

冬病夏治穴位贴敷疗法对非急性发作期支气管哮喘患者神经-内分泌-免疫网络系统的影响

李博林¹ 王亚利² 杨倩¹ 张明泉³ 王鑫国³ 闫翠环³ 师旭亮³

摘要 **目的** 观察冬病夏治穴位贴敷疗法对非急性发作期支气管哮喘患者神经-内分泌-免疫网络系统的影响,探讨其可能的作用机制。**方法** 50 名健康志愿者为正常组,50 例非急性发作期哮喘患者为哮喘组。正常组不给予干预;哮喘组采用三伏天穴位贴敷治疗,每伏第 1 天贴敷 1 次,共 3 次,在治疗前及第 3 次贴敷治疗后留取血样。采用放射免疫法检测两组患者血清免疫球蛋白 E (IgE)、白细胞介素-4 (IL-4) 及血浆 P 物质 (SP)、血管活性肠肽 (VIP) 的含量,免疫比浊法检测血清免疫球蛋白 A、G (IgA、IgG) 的含量,酶联免疫吸附法检测干扰素- γ (IFN- γ) 含量,比较两组及哮喘组治疗前后检测指标的变化。**结果** 治疗前,与正常组比较,哮喘组 IgA、IgG、IFN- γ 及 VIP 含量降低,IgE、IL-4 及 SP 含量升高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);与本组治疗前比较,哮喘组治疗后 IgA、IgG、IFN- γ 及 VIP 含量升高,IgE、IL-4 及 SP 含量降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 冬病夏治穴位贴敷疗法可能通过改善免疫功能,调控细胞因子的释放,调节神经介质,从而起到防治支气管哮喘的作用。

关键词 哮喘;冬病夏治;穴位贴敷;神经-内分泌-免疫网络;免疫球蛋白;细胞因子;神经介质

Effect of Acupoint Application Therapy of Summer Treatment for Winter Diseases on Nerve-Endocrine-Immune Network System in Patient with Non-Acute Attack Asthma LI Bo-lin¹, WANG Ya-li², YANG Qian¹, ZHANG Ming-quan³, WANG Xin-guo³, YAN Cui-huan³, and SHI Xu-liang³ 1 Department of Spleen and Stomach Diseases, Hebei Provincial Hospital of TCM, Shijiazhuang (050011); 2 College of Integrated Traditional and Western Medicine, Hebei Medical University, Shijiazhuang (050017); 3 Basic Medical College, Hebei College of Chinese Medicine, Shijiazhuang (050200)

ABSTRACT **Objective** To observe the effect of acupoint application therapy in summer to treat winter diseases (abbreviated as AATSTWD) on nerve-endocrine-immune network system in patients with non-acute attack asthma, and to study possible mechanisms. **Methods** Fifty healthy volunteers were recruited as the normal control group and 50 patients with non-acute attack asthma were recruited as the asthma group. Patients in the normal control group received no intervention. Those in the control group were treated with acupoint application therapy on hot days (applied on the first day of three dog days, 3 times in total). Blood samples were tested before treatment and after 3 times of application. The contents of serum immunoglobulin E (IgE), interleukin-4 (IL-4), plasma substance P (SP), and vasoactive intestinal peptide (VIP) were detected using radioimmunoassay. Contents of immunoglobulin A and G (IgA, IgG) were tested by immunoturbidimetry. Content of interferon- γ (INF- γ) were tested by enzyme linked immunosorbent assay. **Results** Compared with the normal control group, serum contents of IgA, IgG, IFN- γ , and plasma VIP decreased, contents of IgE, IL-4, and SP significantly increased in the asthma group before treatment ($P < 0.05$). Compared with before treatment in the same group, serum contents of IgA, IgG, VIP, and IFN- γ increased, and contents of IgE, IL-4, and SP decreased in the asthma group after treatment ($P < 0.05$). **Conclusion** Acupoint application therapy in summer to treat winter diseases

基金项目:国家自然科学基金面上项目 (No. 81273609)

作者单位:1.河北省中医院脾胃病科 (石家庄 050011); 2.河北医科大学中西医结合学院 (石家庄 050017); 3.河北中医学院基础医学院 (石家庄 050200)

通讯作者:王亚利, Tel: 0311-86261276, E-mail: wang1955@163.com

DOI: 10.7661/CJIM.2017.01.0068

method could prevent and treat bronchial asthma possibly through improving immune function, controlling the release of cytokines, and regulating neurotransmitters.

KEYWORDS asthma; acupoint application therapy in summer to treat winter diseases; acupoint application therapy; nerve-endocrine-immune network; immunoglobulin; cytokine; neurotransmitter

支气管哮喘是一种慢性呼吸系统疾病,其患病率在国内约为 4%^[1],且近年来呈逐年上升趋势^[2,3],严重影响了人们的生活质量,给社会和家庭带来巨大负担。现代医学在缓解支气管哮喘临床急性发作上有明显的优势,但对于非急性发作期的治疗则有治疗费用高,不良反应大等问题。中医学的冬病夏治穴位贴敷疗法治疗支气管哮喘非急性发作期以其疗效显著,治疗费用低,无明显不良反应等优势,被越来越多的医生和患者所接受^[4],但其作用机制尚不明确。本课题组从整体观念出发,研究该法对非急性发作期哮喘患者免疫球蛋白、细胞因子及神经介质的影响,以期从神经-内分泌-免疫网络系统阐述其可能的作用机制,为该方法在临床的应用提供依据。

资料与方法

1 诊断标准 西医诊断标准:参照中华医学会呼吸病学分会哮喘学组 2008 年修订的《支气管哮喘防治指南》^[3]中哮喘慢性持续期、缓解期标准,将慢性持续期、缓解期合称非急性发作期。中医辨证分型标准:参考《中药新药临床研究指导原则》^[5]制定哮喘肺气虚的诊断标准。

2 纳入标准 符合西医支气管哮喘非急性发作期诊断标准,符合中医辨证分型标准;年龄 18 ~ 65 岁,性别不限;患者同意并签署知情同意书。

3 排除标准 哮喘持续状态或危重病患者;合并严重心肺功能不全者;合并心血管、肾、肺、造血系统等严重原发性疾病及精神疾病患者;妊娠或哺乳期妇女;贴敷治疗前 1 周及治疗过程中服用治疗哮喘药物或服用其他可能干扰实验结果药物的患者。

4 一般资料 50 例河北省中医院呼吸科 2014 年 7 月—2014 年 8 月农历“三伏”天参加冬病夏治穴位贴敷治疗的非急性发作期哮喘患者,作为哮喘组,其中男性 21 例,女性 29 例,年龄 29 ~ 65 岁,平均(49.06 ± 8.20)岁;病程 3 ~ 25 年,平均(9.62 ± 12.37)岁。健康志愿者 50 名为河北省中医院体检中心体检确认无疾病的健康者,作为正常组,其中男性 23 名,女性 27 名,年龄 31 ~ 63 岁,平均(51.84 ± 7.51)岁。两组性别、年龄等比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

5 治疗方法 正常组:不给予任何干预。哮喘组:进行穴位贴敷治疗。贴敷药物由白芥子、细辛、甘遂、元胡、半夏、白芷、洋金花、炙麻黄组成,其剂量比例为:2.1:1.5:1.2:3:1:1:1:1.5。研末姜汁调。患者于夏季“三伏”头伏、二伏、三伏的第 1 天各贴 1 次,共贴 3 次。贴敷穴位选取:大椎,定喘,肺俞,膈俞,肾俞,天突,膻中,足三里。依据患者耐受程度,每次贴 2 ~ 6 h。

6 样本采集方法 正常组志愿者留取血样 10 mL(其中 5 mL 用含有肝素抗凝的一次性真空采血管采血,另外 5 mL 用不加抗凝的一次性真空采血管采血);哮喘组患者分别于治疗前及第 3 次贴敷治疗后采集血样,方法与正常组相同。血样常温静置 1 h,以 3 500 r/min 离心 10 min 后,取上清液于冻存管中, -80 ℃ 保存。

7 检测指标及方法 均严格按照试剂盒说明进行检测。

7.1 免疫指标检测 采用放射免疫法检测血清 IgE 含量,采用免疫比浊法检测 IgA、IgG 含量。

7.2 细胞因子检测 采用放射免疫法检测血清 IL-4 含量,采用酶联免疫吸附法检测血清 IFN- γ 含量。

7.3 神经介质检测 采用放射免疫法检测血浆 VIP、SP 含量。

8 统计学方法 采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,每组治疗前后总体均数比较,差值符合正态分布时采用配对 t 检验,若差值不符合正态分布时采用秩和检验;组间总体均数比较,方差齐时采用 t 检验,若方差不齐时采用校正 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 两组血清免疫球蛋白含量比较(表 1) 治疗前,与正常组比较,哮喘组 IgA、IgG 含量降低,IgE 含量

表 1 两组血清免疫球蛋白含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数	IgA (g/L)	IgE (IU/mL)	IgG (g/L)
哮喘	治疗前	50	1.586 ± 0.665 [*]	483.054 ± 47.964 [*]	7.322 ± 2.946 [*]
	治疗后	50	2.328 ± 0.630 [△]	314.619 ± 47.284 [△]	8.310 ± 2.101 [△]
正常	—	50	3.604 ± 0.678	64.952 ± 19.167	11.832 ± 2.325

注:与正常组比较,^{*} $P < 0.05$;与本组治疗前比较,[△] $P < 0.05$

升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与本组治疗前比较,哮喘组治疗后 IgA、IgG 含量升高,IgE 含量降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2 两组血清细胞因子含量比较(表 2) 治疗前,与正常组比较,哮喘组 IFN- γ 含量降低,IL-4 含量升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与本组治疗前比较,哮喘组治疗后 IFN- γ 含量升高,IL-4 含量降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 2 两组血清细胞因子含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数	IFN- γ (pg/mL)	IL-4 (ng/mL)
哮喘	治疗前	50	18.918 $\pm$ 3.900 *	1.093 $\pm$ 0.235 *
	治疗后	50	26.748 $\pm$ 3.184 Δ	0.837 $\pm$ 0.223 Δ
正常	—	50	30.668 $\pm$ 4.690	0.790 $\pm$ 0.192

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与治疗前比较, $\Delta P < 0.05$

3 两组血浆神经介质含量比较(表 3) 治疗前,与正常组比较,哮喘组 VIP 含量降低,SP 含量升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与本组治疗前比较,哮喘组治疗后 VIP 含量升高,SP 含量降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 3 两组血浆神经介质含量比较
(pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数	VIP	SP
哮喘	治疗前	50	162.015 $\pm$ 24.546 *	54.796 $\pm$ 9.193 *
	治疗后	50	175.981 $\pm$ 17.027 Δ	46.314 $\pm$ 6.646 Δ
正常	—	50	195.440 $\pm$ 29.053	36.075 $\pm$ 12.910

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与治疗前比较, $\Delta P < 0.05$

讨 论

冬病夏治是中医学“天人合一”的整体观和“未病先防”的疾病预防观的具体运用,将五行生克制化和经络调节等治法相结合,在夏季阳气旺盛之时激发人体正气从而起到对冬季易发疾病的防治作用^[6-7]。冬病夏治防治哮喘有多种方法,笔者选择最具代表的穴位贴敷疗法进行研究。穴位贴敷疗法将药物贴于穴位,通过经络与脏腑之间的内在联系使药效得到发挥,以达到整体调节,平衡阴阳,条畅气血,内病外治的目的。正如徐灵胎《医学源流论》言:“汤药不足尽病,用膏帖之,闭塞其气,使药性从毛孔而入腠理,通经贯络,或提而出之,或攻而散之,较服药尤为有力”。一直以来,冬病夏治穴位贴敷疗法在防治哮喘的医疗实践中显示疗效确切,但其作用机理尚未明确。课题组依据中医学整体观,研究穴位贴敷对非急性发作期哮喘患者免疫球蛋白、细胞因子及神经介质的影响,从神经—

内分泌—免疫网络系统探讨冬病夏治穴位贴敷的作用机理。

支气管哮喘是多种免疫炎性细胞和细胞因子参与的气道慢性变态反应过程,在此过程中自主神经对肺功能有重要调节作用^[8]。支气管哮喘患者血清总 IgE 水平是其免疫病理改变的重要指标^[9]。IgE 能够激活嗜碱性粒细胞、肥大细胞,同时激活参与体内抗原呈递的细胞,因此 IgE 是引起哮喘发病的关键环节^[10]。而哮喘发病的重要机制之一则是由 Th2 型淋巴细胞调节产生特异型 IgE 以及嗜酸性粒细胞在气道内和肺组织滞留引起的过敏反应导致的气道高反应和气道内炎症^[11]。生理条件下,Th2 细胞的调节功能受 Th1 细胞功能制衡,并不能产生过多特异性 IgE,但 Th1/Th2 细胞功能失衡则可能产生大量特异型 IgE,致使免疫应答异常从而引起气道炎症反应,进而诱发哮喘的发生,哮喘患者 Th1/Th2 细胞功能失衡表现为 Th1 细胞亚群功能低下,Th2 细胞亚群功能亢进^[9,12]。而细胞因子 IFN- γ 和 IL-4 分别为 Th1、Th2 细胞的特征性细胞因子,两者含量异常在哮喘的发病中起到重要作用^[1,3]。IL-4 在哮喘的炎性反应中发挥重要作用,能够调节 IgE 水平促使嗜碱性粒细胞、肥大细胞增多,引起和加重哮喘炎性免疫变态反应,而 IFN- γ 能够拮抗 IL-4 的这种效应^[14,15]。研究表明,血清 IFN- γ 水平与 IgE 含量呈负相关,IL-4 水平与 IgE 含量呈正相关^[15]。实验结果显示,哮喘患者治疗前血清 IgE、IL-4、IFN- γ 含量与正常组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明患者体内 Th1/Th2 细胞功能失衡并诱导产生大量 IgE。因此纠正 Th1/Th2 细胞失衡,调节免疫功能是防治哮喘的重要环节。通过穴位贴敷疗法干预后血清 IgE、IL-4、IFN- γ 含量与治疗前比较,均有改善,表明该方法能够调节细胞因子的分泌,纠正 Th1/Th2 细胞失衡,抑制 IgE 介导的变态反应。哮喘发病与免疫机制密切相关,哮喘患者 Th1 功能减弱则可能出现 IgA、IgG 含量的降低^[16],因此监测血清免疫球蛋白的含量对了解患者整体免疫状况和哮喘发生发展的趋势有重要意义。实验结果显示,哮喘患者血清 IgA、IgG 含量降低,穴位贴敷疗法能够提高患者血清 IgA、IgG 含量($P < 0.05$),表明该方法能够提高哮喘患者的整体免疫力从而达到防治哮喘的作用。

神经因素被认为是哮喘发病的重要环节。支气管受复杂的自主神经支配,除胆碱能神经、肾上腺素能神经外,还有非肾上腺素能非胆碱能(NANC)神经系统。其神经递质主要是神经肽类,这些神经肽对支气管的收缩、血液循环及呼吸道黏液分泌都有重要作

用^[8]。神经肽 VIP、SP 是气道 NANC 神经系统释放的神经递质,在哮喘发病机制中有突出作用^[17],研究发现,VIP、SP 在哮喘患者的免疫应答中代谢异常,引起 IgE 升高,参与变态反应^[18]。SP 可促使支气管收缩、粘液分泌和血浆渗出增加,导致气道狭窄、气流受阻、气道炎症加重,刺激 IgE 的产生。VIP 对支气管平滑肌有松弛作用,是目前发现的最强的内源性支气管扩张剂,且具有较强的抑制炎症介质释放和抗损伤的作用,调节血清 IgE 水平,参与调节免疫反应。VIP 与 SP 的失衡往往导致哮喘的发生和加重^[8,19]。实验结果显示,哮喘患者治疗前血浆 VIP 含量降低、SP 含量升高($P < 0.05$),表明哮喘患者神经调节机制异常;通过穴位贴敷疗法干预后血浆 VIP 含量升高、SP 含量降低($P < 0.05$),表明该方法能够调节神经介质的释放进而达到防治哮喘的目的。实验表明,哮喘的发病是由多因素共同参与,每个因素都不是单独存在,而是互相影响,共同作用,打破机体的平衡才导致了疾病的发生。穴位贴敷疗法通过干预机体细胞因子的分泌,神经介质的释放,从而改善免疫功能,进而起到防治支气管哮喘的作用。

冬病夏治穴位贴敷疗法防治非急性发作期支气管哮喘疗效确切,但难以从单一机理阐述其作用机制。无论是免疫功能、细胞因子还是神经介质都是相互影响,交错成网,共同作用参与了疾病发生发展的全过程。因此课题组从神经-内分泌-免疫网络系统探讨其可能作用机制,以期从整体观对其作用机制做出合理解释。通过上述实验表明冬病夏治穴位贴敷疗法能够提高机体保护因子,降低致病因素,通过调控机体细胞因子的分泌,调节神经介质的释放,进而改善免疫功能,从而达到防治支气管哮喘的作用。因患者对贴敷药物的耐受程度不同,所以贴敷时间存在差异,这种差异符合中医辨证论治的“因人制宜”,故目前尚不认为该差异对实验结果存在显著性影响。由于条件所限,未能研究该方法对于急性发作期哮喘患者的干预影响,且对于神经-内分泌-免疫网络系统的研究还在初探阶段,对于其内在联系还有待于更深入的研究。

参 考 文 献

[1] 张文江,苗青,张燕萍.祛痰活血方治疗支气管哮喘缓解期痰瘀阻肺证 48 例[J].中医杂志,2011,52(23):2043-2044.

[2] 钟南山主编.支气管哮喘-基础与临床[M].北京:人民卫生出版社,2006:842,867,202.

[3] 中华医学会呼吸病学哮喘学组.支气管哮喘防治指南[J].中华哮喘杂志(电子版),2008,2(1):3-13.

[4] 钱玉生.穴位贴敷治疗慢性支气管炎、支气管哮喘 151 例[J].中医外治杂志 2008,17(1):18-19.

[5] 郑筱萸主编.中药新药临床研究指导原则[M].北京:中国医药科技出版社,2002:61-66.

[6] 李丽萍,包烨华,楚佳梅,等.冬病夏治穴位贴敷防治支气管哮喘 130 例疗效观察[J].中医杂志,2012,53(4):307-310.

[7] 彭锦,吴夏秋,何丽云,等.“冬病夏治穴位贴敷疗法防治慢性发作性肺系疾病复发的多中心大样本队列研究”的研究方案[J].中西医结合学报,2012,10(1):39-47.

[8] 俞茹云,王彤,殷凯生,等.支气管哮喘大鼠肺内非肾上腺素能非胆碱能神经分布及神经肽含量的相关性研究[J].中华哮喘杂志(电子版),2009,3(3):185-188.

[9] Park SJ, Shin WH, Seo JW, et al. Anthocyanins inhibit airway inflammation and hyperresponsiveness in a murine asthma model[J]. Food Chem-Toxicol, 2007, 45(8):1459-1467.

[10] 杨晖,刘伟,贺芹.支气管哮喘患者 Th 亚群及血清中免疫球蛋白变化[J].山东医药,2003,53(4):44-45.

[11] 周新.哮喘治疗新药研究进展[J].临床肺科杂志,2009,14(6):711-713.

[12] 梁红,谭平.哮喘患者 Th1/Th2 细胞因子水平变化[J].中国实验诊断学,2006,10(11):1350-1352.

[13] 宾博平,李明忠,殷丽,等.防哮饮早期干预对哮喘小鼠嗜酸性粒细胞和气道炎症的影响[J].中医杂志,2012,53(1):48-51,67.

[14] 潘开宇,徐峰,刘军.142 例哮喘患儿严重程度与血清总 IgE 水平,过敏原特异性 IgE 的关系研究[J].第三军医大学学报,2009,31(23):2326.

[15] 黄永富,余世庆,杭杲,等.哮喘患者血清中 IL-4,IL-12,IL-13,IFN- γ ,IgE 水平的测定及其临床意义[J].现代检验医学杂志,2009,24(5):120-123.

[16] 王晓梅.人体血清免疫球蛋白的测定在中药穴位贴敷治疗哮喘病中的作用[J].中国民族民间医药,2011,20(18):101.

[17] 许建中,吴银根,李明华主编.中西医结合哮喘病学[M].北京:人民卫生出版社,2001:35-39.

[18] 刘智斌,牛晓梅.针推喘敏点对支气管哮喘大鼠血清 IL-4、血浆 SP 及 VIP 含量的影响[J].陕西中医学院学报,2008,31(1):41-43.

[19] Rodriguez MC, Sossa MP. Factors associated with complications caused by bronchoscopy in pediatric patients [J]. Arch Broncopneumol, 2003, 39 (11): 501-506.