7.
- Lämmermann T, Afonso PV, Angermann BR, Wang JM, Kastenmüller W, Parent CA, *et al.* Neutrophil swarms require LTB4 and integrins at sites of cell death in vivo. *Nature* 2013; 498(7454): 371-5.
- Cavicchioni G, Fraulini A, Falzarano S, Spisani S. Oligomeric formylpeptide activity on human neutrophils. *Eur J Med Chem* 2009; 44(12): 4926-30.
- Dhami R, Gilks B, Xie C, Zay K, Wright JL, Churg A. Acute cigarette smoke-induced connective tissue breakdown is mediated by neutrophils and prevented by α 1-Antitrypsin. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 22(2): 244-52.
- Grumelli S, Corry DB, Song LZ, Song L, Green L, Huh J, *et al.* An immune basis for lung parenchymal destruction in chronic

- obstructive pulmonary disease and emphysema. *PLoS Med* 2004; 1(1): e8.
- 23 Majo J, Ghezzi H, Cosio MG. Lymphocyte population and apoptosis in the lungs of smokers and their relation to emphysema. *Eur Respir J* 2001; 17(5): 946-53.
 - 24 Eppert BL, Wortham BW, Flury JL, Borchers MT. Functional characterization of T cell populations in a mouse model of chronic obstructive pulmonary disease. *J Immunol* 2013; 190(3): 1331-40.
 - 25 Tangedal S, Aanerud M, Persson L, Brokstad KA, Bakke PS, Eagan TM. Comparison of inflammatory markers in induced and spontaneous sputum in a cohort of COPD patients. *Respir Res* 2014; 15(1): 138.
 - 26 Thomson EM, Williams A, Yauk CL, Vincent R. Overexpression of tumor necrosis factor- α in the lungs alters immune response, matrix remodeling, and repair and maintenance pathways. *Am J Pathol* 2012; 180(4): 1413.
 - 27 Van dVH, Koëter GH, Postma DS, Kauffman HF, ten Hacken NH. First study of infliximab treatment in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172(4): 465-9.
 - 28 Rennard SI, Fogarty C, Kelsen S, Long W, Ramsdell J, Allison J, *et al.* The safety and efficacy of infliximab in moderate to severe chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175(9): 926-34.
 - 29 Dentener MA, Creutzberg EC, Pennings HJ, Rijkers GT, Mercken E, Wouters EF. Effect of infliximab on local and systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease: a pilot study. *Respiration* 2008; 76(3): 275-82.
 - 30 Lappalainen U, Whitsett JA, Wert SE, Tichelaar JW, Bry K. Interleukin-1 β causes pulmonary inflammation, emphysema, and airway remodeling in the adult murine lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005; 32(4): 311-8.
 - 31 Hoshino T, Kato S, Oka N, Imaoka H, Kinoshita T, Takei S, *et al.* Pulmonary inflammation and emphysema: role of the cytokines IL-18 and IL-13. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176(1): 49.
 - 32 Larsson K. Inflammatory markers in COPD. *Clin Respir J* 2010; 2(s1): 84-7.
 - 33 Traves SL, Smith SJ, Barnes PJ, Donnelly LE. Specific CXC but not CC chemokines cause elevated monocyte migration in COPD: a role for CXCR2. *J Leukocyte Biol* 2004; 76(2): 441-50.
 - 34 Costa C, Rufino R, Traves SL, Jr LES, Barnes PJ, Donnelly LE. CXCR3 and CCR5 chemokines in induced sputum from patients with COPD. *Chest* 2008; 133(1): 26-33.
 - 35 Betsuyaku T, Nishimura M, Takeyabu K, Tanino M, Venge P, Xu S, *et al.* Neutrophil granule proteins in bronchoalveolar lavage fluid from subjects with subclinical emphysema. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159(6): 1985.
 - 36 Antunes MA, Rocco PR. Elastase-induced pulmonary emphysema: insights from experimental models. *An Acad Bras Cienc* 2011; 83(4): 1385-96.
 - 37 Shapiro SD, Goldstein NM, Houghton MG, Kobayashi DK, Kelley D, Belaouaj A. Neutrophil elastase contributes to cigarette smoke-induced emphysema in mice. *Am J Pathol* 2003; 163(6): 2329-35.
 - 38 Belvisi MG, Bottomley KM. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in the pathophysiology of chronic obstructive pulmonary disease (COPD): a therapeutic role for inhibitors of MMPs? *Inflammation Res* 2003; 52(3): 95-100.
 - 39 Shapiro SD, Senior RM. Matrix metalloproteinases. Matrix degradation and more. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20(6): 1100-2.
 - 40 O'Reilly P, Jackson PL, Noerager B, Parker S, Dransfield M, Gaggari A, *et al.* N-alpha-PGP and PGP, potential biomarkers and therapeutic targets for COPD. *Respir Res* 2009; 10(1): 38.
 - 41 Hautamaki RD, Kobayashi DK, Senior RM, Shapiro SD. Requirement for macrophage elastase for cigarette smoke-induced emphysema in mice. *Sci* 1997; 277(5334): 2002-4.
 - 42 Hunninghake GM, Cho MH, Tesfayigzi Y, Sotoqueros ME, Avila L, Laskysu J, *et al.* MMP-12, lung function, and COPD in high-risk populations. *N Engl J Med* 2010; 362(13): 1242.
 - 43 Seguravaldez L, Pardo A, Gaxiola M, Uhal BD, Becerril C, Selman MS. Upregulation of gelatinases A and B, collagenases 1 and 2, and increased parenchymal cell death in COPD. *Chest* 2000; 117(3): 684-94.
 - 44 Hodge S, Hodge G, Holmes M, Reynolds PN. Increased airway epithelial and T-cell apoptosis in COPD remains despite smoking cessation. *Eur Respir J* 2005; 25(3): 447-54.
 - 45 Imai K, Mercer BA, Schulman LL, Sonett JR, D'Armiento JM. Correlation of lung surface area to apoptosis and proliferation in human emphysema. *Eur Respir J* 2005; 25(2): 250-8.
 - 46 Yokohori N, Aoshiba K, Nagai A. Increased levels of cell death and proliferation in alveolar wall cells in patients with pulmonary emphysema. *Chest* 2004; 125(2): 626-32.
 - 47 Kasahara Y, Tuder RM, Taraseviciene-Stewart L, Le CT, Abman S, Hirth PK, *et al.* Inhibition of VEGF receptors causes lung cell apoptosis and emphysema. *J Clin Invest* 2000; 106(11): 1311.
 - 48 Tang K, Rossiter HB, Wagner PD, Breen EC. Lung-targeted VEGF inactivation leads to an emphysema phenotype in mice. *J Appl Physiol* 2004; 97(4): 1559.
 - 49 Aoshiba K, Yokohori N, Nagai A. Alveolar wall apoptosis causes lung destruction and emphysematous changes. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003; 28(5): 555-62.
 - 50 Petrache I, Natarajan V, Zhen L, Medler TR, Richter AT, Cho C, *et al.* Ceramide upregulation causes pulmonary cell apoptosis and emphysema-like disease in mice. *Proc Am Thorac Soc* 2005; 11(5): 491.
 - 51 Aoshiba K, Tamaoki J, Nagai A. Acute cigarette smoke exposure induces apoptosis of alveolar macrophages. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 281(6): L1392.
 - 52 Carnevali S, Petruzzelli S, Longoni B, Vanacore R, Barale R, Cipollini M, *et al.* Cigarette smoke extract induces oxidative stress and apoptosis in human lung fibroblasts. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003; 284(6): 955-63.
 - 53 Wickenden JA, Clarke MCH, Rossi AG, Rahman I, Faux SP, Donaldson K, *et al.* Cigarette smoke prevents apoptosis through inhibition of caspase activation and induces necrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003; 29(5): 562-70.
 - 54 Agustà A, Macnee W, Donaldson K, Cosio M. Hypothesis: does COPD have an autoimmune component? *Thorax* 2003; 58(10): 832-4.
 - 55 Enelow RI, Mohammed AZ, Stoler MH, Liu AN, Young JS, Lou YH, *et al.* Structural and functional consequences of alveolar cell recognition by CD8(+) T lymphocytes in experimental lung

- disease. *J Clin Invest* 1998; 102(9): 1653.
- 56 Feghaliibostwick CA, Gadgil AS, Otterbein LE, Pilewski JM, Stoner MW, Csizmadia E, *et al.* Autoantibodies in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 177(2): 156-63.
- 57 Karayama M, Inui N, Suda T, Nakamura Y, Nakamura H, Chida K. Antiendothelial cell antibodies in patients with COPD. *Chest* 2010; 138(6): 1303-8.
- 58 Taraseviciene-Stewart L, Scerbavicius R, Choe KH, Moore M, Sullivan A, Nicolls MR, *et al.* An animal model of autoimmune emphysema. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171(7): 734.
- 59 Litsiou E, Semitekolou M, Galani IE, Morianos I, Tsoutsas A, Kara P, *et al.* CXCL13 production in B cells via Toll-like receptor/lymphotoxin receptor signaling is involved in lymphoid neogenesis in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2013; 187(11): 1194-202.
- 60 Freeman CM, Stolberg VR, Crudgington S, Martinez FJ, Han MK, Chensue SW, *et al.* Human CD56⁺ cytotoxic lung lymphocytes kill autologous lung cells in chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS One* 2014; 9(7): e103840.
- 61 Sze MA, Dimitriu PA, Hayashi S, Elliott WM, McDonough JE, Gosselink JV, *et al.* The lung tissue microbiome in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 185(10): 1073-80.
- 62 Zakharkina T, Heinzl E, Koczulla RA, Greulich T, Rentz K, Pauling JK, *et al.* Analysis of the airway microbiota of healthy individuals and patients with chronic obstructive pulmonary disease by T-RFLP and clone sequencing. *PLoS One* 2013; 8(7): e68302.
- 63 Pragman AA, Kim HB, Reilly CS, Wendt C, Isaacson RE. The lung microbiome in moderate and severe chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS One* 2012; 7(10): S77-8.
- 64 Huang YJ, Kim E, Cox MJ, Brodie EL, Brown R, Wienerkronish JP, *et al.* A persistent and diverse airway microbiota present during chronic obstructive pulmonary disease exacerbations. *OMICS* 2010; 14(1): 9.
- 65 Sethi S, Murphy TF. Infection in the pathogenesis and course of chronic obstructive pulmonary disease. *New Engl J Med* 2009; 359(22): 2355.
- 66 Ivanov II, Atarashi K, Manel N, Brodie EL, Shima T, Karaoz U, *et al.* Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell* 2009; 139(3): 485-98.
- 67 O'Toole PW, Jeffery IB. Gut microbiota and aging. *Sci* 2015; 350(6265): 1214-5.
- 68 Massaro GD, Massaro D. Retinoic acid treatment abrogates elastase-induced pulmonary emphysema in rats. *Nat Med* 1997; 3(6): 675.
- 69 Choi M, Ban T, Rhim T. Therapeutic use of stem cell transplantation for cell replacement or cytoprotective effect of microvesicle released from mesenchymal stem cell. *Mol Cells* 2014; 37(2): 133.
- 70 Li Y, Gu C, Xu W, Yan J, Xia Y, Ma Y, *et al.* Therapeutic effects of amniotic fluid-derived mesenchymal stromal cells on lung injury in rats with emphysema. *Respir Res* 2014; 15(1): 120.