· 临床论著 ·

痰湿体质超重肥胖人群 CD4$^+$ T 细胞亚群变化及其与脂代谢相关指标的相关性研究

曾慧妍　周钦云　赵　玲　范冠杰　宋　薇　张锦明　温建炫　吴露露

摘要　目的　探讨痰湿体质超重肥胖者 CD4$^+$T 细胞亚群比例变化与脂代谢相关指标的关系。**方法**　共入选 93 例病例,根据中医体质评判标准及体重指数(body mass index,BMI)分为痰湿体质超重肥胖组 25 例、痰湿体质非肥胖组 24 例、非痰湿体质超重肥胖组 22 例、平和体质健康组 22 例。观察各组血脂谱特征,同时采用流式细胞仪单克隆免疫荧光法检测 CD4$^+$T 细胞亚群 Th1、Th2 的细胞比率,并分析其与脂代谢相关指标的相关性。**结果**　痰湿体质超重肥胖组的 Th1 细胞比率、Th1/Th2 比值明显高于其余 3 组(均 $P<0.05$);Th2 细胞比率明显低于平和体质健康组($P<0.05$),但与非痰湿体质超重肥胖组及痰湿体质非肥胖组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。相关分析结果显示,痰湿体质超重肥胖组的 TC、TG 及 LDL-C 分别与 Th1/Th2 比值之间均存在正相关关系(r 分别 =0.678、0.663、0.604,均$P<0.05$),HDL-C 与 Th1/Th2 比值之间存在负相关关系($r=-0.423$, $P<0.05$);非痰湿体质超重肥胖组、痰湿体质非肥胖组及平和体质健康组 TC、TG、HDL-C 及 LDL-C 与 Th1/Th2 比值之间均无明显相关关系。**结论**　痰湿体质患者体内均存在明显的 Th1/Th2 细胞比率失衡且与脂代谢紊乱严重程度明显相关,在痰湿体质合并超重肥胖患者中这种变化尤为显著。

关键词　肥胖;T 细胞亚群;脂代谢;痰湿体质

Changes of CD4$^+$T Cell Subsets in Overweight or Obesity Patients with Phlegm-dampness Constitution and Its Correlation with Related Indicators of Lipid Metabolism

ZENG Hui-yan, ZHOU Qin-yun, ZHAO Ling, FAN Guan-jie, SONG Wei, ZHANG Jin-ming, WEN Jian-xuan, and WU Lu-lu
Department of Endocrinology, Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou (510000)

ABSTRACT　Objective　To observe the changes of CD4$^+$T cell subsets in overweight or obesity patients with phlegm-dampness constitution (PDC) and its correlation with related indicators of lipid metabolism. Methods　According to the criteria of traditional Chinese medicine (TCM) constitution and body mass index (BMI), 93 patients were assigned to overweight or obesity PDC group (25 cases), non-obesity PDC group (24 cases), non-PDC overweight or obesity group (22 cases), and balance constitution healthy group (22 cases). The characteristics of lipid profile were observed. Th1 and Th2 cell proportions were determined by flow cytometry using monoclonal immunofluorescence method, and their correlations with related indices of lipid metabolism analyzed. Results　Th1 cell proportion and Th1/Th2 ratios were more significantly higher in overweight or obesity PDC group than in other three groups ($P<0.05$). Th2 cell proportion was more significantly decreased in overweight or obesity PDC group than in balance constitution healthy group ($P<0.05$). But there was no difference in Th2 cell proportion between non-PDC overweight/obesity group or non-obesity PDC group ($P>0.05$). Correlation analysis showed that Th1/Th2 ratios were positively correlated with TC, TG, and LDL-C ($r=0.678$, 0.663, 0.604; all $P<$

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81503530)
作者单位:广东省中医院内分泌科(广州 510000)
通讯作者:曾慧妍,Tel:13924011881,E-mail:13924011881@126.com
DOI: 10.7661/j.cjim.20170426.125

中国中西医结合杂志

0.05), but negatively correlated with HDL-C ($r = -0.423$, $P < 0.05$) in overweight or obesity PDC group. But there were no correlation between Th1/Th2 ratios or TC/TG/LDL-C/HDL-C in non-PDC overweight or obesity group, non-obesity PDC group, and balance constitution healthy group. Conclusions There was obvious imbalance of Th1/Th2 cell proportion in PDC patients, which was obviously correlated with the severity of dyslipidemia. It was especially significant in PDC overweight or obesity patients.

KEYWORDS obesity; T-lymphocyte subsets; lipid metabolism; phlegm-dampness constitution

痰湿体质是肥胖人群中的主要体质。与其他体质相比,其更具脂代谢紊乱的倾向。然而,其在超重、肥胖发病中的作用机制缺乏相应的深入研究。新近研究发现免疫炎症失衡在肥胖及脂代谢紊乱的发病中起重要作用,成为近年来研究热点之一[1-3]。有关痰湿体质人群的细胞免疫学特点及其与脂代谢相关指标之间的关系研究目前尚未见报道。本研究通过对痰湿体质超重肥胖患者 T 细胞亚群进行检测,观察该人群的 $CD4^+$ T 细胞亚群变化及其比例变化特点,初步探讨其与脂代谢相关指标的关系。

资料与方法

1 体质评判标准 按照中华中医药学会 2009 年颁布的《中医体质分类与判定》标准(ZYYXH/T157 - 2009)[4]。

2 超重、肥胖评判标准 根据《中国超重/肥胖医学营养治疗专家共识(2016 年版)》中的我国成人超重及肥胖评判标准,$24 \leqslant BMI < 28$ kg/m^2 为超重,$BMI \geqslant 28$ kg/m^2 为肥胖。

3 纳入标准 年龄 20 ~ 50 岁;分别符合痰湿体质、超重/肥胖判定标准;近 1 周内无急性感染、酗酒及用药史;签署知情同意书。

4 排出标准 痰湿体质兼夹其他体质类型者;伴有恶性肿瘤、严重心、脑、肝及肾病、自身免疫性疾病、血液病、各种急性感染等疾病者;经期、妊娠或哺乳妇女;有精神病史或其他不合作情况者;使用调脂药、减肥药者;使用糖皮质激素、细胞毒制剂或非选择性免疫抑制剂者等。

5 研究对象及分组 选取 2013 年 4—12 月我院体检中心的体检人群 93 例作为研究对象。根据中医体质分类评判标准以及 BMI,将研究对象分为痰湿体质超重肥胖组、痰湿体质非肥胖组($BMI < 24$ kg/m^2)、非痰湿体质超重肥胖组及平和体质健康组,其中平和体质健康组为对照组。痰湿体质超重肥胖组 25 例,其中男 14 例,女 11 例,平均年龄(43.67 ± 5.86)岁,平均 BMI (26.80 ± 1.96) kg/m^2;非痰湿体质超重肥胖组 22 例,其中男 13 例,女 9 例,平均年龄(41.98 ± 7.11)岁,平均 BMI(27.29 ± 2.01) kg/m^2;痰湿体质非肥胖组 24 例,其中男 13 例,女 11 例,平均年龄(42.96 ± 6.32)岁,平均 BMI (21.53 ± 1.63) kg/m^2;平和体质健康组 22 例,其中男 12 例,女 10 例,平均年龄(42.10 ± 6.97)岁,平均 BMI(22.04 ± 1.97) kg/m^2。4 组间例数、年龄及性别构成上比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经广东省中医院伦理学委员会批准,批文号:B2013 - 093 - 01。

6 测定指标及方法

6.1 Th1/Th2 比值测定 所有研究对象抽取外周血,分离单个核细胞。流式细胞术单克隆免疫荧光法测定外周血 Th1、Th2 细胞亚群比率,采用 FACS-Calibur 流式细胞仪,WinMDI 2.9 软件进行数据分析,抗体用 FITC 标记的 CD3、PE-Cyanine5 标记的 CD8a、PE 标记的 IL-4、PE-Cyanine7 标记的 IFN-γ 单克隆抗体(eBioscience 公司)。

6.2 血脂测定 采用 Olympus AU800 全自动生化分析仪测定。

7 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表达。年龄、血脂、Th1 比率、Th2 比率及 Th1/Th2 比值采用单因素方差分析以及非独立样本 t 检验。相关性采用 *Pearson* 相关性分析。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组脂代谢相关指标比较(表 1)

1.1 各组 TG 水平比较 痰湿体质超重肥胖组及非痰湿体质肥胖组 TG 水平均明显高于平和体质健康组及痰湿体质非肥胖组($P < 0.05$);痰湿体质超重肥胖组 TG 水平较非痰湿体质超重肥胖组升高更明显($P < 0.05$),而痰湿体质非肥胖组与平和体质健康组之间 TG 水平则无明显差异($P > 0.05$)。

1.2 各组 TC 水平比较 痰湿体质超重肥胖组的 TC 水平明显高于其余 3 组($P < 0.05$);非痰湿体质超重肥胖组的 TC 水平明显高于平和体质健康组($P < 0.05$),但与痰湿体质非肥胖组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);痰湿体质非肥胖组 TC 水平较平

和体质健康组略高,但差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.3　各组 HDL-C 水平比较　4 组间差异无统计学意义($P>0.05$),但痰湿体质超重肥胖组及痰湿体质非肥胖组均有轻微下降趋势。

1.4　各组 LDL-C 水平比较　痰湿体质超重肥胖组 LDL-C 水平明显升高,与平和体质健康组及非痰湿体质超重肥胖组比较差异均有统计学意义($P<0.05$),但与痰湿体质非肥胖组比较差异无统计学意义($P>0.05$);非痰湿体质超重肥胖组、痰湿体质非肥胖组及平和体质健康组 3 组间 LDL-C 水平无明显差异 ($P>0.05$)。

2　各组 Th1、Th2 细胞比率及 Th1/Th2 比值比较(表 2)　痰湿体质超重肥胖组及痰湿体质非肥胖组的 Th1 比率、Th1/Th2 比值均明显高于平和体质健康组,其中以痰湿体质超重肥胖组最高,与非痰湿体质超重肥胖组及痰湿体质非肥胖组比较,差异均有统计学意义(均$P<0.05$);非痰湿体质超重肥胖组与痰湿体质非肥胖组之间则无明显差异($P>0.05$)。痰湿体质超重肥胖组、非痰湿体质超重肥胖组及痰湿体质非肥胖组的 Th2 比率均明显低于平和体质健康组(均$P<0.05$),但痰湿体质超重肥胖组、非痰湿体质超重肥胖组及痰湿体质非肥胖组 3 组间两两比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。

3　各组脂代谢相关指标与 Th1/Th2 比值之间的相关性分析　*Pearson* 相关性分析结果显示,痰湿体质超重肥胖组的 TC、TG 及 LDL-C 分别与 Th1/Th2 比值之间均存在正相关关系(r 分别 $=0.678$、0.663、0.604,均$P<0.05$),HDL-C 与 Th1/Th2 比值呈负相关($r=-0.423$, $P<0.05$);非痰湿体质超重肥胖组、痰湿体质非肥胖组及平和体质健康组的 TC、TG、HDL-C 及 LDL-C 分别与 Th1/Th2 比值之间均无明显相关(均$P>0.05$)。

讨　论

目前普遍认为胰岛素抵抗是肥胖的病理生理基础,近年来已被证实其与 $CD4^+$ Th 亚群比例的动态平衡密切相关[5-7]。痰湿体质是超重肥胖人群的主要体质且与脂代谢紊乱密切相关。现代中医研究发现痰湿与免疫存在着密切的联系。杨丽[8]发现痰湿型非小细胞肺癌患者其 $CD4^+$ T 细胞较其他证型明显升高。王春芳等[9]通过研究 AIDS 前期患者中医证候与 T 细胞亚群的相关性发现痰湿内蕴者 T 细胞亚群细胞数出现明显改变。夏小芳等[10]研究发现中医体质类型与肝脏组织 T 细胞亚群表达具有相关性。还有学者针对湿阻证人群观察 T 淋巴细胞亚群指标的变化,结果证实湿阻证患者的免疫调节出现了紊乱[11]。因此,可推测痰湿体质人群可能免疫细胞功能紊乱及亚群的比例改变。上述研究均提示痰湿体质在肥胖发病中的机制可能与改变机体的免疫细胞功能有关,但仍缺乏相关研究证实。

按照分化和功能特征,Th 细胞可分为 Th1、Th2 等多个细胞亚群。Th 细胞通过改变其 Th1/Th2 比例来发挥适应性免疫应答及多种病理生理过程的调节作用。一旦 Th1/Th2 比例失衡,Th1 亚群过度激活就会出现炎症反应瀑布效应,导致胰岛素抵抗的发生[12]。本研究结果显示痰湿体质人群中,无论是肥胖者还是非肥胖者,其体内 Th1 比率、Th1/Th2 比值均较平和体质者明显升高,Th2 比率则明显降低。该结果提示

表 1　各组脂代谢相关指标比较　(mmol/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	例数	TG	TC	HDL-C	LDL-C
痰湿体质超重肥胖	25	$4.21\pm2.26^{*\triangle\blacktriangle}$	$6.18\pm1.76^{*\triangle\blacktriangle}$	1.04 ± 0.25	$3.37\pm0.76^{*\blacktriangle}$
非痰湿体质超重肥胖	22	$2.45\pm0.99^{*\triangle}$	$5.16\pm1.25^{*}$	1.18 ± 0.80	2.61 ± 1.01
痰湿体质非肥胖	24	1.76 ± 1.35	4.51 ± 1.06	1.07 ± 0.35	2.96 ± 0.82
平和体质健康	22	1.05 ± 0.31	3.69 ± 0.82	1.41 ± 0.56	2.42 ± 0.53

注:与平和体质健康组比较,$^*P<0.05$;与痰湿体质非肥胖组比较,$^\triangle P<0.05$;与非痰湿体质型超重肥胖组比较,$^\blacktriangle P<0.05$

表 2　各组 Th1、Th2 比率及 Th1/Th2 比值比较　($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	Th1($CD3^+CD8^-IFN\text{-}\gamma^+$) (%)	Th2($CD3^+CD8^-IL\text{-}4^+$) (%)	Th1/Th2 比值
痰湿体质超重肥胖	25	$16.74\pm7.67^{*\triangle\blacktriangle}$	$3.47\pm1.99^{*}$	$6.56\pm3.47^{*\triangle\blacktriangle}$
非痰湿体质超重肥胖	22	6.70 ± 3.51	$3.33\pm2.14^{*}$	2.83 ± 2.50
痰湿体质非肥胖	24	$10.84\pm7.07^{*}$	$3.25\pm1.37^{*}$	$3.48\pm2.45^{*}$
平和体质健康	22	5.96 ± 2.43	5.85 ± 3.59	1.35 ± 0.68

注:与平和体质健康组比较,$^*P<0.05$;与痰湿体质非肥胖组比较,$^\triangle P<0.05$;与非痰湿体质型超重肥胖组比较,$^\blacktriangle P<0.05$

中国中西医结合杂志

痰湿体质者体内存在明显的细胞免疫异常,这种异常以 Th1 细胞比率增多,Th2 细胞比率减少为特征,Th1/Th2 比例失衡并向 Th1 方向偏移。进一步比较发现,痰湿体质超重肥胖者的这种 Th1/Th2 比例失衡较痰湿体质非肥胖者更为明显,提示无论肥胖与否,痰湿体质均可出现 Th1/Th2 比例失衡并使机体处于慢性炎症状态。我们的研究还发现非痰湿体质肥胖者的 Th1 比率、Th2 比率及 Th1/Th2 比值的变化与痰湿体质者相似,均表现为 Th1 比率、Th1/Th2 比值的升高及 Th2 比率降低,但其变化的幅度与痰湿体质非肥胖者相似,远不及痰湿体质肥胖者。说明肥胖者体内虽普遍存在 Th1/Th2 比例向 Th1 方向偏移,但痰湿体质者比非痰湿体质者的 Th1/Th2 比例失衡更为明显,痰湿体质可能是肥胖者免疫失衡的加重因素之一。

通过对脂代谢相关指标的观察,发现在肥胖人群中痰湿体质者的腰围、腹部脂肪厚度明显高于非痰湿体质者,提示痰湿体质肥胖者体型以腹型肥胖为主,而非痰湿体质者根据其 BMI 虽划分在肥胖人群,但其腹部脂肪的堆积远未有痰湿体质者明显。既往研究显示腹部脂肪堆积直接与胰岛素抵抗直接相关,结合我们的研究结果,提示痰湿体质肥胖者胰岛素抵抗更为严重。血脂方面,痰湿体质肥胖者 TC、TG 及 LDL-C 的升高及 HDL-C 的降低均最明显,而非痰湿体质肥胖者虽有血脂谱中个别指标出现紊乱,但未有统计学意义。该结果进一步提示痰湿体质是脂代谢相关指标紊乱的重要加重因素,进一步加重肥胖者的外周血 Th1/Th2 细胞比例失衡,导致其功能紊乱,使 Th 细胞向 Th1 细胞亚群极化增多,引发脂肪组织炎症和胰岛素抵抗有关。

相关性分析显示在肥胖者中,痰湿体质者的 Th1/Th2 比例变化与 TC、TG 及 LDL-C 水平呈正相关关系,与 HDL-C 存在负相关关系,而非痰湿体质人群则无此相关关系。该结果进一步说明机体免疫状态与脂代谢相关指标紊乱严重程度密切相关,细胞免疫损伤参与了脂代谢紊乱的发生和发展。

综上,痰湿体质肥胖者体内存在明显的 Th1/Th2 比例失衡,且向 Th1 表型转化,并与脂代谢相关指标紊乱的严重程度密切相关;而非痰湿体质肥胖者及痰湿体质非肥胖者均体内虽有类似的 T 细胞亚群变化趋势,但远不及痰湿体质肥胖者明显,提示痰湿体质是脂代谢紊乱及肥胖的加重因素,其作用机制进一步加重 T 细胞亚群比例失衡可能是参与肥胖及胰岛素抵抗发生发展的作用机制之一。

参 考 文 献

[1] Ignacio RM, Kim CS, Kim SK. Immunological profiling of obesity[J]. J Lifestyle Med, 2014, 4(1): 1-7.

[2] Stolarczyk E, Lord GM, Howard JK. The immune cell transcription factor T-bet: A novel metabolic regulator[J]. Adipocyte, 2014, 3(1): 58-62.

[3] Pacifico L, Di Renzo L, Anania C, et al. Increased T-helper interferon-gamma-secreting cells in obese children[J]. Eur J Endocrinol, 2006, 154(5): 691-697.

[4] 中华中医药学会.中医体质分类与判定(ZYYXH/T157-2009)[J]. 世界中西医结合杂志, 2009, 4(4): 303-304.

[5] Cheng X, Wang J, Xia N, et al. A guanidine-rich regulatory oligodeoxynucleotide improves type 2 diabetes in obese mice by blocking T-cell differentiation[J]. EMBO Mol Med, 2012, 4(10): 1112-1125.

[6] Inzaugarat ME, Ferreyra Solari NE, Billordo LA, et al. Altered phenotype and functionality of circulating immune cells characterize adult patients with nonalcoholic steatohepatitis[J]. J Clin Immunol, 2011, 31(6): 1120-1130.

[7] 王旭方. 肥胖与免疫炎症[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2011, 20(5): 455-460.

[8] 杨丽. 晚期非小细胞肺癌患者免疫细胞变化与中医证型的相关性研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2008.

[9] 王春芳,徐立然,符林春. 某地区 HIV/AIDS 患者 T 淋巴细胞亚群与中医证型的相关性分析[J]. 中医研究, 2012, 25(7): 6-9.

[10] 夏小芳,吴建,娄国强,等. 慢性乙型肝炎患者中医体质与肝组织及外周血 $CD4^+$、$CD8^+$ 表达的相关性研究[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(4): 219-1221.

[11] 严灿,高敏. 湿阻证患者免疫调节功能的临床观察及其机理探讨[J]. 中国中医基础医学杂志, 1998, 4(6): 38-40.

[12] Tilg H, Moschen AR. Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance[J]. Mol Med, 2008, 14: 222-231.

(收稿:2015-11-07 修回:2017-03-20)

责任编辑: 李焕荣

英文责编: 张晶晶

中国中西医结合杂志