

# 参麦注射液对 CPHD患者细胞免疫功能的影响

张新江<sup>1</sup>, 郑建忠<sup>2</sup> (1.新疆维吾尔自治区人民医院分院药剂科, 乌鲁木齐 830054; 2.新疆医科大学第二附属医院普外科, 乌鲁木齐 830028)

**摘要:**目的 通过观察参麦注射液对慢性肺原性心脏病 (CPHD)患者细胞免疫功能的影响,探讨 CPHD患者的发病与机体免疫的关系。方法 采用流式细胞术检测 20例 CPHD患者外周血 T淋巴细胞亚群和 NK(CD3-/CD16+56+)细胞; RT-PCR方法检测 IL2、IFN $\gamma$ mRNA的表达。结果 CPHD患者 CD3+、CD4+和 CD4/CD8比值明显低于对照组并有统计学意义,而 CD8+细胞高于对照组 ( $P < 0.01$ ),参麦注射液治疗后 CD3+、CD4+、CD3-/CD16+56+细胞和 CD4/CD8比值都升高,其中 CD4+、CD3+细胞与治疗前比较有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),而 CD8+细胞与治疗前比较降低 ( $P < 0.05$ )。参麦注射液能促进 T细胞分泌细胞因子 IL2、IFN $\gamma$ mRNA的表达。结论 当 CPHD患者免疫功能低下时,选用参麦注射液治疗能够提高机体的细胞免疫功能。

**关键词:**慢性肺原性心脏病;参麦注射液;免疫功能

中图分类号: R979.5 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2008)08-0750-03

慢性肺原性心脏病 (CPHD)是由于肺功能或肺结构的损害导致右心肥厚和扩张的疾病,它是呼吸系统的一种常见病

由于患病人数多,死亡率高,在世界居死亡原因第四位,根据世界银行 世界卫生组织研究,在 2020年 CPHD将成为世界

作者简介:张新江,男,副主任药师 Tel: (0991) 3849082

疾病经济负担第五位。在我国北部及中部地区成年人群调查,CPHD约占15岁以上人口的3%,患病率之高是十分惊人的。因此,对CPHD的研究是国内外呼吸内科重大研究项目之一。随着临床免疫学的深入发展,CPHD与以T淋巴细胞为主的细胞免疫有着密切联系,免疫调节机制的紊乱可能是CPHD的发病机制之一。参麦注射液在临床上作为免疫调节剂进行观察。我们通过实验观察参麦注射液对CPHD患者T淋巴细胞亚群、NK细胞百分比以及IL2、IFN $\gamma$ mRNA水平的影响,探讨CPHD患者的发病与机体免疫的关系,为CPHD发病机制提供理论依据,从而促进了对CPHD病人细胞免疫功能的研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 临床资料

选择40例CPHD病人(均符合慢性肺原性心脏病的诊断标准<sup>[1]</sup>)通过临床检测,病人外周血中T淋巴细胞指标均明显降低,将40例分成两组,20例为用药组(参麦注射液),男15例,女5例,平均年龄62.5岁;常规治疗组20例,男15例,女5例,平均年龄60岁;正常对照组20例,男15例,女5例,平均年龄62岁。

### 1.2 治疗方法

入院后首先采静脉血用于检测,然后给予抗感染、吸O<sub>2</sub>、平喘、化痰等综合治疗(对照组)。治疗组同时加用参麦注射液50 mL加入5%葡萄糖液250 mL中静滴,连用14 d为一个疗程。治疗后再次采血检测,正常对照组20例,男15例,女5例,平均年龄62岁。

### 1.3 主要试剂和仪器

流式细胞仪FACSCalibur(美国BD公司)。本研究使用的双色荧光抗体均是FITC/PE标记的鼠抗人的单克隆抗体,包括CD3/CD4、CD3/CD8、CD3/CD16+56、IgG1/IgG1(同型阴性对照)(深圳达科为生物技术有限公司)。TrizolRNA提取试剂盒(长春宝泰克生物技术公司)。IL2、IFN $\gamma$ 、 $\beta$ -actin引物(大连宝生物工程技术有限公司)。

### 1.4 实验方法

**1.4.1 FCM检测** 取肝素抗凝血100  $\mu$ L,分别加入荧光标记抗体10  $\mu$ L,振荡混匀后避光20 min,加入2 mL溶血素,振荡混匀,溶血10 min,离心(1 000  $r \cdot \text{min}^{-1}$ , 10 min),用0.01 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>, pH7.0 PBS洗涤2遍,再加入500  $\mu$ L的PBS混匀,10 min后上机检测。在CELLQuest功能软件下进行双参数获得数据分析淋巴细胞CD3、CD4、CD8、CD16+56阳性表达率及CD4/CD8比值。

**1.4.2 RT-PCR方法检测 IL2、IFN $\gamma$ mRNA的表达**

按照Trizol试剂盒说明抽提白细胞总RNA,将产物进行紫外定量及甲醛变性琼脂糖电泳观察RNA是否降解。IL2引物1(5'-ATGTACAGGAGCAACTCCTGTCTT-3'),引物2(5'-GTTAGTGTGAGATGATGCTTTGAC-3'); IFN $\gamma$ 引物1(5'-ATGAAATATACAAGTTATATCTTGGCTTT-3');引物2(5'-GATGCTCTTCGACCTCGAAACAGCAT-3')。取5  $\mu$ LRNA作模板,分别以引物2逆转录合成IL2、IFN $\gamma$ cDNA。第一链再以cDNA为模板进行PCR扩增IL2、IFN $\gamma$ 的DNA。反应参数为:94  $^{\circ}$ C变性1 min, 58  $^{\circ}$ C 1 min; 72  $^{\circ}$ C 2 min,共35循环,72  $^{\circ}$ C延伸10 min,扩增产物在1.5%琼脂糖凝胶上电泳观察DNA带的强弱,并以 $\beta$ actin为对照。紫外分析仪进行电泳图像扫描分析,以评价IL2、IFN $\gamma$ mRNA的相对表达水平。

### 1.4.3 统计学方法

所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组之间的数值比较采用两样本均数t检验。

**2 结果**

**2.1 常规治疗 CPHD与对照组(正常人)的比较** CPHD组CD3、CD4下降,CD8升高( $P < 0.01$ )。

CD4/CD8比值和NK细胞数明显下降,差异呈显著性( $P < 0.05$ ),见表1。

### 2.2 参麦注射液与常规治疗 CPHD比较

治疗组的CD3、CD4明显的增高,与常规治疗组比较差异有显著性( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );而CD8降低,CD4/CD8比值和NK细胞数量有升高趋势,但无统计学意义,见表1。

### 2.3 参麦注射液对 CPHD患者 IL2、IFN $\gamma$ mRNA的影响

经1.5%琼脂糖凝胶定性检测,治疗组IL2、IFN $\gamma$ mRNA表达水平与常规治疗组比较明显增高。实验结果进一步从基因水平上验证了参麦注射液对IL2、IFN $\gamma$ 的表达有促进作用。

表1 参麦注射液对T细胞亚群及NK细胞的影响

分组	T细胞亚群				NK
	CD3 +	CD4 +	CD8 +	CD4 + /CD8 +	CD3-/CD16 + 56 +
正常对照组	65.72 $\pm$ 8.45	40.55 $\pm$ 6.88	24.62 $\pm$ 5.82	1.52 $\pm$ 0.38	15.22 $\pm$ 4.56
常规治疗组	57.44 $\pm$ 8.14	32.09 $\pm$ 8.46	29.56 $\pm$ 6.58	1.01 $\pm$ 0.22	11.25 $\pm$ 6.88
治疗组	62.58 $\pm$ 6.36	38.33 $\pm$ 7.38	27.62 $\pm$ 4.03	1.21 $\pm$ 0.56	12.68 $\pm$ 7.25

## 3 讨论

随着临床免疫学理论的深入发展,对原始观点认为:CPHD是长期呼吸道感染,加重机体缺O<sub>2</sub>、CO<sub>2</sub>潴留,造成通气换气功能障碍,导致心肺功能衰竭这一机制,有了新的学说:1.长期反复感染,使机体免疫功能发生紊乱和低下;2.感染亦可以使肺组织受到损害,导致呼吸功能进一步损伤,机体缺氧,CO<sub>2</sub>潴留,组织细胞特别是T淋巴细胞内无氧酵解

增强,乳酸堆积,高能磷酸键合成障碍,使免疫功能障碍;3.长期使用抗生素,尤其高档抗生素,可以抑制免疫调节系统,造成体内菌群失调,加重病情恶化;4.由于免疫功能低下,机体容易发生感染。这一系列恶性循环,使病情逐渐加重。因此出现临床上所发生一系列CPHD并发症,导致一部分病人失去治疗最佳时期。1986年Mosmann等<sup>[2]</sup>首先在小鼠身上发现:T淋巴细胞中辅助性T细胞(CD4+)受抗原刺激后

可分化成为 Th1 和 Th2,分别分泌不同的细胞因子, Th1 分泌 IL-2、IFN $\gamma$  等,主要参与细胞免疫应答。Th2 分泌 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10 及 IL-13 等,刺激 B 细胞增殖产生抗体即主要介导机体的体液免疫应答。IL-2 有多种免疫增强效应,增强细胞免疫功能,也能促进 B 淋巴细胞产生免疫应答,同时促进 NK 细胞的增殖。另外 T 淋巴细胞亚群中抑制性 T 细胞 (CD8 $^{+}$ ) 则有免疫抑制和细胞毒性的作用。CD8 $^{+}$  T 细胞也分泌 Th1 型和 Th2 型细胞因子,它们分别被 Mosmann 等<sup>[2]</sup>称为 Tc1 和 Tc2 细胞。通过对两组 40 例 (每组 20 例) CPHD 病人外周血检测观察, CD3、CD4、CD4/CD8 明显降低,而 CD8 明显升高,说明 CPHD 病人免疫功能低下,这不可避免加重病人感染程度,体内缺 O $_2$ 、CO $_2$  潴留,心肺功能衰竭以及多脏器衰竭。参麦注射液系古代名方“参麦饮”改剂型产品,由红参、麦冬的有效成份人参皂苷、麦冬皂苷、麦冬黄酮及微量人参多糖和麦冬多糖组成。人参有补气益血、健脾生津;麦冬养阴、清热,全方共奏补气益血、养阴生津之功效。人参皂苷能通过刺激正常红系、粒系祖细胞的增殖,促进血细胞生成,也能促进免疫球蛋白生成,能使淋巴细胞数量增加,促进淋巴母细胞转化,增加网状内皮细胞的功能,增强机体免疫能力<sup>[3]</sup>。同时人参皂苷能阻止细胞钙通道,防止钙超载,减轻或抑制心肌细胞结构的破坏,对心脏具有一定的保护作用<sup>[4]</sup>。

因此我们从免疫学角度上选用参麦注射液对 CPHD 病人进行免疫调节治疗,经过一个疗程 (15 d) 后,对用药治疗组 20 例病人采用流式细胞术检测病人外周血 T 淋巴细胞亚群和 NK (CD3 $^{-}$ /CD16 $^{+}$ 56 $^{+}$ ) 细胞;同时利用 RT-PCR 方法检测 IL2、IFN $\gamma$ mRNA 的表达水平,结果显示:参麦注射液治疗后 CD3 $^{+}$ 、CD4 $^{+}$ 、CD3 $^{-}$ /CD16 $^{+}$ 56 $^{+}$ 细胞和 CD4/CD8 比值都有所升高,其中 CD3 $^{+}$ 、CD4 $^{+}$ 细胞与治疗前比较有统计

学意义 ( $P < 0.05$ ),而 CD8 $^{+}$ 细胞与治疗前比较降低 ( $P < 0.05$ ),同时参麦注射液对 IL2、IFN $\gamma$ mRNA 表达水平增高。IL-2 是 T 淋巴细胞产生的细胞因子,IL-2 含量增高与 T 淋巴细胞密切相关。实验表明:参麦注射液对白细胞表面分化抗原 CD 分子有不同的影响。能使 CD3、CD4、CD4/CD8 比值有不同程度的升高,而使 CD8 下降,具有增强 Th 及降低 Ts 的作用,并且从基因水平验证参麦注射液具有促进 IL-2、IFN $\gamma$  表达作用。本研究证实参麦注射液具有增强免疫功能的作用和调节免疫应答的作用。参麦注射液能增强 T 淋巴细胞的转化,提高 NK 细胞毒活性,促进 IL-2 分泌。参麦注射液通过增强 T 淋巴细胞亚群中 CD3、CD4、CD4/CD8 的比值,促进机体细胞免疫应答调节优势,增强 CPHD 病人免疫功能状态而提高了机体的抗感染、抗病毒能力,通过改善机体细胞缺氧状态而改善淋巴细胞自身功能,间接促进淋巴细胞 DNA 合成。

#### 参考文献

- [1] CH PERINGS, ST STEINER. ST M-PERINGS. Diagnostik des chronischen Copulmonale [ J ]. Deutsche Medizin, 2000, 17 ( 2 ): 98-101.
- [2] MOSMANN T R, SAD S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more [ J ]. Immunol Today, 1998, 19 ( 3 ): 142.
- [3] 陈小红,高瑞兰,徐卫红,等.人参皂甙对红系、粒单系、巨核系细胞株的增殖及传导因子的诱导作用 [ J ].中国中西医结合杂志, 2001, 21 ( 1 ): 40.
- [4] 张子新,贾志梅.参麦注射液治疗冠心病心绞痛 100 例 [ J ].中国中西医结合杂志, 2003, 23 ( 7 ): 555.