

慢性阻塞性肺疾病中医证型分布及不同证型间 T 淋巴细胞亚群指标差异性的研究

刘梅¹, 彭文照¹, 郝小梅²

1. 广州中医药大学基础医学院, 广东 广州 510006; 2. 广东省第二中医院, 广东 广州 510095

[摘要] 目的: 初步探讨慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 患者的中医证候分布, 以及比较不同证型间的 T 淋巴细胞亚群辅助性 T 淋巴细胞 (Th) 17、调节性 T 淋巴细胞 (Treg)、Th22 是否存在差异。方法: 选取 115 例 COPD 患者, 将 20 例同期体检未患 COPD 者设为对照组。将 COPD 患者根据辨证标准分为 8 个证型, 将风寒束肺证、外寒内饮证、痰热壅肺证、痰湿阻肺证设为偏实证组, 将脾肺气虚证、肺肾气虚证、肺肾气阴两虚证、气虚血瘀证设为偏虚证组。分析不同中医证型间的 T 淋巴细胞亚群指标, 并将偏实证组、偏虚证组与对照组进行 T 淋巴细胞亚群指标的比较。结果: COPD 患者中医证候分布: 风寒束肺证 2 例, 占 1.74%; 外寒内饮证 1 例, 占 0.87%; 痰热壅肺证 22 例, 占 19.13%; 痰湿阻肺证 29 例, 占 25.22%; 脾肺气虚证 21 例, 占 18.26%; 肺肾气虚证 23 例, 占 20.00%; 肺肾气阴两虚证 6 例, 占 5.22%; 气虚血瘀证 11 例, 占 9.57%。痰热壅肺证组 Treg 细胞分数、Th17 细胞/Treg 细胞比值、Th22 细胞分数与痰湿阻肺证组相比, 差异均无统计意义 ($P > 0.05$); 脾肺气虚证组 Th17 细胞分数、Treg 细胞分数、Th17 细胞/Treg 细胞比值、Th22 细胞分数与肺肾气虚证组、肺肾气阴两虚证组、气虚血瘀证组相比, 差异均无统计意义 ($P > 0.05$)。痰湿阻肺证组 Th17 细胞分数低于痰热壅肺证组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 脾肺气虚证组、肺肾气虚证组、肺肾气阴两虚证组、气虚血瘀证组的 Th17 细胞分数、Th17 细胞/Treg 细胞比值、Th22 细胞分数均低于痰热壅肺证组与痰湿阻肺证组 ($P < 0.05$), Treg 细胞分数均高于痰热壅肺证组与痰湿阻肺证组 ($P < 0.05$)。偏虚证组和偏实证组的 Th17 细胞分数、Th17 细胞/Treg 细胞比值、Th22 细胞分数均高于对照组 ($P < 0.05$); 偏虚证组 Treg 细胞分数高于对照组 ($P < 0.05$), 偏实证组 Treg 细胞分数低于对照组 ($P < 0.05$); 偏虚证组 Th17 细胞分数、Th17 细胞/Treg 细胞比值、Th22 细胞分数均低于偏实证组 ($P < 0.05$), Treg 细胞分数高于偏实证组 ($P < 0.05$)。结论: 持续存在的慢性炎症、自身免疫失衡与 COPD 病情变化密切相关, 是导致 COPD 患者由“邪气胜”的实证向“精气虚”的虚证转变的重要原因。

[关键词] 慢性阻塞性肺疾病 (COPD); 中医证候; T 淋巴细胞亚群; 炎症

[中图分类号] R563 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2018) 07-0075-04

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2018.07.021

Study on the Distribution of Chinese Medicine Syndrome Types in Chronic Obstructive Pulmonary Disease and the Differences Between Indexes in T-lymphocyte Subsets of Different Syndrome Types

LIU Mei, PENG Wenzhao, HAO Xiaomei

Abstract: **Objective:** To preliminarily discuss the distribution of Chinese medicine syndrome types in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD), and compare differences between the helper T lymphocytes 17 (Th), regulatory T lymphocytes (Treg), and Th22 in T-lymphocyte subsets of different syndrome types. **Methods:** Selected 115 cases of patients with COPD, and set 20 cases of patients without COPD as the control group. Divided patients with COPD into eight syndrome types. Set patients with syndrome of wind-cold fettering the lung, syndrome of external cold and internal fluid, syndrome of phlegm-heat obstructing lung, or syndrome of phlegm-damp obstructing lung into the excess dominance group. Set patients with syndrome of spleen-lung qi deficiency, syndrome of lung-kidney qi deficiency, syndrome of deficiency of both qi and yin of lung and kidney or syndrome of qi deficiency and blood stasis into the deficiency dominance group. Compared and analyzed the indexes in T-lymphocyte subsets of different Chinese medicine syndrome types, and compared

[收稿日期] 2018-03-15

[基金项目] 广东省中医药局建设中医药强省科研课题 (20152011); 广东省医学科研基金资助项目 (20152011); 广东省高水平大学学科专项资助项目

[作者简介] 刘梅 (1975-), 男, 医学博士, 副研究员, 研究方向: 舌脉、证候与方药。

[通信作者] 彭文照, E-mail: 2243764650@qq.com。

those indexes among the excess dominance group, the deficiency dominance group and the control group. **Results:** The distribution of Chinese medicine syndrome types in patients with COPD is as follows: 2 cases with syndrome of wind-cold fettering the lung(1.74%), 1 case with syndrome of external cold and internal fluid(0.87%), 22 cases with syndrome of phlegm-heat obstructing lung(19.13%), 29 cases with syndrome of phlegm-damp obstructing lung(25.22%), 21 cases with syndrome of spleen-lung qi deficiency(18.26%), 23 cases with syndrome of lung-kidney qi deficiency(20.00%), 6 cases with syndrome of deficiency of both qi and yin of lung and kidney(5.22%), 11 cases with syndrome of qi deficiency and blood stasis(9.57%). No significant difference was found in the comparisons of the Treg fraction, ratio of Th17 to Treg and Th22 fraction between the group with syndrome of phlegm-heat obstructing lung and the group with syndrome of phlegm-damp obstructing lung($P > 0.05$). No significant difference was found in the comparisons of the Th17 fraction, Treg fraction, ratio of Th17 to Treg and Th22 fraction among the group with syndrome of spleen-lung qi deficiency and the group with syndrome of lung-kidney qi deficiency, syndrome of deficiency of both qi and yin of lung and kidney or syndrome of qi deficiency and blood stasis($P > 0.05$). The Th17 fraction in the group with syndrome of phlegm-damp obstructing lung was lower than that in the group with syndrome of phlegm-heat obstructing lung, the difference being significant($P < 0.05$). The Th17 fraction, ratio of Th17 to Treg, Th22 fraction and IL-22 cell fraction in the group with syndrome of spleen-lung qi deficiency, syndrome of lung-kidney qi deficiency, syndrome of deficiency of both qi and yin of lung and kidney or syndrome of qi deficiency and blood stasis were lower than those in the group with syndrome of phlegm-heat obstructing lung or syndrome of phlegm-damp obstructing lung($P < 0.05$), while the Treg fractions were higher than those in the group with syndrome of phlegm-heat obstructing lung or syndrome of phlegm-damp obstructing lung($P < 0.05$). The Th17 fraction, ratio of Th17 to Treg and Th22 fraction in the deficiency dominance group and the excess dominance group were higher than those in the control group($P < 0.05$). The Treg fraction in the deficiency dominance group was higher than that in the control group, while the one in the excess dominance group was lower than that in the control group($P < 0.05$). In patients with COPD, the Th17 fraction, ratio of Th17 to Treg and Th22 fraction in the peripheral blood in the deficiency dominance group were lower than those in the excess dominance group($P < 0.05$), while the Treg fraction was higher than that in the excess dominance group($P < 0.05$). **Conclusion:** Persistent chronic inflammation and autoimmune imbalance are closely related to the condition of COPD, which is an important reason for the transformation from the excess syndrome with excess of pathogenic qi to deficiency syndrome with deficiency of essential qi in patients with COPD.

Keywords: Chronic obstructive pulmonary disease (COPD); Chinese medicine syndrome; T-lymphocyte subsets; Inflammation

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是一种不完全可逆的,以气流受限为特征的呼吸系统慢性疾病,呈进行性发展,多与肺部对有害颗粒与气体的异常炎症反应有关^[1]。研究发现,在COPD的发病机制中,T淋巴细胞表达水平异常、免疫失衡等因素起重要作用。调节性T淋巴细胞(Treg)与辅助性T淋巴细胞(Th)17来源于初始T淋巴细胞,两者在功能和分化过程中相互遏制,在正常机体内,二者保持平衡,共同维持机体免疫平衡^[2]。Th22细胞是体内白细胞介素(IL)-22最主要的来源,在机体免疫调节、宿主防御及组织修复中发挥重要作用,固有免疫和获得性免疫淋巴细胞通过生成IL-22作用于细胞来对宿主产生保护作用,参与炎症反应、自身免疫性疾病等的发生、发展^[3]。在临床观察中可以发现,中医辨证论治通过调节人体免疫功能、改善临床症状、减慢COPD进程等方面对患者进行综合调治,有积极的临床效果。本研究通过分析COPD患者的中医证型分布情况,及比较不同证型间T淋巴细胞亚群表达变化的差异,对Treg、Th17、Th22在COPD中的作用机制进行初步

探讨。

1 临床资料

1.1 一般资料 选取2017年3—7月于广东省第二中医院、广东省中医院呼吸内科门诊和住院治疗的COPD患者,共115例,其中男66例(占57%),女49例(占43%),年龄47~91岁,平均67岁;同期体检正常未患COPD者20例,其中男11例(占55%),女9例(占45%),年龄52~73岁,平均63岁。根据“邪气胜则实,精气夺则虚”,将风寒束肺证、外寒内饮证、痰热壅肺证、痰湿阻肺证设为偏实证组;将脾肺气虚证、肺肾气虚证、肺肾气阴两虚证、气虚血瘀证设为偏虚证组。

1.2 诊断标准 参照《慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013年修订版)》^[4]中COPD的诊断标准。

1.3 辨证标准 参考《慢性阻塞性肺疾病中医证候诊断标准(2011版)》^[5]和《中医内科学》^[6]制定中医证候诊断标准观察表,按证候要素综合辨证。

1.3.1 风寒束肺证 咳嗽,喘息,发热,恶寒,无汗,痰白

清稀,苔薄,脉浮紧等。

1.3.2 外寒内饮证 咳嗽,喘息,痰多色白,气逆不能平卧,喉中痰鸣,苔白、脉弦紧等。

1.3.3 痰热壅肺证 咳嗽,喘息,胸闷,痰黏多色黄,发热,口渴喜冷饮,舌质红、苔黄腻,脉滑数等。

1.3.4 痰湿阻肺证 咳嗽,喘息,痰多色白,口黏腻,苔白腻、食少纳呆等。

1.3.5 脾肺气虚证 咳嗽,喘息,气短,动则加重,乏力,脘腹胀满,易感冒,便溏,舌体胖大有齿痕、舌质淡,苔白,脉沉细、缓等。

1.3.6 肺肾气虚证 喘息,气短,动则加重,神疲乏力,面目浮肿,易感冒,腰膝酸软,夜尿多,舌体胖大、舌质淡,脉沉细等。

1.3.7 肺肾气阴两虚证 喘息,气短,动则加重,乏力,自汗盗汗,腰膝酸软,耳鸣,易感冒,手足心热,舌质红,脉细数等。

1.3.8 气虚血瘀证 面色紫暗,口唇紫暗,舌有瘀斑,舌下静脉迂曲、粗乱,脉沉涩等。

1.4 纳入标准 符合 COPD 诊断标准与以上的辨证标准。自愿接受本次研究并签署知情同意书。

1.5 排除标准 不符合诊断标准与辨证标准;由支气管扩张、肺间质纤维化等其他已知病因引起,或具有特征性病理表现的气流受限疾病,如肺囊性纤维化、弥漫性泛细支气管炎;合并非 COPD 引起的高血压病、糖尿病及其他器官严重病变;不符合纳入标准或临床资料不全等影响辨证者。

2 研究方法

2.1 观察指标 检测 Th17 细胞分数、Treg 细胞分数、Th22 细胞分数。

2.1.1 主要试剂及仪器 Ficoll 淋巴细胞分离液购自 MP Biomedicals 公司,1640 培养基和 PBS 液购自 Gibco 公司,IL-22 抗体购自 eBioscience 公司,其他固定剂、破膜剂、CD3 抗体、CD4 抗体、CD25 抗体、CD127 抗体、IL-17A 抗体均购自 BD Biosciences 公司。流式细胞仪,型号 BD FACSCanto II,美国 BD 公司。

2.1.2 检测方法 于清晨抽取受试者空腹静脉血 5 mL,置于肝素抗凝管中,1 260 r/min,离心 5 min,取适量血浆于 -80℃ 冻存备用。淋巴细胞分离液分离出外周单核细胞,均分成两部分,一部分行表面染色,避光孵育 20 min,上机检测 Treg 细胞分数。另一部分淋巴细胞加入含 10% 胎牛血清的 1640 培养液重悬,计数并稀释至 $(1 \sim 2) \times 10^7/\text{mL}$,每孔 200 μL 种板(96 孔板),加入 2 μL 细胞刺激剂混匀。将培养板放入 5% CO_2 、37℃ 培养箱内培养 5 ~ 6 h。行细胞表面荧光染色,固定/破膜后再行细胞内染色,设立对照管后上机检测 Th17 细胞分数、Th22 细胞分数。检测要求圈定淋巴细胞为门内细胞,获取 10 000 个以上门内细胞,并保存相关数据,计算 Th17 细胞/Treg

细胞比值。

2.2 统计学方法 采用 SPSS18.0 统计学软件进行数据处理。计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,多组间比较采用方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 研究结果

3.1 COPD 患者中医证候分布情况 风寒束肺证 2 例,占 1.74%;外寒内饮证 1 例,占 0.87%;痰热壅肺证 22 例,占 19.13%;痰湿阻肺证 29 例,占 25.22%;脾肺气虚证 21 例,占 18.26%;肺肾气虚证 23 例,占 20.00%;肺肾气阴两虚证 6 例,占 5.22%;气虚血瘀证 11 例,占 9.57%。

3.2 不同中医证型间 T 淋巴细胞亚群指标比较 见表 1。排除因样本例数太少而无法进一步统计分析的风寒束肺证组和外寒内饮证组。痰热壅肺证组 Treg 细胞分数、Th17 细胞/Treg 细胞比值、Th22 细胞分数与痰湿阻肺证组相比,差异均无统计学意义($P > 0.05$);脾肺气虚证组 Th17 细胞分数、Treg 细胞分数、Th17 细胞/Treg 细胞比值、Th22 细胞分数与肺肾气虚证组、肺肾气阴两虚证组、气虚血瘀证组相比,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。痰湿阻肺证组 Th17 细胞分数低于痰热壅肺证组,差异有统计学意义($P < 0.05$);脾肺气虚证组、肺肾气虚证组、肺肾气阴两虚证组、气虚血瘀证组的 Th17 细胞分数、Th17 细胞/Treg 细胞比值、Th22 细胞分数均低于痰热壅肺证组与痰湿阻肺证组($P < 0.05$),Treg 细胞分数均高于痰热壅肺证组与痰湿阻肺证组($P < 0.05$)。

表 1 不同中医证型间 T 淋巴细胞亚群指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Th17(%)	Treg(%)	Th17/Treg	Th22(%)
痰热壅肺证组	22	5.65±0.47	2.64±0.42	2.37±0.35	2.87±0.63
痰湿阻肺证组	29	4.63±0.34 ^①	2.55±0.44	2.34±0.43	2.73±0.53
脾肺气虚证组	21	2.56±0.56 ^②	5.24±0.54 ^②	0.49±0.13 ^②	2.11±0.34 ^②
肺肾气虚证组	23	2.41±0.58 ^②	5.46±0.68 ^②	0.53±0.11 ^②	2.15±0.48 ^②
肺肾气阴两虚证组	6	2.91±0.37 ^②	5.63±0.35 ^②	0.55±0.21 ^②	2.22±0.39 ^②
气虚血瘀证组	11	2.61±0.36 ^②	5.34±0.57 ^②	0.52±0.23 ^②	2.01±0.44 ^②

与痰热壅肺证组比较,① $P < 0.05$;与痰湿阻肺证组比较,② $P < 0.05$

3.3 偏虚、实证组与对照组 T 淋巴细胞亚群指标比较 见表 2。偏虚证组和偏实证组的 Th17 细胞分数、Th17 细胞/Treg 细胞比值、Th22 细胞分数均高于对照组($P < 0.05$);偏虚证组 Treg 细胞分数高于对照组($P < 0.05$),偏实证组 Treg 细胞分数低于对照组($P < 0.05$);偏虚证组 Th17 细胞分数、Th17 细胞/Treg 细胞比值、Th22 细胞分数均低于偏实证组($P < 0.05$),Treg 细胞分数高于偏实证组($P < 0.05$)。

4 讨论

目前,COPD 的发病机制尚未完全明了,现认为发病机制包括以下 4 个方面^[6]:①炎症学说;②氧化/抗氧化失衡学说;③蛋白酶/抗蛋白酶失衡学说;④自主神经系统功能紊乱。其

表2 偏虚、实证组与对照组T淋巴细胞亚群指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Th17(%)	Treg(%)	Th17/Treg	Th22(%)
对照组	20	1.73±0.27	4.42±0.71	0.40±0.08	1.30±0.33
偏虚证组	61	2.92±0.89 ^①	5.16±1.55 ^①	0.58±0.12 ^①	2.30±0.42 ^①
偏实证组	54	4.36±0.75 ^②	2.77±0.70 ^②	1.69±0.63 ^②	2.59±0.62 ^②

与对照组比较, ① $P < 0.05$; 与偏虚证组比较, ② $P < 0.05$

中炎症学说占有重要地位。有研究认为 COPD 以气道、肺实质和肺血管的慢性炎症为特征, 在肺的不同部位有肺泡巨噬细胞、T 淋巴细胞和中性粒细胞增加, 激活的炎症细胞释放多种细胞因子参与 COPD 的发病^[7]。当存在炎症反应或者自身免疫性疾病时, 一些细胞因子过度表达会影响初始 T 淋巴细胞分化, 增加 Th17 分化, 导致 Treg 与 Th17 失衡, 从而引起一系列损害机体的炎症反应^[8]。当 Th17 细胞 /Treg 细胞比值增大时, 提示机体炎症反应状态更为严重^[9]。

《素问》中有“邪气胜则实, 精气夺则虚”之说, 故本研究在设置偏实证组与偏虚证组时, 把外邪胜的风寒束肺证、外寒内饮证、痰热壅肺证、痰湿阻肺证设为偏实证组; 将内在正气不足而出现的脾肺气虚证、肺肾气虚证、肺肾气阴两虚证、气虚血瘀证设为偏虚证组。血瘀一证, 在平时辨证多认为属实证, 但在本试验中考虑患者血瘀皆为老年久病气虚血瘀, 实属“本虚标实”, 故列入偏虚证组。结果显示: 偏实证组痰热壅肺证、痰湿阻肺证所占比例很大, 风寒束肺证、外寒内饮证所占比例很小, 可能与选取病例集中在 3~7 月, 天气渐暖有关; 偏虚证组脾肺气虚证、肺肾气虚证所占比例较大, 肺肾气阴两虚证、气虚血瘀证所占比例较小, 这也提示了在 COPD 患者本身病情发展中, 以肺气虚为主, 气虚与痰饮交织为患, 呈进行性发展。

本研究 T 淋巴细胞亚群检测结果显示, 痰湿阻肺证组 Th17 细胞分数低于痰热壅肺证组($P < 0.05$), 提示痰热壅肺证患者的炎症反应程度比痰湿阻肺证患者严重; 脾肺气虚证组、肺肾气虚证组、肺肾气阴两虚证组与气虚血瘀证组的 Th17 细胞分数、Th17 细胞 /Treg 细胞比值、Th22 细胞分数均低于痰热壅肺证组与痰湿阻肺证组($P < 0.05$), Treg 细胞分数均高于痰热壅肺证组与痰湿阻肺证组($P < 0.05$), 提示 COPD 病情处于偏实证的痰热壅肺证和痰湿阻肺证时, 炎症反应与免疫失衡相对加重, 促炎症因子 Th17 所占比例增多, 而介导免疫反应的 Treg 所占比例减少。COPD 患者外周血 Th17 细胞分数、Th17 细胞 /Treg 细胞比值、Th22 细胞分数均高于对照组, 提示 COPD 患者持续存在气道慢性炎症; 偏实证组 Th17 细胞分数、Th17 细胞 /Treg 细胞比值、Th22 细胞分数均高于偏虚证组, 这可能与偏实证组选取病例的中医证候集中在邪气胜的 4 个证

型, 此时炎症反应较强有关。偏虚证组 Treg 细胞分数高于对照组, 可能与偏虚证组选取病例多是“精气夺则虚”, 正气不足有关。COPD 患者持续存在的气道慢性炎症可导致上皮细胞损伤甚至气道重塑, 最终导致肺功能损伤, 由“邪气胜”的实证向“精气虚”的虚证转变。

综上所述, 持续存在的慢性炎症、自身免疫失衡与 COPD 病情变化密切相关, 是导致 COPD 患者由“邪气胜”的实证向“精气虚”的虚证转变的重要原因, 相关 T 淋巴细胞亚群指标或许可以作为临床中医辨证规范化的部分依据。但本研究样本选择时间段较集中, 观察指标数相对较少, Th17 细胞分数、Treg 细胞分数、Th17 细胞 /Treg 细胞比值、Th22 细胞分数在 COPD 进展中的确切作用机制、与中医证候发展的相关性仍有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013 年修订版)[J]. 全科医学临床与教育, 2013, 36(5): 255-264.
- [2] Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulation T cell development by the transcription factor Foxp3 [J]. Science, 2003, 299(5609): 1057-1061.
- [3] Siegemund S, Schutze N, Schulz S, et al. Differential IL-23 requirement for IL-22 and IL-17A production during innate immunity against salmonella enterica serovar enteritidis[J]. Int Immunol, 2009, 21(5): 555-565.
- [4] 中华中医药学会内科分会肺系病专业委员会. 慢性阻塞性肺疾病中医证候诊断标准(2011 版)[J]. 中医杂志, 2012, 53(2): 177-178.
- [5] 田德禄. 中医内科学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 105.
- [6] Brill SE, El-Emir E, Allinson JP, et al. Community-based recruitment of patients with COPD into clinical research[J]. Thorax, 2014, 69(10): 951-952.
- [7] Rabe KF, Hurd S, Anzueto A, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2007, 176(6): 532-555.
- [8] 严展鹏, 张晓震, 徐东宁, 等. 从调节性 T 淋巴细胞和 Th17 细胞变化探讨抗敏平喘方治疗哮喘机制[J]. 中草药, 2014, 45(12): 1731-1735.

(责任编辑: 吴凌)