

• 临床研究 •

黄芪颗粒对哮喘患儿 Treg 和 Th17 细胞的影响作用*

余德豹, 周国忠[△], 吴云路, 卢 韬

(绍兴市人民医院/浙江大学绍兴医院临床检验中心, 浙江绍兴 312000)

摘 要:目的 探讨黄芪颗粒对哮喘患儿 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ 调节性 T 细胞(Treg 细胞)和辅助性 T 细胞 17(Th17 细胞)的影响作用,为临床诊疗提供参考。**方法** 选取 2013 年 7 月至 2014 年 5 月该院收治的典型初发哮喘患儿 60 例,随机分为黄芪组(30 例)和对照组(30 例),对照组采用普米克都保治疗,黄芪组在普米克都保治疗的基础上加用黄芪颗粒。观察两组治疗疗效和外周血 Treg 细胞及 Th17 细胞的变化。**结果** 治疗前两组 Treg 细胞及 Th17 细胞百分比比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);与治疗前比较,治疗后两组 Treg 细胞百分比均明显升高, Th17 细胞百分比均明显降低,差异均有统计学意义($P<0.05$);且治疗后黄芪组与对照组 Treg 细胞及 Th17 细胞百分比比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。黄芪组治疗总有效率高于对照组,但差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 黄芪颗粒有着调节 Th17 细胞和 Treg 细胞平衡的作用,对哮喘的治疗有一定的效果,并且黄芪颗粒和西药联合使用效果更显著。

关键词:支气管哮喘; 黄芪颗粒; CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ 调节性 T 细胞; 辅助性 T 细胞 17

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.05.029

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)05-0649-02

支气管哮喘是儿童时期常见的反复发作的慢性疾病,是以嗜酸性粒细胞、肥大细胞、T 淋巴细胞等炎性细胞浸润及细胞组分参与的气道慢性炎症性疾病,近年来其发病率呈上升趋势,且发病年龄日趋小龄化,严重影响小儿的生长发育和身心健康^[1]。CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ 调节性 T 细胞(Treg 细胞)和辅助性 T 细胞 17(Th17 细胞)属于新发现的 CD4⁺T 淋巴细胞亚群,Treg 细胞具有免疫抑制作用,而 Th17 细胞具有强致炎活性,两者在功能上相互拮抗,两者平衡可维持免疫内环境的稳定。近年来有研究发现,Treg 细胞和 Th17 细胞在哮喘的发病机制中扮演着重要角色,弥补了由辅助性 T 细胞 2(Th2 细胞)所介导的哮喘机制的不足,从而为哮喘发病机制的研究提供了新方向^[2]。黄芪颗粒是补中益气中药,含有黄芪皂苷、黄芪多糖和多种微量元素等,是一种具有免疫调节功能的中成药,可降低患者气道高反应性,调节患者免疫功能,从而对支气管哮喘有一定的治疗作用。但有关黄芪颗粒是否对哮喘患儿 Treg 细胞和 Th17 细胞产生影响的文献报道不多。笔者采用黄芪治疗哮喘未控制患儿,疗效满意。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013 年 7 月至 2014 年 5 月于本院小儿科哮喘专病门诊就诊及住院的典型初发哮喘患儿 60 例,男 28 例,女 32 例;年龄 5~14 岁,平均(8.80±2.56)岁;诊断均符合中华医学会儿科学分会呼吸学组制订的《儿童支气管哮喘诊断与防治指南》哮喘诊断标准^[3]。所有患儿就诊时检测肺功能,进行儿童哮喘控制测试(C-ACT),并根据临床症状、肺功能情况给予严重程度和控制水平分级。按《儿童支气管哮喘诊断与防治指南》分级治疗原则^[3],将纳入的所有受试者按随机数字表法分为两组:A 治疗组(对照组)30 例,其中男 16 例,女 14 例;B 治疗组(黄芪组)30 例,其中男 12 例,女 18 例。患儿的监护人均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 对照组单纯用普米克都保行规范化的治疗;黄芪组在对照组的基础上,每日加服黄芪颗粒,饭后开水冲服,每次 4 g,每日 2 次。

1.2.2 检测方法 Treg 细胞和 Th17 细胞均采用 FC500 流式细胞仪(美国 Beckman Coulter 公司)进行分析,在治疗前后

各采乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝血 2 mL 进行细胞计数,按试剂盒说明书进行检测。

1.2.3 疗效判定标准与观察指标 显效:用药 1 周内咳嗽消失;有效:用药 1~2 周咳嗽消失;无效:用药 2 周以上,仍有咳嗽。总有效率=(显效例数+有效例数)/总例数,并统计两组患儿气喘、咳嗽及哮鸣音消失时间。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理及统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内和组间比较均采用 t 检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组临床症状消失时间比较 两组哮喘患儿气喘、咳嗽和哮鸣音消失时间比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 两组哮喘患儿临床症状消失时间($\bar{x} \pm s, d$)

组别	<i>n</i>	气喘消失时间	咳嗽消失时间	哮鸣音消失时间
黄芪组	30	4.0±1.5	7.4±2.8	5.7±2.9
对照组	30	3.8±1.3	7.6±3.1	5.9±3.2

2.2 两组临床疗效比较 治疗后两组显效率和总有效率比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2 两组哮喘患儿临床疗效比较[*n*(%)]

组别	<i>n</i>	显效	有效	无效	总有效率
黄芪组	30	21(70.00)	5(16.67)	4(13.33)	26(86.67)
对照组	30	20(66.67)	4(13.33)	6(20.00)	24(80.00)

2.3 两组外周血 T 淋巴细胞水平比较 Treg 细胞和 Th17 细胞检测结果,见图 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。治疗前,两组 Treg 细胞及 Th17 细胞百分比比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);与治疗前比较,治疗后黄芪组与对照组哮喘患儿 Treg 细胞百分比均明显上升, Th17 细胞百分比均明显下降,差异均有统计学意义($P<0.05$)。治疗后,两组患儿外周血 Treg 细胞及 Th17 细胞百分比比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见图 2。

* 基金项目:浙江省卫计委科技项目(JSW2013-B031)。 [△] 通讯作者,E-mail:zhouzhong@sohu.com。

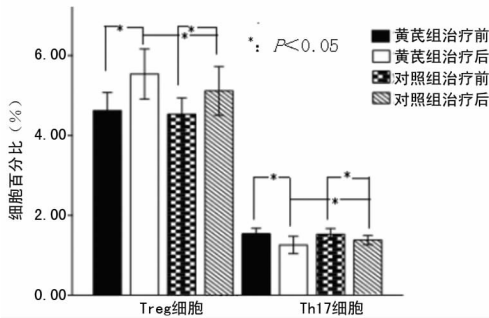


图2 两组治疗前后 Treg 细胞与 Th17 细胞所占百分比比较

3 讨论

哮喘的发病机制十分复杂, Th2 细胞占优势的 Th1/Th2 型免疫应答失衡, 是哮喘发病的一个重要免疫学机制。哮喘患者 Th1 型免疫反应减弱而 Th2 型免疫反应异常增强, 出现以产生干扰素 (IFN) 为标志的 Th1 细胞反应低下, 而 Th2 细胞分泌的白细胞介素 (IL) 等细胞因子则促进变应原特异的免疫球蛋白 E (IgE) 增加和气道嗜酸性粒细胞、肥大细胞浸润, 导致气道慢性炎症和气道高反应性^[4]。但这一理论不能完全阐明哮喘的发病机制, 新近研究显示 Treg 细胞和 Th17 细胞也参与了哮喘的病理过程, Treg 细胞具有免疫抑制作用, 其通过分泌白细胞介素-10 (IL-10) 和转化生长因子- β (TGF- β) 发挥作用, 抑制 T 淋巴细胞增殖及 Th1、Th2 的细胞因子反应, 从而阻止哮喘的发生。Th17 细胞属于 CD4⁺ T 淋巴细胞新亚群, 其产生的白细胞介素-17 (IL-17) 能有效地介导中性粒细胞动员的兴奋过程, 从而有效地介导支气管组织的炎症反应, 加重哮喘症状^[5-6]。此外, 有研究显示哮喘机体 Treg/Th17 细胞功能发生失衡, 表现为 Treg 细胞功能减弱、Th17 细胞功能增强^[7-8]。因此, 提出 Treg 细胞和 Th17 细胞的免疫失衡也是哮喘发病的重要机制之一。

黄芪颗粒是中医名方之一, 对机体免疫系统具有显著的调节作用。黄芪颗粒具有益气固表、止汗功效, 常用于表虚自汗, 易感风邪所致病症, 能补肺健脾, 增强抵御外邪的能力。临床上已经将其应用于多种疾病的辅助治疗, 并取得了一定疗效。既往研究显示, 黄芪颗粒可通过影响 Th1/Th2 细胞因子而发挥治疗哮喘的作用^[9]。此外, Treg/Th17 在哮喘发病中也起到重要作用, 因此关于黄芪颗粒是否可调节哮喘机体 Treg/Th17 细胞水平的问题值得研究。

在笔者的研究中, 将哮喘患儿随机分为两组, 对照组采用普米克都保治疗, 黄芪组采用普米克都保联合黄芪颗粒治疗。普米克都保的主要成分为布地奈德干粉剂, 具有良好的耐受性, 吸入后 10% 的药物进入肺内, 约 80% 在肝脏内被首次代谢。它有明显的抗过敏、抗炎作用, 可抑制支气管痉挛, 同时可降低组胺及乙酰胆碱引起的气道高反应性, 抑制运动诱发哮喘, 其引起的全身不良反应要明显低于相同有效剂量下的其他吸入激素。有研究表明, 布地奈德可以通过下调 Th17 及其细胞因子, 上调 Treg 及其细胞因子, 从而纠正 Th17/Treg 失衡, 使之向 Treg 倾斜, 有效抑制 Th17 的过度免疫反应, 从而发挥抗炎、解痉、平喘作用^[10-11]。本研究结果显示, 对照组患儿临床治疗总有效率为 80.00%, 临床症状有所缓解, 且治疗后 Treg 细胞百分比明显升高、Th17 细胞百分比明显降低 ($P < 0.05$), 说明与上述研究结果相符。当在普米克都保的基础上

加用黄芪颗粒治疗哮喘时, 结果显示黄芪组患儿临床治疗总有效率为 86.67%, 略高于对照组, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 可能是由于采用黄芪颗粒治疗的时间太短, 使效果不够明显。但从细胞分子水平上观察, 治疗后黄芪组 Treg 细胞百分比明显升高, Th17 细胞百分比明显降低 ($P < 0.05$), 且治疗后黄芪组与对照组 Treg 细胞及 Th17 细胞百分比比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。说明黄芪颗粒能在短时间内有效地调节 Treg 细胞和 Th17 细胞水平, 更重要的是可以看出黄芪颗粒联合普米克都保治疗能更好地调节 Treg/Th17 免疫失衡, 治疗哮喘的效果更为显著。其分子机制可能是黄芪颗粒通过某种因子一方面抑制 Th17 细胞的表达, 使哮喘患儿 Th17 细胞减少, 另一方面促进 Treg 细胞增殖和分化, 使两者达到平衡, 从而维持机体免疫内环境的稳定, 减少哮喘的发作。

综上所述, 黄芪颗粒对哮喘患儿 Treg 细胞和 Th17 细胞具有重要的影响作用, 可以通过升高 Treg 细胞水平, 下调 Th17 细胞水平, 使 Treg/Th17 细胞达到平衡。其与普米克都保联合应用的疗效更佳, 可减少激素的用量, 从而大大减少激素引起的不良反应的发生, 这为临床治疗哮喘提供了一条更为有效的途径。

参考文献

- [1] Murphy DM, O'byrne PM. Recent advances in the pathophysiology of asthma[J]. Chest, 2010, 137(6): 1417-1426.
- [2] 龚臣, 邓静敏. Th17/Treg 在支气管哮喘发病机制中的作用及研究进展[J/CD]. 中华哮喘杂志: 电子版, 2013, 7(3): 201-205.
- [3] 中华医学会儿科学会呼吸学组, 《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南[J]. 中华儿科杂志, 2008, 46(10): 745-753.
- [4] 唐丹, 梁萍, 苏培媛. 支气管哮喘患儿 Th1/Th2 细胞免疫平衡变化研究[J]. 中国医药科学, 2011, 1(10): 43-44.
- [5] 张雪雅, 张维溪, 李昌崇. Th17 细胞/Treg 细胞的分化、功能及在支气管哮喘中的作用[J]. 国际呼吸杂志, 2014, 34(5): 364-366.
- [6] 胡斯明, 罗雅玲, 赖文岩, 等. 调节性 T 细胞/Th17 在支气管哮喘小鼠气道炎症过程中的变化[J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19(19): 2881-2884.
- [7] 易丽, 于化鹏, 邓火金, 等. 活菌卡介苗对支气管哮喘小鼠白细胞介素-17 和辅助性 T 淋巴细胞 17 的影响[J]. 中华内科杂志, 2011, 50(6): 510-511.
- [8] Zhao J, Lloyd CM, Noble A. Th17 responses in chronic allergic airway inflammation abrogate regulatory T-cell-mediated tolerance and contribute to airway remodeling[J]. Mucosal Immunol, 2013, 6(2): 335-346.
- [9] 陈艳, 符州, 陈坤华, 等. 黄芪在树突状细胞水平对哮喘 Th1/Th2 平衡的调节作用[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2008, 28(12): 1064-1069.
- [10] 李增清, 邹有群, 陈永新, 等. 甲基强的松龙和布地奈德在小儿哮喘中的应用[J]. 中华全科医学, 2013, 11(7): 1030-1031.
- [11] 陈济明, 李一禄, 黄平, 等. 布地奈德对支气管哮喘患者 Th17/Treg 平衡的干预机制研究[J/CD]. 中华哮喘杂志: 电子版, 2012, 6(5): 329-333.

(收稿日期: 2015-09-24)

