

增免合剂对气阴两虚反复下呼吸道感染患儿 T 细胞功能障碍的调节作用

陈宗波¹ 于俊生² 刘 红³ 胡敬富³

摘要 目的 探讨气阴两虚反复下呼吸道感染(RLRTI)患儿 T 细胞功能障碍情况及增免合剂的免疫调节作用,为有效治疗该病寻找理论依据。方法 采用免疫荧光标记和流式细胞仪技术,检测了 31 例轻型和 28 例重型 RLRTI 患儿治疗前感染期及增免合剂治疗后 3 个月和 6 个月非感染期外周血 T 细胞亚群和与 T 细胞活化有关的 CD_3^+ /HLA-DR⁺ 和 CD_3^+ /CD₂₅⁺ 等表面分子的表达情况。结果 轻型 RLRTI 治疗前 CD_4^+ 细胞和 CD_3^+ /HLA-DR⁺ 活化 T 细胞的表达率均明显降低,治疗后 3 个月 CD_4^+ 、 CD_3^+ /HLA-DR⁺ 静止 T 细胞、 CD_3^+ /HLA-DR⁺ 活化 T 细胞及 CD_3^+ /CD₂₅⁺ 表达 IL-2R 的 T 细胞的阳性率均明显降低,但治疗 6 个月后,只有 CD_3^+ /HLA-DR⁺ 活化 T 细胞的表达率低于对照组。重型 RLRTI 患儿治疗前, CD_3^+ 、 CD_4^+ 、 CD_3^+ /HLA-DR⁺、 CD_3^+ /HLA-DR⁺ 和 CD_3^+ /CD₂₅⁺ 的表达率均降低,治疗 3 个月和 6 个月后上述指标似有恢复,但仍低于对照组。增免合剂的临床效果显示,轻型总有效率是 100%,其中显效 78.9%,重型总有效率是 90.9%,显效 68.2%。结论 气阴两虚 RLRTI 患儿 T 细胞数减少,T 细胞活化功能障碍,病情轻、重与 T 细胞功能障碍情况一致。增免合剂治疗 RLRTI 临床疗效显著,对 T 细胞功能障碍有明显的调节作用,但实验指标的恢复可能需要治疗更长的时间。

关键词 反复下呼吸道感染;增免合剂;黄芪;T 细胞功能

Regulatory Effect of Zengmian Mixture on T-Lymphocyte Dysfunction in Children with Repeated Lower Respiratory Tract Infection of Both Qi-Yin Deficiency Type CHEN Zong-bo, YU Jun-sheng, LIU Hong, et al Department of Pediatrics, Affiliated Hospital to Medical College of Qingdao University, Shandong (266003)

Objective To explore the T-lymphocyte dysfunction in children with repeated infection of lower respiratory tract of both Qi-Yin deficiency type (RIR-QYD) and the immune regulatory effect of Zengmian mixture (ZMM), to provide theoretical basis for the effective therapy. **Methods** Peripheral T-lymphocyte subsets and expressions of T-lymphocyte activating related surface molecules (CD_3^+ /HLA-DR⁺ and CD_3^+ /CD₂₅⁺, etc.) in children with RIR-QYD, 31 of mild type and 28 of severe type cases, were investigated before administration of ZMM and after treatment of ZMM for 3-6 months (non-infectious stage), using immune fluorescent labelling and flow cytometric technique. **Results** In the patients with mild RIR-QYD, the expression rate of CD_4^+ and CD_3^+ /HLA-DR⁺ activated T-cells before treatment were all obviously lowered, after 3 months treatment, the positive rate of CD_4^+ , CD_3^+ /HLA-DR⁺ resting T-cell, CD_3^+ /HLA-DR⁺ activated T-cell and CD_3^+ /CD₂₅⁺ express IL-2R T-cells were all obviously lowered, but after treatment for 6 months, only that of CD_3^+ /HLA-DR⁺ activated T-cells was lower than that in the control group. In the patients with severe RIR-QYD before treatment, the expression rate of CD_3^+ , CD_4^+ , CD_3^+ /HLA-DR⁺, CD_3^+ /HLA-DR⁺ and CD_3^+ /CD₂₅⁺ all lowered, while after 3-6 months treatment, some recoveries were shown in these parameters but still lower than those in the control group. The total effective rate of ZMM for mild patients was 100%, and the markedly effective rate 78.9%, while for severe cases, the total effective rate was 90.9% and the markedly effective rate 68.2%. **Conclusion** In patients with RIR-QYD, the T-cells decreased with activating dysfunction, the severity of disease is in accordance with the degree of T-cell activating dysfunction. ZMM shows markedly clinical effect in treating RIR-QYD and evident regulatory effect on T-cell dysfunction, but a long-term treatment is needed for the recovery of laboratory parameters.

Key words repeated lower respiratory tract infection; Zengmian mixture; Astragalus, T-cell function

反复下呼吸道感染(repeated lower respiratory tract infection, RLRTI)是儿童常见病,但其病因和机理目前仍不清楚^[1-4],缺少有效的治疗措施。增免合剂是以黄芪为主的复方制剂,有益气、健脾、养阴、固表之功效。本课题通过检测增免合剂治疗前、后与 T 细胞活化有关的 CD_3^+ /HLA-DR⁺ 和 CD_3^+ /CD₂₅⁺ 等表面分子的表达,探讨气阴两虚 RLRTI 患儿 T 细胞功能障碍情况及增免合剂的免疫调节作用。

临 床 资 料

59 例气阴两虚 RLRTI 患儿为本院儿科门诊和住院患儿,均符合中医辨证分型标准^[5],包括各型肺炎和支气管炎,并符合 RLRTI 的诊断标准^[6]。排除各种先天性和慢性心肺疾患,以及因各系统疾病需长期使用激素和细胞毒性药物者。治疗组 59 例,男 34 例,女 25 例;年龄 1.75~14 岁,平均 4.75 岁。所选病例均为出现 RLRTI 1 年以上的患儿,最长者达 11 年。依据 RLRTI 发生的次数,每月 ≥ 1 次、或每年支气管炎 ≥ 8 次、或每年肺炎 ≥ 4 次为重型,28 例;不足者为轻型,31 例。对照组为同时期 RLRTI 的门诊和住院患儿 21 例,男 12 例,女 9 例,年龄 3~11 岁,平均 4.16 岁。RLRTI 1 年以上,最长者达 9 年;中医辨证为积热内蕴^[5]。两组患儿的年龄、病程等统计学处理结果显示,有可比性($P>0.05$)。

方 法

1 治疗方法 增免合剂由黄芪 30g 白术 6g 防风 3g 麦冬 10g 鸡内金 6g 仙鹤草 9g 组成,所有药物凉水浸泡 30min,煮沸后文火 20min 煎两次共 200ml,每天 1 剂,早晚各服 1 次。所有治疗组患儿均接受增免合剂治疗,15 天为 1 个疗程,前 3 个疗程每个疗程间停药 5 天;后 4 个疗程每个疗程间停药 15 天,服用 7 个疗程,共 6 个月。治疗组除服用中药外,其他治疗与对照组完全相同,当发生呼吸道感染时给予控制感染和对症处理,在非感染期不添加其他药物治疗。

2 标本收集 两组 RLRTI 患儿治疗前、治疗后 3 个月和 6 个月及对照组患儿感染期和非感染期取外周血肝素抗凝各 2ml 待测,均为清晨 8 时空腹采血。

3 检测方法 采用免疫荧光标记和流式细胞仪(EPICS XL 型流式细胞仪为美国 Coulter 公司生产)技术,分析各组患儿外周血单个核细胞中 T 细胞、活

化 T 细胞及静止 T 细胞表面分子的表达。简述如下:于各测试管中加入 100 μ l 肝素抗凝血,再分别加入 20 μ l FITC/PE 荧光标记单克隆抗体(法国 Immunotech 公司产品)CD₃/CD₂₅、CD₃/HLA-DR,室温孵育 20min 后,Q-Prep 系统溶解红细胞 2 000r/min 离心 5min,去除上清液后以 PBS 漂洗 2 次。以标准微球调整流式细胞仪,使变异系数在 2% 以内。上机检测 5 000 个细胞,荧光强度以对数放大。

4 统计学方法 采用 *t* 检验。

结 果

1 疗效评定标准 治疗组 7 个疗程结束后 6 个月内观察疗效,采用复诊或电话方式随访。RLRTI 的次数明显减少,已不足诊断为 RLRTI 者为显效;发作次数不足治疗前的 50% 者为有效, $\geq 50\%$ 者为无效。

2 疗效 治疗组 19 例轻型者显效 15 例(78.9%),有效 4 例(21.1%),全部有效;重型 22 例显效 15 例(68.2%),有效 5 例(22.7%),无效 2 例(9.1%),总有效率 90.9%。因对照组未给予系统的中药或西药治疗,故未观察其疗效。

3 两组治疗前、后 T 淋巴细胞表型检测结果比较 见表 1。治疗组治疗前均在感染期采血,与对照组的感染期比较。结果显示:轻型 RLRTI 治疗前与对照组比较,CD₄⁺ 细胞和 CD₃⁺/HLA-DR⁺ 活化 T 细胞的表达率均明显降低,治疗后 3 个月在非感染期采血,其检测结果与对照组非感染期比较,CD₄⁺ 细胞、CD₃⁺/HLA-DR⁺ 静止 T 细胞、CD₃⁺/HLA-DR⁺ 活化 T 细胞及 CD₃⁺/CD₂₅⁺ 表达 IL-2R 的 T 细胞阳性率均明显降低,但治疗 6 个月后,只有 CD₃⁺/HLA-DR⁺ 活化 T 细胞的表达率低于对照组,其他各免疫指标与对照组比较差异均不显著。

重型气阴两虚 RLRTI 患儿治疗前感染期与对照组比较,CD₃⁺、CD₄⁺、CD₃⁺/HLA-DR⁺、CD₃⁺/HLA-DR⁺ 和 CD₃⁺/CD₂₅⁺ 的表达率均降低,治疗 3 个月后非感染期与对照组非感染期比较,上述指标无明显恢复,继续治疗 6 个月后虽临床上 RLRTI 次数明显减少,但各免疫指标仍低于对照组。见表 1。

讨 论

RLRTI 是原发性呼吸道感染性疾病,其特点是反复发作,病程往往较长,迁延不愈^[1,2]。导致 RLRTI 患

表 1 两组 RLRTI 患儿 T 淋巴细胞表型检测结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	T 细胞抗原表型				活化 T 细胞抗原表型	
		CD ₃ ⁺ (%)	CD ₄ ⁺ (%)	CD ₈ ⁺ (%)	CD ₃ ⁺ /HLA-DR ⁻	CD ₃ ⁺ /HLA-DR ⁺	CD ₃ ⁺ /CD ₂₅ ⁺
对照							
感染期	21	69±10	32±8	27±10	68±13	4.3±3.4	3.7±2.6
非感染期	21	71±10	34±9	30±8	63±11	8.1±3.4	5.8±2.9
治疗							
重型治疗前	28	57±14 ^{**}	24±11 ^{**}	32±11	54±13 [*]	3.4±3.9 ^{**}	2.5±2.3 [*]
治 3 个月	24	58±13 ^{△△}	21±10 ^{△△}	26±11	55±14 ^{△△}	1.3±1.5 ^{△△}	1.9±1.9
治 6 个月	22	61±14 [△]	25±12 [△]	25±11	58±16 [△]	2.1±1.9 ^{△△}	2.2±2.7
轻型治疗前	31	65±12	27±8 ^{**}	29±10	57±14	4.7±4.0 ^{**}	4.2±3.8
治 3 个月	23	63±12	24±10 ^{△△}	23±9	59±14 [△]	2.1±2.7 [△]	2.0±1.9 [△]
治 6 个月	19	66±13	29±8	25±9	61±13	2.5±2.3 [△]	2.5±2.3

注 :与对照组感染期比较 ,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$;与对照组非感染期比较 ,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$

儿反复多种病原体感染的原因和机制不清 ,缺少有效的治疗方法^[3,4]。推测 ,当病原体入侵时 ,免疫细胞接受刺激信号后不能及时被活化或活化能力降低 ,机体将不能有效地制止感染的发生。

本研究显示 ,气阴两虚 RLRTI 患儿治疗前感染期 ,轻型主要表现为 CD₄⁺ 细胞数和 CD₃⁺/HLA-DR⁺ 活化 T 细胞表达率降低 ,而重型 CD₃⁺、CD₄⁺、CD₃⁺/HLA-DR⁻、CD₃⁺/HLA-DR⁺ 和 CD₃⁺/CD₂₅⁺ 的表达率普遍降低 ,治疗 3~6 个月后非感染期轻型患儿的多项免疫指标明显恢复 ,但重型患儿 T 细胞功能仍低于对照组。考虑重型患儿 T 细胞功能障碍更为严重 ,此与临床上重型 RLRTI 发生次数多及病情重一致 ,但其机制缺乏研究 ,可能与以下原因有关 (1)气阴两虚 RLRTI 患儿 T 细胞数量 ,尤其是 CD₄⁺ 细胞数减少 ,和 T 细胞活化功能障碍 ,这一障碍有可能在细胞对抗原识别水平上的缺陷 ,但其机制远未清楚。(2)T 细胞活化的信号传递障碍。(3)T 细胞活化过程中 ,活化的 T 细胞核因子功能障碍也不能调节正常的免疫应答反应。上述免疫功能异常可能与免疫遗传物质的异常表达有关 ,或感染、药物、营养不良等使某些免疫功能暂时被抑制 ,而导致 RLRTI 迁延不愈。

中医学认为气阴两虚是 RLRTI 的常见证型 ,该类患儿多禀赋不足 ,素体虚弱 ,或大病久病后失于调理 ,以致气虚、阴虚、卫外不固。增免合剂是以黄芪为主的中药合剂。黄芪补中益气 ,用于脾肺气虚 ,卫气不足 ,表虚自汗 ,气虚失运 ;白术、防风、麦冬、鸡内金、仙鹤草益气健脾 ,固表止汗 ,润肺养阴 ,清心除烦。现代医学证明 ,上述中药的多种多糖成分能增加单核巨噬细胞的吞噬功能和淋巴细胞、NK 细胞、中性粒细胞及补体的活性 ,对多种体液和细胞有调节作用^[6-8]。本研究治疗 3 个月和 6 个月后 ,临床疗效显著。其可能机制推测是 (1)增强了辅助 T 细胞对抗原的识别 ; (2)增强了 T 细胞活化时信号的传导 ,包括活化早期事件 CD₄₅ 蛋白酪氨酸磷酸脂酶的表达 ,CD₂₈ 协同信号

刺激诱导 IL-2 基因的表达和转录及 T 细胞核因子与 DNA 的结合等 (3)改变了某些免疫基因的表达。其确切的分子免疫机制是我们今后进一步研究的方向。

参 考 文 献

1 Singh M. Recurrent lower respiratory tract infections in children. Indian J Pediatr 1999 ;66:887—893.

2 Lodha R , Kabra SK. Recurrent/persistent pneumonia. Indian J Pediatr 2000 ;37:1085—1092.

3 Pitkaranta A , Nokso Koivisto J , Jantti V , et al. Lowered yields of virus-induced interferon production in leukocyte cultures and risk of recurrent respiratory infections in children. J Clin Virol 1999 ;14:199—205.

4 Ianni A , Majore S , Arzani D , et al. CCR2 and CCR5 gene polymorphisms in children with recurrent respiratory infections. Respir Med 2001 ;95:430—432.

5 汪受传主编. 中医儿科学. 北京 :人民卫生出版社 ,2001 :128—141.

Wang SC , editor. Pediatrics of traditional Chinese medicine. Beijing : People ' s Medical Publishing House ,2001:128—141.

6 胡伉吉. 反复呼吸道感染的诊断标准. 中华儿科杂志 1988 ;26(1):41.

Hu YJ. Diagnostic standard of recurrent respiratory infection. Chin J Pediatr 1988 ;26(1):41.

7 赵晓东 , 杨锡强 , 李成荣 , 等. 黄芪治疗 11 例 IgG 亚类缺陷病的疗效观察及机理初探. 中国免疫学杂志 1998 ;14(4):283—284.

Zhao XD , Yang XQ , Li CR , et al. Study of curative effect and mechanism of Astragalus with 11 cases of IgG subgroup deficiency. Chin J Immunol 1998 ;14(4):283—284.

8 蔡 瑛 , 黄青青 , 苏美仙 , 等. 肠内营养加黄芪对创伤大鼠白介素 2 水平的影响. 中国中西医结合急救杂志 2002 ;9(3):160—163.

Cai Y , Huang QQ , Su MX , et al. Influence of enteral nutrition add Astragalus on serum interleukin-2 of traumatic rats. Chin J Integr Tradit West Med Intens Crit Care 2002 ;9(3):160—163.