

# 胃蛋白酶在胃食管反流性咳嗽中应用的研究进展

洪诗雅, 杨朝霞

重庆医科大学附属第二医院消化内科, 重庆

收稿日期: 2022年3月14日; 录用日期: 2022年4月8日; 发布日期: 2022年4月18日

## 摘要

胃食管反流性咳嗽(gastroesophageal reflux-related cough, GERC)是指由于胃酸和其他胃内容物反流进入食管引起的反射性咳嗽,为胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)的一种的食管外表现,是慢性咳嗽的常见病因之一。GERD患者咳嗽的发病机制主要涉及气道微吸入、食管-支气管反射、反流物的直接损伤和刺激、食管运动功能失调等。反流包括酸性反流及非酸性反流,而既往的观察性研究发现,使用质子泵抑制剂(PPI)治疗合并慢性咳嗽的胃食管反流患者后咳嗽症状并不一定得到相应的改善,考虑该类患者的慢性咳嗽可能与非酸反流相关性更大。而胃蛋白酶是非酸反流的主要成分之一,许多研究发现胃蛋白酶比酸性物质对上呼吸道粘膜的伤害更大。这表明胃蛋白酶不仅是存在食管外反流的客观生物学标志,亦可能在反流相关性咳嗽中起重要病理作用。

## 关键词

胃蛋白酶, 胃食管反流性咳嗽, 胃食管反流病, 慢性咳嗽

# Research Progress on the Application of Pepsin in Gastroesophageal Reflux-Related Cough

Shiya Hong, Zhaoxia Yang

Department of Gastroenterology, The Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing

Received: Mar. 14<sup>th</sup>, 2022; accepted: Apr. 8<sup>th</sup>, 2022; published: Apr. 18<sup>th</sup>, 2022

## Abstract

Gastroesophageal reflux-related cough (GERC) is a reflex cough caused by the reflux of gastric acid

and other gastric contents into the esophagus. It is an extraesophageal manifestation of gastroesophageal reflux disease (GERD) and one of the common causes of chronic cough. The pathogenesis of cough in patients with GERD is mainly related to airway microinhalation, esophagobronchial reflex, direct injury and stimulation of reflux, esophageal motor dysfunction and so on. Reflux includes acid reflux and non-acid reflux. Previous observational studies have found that cough symptoms may not be improved after proton pump inhibitor (PPI) treatment in gastroesophageal reflux patients with chronic cough, and chronic cough may be more related to non-acid reflux. Pepsin is one of the main components of non-acid reflux. Many studies have found that pepsin is more harmful to the mucosa of the upper respiratory tract than acid. This suggests that pepsin is not only an objective biological marker of extraesophageal reflux, but also may play an important pathological role in reflux-related cough.

## Keywords

Pepsin, Gastroesophageal Reflux-Related Cough, Gastroesophageal Reflux Disease, Chronic Cough

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

胃食管反流病(GERD)是指胃及十二指肠内容物反流入食管及以上部位所引发的症状和并发症。而胃食管反流性咳嗽(GERC)则是胃内容物反流引发的慢性咳嗽。部分患者可能仅有单纯的咳嗽表现,没有类似GERD的典型症状,很容易导致误诊。而合并慢性咳嗽的胃食管反流患者经过常规治疗后,咳嗽表现并不都一定可得到相应程度的改善。Francis等人对合并食道外症状的GERD患者的研究发现,接近半数的患者合并咳嗽症状,且其预估治疗费用将明显升高[1]。同时既往研究发现,使用PPI治疗反流性咳嗽效果并不理想,未能证明PPI对于治疗慢性咳嗽的疗效[2]。故可能于相当部分反流性咳嗽患者中,非酸反流对疾病影响更大。胃蛋白酶是非酸反流的主要成分之一,胃蛋白酶可能比酸性物质对上呼吸道粘膜的伤害更大。本文拟对胃蛋白酶在反流性咳嗽中发病机制及在其诊疗中的应用进行阐述,以期指导临床精准治疗反流相关性咳嗽。

## 2. 胃蛋白酶在反流相关性咳嗽发生中的作用

反流相关性咳嗽的发病机制可能包括气道微吸入、食管-支气管反射、反流物对气管支气管的直接刺激、食管动力障碍、迷走神经功能紊乱、气道神经源性炎症以及气道高反应性等等[3]。胃食管反流引起咳嗽的发生机制主要包括:①食管-支气管反射:反流物可以直接刺激食管感受器,从而可能触发迷走神经反射而引起气道神经源性炎症,同时神经冲动可传回中枢神经而引发迷走神经介导的呼吸反射,因而若胃内容物未到达咽喉部及亦可引起咳嗽。②气道微量吸入:食管上括约肌压力过低时,反流物容易进入咽喉部及气道并引起咽喉部及气道炎症,误吸至气道的反流物以及咳嗽对气道纤毛的过度刺激均可导致对气道黏膜系统造成损害,继而产生炎症,而炎症病理反应同时又能加剧气道炎症损害反应及咳嗽反应的持续发作。下面主要阐述其中胃蛋白酶导致慢性咳嗽的主要几种机制。

### 2.1. 对气道黏膜的直接损伤

反流胃内容物的成分如胃酸、胃蛋白酶、胆汁酸钠盐等可以直接接触咽喉粘膜,并因此会造成对黏

膜细胞的侵蚀作用, 从而引起咽喉部的各种症状。其中胃蛋白酶在粘膜组织的损伤过程中起着较为显著的作用。通过免疫组织化学分析表明, 在组织活检标本中有 95% 的咽喉反流患者具有组织结合的胃蛋白酶, 而对照组只有 5%。且人胃蛋白酶在 pH 高达 6.5 时仍保留其部分蛋白水解活性。胃蛋白酶作为反流物的重要组成部分, 可与胃酸共同发生作用后对咽喉部粘膜造成损害, 且即使当胃酸被全部清除后, 残存保留的胃蛋白酶仍可以继续损伤咽喉粘膜上皮。Johnston 等人以往还发现胃蛋白酶在细胞内环境也可被激活, 失去活性的胃蛋白酶可以通过胞吞在 pH 值较低的细胞内结构中重新活化, 并最终通过分解黏膜上皮细胞膜蛋白、细胞内的蛋白以及细胞器来造成一系列病理损伤, 故在非酸性环境中, 胃蛋白酶也可能引起咽喉损害[4] [5]。Johnston 等还证实到了高尔基体中 40% 左右的胃蛋白酶可以被活化, 继而引起高尔基体和线粒体等细胞器的损伤, 并干扰与细胞毒性有关的基因表达途径引发细胞损伤[6]。既往的动物试验及人体研究中发现, 当 pH 为 5~6 时黏膜亦可遭受胃蛋白酶损伤, 并且这些与组织结合的胃蛋白酶可以被食物、饮料等外源酸性物质激活而继续造成损伤, 故而即使经过高剂量的 PPI 治疗和生活方式改变, 喉咙中的咳嗽相关受体也可能持续存在。

## 2.2. 诱导炎症细胞因子产生

根据目前的研究, 胃蛋白酶介导的反流不仅造成呼吸道黏膜上皮的直接损伤, 亦可刺激巨噬细胞或黏膜上皮细胞分泌炎性介质, 从而吸引并激活免疫细胞, 继而介导了进一步损害。Kim JH 等进行的体外研究表明, 扁桃体组织中的胃蛋白酶可引诱巨噬细胞成熟, 释放炎性细胞因子, 并触发巨噬细胞迁移穿过上皮。在非酸性环境中将胃蛋白酶与人的下咽细胞一起培养, 可能会诱导某些促炎细胞因子(如 IL-6、IL-8、CCL20, CCL26 等)的产生。这些细胞因子均能参与嗜中性粒细胞的募集、触发中性粒细胞迁移。当胃蛋白酶在低 pH 的缓冲液中悬浮并施加到气道屏障的顶表面 1 小时后, 可触发嗜中性粒细胞跨极化气道上皮屏障迁移, 并破坏上皮屏障完整性[7]。另外, 在 Patterson 等人的研究中也报道, 哮喘和慢性咳嗽患者食管中的胃内容物促进了 P 物质和神经激肽 A 向肺的释放, 从而引起了呼吸道黏膜上皮的炎症反应[8]。Bathorn E 等人的研究亦表明胃蛋白酶对支气管上皮细胞有炎症诱导和细胞毒性作用, 而长期慢性吸入就可能进一步导致慢性炎症甚至气道重构[9]。

## 2.3. 食管 - 支气管反射

反射理论, 也被称为远侧反射理论或食管 - 气管 - 支气管反射理论, 下段食管粘膜受体首先是受到了反流物的直接刺激, 然后再通过食道黏膜刺激咳嗽中心引发支气管咳嗽反射, 相应传出神经末梢受体会通过胞吐作用释放出神经肽, 进而就能诱发神经源性炎症及间接激活肥大细胞表面的神经肽受体以释放类胰蛋白酶、组胺、前列腺素 E2 等炎性介质, 最终刺激咳嗽信号受体导致咳嗽。研究表明, 非酸性食管反流会激活机械性拉伸受体, 从而通过 Ad 纤维引起咳嗽。而在帅晓玮等进行的 Wistar 大鼠研究中, 胃蛋白酶和胃酸刺激食管导致延髓中 c-Fos 基因表达增高, 这表明胃酸和胃蛋白酶刺激食管远端可能引起咳嗽中枢刺激。该研究显示食道酸加胃蛋白酶的灌注会导致中枢神经系统区域的神经激活, 而 NO 可能是其中一些区域的神经递质之一[10]。胃蛋白酶下部暴露于酸性胃蛋白酶会刺激粘膜受体, 进而通过迷走神经传入纤维激活 NTS 的神经元, 并最终通过 DMV 和 NA 中的神经元来调节食道的蠕动。这些程序涉及的可能原子核是 AM, PVN, PBN, RNM 和 AP。c-Fos 和 NADPH-d 的双标记染色表明 NO 是 PVN, PBN, NTS/DMV, RNM 和 AP 中的神经递质之一。

## 3. 胃蛋白酶的检测

反流相关性咳嗽是慢性咳嗽的主要病因之一, 但基于临床基础上发现很多咳嗽患者本身并无明显胃

食管反流症状例如烧心、反酸等, 仅以咳嗽为主要临床症状。另一方面, 胃食管反流患者常常合并各种呼吸道症状, 胃食管反流也可加剧呼吸道疾病, 然而患者反流与慢性咳嗽是否存在因果关系需进一步评估。故正确判断患者是否存在反流及反流是否为咳嗽的病因可为患者的诊治提供重要帮助。由于部分患者可能存在非酸反流或间歇性反流, 24 h 食管 pH 监测正常亦不能除外 GERD, 24 h pH 联合阻抗监测是目前最灵敏而又可靠的 GERD 辅助诊断技术手段, 但因其为侵入性检测且价格相对高昂, 且即使确诊了存在反流, 也不能明确胃食管反流与肺部疾病之间的因果关系。同理胃镜检查也不能明确其因果关系, 且很可能无明显阳性发现。诊断性 PPI 试验亦可协助诊断, 但其特异性较低, 且众多研究表明以非酸反流为主的患者服用 PPI 后咳嗽症状不能得到相应缓解。

唾液胃蛋白酶检测是一种非侵袭性且敏感性较高的胃食管反流检测方法。正常情况下人胃蛋白酶基本仅存在于胃内容物, 故若在食管外检测到则是存在反流的客观依据。通常, 它不存在于咽喉部、气管支气管或肺部, 只存在于胃分泌物中, 且具有生物活性, 此外还可较长时间与黏膜上皮结合存在, 是检测胃食管反流相关吸入的理想标记物。目前已有在唾液、痰液、鼻腔灌洗液、呼出气冷凝液(EBC)、支气管肺泡灌洗液(BAL)、中耳渗液等中检测胃蛋白酶协助诊断的相关研究[4] [7] [11]。喉部标准痰液样本中的胃蛋白酶检测技术原理是通过免疫法测定喉部痰液的胃蛋白酶质量浓度, 因正常健康人群喉部基本不存在或仅有微量胃蛋白酶, 故应用喉部检测胃蛋白酶可为喉咽反流提供较为可靠的客观证据。另外最近也有报道称中耳渗液中的胃蛋白酶含量可作为分泌性中耳炎患者是否存在咽喉反流的一个客观指标; 同时有研究指出慢性鼻窦炎也与咽喉反流有关, 鼻腔灌洗液胃蛋白酶检测是一种无创、便捷、可行的辅助检查诊断咽喉反流的方法[5]。Vicki Strugala 研究发现慢性咳嗽患者中观察到的胃蛋白酶相关反流水平可能与病理相关[12]。对气道胃蛋白酶的研究可以帮助区分反流物质的吸入与吞咽不协调引起的直接吸入。唾液及喉部胃蛋白酶对胃食管反流及咽喉反流的诊断具有中等敏感性和特异性。现已有检测慢性咳嗽患者痰液中胃蛋白酶的相关试验, 并且已用于指示同种异体肺移植患者的误吸和抗反流手术的有效性[13]。Farrell 等人在调查患有 GERD 的儿童时发现, 那些患有慢性咳嗽的儿童在支气管肺泡灌洗样本中检测到胃蛋白酶的可能性更大, 提示支气管肺泡灌洗液中胃蛋白酶的检测可能是诊断 GERD 相关吸入的一种特异、敏感的方法, 并提示支气管肺泡灌洗液中胃蛋白酶可作为抗返流手术的指征, 但这种方法需要气管插管和全身麻醉才能获得样本[14]。Soyer 等人尝试检测胃食管反流病患者呼气冷凝液胃蛋白酶水平, 这是更方便、无创的检测方式, 虽该试验测得胃蛋白酶含量低于检测限, 但发现 GERD 患者的 EBC 中 NOX 水平降低, 表明这些患者的呼吸道氧化应激增加[15]。Timms 等人的研究表明, COPD 合并 GORD 患者 EBC 中胃蛋白酶平均浓度显著高于未合并 GORD 患者[16]。Reder 等人曾对合并 GERD 的肺移植患者行气管镜检查, 并在患者肺泡灌洗液及呼出气冷凝液样本中均检测到了胃蛋白酶和胆汁酸的存在, 证明了近端反流可导致反流物被误吸至气管甚至肺部, 继而引发相应的呼吸道症状[17]。对于病因不明的慢性咳嗽患者, 可以考虑进行痰及支气管肺泡灌洗液细胞学分析协助其临床综合诊治。具体操作为采集深部痰或支气管肺泡灌洗液, 处理后进行涂片染色检查, 在显微镜下进行总细胞计数和分类, 若检查结果提示中性粒细胞数量异常增高, 则需警惕患者存在非哮喘性慢性咳嗽, 例如胃食管反流性咳嗽。同时以往有研究对比了 GERD 患者治疗前后的痰液细胞学检查, 显示治疗前 GERD 患者痰细胞学检查以中性粒细胞和巨噬细胞为主, 经过治疗后中性粒细胞明显减少, 巨噬细胞和淋巴细胞数目则有所升高, 具有明显差异。对比痰液的细胞学检查可重复性较高, 且结果同气道黏膜活检结果的相关性高, 有助于评估病情及疗效治疗。对反流物的性质进行分析, 可以判断哪些患者能真正从抑酸治疗中获益, 指导评估患者后续是否需要抗反流的相关手术, 对这些患者的临床个体化治疗具有重要指导意义。此外, 多项研究表明检测胃蛋白酶与慢性肺纤维化、咽喉癌等其他咳嗽相关呼吸系统疾病有关, 故也可协助评估患者预后。

## 4. 展望

慢性咳嗽由于病因较为复杂,若未明确病因即开始治疗效果常常欠佳,可严重影响患者的生活质量。随着人们对胃食管反流病研究的逐渐深入,发现 GERD 与慢性咳嗽存在紧密联系。胃蛋白酶可通过直接损伤呼吸道黏膜上皮、诱导炎性介质产生、触发食管-支气管反射等多种机制诱发慢性咳嗽。胃食管反流是慢性咳嗽的重要病因之一,但诊治反流相关性咳嗽仍存在一定困难。通过检测呼吸道分泌物及黏膜上皮中的胃蛋白酶含量可能有助于协助诊断,并评估何种治疗方案可获益最大,是否需进行抗反流手术及抗酸治疗,治疗后可复查以评估疗效,且可一定程度评估其远期预后。

## 参考文献

- [1] Francis, D.O., Rymer, J.A., Slaughter, J.C., *et al.* (2013) High Economic Burden of Caring for Patients with Suspected Extraesophageal Reflux. *American Journal of Gastroenterology*, **108**, 905-911. <https://doi.org/10.1038/ajg.2013.69>
- [2] Kahrilas, P.J., Howden, C.W., Hughes, N. and Molloy-Bland, M. (2013) Response of Chronic Cough to Acid-Suppressive Therapy in Patients with Gastroesophageal Reflux Disease. *Chest*, **143**, 605-612. <https://doi.org/10.1378/chest.12-1788>
- [3] 郭宇佳, 郑吉敏. 胃食管反流性咳嗽发病机制的研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(52): 96-97.
- [4] Rosen, R., *et al.* (2012) The Presence of Pepsin in the Lung and Its Relationship to Pathologic Gastroesophageal Reflux. *Neurogastroenterology & Motility: The Official Journal of the European Gastrointestinal Motility Society*, **24**, 129-85. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2011.01826.x>
- [5] 王秀, 陈伟, 王秋萍. 胃蛋白酶检测在咽喉反流疾病诊断中的应用[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2017, 31(9): 728-731.
- [6] Johnston, N., *et al.* (2010) Rationale for Targeting Pepsin in the Treatment of Reflux Disease. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology*, **119**, 547-558.
- [7] Kim, Y., Lee, Y.J., Cho, Y.J., *et al.* (2018) Association between Pepsin in Bronchoalveolar Lavage Fluid and Prognosis of Chronic Fibrosing Interstitial Lung Disease. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, **246**, 147-153.
- [8] Patterson, R.N., *et al.* (2007) Increased Tachykinin Levels in Induced Sputum from Asthmatic and Cough Patients with Acid Reflux. *Thorax*, **62**, 491-495. <https://doi.org/10.1136/thx.2006.063982>
- [9] Bathoorn, E., *et al.* (2011) Cytotoxicity and Induction of Inflammation by Pepsin in Acid in Bronchial Epithelial Cells. *International Journal of Inflammation*, **2011**, Article ID: 569416. <https://doi.org/10.4061/2011/569416>
- [10] 帅晓玮, 谢鹏雁. 大鼠急性食管炎模型时中枢神经系统内 c-Fos 与 NOS 的表达及意义[C]//中华医学会消化病学分会. 2005 年全国胃肠激素学术研讨会. 杭州: 浙江省科学技术协会, 2005: 70-71.
- [11] Bargagli, E., Di Masi, M., Perruzza, M., *et al.* (2019) The Pathogenetic Mechanisms of Cough in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Internal and Emergency Medicine*, **14**, 39-43. <https://doi.org/10.1007/s11739-018-1960-5>
- [12] Strugala, V., Woodcock, A.D., Dettmar, P.W., Faruqi, S. and Morice, A.H. (2016) Detection of Pepsin in Sputum: A Rapid and Objective Measure of Airways Reflux. *European Respiratory Journal*, **47**, 339-341. <https://doi.org/10.1183/13993003.00827-2015>
- [13] Stovold, R., Forrest, I.A., Corris, P.A., *et al.* (2007) Pepsin, a Biomarker of Gastric Aspiration in Lung Allografts: A Putative Association with Rejection. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **175**, 1298-1303. <https://doi.org/10.1164/rccm.200610-1485OC>
- [14] Farrell, S., McMaster, C., Gibson, D., *et al.* (2006) Pepsin in Bronchoalveolar Lavage Fluid: A Specific and Sensitive Method of Diagnosing Gastro-Oesophageal Reflux-Related Pulmonary Aspiration. *Journal of Pediatric Surgery*, **41**, 289-293. <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2005.11.002>
- [15] Soyer, T., Soyer, Ö.U., Birben, E., *et al.* (2013) Pepsin Levels and Oxidative Stress Markers in Exhaled Breath Condensate of Patients with Gastroesophageal Reflux Disease. *Journal of Pediatric Surgery*, **48**, 2247-2250. <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2013.02.100>
- [16] Timms, C., Thomas, P.S. and Yates, D.H. (2012) Detection of Gastro-Oesophageal Reflux Disease (GORD) in Patients with Obstructive Lung Disease Using Exhaled Breath Profiling. *Journal of Breath Research*, **6**, Article ID: 016003. <https://doi.org/10.1088/1752-7155/6/1/016003>
- [17] Reder, N.P., Davis, C.S., Kovacs, E.J., *et al.* (2014) The Diagnostic Value of Gastroesophageal Reflux Disease (GERD) Symptoms and Detection of Pepsin and Bile Acids in Bronchoalveolar Lavage Fluid and Exhaled Breath Condensate for Identifying Lung Transplantation Patients with GERD-Induced Aspiration. *Surgical Endoscopy*, **28**, 1794-800. <https://doi.org/10.1007/s00464-013-3388-3>