

复方清热颗粒对病毒感染急性期患者 淋巴细胞亚群表达的影响

田 瑛 任东伟 张淑文 任爱民 王 红

摘要 目的 观察中药复方清热颗粒对病毒感染急性期患者细胞免疫功能的干预作用。**方法** 将 30 例病毒感染急性期患者分为两组,分别给予抗病毒治疗(简称西药组)或抗病毒联合中药复方清热颗粒治疗(简称中西医结合组)。观察治疗前、治疗 7 天后外周血淋巴细胞亚群变化,与健康对照者(20 名,作为正常对照组)比较。**结果** 与正常对照比较,病毒感染急性期患者外周血 T 细胞比例升高,B 细胞及 NK 细胞比例降低($P < 0.01$);T 细胞亚群中, $CD4^+T$ 细胞、 $CD4^+CD28^+T$ 细胞、 $CD8^+CD28^+T$ 细胞比例降低, $CD8^+T$ 细胞、 $CD8^+CD38^+T$ 细胞比例升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。治疗 7 天后,患者 $CD4^+T$ 细胞、 $CD4^+CD28^+T$ 细胞及 $CD8^+CD28^+T$ 细胞比例较治疗前增高($P < 0.05$, $P < 0.01$), $CD8^+CD38^+T$ 细胞比例降低($P < 0.01$),且 $CD4^+T$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 、 $CD8^+CD28^+T$ 及 $CD8^+CD38^+T$ 中西医结合组改变程度优于西药组($P < 0.05$)。**结论** 病毒感染急性期患者存在细胞免疫功能紊乱,中药复方清热颗粒联合抗病毒治疗可明显改善病毒感染导致的免疫紊乱及免疫损伤。

关键词 病毒感染;淋巴细胞亚群;免疫紊乱;中西医结合疗法

Effect of Compound Qingre Granule on the Expression of Peripheral Blood Lymphocyte Subsets of Acute Virus Infection Patients TIAN Ying, REN Dong-wei, ZHANG Shu-wen, REN Ai-min, and WANG Hong Department of Infectious Diseases, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing (100050), China

ABSTRACT Objective To observe interventional effects of anti-viral therapy and Compound Qingre Granule (CQG) on host cellular immune functions of acute virus infection patients. **Methods** Thirty acute virus infection patients were recruited to detect peripheral lymphocyte subsets. They were randomly assigned to two groups, the Western medicine treatment group (treated with anti-virus Western medicine) and the integrative medicine treatment group (treated with anti-virus Western medicine plus CQG). T-cell subsets were re-examined 7 days later. Changes between before and after treatment were observed. Effect on host cellular immune functions and efficacy were compared between the Western medicine treatment and the integrative medicine treatment. **Results** Compared with the normal control group, the percentage of peripheral T cells increased, and the percentage of B/NK cells decreased in acute virus infection patients ($P < 0.01$). Meanwhile, in T cell subsets, the percentage of $CD8^+T$ cells and $CD8^+CD38^+T$ cells increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$); and percentages of $CD4^+T$ cells, $CD4^+CD28^+T$ cells, and $CD8^+CD28^+T$ cells decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). After one-week treatment, percentages of $CD4^+T$ cells, $CD4^+CD28^+T$ cells, and $CD8^+CD28^+T$ cells increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), while the percentage of $CD8^+CD38^+T$ cells decreased ($P < 0.01$). More significantly, these changes were greater in the integrative medicine treatment group than in the Western medicine treatment group ($P < 0.05$). **Conclusions** Disarranged cellular immune functions existed in acute virus infection patients. CQG could significantly improve viral infection induced immunologic derangement and immunologic injury.

KEYWORDS virus infection; lymphocyte subsets; immunologic derangement; integrative treatment

基金项目:北京市中医青年科学研究资助项目(No.QN2009)

作者单位:首都医科大学附属北京友谊医院感染暨急救医学科(北京 100050)

通讯作者:王 红, Tel:13701061812, E-mail:grnk0315@126.com

DOI: 10.7661/CJIM.2015.06.0695

病毒感染是一种临床常见疾病。病毒具有很强的抗原性,在其感染宿主的过程中,可通过与免疫系统的相互作用,诱发免疫反应导致机体损伤,因而可能与嗜血细胞综合征及多种自身免疫性疾病的发生密切相关^[1]。为此,笔者通过检测病毒感染急性期患者外周血淋巴细胞亚群的动态变化了解患者的细胞免疫功能状态,并观察应用中药复方清热颗粒的治疗效果。

资料与方法

1 诊断标准 实验室检查显示病毒核酸检测阳性或病毒 IgM 抗体阳性确诊^[2,3]。具有起病急,伴发热、咽痛、淋巴结肿大的临床表现。中医辨证分型参照《中华人民共和国国家标准·中医临床诊疗术语证候部分》^[4]分为实热证、湿热证、热盛伤阴证。

2 纳入标准 (1)实验室检查 EB 病毒 IgM 抗体阳性和(或)EB 病毒 DNA 阳性;巨细胞病毒 IgM 抗体阳性和(或)巨细胞病毒 DNA 阳性或其他病毒 IgM 抗体阳性;(2)具有发热、咽痛、扁桃体肿大、淋巴结肿大等临床表现;(3)年龄 18~60 岁;(4)中医辨证为实热证、湿热证、热盛伤阴证;(5)所有受试者均自愿参加并签署知情同意书。

3 排除标准 (1)伴有肿瘤、糖尿病、血液系统疾病、自身免疫病、器官移植等基础疾病;(2)近期服用过免疫调节剂或接受化疗及免疫抑制剂治疗。

4 一般资料 30 例均为 2012 年 1 月—2013 年 8 月在北京友谊医院感染内科住院的病毒感染急性期患者,其中 EB 病毒感染 8 例,巨细胞病毒感染 14 例,EB 病毒/巨细胞病毒共感染 2 例,腺病毒感染 4 例,单纯疱疹病毒感染 2 例;按随机数字表法分为两组,西药组 16 例,男 6 例,女 10 例,平均年龄(28.0 ± 11.3)岁;中西医组 14 例,男 5 例,女 9 例,平均年龄(26.9 ± 5.0)岁。正常对照组 20 名,为健康体检者,男 11 名,女 9 名,平均年龄(33.9 ± 3.6)岁。

5 治疗方法 西药组 EB 病毒感染给予阿昔洛韦 5~10 mg/kg,静脉滴注,每日 2 次;巨细胞病毒感染给予更昔洛韦 5~10 mg/kg,静脉滴注,每日 2 次;其他病毒感染给予利巴韦林 0.1 g 口服,每日 3 次;中西医组在西药治疗基础上加用中药复方清热颗粒(主要成分为生黄芪 30 g 蒲公英 30 g 败酱草 30 g 大黄 6 g,由北京康仁堂药业有限公司生产),1 袋/次,2 次/天,7 天为 1 个疗程。

6 观察项目及检测方法

6.1 淋巴细胞亚群测定 30 例患者入院时及治疗 1 周后分别取抗凝静脉血置于试管中,加入抗人淋巴

细胞的单克隆抗体(购自 Beckman-Coulter 公司),避光放置 20 min,加入溶血素(购自 BD 公司),待红细胞溶解后加入生理盐水,离心,弃去上清,重复 1 次,加入 1%多聚甲醛固定,4℃冰箱中保存,然后使用流式细胞仪(FACSCalibur 型号,BD 公司生产)检测。

6.2 两组患者临床症状(发热、咽痛)缓解情况。

6.3 两组患者住院天数、住院费用。

7 统计学方法 使用 SPSS 17.0 统计学软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,分析前做方差齐性检验,两组均数比较采用独立样本 t 检验,治疗前后比较使用配对 t 检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

结 果

1 病毒感染急性期患者淋巴细胞亚群比较 (表 1) 与正常对照组比较,病毒感染急性期患者外周血淋巴细胞比例升高,其中 T 细胞比例升高,B 细胞及 NK 细胞比例降低($P < 0.01$)。T 细胞亚群中, $CD4^+$ T 细胞比例降低, $CD8^+$ T 细胞比例升高, $CD4^+/CD8^+$ 降低; $CD4^+ CD28^+$ T 细胞、 $CD8^+ CD28^+$ T 细胞比例降低, $CD8^+ CD38^+$ T 细胞比例升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

表 1 病毒感染急性期患者与正常对照组淋巴细胞亚群比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	病毒感染组 (30 例)	正常对照组 (20 名)
白细胞计数($\times 10^6/L$)	$7\ 683 \pm 4\ 645$	$6\ 266 \pm 1\ 191$
淋巴细胞(%)	$53.1 \pm 17.4^{**}$	32.6 ± 4.1
NK 细胞(%)	$10.9 \pm 4.9^{**}$	18.8 ± 6.4
B 细胞(%)	$3.7 \pm 3.4^{**}$	9.6 ± 3.1
T 细胞(%)	$83.9 \pm 6.4^{**}$	68.4 ± 5.4
$CD4^+$ T 细胞(%)	$27.6 \pm 14.1^*$	34.1 ± 5.1
$CD8^+$ T 细胞(%)	$55.3 \pm 14.5^{**}$	30.3 ± 4.4
$CD4^+/CD8^+$	$0.65 \pm 0.61^{**}$	1.15 ± 0.28
$CD4^+ CD28^+$ T 细胞(%)	$44.4 \pm 18.1^{**}$	91.1 ± 14.0
$CD8^+ CD28^+$ T 细胞(%)	$21.3 \pm 15.3^{**}$	54.1 ± 17.5
$CD8^+ CD38^+$ T 细胞(%)	$65.3 \pm 25.0^{**}$	33.6 ± 18.6

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

2 30 例病毒感染急性期患者治疗前后淋巴细胞亚群变化比较 (表 2) 治疗 1 周后,患者 B 细胞比例升高($P < 0.01$),T 细胞比例较治疗前无明显变化,但 $CD4^+$ T 细胞比例升高($P < 0.05$),T 细胞 CD28 分子表达升高而 CD38 分子表达降低($P < 0.01$)。

3 中西医组与西药组治疗后淋巴细胞亚群比较 (表 3) 治疗前两组患者淋巴细胞亚群差异无统计学意义($P > 0.05$),而治疗后中西医组患者 $CD8^+ CD28^+$ T 细胞比例增高及 $CD8^+ CD38^+$ T 细胞比例

降低程度优于西药组($P < 0.05$)。

表 2 30 例病毒感染急性期患者治疗前后
淋巴细胞亚群比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	治疗前(30 例)	治疗后(30 例)
白细胞计数($\times 10^6/L$)	7 683 $\pm$ 4 645	5 843 $\pm$ 2 016 *
淋巴细胞(%)	53.1 $\pm$ 17.4	52.7 $\pm$ 15.1
NK 细胞(%)	10.9 $\pm$ 4.9	10.8 $\pm$ 5.4
B 细胞(%)	3.7 $\pm$ 3.4	4.9 $\pm$ 3.5 **
T 细胞(%)	83.9 $\pm$ 6.4	83.5 $\pm$ 6.7
CD4 ⁺ T 细胞(%)	27.6 $\pm$ 14.1	31.8 $\pm$ 11.6 *
CD8 ⁺ T 细胞(%)	55.3 $\pm$ 14.5	52.6 $\pm$ 13.5
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	0.65 $\pm$ 0.61	0.69 $\pm$ 0.44
CD4 ⁺ CD28 ⁺ T 细胞(%)	44.4 $\pm$ 18.1	62.8 $\pm$ 23.8 **
CD8 ⁺ CD28 ⁺ T 细胞(%)	21.3 $\pm$ 15.3	34.6 $\pm$ 16.4 **
CD8 ⁺ CD38 ⁺ T 细胞(%)	65.3 $\pm$ 25.0	47.4 $\pm$ 19.3 **

注:与治疗前比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

表 3 中西医组与西药组患者治疗后
淋巴细胞亚群比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	中西医组(14 例)	西药组(16 例)
白细胞计数($\times 10^6/L$)	5 949 $\pm$ 2 435	5 750 $\pm$ 1 642
淋巴细胞(%)	51.4 $\pm$ 16.4	53.9 $\pm$ 14.2
NK 细胞(%)	10.0 $\pm$ 2.9	11.5 $\pm$ 7.0
B 细胞(%)	5.6 $\pm$ 3.9	4.3 $\pm$ 3.0
T 细胞(%)	83.7 $\pm$ 4.4	83.4 $\pm$ 8.4
CD4 ⁺ T 细胞(%)	36.7 $\pm$ 10.5 *	27.5 $\pm$ 11.0
CD8 ⁺ T 细胞(%)	48.1 $\pm$ 13.9	56.4 $\pm$ 12.2
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	0.89 $\pm$ 0.54 *	0.51 $\pm$ 0.23
CD4 ⁺ CD28 ⁺ T 细胞(%)	69.3 $\pm$ 21.1	57.2 $\pm$ 24.4
CD8 ⁺ CD28 ⁺ T 细胞(%)	41.0 $\pm$ 13.2 *	28.9 $\pm$ 17.2
CD8 ⁺ CD38 ⁺ T 细胞(%)	39.8 $\pm$ 12.1 *	54.1 $\pm$ 22.2

注:与西药组比较,* $P < 0.05$

4 中西医组与西药组临床疗效比较(表 4) 中西医组发热天数及咽痛天数较西药组缩短($P < 0.05$, $P < 0.01$)。中西医组住院天数及住院费用较西药组有减少的趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。

讨 论

病毒是严格细胞内寄生的病原微生物,因此感染后机体清除病毒就有赖于免疫系统的特异性细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte,CTL),病情的

转归主要取决于宿主细胞免疫应答强弱与病毒清除是否处于一种动态平衡状态。研究结果显示,病毒感染急性期患者存在细胞免疫功能紊乱。NK 细胞、B 细胞比例降低,提示机体非特异性免疫及体液免疫功能受到抑制。T 细胞、CD8⁺ T 细胞比例升高表明病毒感染机体后主要通过细胞免疫特别是 CTL 来清除病毒感染的靶细胞。而 CTL 的激活有赖于 Th1 依赖途径和非 Th1 依赖途径,CD4⁺ T 细胞、CD4⁺ CD28⁺ T 细胞、CD8⁺ CD28⁺ T 细胞表达都降低,表明 CTL 激活的两条途径都受到不同程度的影响,导致细胞免疫功能下降。CD28 分子是 T 细胞激活的第二信号,其表达低下往往表示 T 细胞免疫功能低下。CD38 分子是病毒抗原刺激导致 T 细胞激活的标志,既往研究发现 EB 病毒、巨细胞病毒感染以及慢性乙型肝炎患者 CD8⁺ CD38⁺ T 细胞均有升高^[5,6]。CD38 分子表达增高表明在病毒感染急性期 T 细胞存在异常激活。病毒感染急性期患者辅助性 T 细胞功能受到明显抑制,对非特异性免疫及体液免疫刺激增殖作用降低,对细胞免疫调节作用降低,从而导致对新发感染的不可控,同时由于 CTL 细胞功能过度放大得不到有效调节,对机体造成了严重的免疫损伤。

治疗 1 周后再次检测患者淋巴细胞亚群,显示体液免疫有所增强,细胞免疫功能紊乱得到改善,辅助性 T 细胞功能有所恢复,而 T 细胞的异常激活得到控制,由此可以减轻机体的免疫损伤。研究显示,低剂量病毒感染时,CD8⁺ T 细胞具有保护作用;而高剂量病毒感染时,CD8⁺ T 细胞与严重的病理损伤和致死有关^[7]。因此,在病毒感染早期有针对性地应用抗病毒药物降低病毒载量,不仅是控制病毒感染的主要治疗手段,还有利于减轻病毒感染所导致的免疫损伤^[8]。

复方清热颗粒主要成分为黄芪、蒲公英、败酱草和大黄。黄芪具有免疫增强及免疫抑制双向调节作用。研究显示黄芪多糖能够提高健康人辅助性 T 细胞与抑制性 T 细胞比值及淋巴细胞总数和 NK 细胞活性,以此提高人体免疫水平^[9]。黄芪多糖能够增加巨噬细胞数量,增强吞噬功能,促进细胞分化以及调节腹膜巨噬细胞分泌白介素-12(IL-12),从而提高巨噬细胞杀灭

表 4 中西医组与西药组临床疗效比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	发热天数(d) (体温 $> 37.5^{\circ}C$)	咽痛天数 (d)	住院天数 (d)	住院费用 (元)
中西医	14	4.14 $\pm$ 1.35 **	3.43 $\pm$ 1.91 *	10.36 $\pm$ 2.89	10 383.95 $\pm$ 3 906.93
西药	16	6.13 $\pm$ 2.31	5.38 $\pm$ 3.01	11.75 $\pm$ 3.45	12 480.90 $\pm$ 4 278.69

注:与西药组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

和清除抗原的能力^[10]。黄芪多糖还可以通过促进树突状细胞中 IL-12 表达诱导 CD4⁺T 淋巴细胞向 Th1 型反应分化,通过激活树突状细胞增强免疫活性^[11,12]。而 NK 细胞、巨噬细胞、树突状细胞是人体非特异性免疫的主要效应细胞。黄芪多糖对特异性免疫的影响主要体现在能增加 B 淋巴细胞和 T 淋巴细胞的增殖分化、提高浆细胞的分泌、增加血清抗体浓度、调节 T 淋巴细胞亚群的平衡等方面^[13]。黄芪还可以抑制巨细胞病毒(CMV)复制,有效降低病毒滴度,减轻肝脏的病理损害^[14],预示黄芪在抗病毒方面具有独特优势。蒲公英能够提高免疫抑制小鼠的细胞免疫功能^[15],败酱草具有抗菌抗炎症反应作用。本研究显示,两组患者治疗后细胞免疫紊乱均有所改善,但使用复方清热颗粒联合西药抗病毒治疗较单用西药组 CD8⁺CD28⁺T 细胞增高和 CD8⁺CD38⁺T 细胞降低更加明显,显示复方清热颗粒不仅可以促进免疫功能恢复、提高机体免疫力,同时又可以避免过度免疫而造成病理损伤,具有双重免疫保护作用,可能对与病毒感染相关的自身免疫性疾病和嗜血细胞综合征的发生具有一定的预防作用。中西医组发热、咽痛时间较西药组缩短,提示中西医结合治疗临床疗效优于单独西药治疗。

参 考 文 献

- [1] 金蕊,马雪梅,曾毅. EB 病毒感染和自身免疫病的相关性研究[J]. 医学综述, 2010, 16(10): 1465-1467.
- [2] 陈灏珠,林果为主编. 实用内科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2009: 342-354.
- [3] 李梦东主编. 实用传染病学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2000: 48-50.
- [4] 国家质量技术监督局. 中华人民共和国国家标准·中医临床诊疗术语证候部分[S]. 北京:中国标准出版社, 1997.
- [5] 田瑛,邱志峰,李太生. 慢性乙型肝炎患者和乙型肝炎病毒携带者外周血 T 细胞亚群的变化和意义[J]. 中华医学杂志, 2005, 85(47): 3354-3358.
- [6] Zidovec Lepej S, Vince A, Dakovic Rode O, et al. Increased numbers of CD38 molecules on bright CD8⁺T lymphocytes in infectious mononucleosis caused by Epstein-Barr virus infection[J]. Clin Exp Immunol, 2003, 133(3): 384-390.
- [7] 吕进,王希良. 流感病毒感染介导的免疫病理损伤研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2009, 6(8): 961-967.
- [8] 田瑛,张娟,王红. 病毒感染患者抗病毒治疗前后淋巴细胞亚群的变化及意义[J]. 临床和实验医学杂志, 2011, 10(18): 1404-1406.
- [9] 宋淑珍,田亚平,汪德清,等. 黄芪多糖对健康体检者淋巴细胞亚群的调节作用[J]. 中国临床康复, 2005, 9(11): 130-131.
- [10] Sun YX, Jin LJ, Wang TT, et al. Polysaccharides from *Astragalus membranaceus* promote phagocytosis and superoxide anion (O_2^-) production by coelomocytes from sea cucumber (*Apostichopus japonicas*) in vitro[J]. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol, 2008, 147(3): 293-298.
- [11] Liu QY, Yao YM, Zhang SW, et al. Astragalus polysaccharides regulate T cell-mediated immunity via CD11c(high) CD45RB(low) DCs in vitro[J]. J Ethnopharmacol, 2011, 136(3): 457-464.
- [12] 刘庆阳,姚咏明. 黄芪多糖对分泌白细胞介素 12 树突状细胞亚群的免疫调控效应与机制[J]. 中华烧伤杂志, 2011, 27(2): 95-99.
- [13] 姜琛璐,汤承,蹇宇,等. 黄芪多糖免疫调节作用研究进展[J]. 食品科学, 2013, 34(11): 327-332.
- [14] 史胜平,周武斌. 黄芪治疗小鼠巨细胞病毒性肝炎的实验研究[J]. 中国现代医学杂志, 2007, 4(6): 7-8.
- [15] 凌云,单晶,张雅琳,等. 中药蒲公英对小鼠脾淋巴细胞增殖的影响[J]. 解放军药理学学报, 2005, 21(1): 73-74.

(收稿:2014-06-12 修回:2015-03-15)