

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.08.008  
文章编号: 1005-8982(2020)08-0045-05

## 哮喘宁颗粒对哮喘慢性持续期患者的临床疗效分析

曹红艳<sup>1</sup>, 喻海忠<sup>1</sup>, 袁建芬<sup>1</sup>, 郭春燕<sup>1</sup>, 唐艳芬<sup>2</sup>

(南通市中医院 1. 检验科, 2. 呼吸内科 江苏 南通 226001)

**摘要:** **目的** 基于 Th1/Th2 免疫失衡机制观察哮喘宁颗粒对哮喘慢性持续期患者的临床疗效。**方法** 选取 2018 年 1 月—2019 年 2 月南通市中医院慢性持续期哮喘患者 130 例, 随机分为对照组(雾化吸入沙美特罗替卡松)和观察组(雾化吸入沙美特罗替卡松+口服哮喘宁颗粒), 每组 65 例。比较两组临床疗效; 辅助性 T 淋巴细胞 1 (Th1)/Th2 分化水平、白细胞介素-4 (IL-4)、IL-12、IL-17、干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 等相关炎症因子; T 盒子转录因子 (T-bet)、GATA 结合蛋白 3 (GATA-3)、维 A 酸相关孤儿受体亚家族  $\gamma$ t (ROR  $\gamma$ t) 及叉头框转录因子 P3 (FoxP3) 水平的变化。**结果** 观察组治愈率高于对照组 (32.31% VS 13.85%) ( $P < 0.05$ )。观察组 Th2/CD4<sup>+</sup>、IL-4、IL-17、GATA-3、ROR  $\gamma$ t 降低的差值, 以及 Th1/CD4<sup>+</sup>、Th1/Th2 比值、IL-12、IFN- $\gamma$ 、T-bet、FoxP3 升高的差值均高于对照组 ( $P < 0.05$ )。**结论** 哮喘宁颗粒通过诱导 Th0 细胞向 Th1 型细胞分化, 抑制 Th2 型细胞分化能力, 提高 Th1/Th2 比值, 进而提高慢性持续期哮喘患者的治愈率。

**关键词:** 哮喘宁颗粒; 支气管哮喘; 慢性持续期; Th1/Th2 免疫平衡; 转录因子

**中图分类号:** R562.25

**文献标识码:** A

## Clinical effect of xiaochuanning granule on chronic persistent bronchial asthma based on Th1/Th2 immuno-balance

Hong-yan Cao<sup>1</sup>, Hai-zhong Yu<sup>1</sup>, Jian-fen Yuan<sup>1</sup>, Chun-yan Guo<sup>1</sup>, Yan-fen Tang<sup>2</sup>

(1. Department of Laboratory, Nantong Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nantong, Jiangsu 226001, China; 2. Department of Respiratory Medicine, Nantong Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nantong, Jiangsu 226001, China)

**Abstract: Objective** To compare the clinical effect of xiaochuanning granule on chronic persistent bronchial asthma based on Th1/Th2 immuno-balance. **Methods** From January 2018 to February 2019, 130 patients with chronic persistent bronchial asthma in our hospital were collected and randomly divided into control group (salmeterol and fluticasone propionate inhalation) and observation group (salmeterol and fluticasone propionate inhalation + xiaochuanning granule). The clinical effect was observed. The changes of Th1/CD4<sup>+</sup>, Th2/CD4<sup>+</sup>, Th1/Th2, related cytokines, such as interleukin (IL)-4, IL-12, IL-17, interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), and nuclear transcription factors, such as T-box expressed in T cells (T-bet), GATA-binding protein 3 (GATA-3), retinoid related orphan nuclear receptor subfamily  $\gamma$ t (ROR  $\gamma$ t), fork-head box P3 (FoxP3) mRNAs, were compared between the two groups. **Results** After 12 months of treatment, the recovery rate of observation group were 32.31% (21/65), higher than that of control group ( $P < 0.05$ ). Patients in both groups had lower Th2/CD4<sup>+</sup>(%), serum values of IL-4, IL-17 and GATA-3 mRNA, ROR  $\gamma$ t mRNA than before treatment, while they had higher Th1/CD4<sup>+</sup>(%), Th1/Th2 ratio, the serum values of IL-10, IFN- $\gamma$  and T-bet mRNA, FoxP3 mRNA. The declined differences of Th2/CD4<sup>+</sup>(%), serum values of IL-4, IL-17 and GATA-3 mRNA, ROR  $\gamma$ t mRNA and the increased differences of Th1/CD4<sup>+</sup>(%), Th1/Th2 ratio, the serum

收稿日期: 2019-11-17

[通信作者] 郭春燕, E-mail: zbnm7005@163.com; Tel: 13962936788

values of IL-10, IFN- $\gamma$  and T-bet mRNA, FoxP3 mRNA in observation group were higher than those in control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The application of xiaochuanning granule in the treatment of chronic persistent bronchial asthma could effectively improve the clinical recovery by regulating Th1/Th2 immuno-balance, which would be recommended for an effective treatment.

**Keywords:** xiaochuanning granule; asthma; chronic persistent stage; Th1 / Th2 immuno-balance; transcription factors

辅助性 T 淋巴细胞 1 (T helper lymphocyte 1, Th1) / Th2 免疫失衡是哮喘发生的重要免疫学机制之一<sup>[1]</sup>。Th1 和 Th2 细胞亚群主要来自于 T 淋巴细胞, 分别以干扰素  $\gamma$  (interferon  $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) 和白细胞介素 4 (interleukin 4, IL-4) 为其特征性细胞分子<sup>[2]</sup>。李甫前等<sup>[3]</sup>证实, Th1、Th2 细胞及其分泌的细胞因子失衡与哮喘患者的病情进展及预后密切相关。外源性变应原侵入机体, 导致 Th 细胞分化偏移和 Th2 优势应答, 大量分泌 IL-4、IL-12 等细胞因子, 促进免疫球蛋白 E (immunoglobulin E, IgE) 合成及嗜酸性粒细胞募集等, 进而释放大量活性物质, 最终引起气道重塑和变异性反应<sup>[4]</sup>。由于哮喘迁延难愈, 长期使用西药不良反应严重, 而中医在治疗哮喘方面尤其是对于慢性持续期患者具有明显的优势。哮喘宁颗粒是调肝理肺的经典方<sup>[5]</sup>, 但是其作用机制尚不明确。本研究基于 Th1/Th2 免疫失衡理论观察哮喘宁颗粒对慢性持续期患者的临床疗效, 为临床用药提供一定的理论证据。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2018 年 1 月—2019 年 2 月在南通市中医院确诊的慢性持续期哮喘患者 130 例。其中, 男性 69 例, 女性 61 例; 年龄 18 ~ 75 岁, 平均 (52.27  $\pm$  13.64) 岁。纳入标准: ①符合中华医学会呼吸病学分会哮喘学组制定的《支气管哮喘防治指南》(2016 年版)<sup>[6]</sup>关于支气管哮喘慢性持续期的诊断标准; ②根据《中药新药临床研究指导原则》<sup>[7]</sup>、《中医内科学》<sup>[8]</sup>中医辨证分型标准, 所有患者属哮喘肺脾气虚证。排除标准: ①急性发作期或临床缓解期; ② 4 周内发生呼吸道感染或其他急慢性感染; ③合并其他呼吸道疾病、血液系统疾病、免疫系统疾病、恶性肿瘤及严重肝肾功能不全。本研究通过医院伦理委员会批准, 所有患者签订知情同意书。

### 1.2 分组

将 130 例患者按照随机数字表法分为对照组和

观察组, 每组 65 例。对照组男性 38 例, 女性 27 例; 平均年龄 (54.26  $\pm$  14.10) 岁; 平均病程 (60.48  $\pm$  38.49) 个月。观察组男性 31 例, 女性 34 例; 平均年龄 (52.18  $\pm$  13.65) 岁; 平均病程 (67.35  $\pm$  41.28) 个月。两组患者给予解痉、平喘、祛痰及抗呼吸道感染等常规西医治疗, 同时雾化吸入沙美特罗替卡松 (美国 Glaxo Smith Kline 公司, 国药准字 H20150325), 2 次 /d。观察组在西医治疗基础上, 口服哮喘宁颗粒 (贵州瑞成药业, 国药准字 Z20043506), 25 g / 次, 早晚各 1 次温水服用。连续治疗 12 周。

### 1.3 主要实验仪器及试剂

FACSCanto 流式细胞仪 (美国 BD 公司), ELISA 检测试剂盒 (上海江莱生物科技有限公司), Trizol 试剂 (美国 Sigma 公司), RNA 逆转录试剂盒 (大连宝生生物工程有限公司)。

### 1.4 方法

**1.4.1 观察指标** 采集患者空腹外肘静脉血 2 份, 每份 3 ml, 离心后取上清保存。分别采用流式细胞术检测 Th1/CD4<sup>+</sup>、Th2/CD4<sup>+</sup>、Th1/Th2 比值。另外一份血液, 采用 ELISA 抗体双夹心法检测 IL-4、IL-1 $\alpha$ 、IL-17 及 IFN- $\gamma$ 。

**1.4.2 实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR)** 采集患者治疗前后静脉血 5 ml, 加入 Ficoll 淋巴细胞分层液分离单个核细胞, 加入佛波脂刺激 4 h, 获得巨噬细胞 (M0)。按照 Trizol 法提取巨噬细胞总 RNA。根据 RNA 逆转录试剂盒说明书进行操作。将逆转录生成的 cDNA 保存至 -20 $^{\circ}$ C 冰箱。取 1  $\mu$ g cDNA 进行实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)。反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 30 s, 95 $^{\circ}$ C 变性 5 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 40 s, 共计 40 个循环。T 盒子转录因子 (T-bet) 正向引物: 5'-GCACACATTGAAGAGGACAGAC-3'; 反向引物: 5'-TATTGAAGGGGTTCTGGTG-3', 长度 142 bp。GATA 结合蛋白 3 (GATA-3) 正向引物: 5'-AAGAGGAGGAAGCCATAGCAC-3'; 反向引

物:5'-CCATTGGCAGCACTAGTTTC-3',长度118 bp。维A酸相关孤独受体亚家族 $\gamma$ t(ROR $\gamma$ t)正向引物:5'-GACACGAGAGCAGATTACAGAC-3';反向引物:5'-AAGTATTGGTCGTGGTCTGGTCG-3',长度120 bp。叉头框转录因子P3(FoxP3)正向引物:5'-GAAGCGACGGCGGCTTCCCAGC-3';反向引物:5'-GCATCCGATTGCGCCACGTCCTTT-3',长度176 bp。将反应产物进行琼脂糖凝胶电泳,以 $\beta$ -actin作为内参,采用扫描软件进行半定量分析。

### 1.5 临床疗效评定标准

参照《中药新药临床研究指导原则》<sup>[7]</sup>关于喘息性支气管炎的疗效评估标准:疗效指数=(治疗前积分-治疗后积分)/治疗前积分 $\times$ 100%。①治愈:疗效指数 $\geq$ 95%;②显效:疗效指数70%~<95%;③有效:疗效指数30%~<70%;④无效:疗效指数<30%。

### 1.6 统计学方法

数据分析采用SPSS 20.0统计软件。计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,比较用 $t$ 检验;计数资料以率(%)表示,比较用 $\chi^2$ 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组临床资料比较

两组年龄、病程比较,经 $t$ 检验,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。两组性别构成比较,经 $\chi^2$ 检验,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。见表1。

### 2.2 两组临床疗效比较

治疗12周后,对照组与观察组总有效率比较,经 $\chi^2$ 检验,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。两组治愈率比较,经 $\chi^2$ 检验,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),观察组高于对照组。见表2。

表1 两组临床资料比较 ( $n=65$ )

组别	年龄/(岁, $\bar{x}\pm s$ )	男/女/例	病程/(月, $\bar{x}\pm s$ )
对照组	54.26 $\pm$ 14.10	38/27	60.48 $\pm$ 38.49
观察组	52.18 $\pm$ 13.65	31/34	67.35 $\pm$ 41.28
$t/\chi^2$ 值	0.855	0.513	0.981
$P$ 值	0.394	0.219	0.328

表2 两组临床疗效比较 [ $n=65$ ,例(%)]

组别	治愈	显效	有效	无效	总有效
对照组	9(13.85)	27(41.54)	22(33.85)	7(10.77)	58(89.23)
观察组	21(32.31)	25(38.46)	15(23.08)	4(6.15)	61(93.85)
$\chi^2$ 值	6.240				0.894
$P$ 值	0.013				0.344

### 2.3 两组Th1/CD4<sup>+</sup>、Th2/CD4<sup>+</sup>、Th1/Th2比值及炎症细胞因子变化

两组治疗前后Th1/CD4<sup>+</sup>、Th2/CD4<sup>+</sup>、Th1/Th2比值的差值,以及炎症细胞因子的差值比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),观察组Th2/CD4<sup>+</sup>和血清IL-4、IL-17降低的差值,以及Th1/CD4<sup>+</sup>、Th1/Th2比值、血

清IL-12、IFN- $\gamma$ 升高的差值均高于对照组。见表3。

### 2.4 两组转录因子的变化

两组治疗前后T-bet、FoxP3、GATA-3、ROR $\gamma$ t的差值比较,经 $t$ 检验,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),观察组T-bet、FoxP3升高的差值,以及GATA-3、ROR $\gamma$ t降低的差值高于对照组。见表4。

表3 两组治疗前后Th1/CD4<sup>+</sup>、Th2/CD4<sup>+</sup>、Th1/Th2比值的差值比较 ( $n=65$ , $\bar{x}\pm s$ )

组别	Th1/Th2平衡			细胞因子/(ng/L)			
	Th1/CD4 <sup>+</sup> %	Th2/CD4 <sup>+</sup> %	Th1/Th2	IL-4	IL-12	IL-17	IFN- $\gamma$
对照组	3.96 $\pm$ 2.47	-2.81 $\pm$ 1.52	0.19 $\pm$ 0.22	-17.34 $\pm$ 16.71	77.37 $\pm$ 35.69	-1.13 $\pm$ 1.40	306.62 $\pm$ 117.23
观察组	8.14 $\pm$ 2.65	-5.64 $\pm$ 2.20	0.47 $\pm$ 0.19	-32.76 $\pm$ 25.79	207.07 $\pm$ 55.83	-2.74 $\pm$ 2.09	583.13 $\pm$ 275.48
$t$ 值	9.303	8.533	7.766	4.046	15.784	5.160	7.446
$P$ 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 4 两组治疗前后转录因子的差值比较 ( $n=65, \bar{x} \pm s$ )

组别	T-bet	GATA-3	ROR $\gamma$ t	FoxP3
对照组	0.22 $\pm$ 0.13	-0.09 $\pm$ 0.15	-0.04 $\pm$ 0.01	0.46 $\pm$ 0.21
观察组	0.34 $\pm$ 0.20	-0.26 $\pm$ 0.17	-0.17 $\pm$ 0.05	0.79 $\pm$ 0.22
<i>t</i> 值	4.056	6.045	20.549	8.748
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000

### 3 讨论

我国有多年的哮喘中医治疗历史,早在《素问》中就提出“乳子中风热,喘鸣肩息者,脉实大也”。从中医角度分析,腑气郁滞、肺气上逆是哮喘发生的病机,因此气机调理是多数中医学专家的治疗思想<sup>[9]</sup>。汉代张仲景提出“病痰饮者,当以温药和之”。唐孙思邈在《备急千金药方》中也提到“咳逆上气者,可内服五味细辛汤;而冷哮者,可加以阿胶调理,注重补肺、扶正、祛痰”。之后,明代张景岳首次提出应依据发作期和缓解期,急治标,缓治本,应虚实辨证治疗<sup>[10]</sup>。近现代,随着中医学理论的发展成熟,中医学专家对该病的病理机制也逐渐有了新的认识。晁恩祥等<sup>[11]</sup>提出,风盛痰阻、气机上行为急性发作期患者的主要病理机制,而日久痰阻,损及脏腑,哮喘喘息轻重间作为慢性缓解期的表现,需依据病及特点,辨证论治。武维屏等<sup>[12]</sup>认为本病病位在肝和肺,肝主疏泄,且肝肺相关,肝气通顺则肺气自平,提倡在慢性缓解期宜调肝理肺,从而根据多年的临床思想,提出“哮喘宁颗粒”经验方。

哮喘宁颗粒由柴胡、黄芩、清半夏、白芍、枳壳等组成,本方重在疏肝理气,清泻肺热,使气机升降平衡,从而避免风、热、痰、淤、气等产生<sup>[13]</sup>。既往临床上中医和西医关于哮喘的临床分期有所不同,中医分为发作期和缓解期,而西医分为急性发作期、慢性持续期和临床缓解期,但是随着中西医结合在临床上的应用越来越普遍,中医临床上也逐渐采用西医分期标准。不可否认的是,糖皮质激素、镇咳、平喘等西药在急性发作期的临床症状改善方面具有十分突出的优势,但是中药在慢性持续期的治疗优势也逐渐凸显,因此中西医结合治疗是目前临床上哮喘慢性持续期患者的首选方案<sup>[14]</sup>。目前临床上,经验方虽然在辨证论治方面具有一定的特色,但是也存在没有明确的疗效标准、机制不确切等不足,从而在临床应用上处于被动地位。

本实验由于病例数偏少或者西药本身在改善临床症状方面具有突出的优势,未发现两组总有效率有差异,但是观察组哮喘治愈率高于对照组。从发病机制分析,哮喘属于慢性气道炎症反应,而且气道非特异性炎症反应持续存在是哮喘迁延难愈的主要原因。一旦涉及到炎症反应就会有免疫细胞参与,尤其是T淋巴细胞在其中扮演着关键角色。高阳等<sup>[15]</sup>证实,支气管哮喘患者外周血Th1、Th2与Th17细胞表达水平失衡,导致IFN- $\gamma$ 、IL-4及IL-17等细胞因子分泌异常,推断可能是哮喘发病的重要病理学机制之一。正常状态下Th1/Th2处于相对稳定状态,机体炎症反应会激活Th0细胞分化生成Th2/CD4<sup>+</sup>细胞,Th1型细胞分化作用相对减弱,通过诱导产生IgE,介导体液免疫,加重哮喘的进展。本研究中,治疗12周后,两组患者Th2/CD4<sup>+</sup>及血清IL-4、IL-17较治疗前降低,同时Th1/CD4<sup>+</sup>、Th1/Th2比值和血清IL-12、IFN- $\gamma$ 较治疗前升高,而且观察组Th2/CD4<sup>+</sup>及血清IL-4、IL-17低于对照组,同时Th1/CD4<sup>+</sup>、Th1/Th2比值和血清IL-12、IFN- $\gamma$ 高于对照组。IL-4是Th2型细胞的典型分子,而IL-12和IFN- $\gamma$ 是Th1细胞的特征性细胞因子。通过观察Th1、Th2细胞平衡和相应的细胞因子水平变化,说明哮喘宁颗粒可通过调节机体Th1/Th2型细胞平衡起到改善哮喘症状的作用。另外,T-bet、GATA-3、ROR  $\gamma$  t、FoxP3是T细胞相关转录因子,可调控或阻断Th0细胞向Th1或Th2分化,进而影响Th1/Th2平衡<sup>[16]</sup>。在本研究中,观察组T-bet、FoxP3高于对照组,同时ROR  $\gamma$  t低于对照组,这与细胞因子的变化趋势基本一致,从而进一步证实哮喘宁颗粒对Th1/Th2平衡的作用。

综上所述,本研究揭示哮喘宁颗粒通过诱导Th0细胞向Th1型细胞分化,抑制Th2型细胞分化能力,提高Th1/Th2比值,进而提高慢性持续期哮喘患者的治愈率,为临床应用提供了理论基础。

## 参 考 文 献:

- [1] 赵春兰, 于华凤, 吕欣. T 淋巴细胞在哮喘发病机制中的作用 [J]. 生命的化学, 2016, 36(6): 868-873.
- [2] FOSTER P S, MALTBY S, ROSENBERG H F, et al. Modeling TH2 responses and airway inflammation to understand fundamental mechanisms regulating the pathogenesis of asthma[J]. Immunol Rev, 2017, 278(1): 20-40.
- [3] 李甫前. Th1、Th2 细胞及其分泌的相关因子失衡与哮喘患者预后相关性 [J]. 中国医药导报, 2014, 11(14): 20-23.
- [4] HU C, LI Z, FENG J, et al. Glucocorticoids Modulate Th1 and Th2 responses in asthmatic mouse models by inhibition of notch1 signaling[J]. Int Arch Allergy Immunol, 2018, 175(1-2): 44-52.
- [5] 逯敏娟. 哮喘宁联合布地奈德气雾剂治疗支气管哮喘 45 例疗效观察 [J]. 陕西医学杂志, 2016, 44(5): 607-608.
- [6] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南 (2016 年版) [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2016, 39(9): 675-697.
- [7] 国家中医药管理局. 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: 219.
- [8] 石岩主编. 中医内科学 (第七版) [M]. 北京: 科学出版社, 2018: 69.
- [9] 叶超, 林色奇, 薛汉荣, 等. 基于病情变化术语的名老中医哮喘医案的疗效评价研究 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(12): 5641-5643.
- [10] 张轩, 刘忠第, 贺娟. 五脏病患者出生期运气相合特点的临床研究 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(8): 3405-3408.
- [11] 杨玉萍, 晁恩祥. 国医大师晁恩祥教授从风论治呼吸疾病理论 [J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(12): 3702-3704.
- [12] 任传云, 武维屏. 武维屏应用痛泻要方加味治疗咳、喘、哮经验 [J]. 中医杂志, 2019, 19(6): 469-471.
- [13] 鲍慧玮, 徐阳, 王楚盈, 等. HPLC 法同时测定哮喘宁颗粒中 9 种成分的含量 [J]. 中药材, 2018, 41(12): 2856-2859.
- [14] 弓少康, 高丹, 方泓. 支气管哮喘中西医临床治疗进展 [J]. 中医临床研究, 2018, 8(5): 130-134.
- [15] 高阳, 杨帆. 支气管哮喘患者外周血 Th1、Th2 与 Th17 细胞表达水平及临床意义 [J]. 解放军医药杂志, 2017, 24(1): 76-79.
- [16] WRIGHT B L, NGUYEN N, SHIM K P, et al. Increased GATA-3 and T-bet expression in eosinophilic esophagitis versus gastroesophageal reflux disease[J]. J Allergy Clin Immunol, 2018, 141(5): 1919-1921.

(唐勇 编辑)

本文引用格式: 曹红艳, 喻海忠, 袁建芬, 等. 哮喘宁颗粒对哮喘慢性持续期患者的临床疗效分析 [J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(8): 45-49.