

补肺活血法治疗 COPD 稳定期患者的疗效及对肺血管重塑、Th17/Treg 免疫平衡的影响

李晓丹 王 坤 张春阳

(天津中医药大学第二附属医院呼吸科, 天津, 300000)

摘要 目的:研究补肺活血法治疗慢性阻塞性肺疾病(COPD)稳定期患者的疗效及对肺血管重塑、辅助性 T 细胞 17(Th17)/调节性 T 细胞(Treg)免疫平衡的影响。方法:选取 2015 年 3 月至 2017 年 10 月天津中医药大学第二附属医院确诊为稳定期 COPD 的患者 134 例作为研究对象,按照随机数字表法分为对照组和观察组,每组 67 例。对照组接受常规治疗,观察组接受补肺颗粒联合常规治疗。治疗前及治疗后 12 周,测定肺功能及外周血管重塑指标、Th17/Treg 指标的含。结果:2 组患者治疗后的肺活量(FVC)、第 1 秒用力呼气量(FEV1)、FEV1/FVC 水平均升高,外周血缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、血管内皮生长因子(VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、高迁移率族蛋白 1(HMGB1)、白细胞介素-17(IL-17)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)含量及 Th17/Treg 比例均降低且观察组患者治疗后的 FVC、FEV1、FEV1/FVC 水平均高于对照组,外周血 HIF-1 α 、VEGF、bFGF、HMGB1、IL-17、TGF- β 1 含量及 Th17/Treg 比例均低于对照组。结论:补肺活血法治疗 COPD 稳定期患者能够改善肺功能、延缓肺血管重塑、改善 Th17/Treg 免疫平衡。

关键词 慢性阻塞性肺疾病;肺功能;血管重塑;辅助性 T 细胞 17;调节性 T 细胞;免疫平衡;血管内皮生长因子;碱性成纤维细胞生长因子

Efficacy of Bufe Huoxue Method in Treating Stable COPD Patients and its Effects on Pulmonary Vascular Remodeling, Th17/Treg Immune Balance

Li Xiaodan, Wang Kui, Zhang Chunyang

(Respiratory Department, Second Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300000, China)

Abstract Objective: To study the effects of Bufe Huoxue method in treating stable chronic obstructive pulmonary disease (COPD) patients and its effect on pulmonary vascular remodeling, T helper cell 17 (Th17)/Regulatory T cell (Treg) immune balance. **Methods:** A total of 134 patients diagnosed as stable COPD in Second Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine during March 2015 to October 2017 were randomly divided into an observation group receiving routine treatment combined with Bufe Granules, and a control group receiving routine treatment, with 67 cases in each group. Before treatment and 12 weeks after treatment, pulmonary function and vessel remodeling indexes, Th17/Treg index in peripheral blood were measured. **Results:** After treatment, forced vital capacity (FVC), 1 second forced expiratory volume (FEV1) and FEV1/FVC levels in 2 groups increased. the contents of hypoxia inducible factor-1 α (HIF- α), vascular endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (bFGF), high migration rate group protein 1 (HMGB1), and interleukin-17 (IL-17), transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) and the proportion of Th17/Treg in peripheral blood all decreased and FVC, FEV1 and FEV1/FVC levels of THE observation group were higher than those of the control group. The content of HIF-1 α , VEGF, bFGF, HMGB1, IL-17, TGF- β 1 and the proportion of Th17/Treg in peripheral blood were all lower than those of the control group. **Conclusion:** Bufe Huoxue therapy can improve lung function, delay pulmonary vascular remodeling and improve Th17/Treg immune balance in stable COPD patients.

Key Words Chronic obstructive pulmonary disease; Pulmonary function; Vascular remodeling; T helper cells 17; Regulatory T cells; Immune balance; Vascular endothelial growth factor; Basic fibroblast growth factor

中图分类号: R242; R563 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2019.12.042

慢性阻塞性肺疾病(Chronic Obstructive Pulmonary Disease, COPD)是一类以不完全可逆性气流受限为特征的慢性肺疾病,不仅可直接累及气道、损害肺功能并影响生命质量,还会在长期慢性缺氧的基础上诱发肺血管重塑、辅助性 T 细胞 17(Th17/调节

性 T 细胞(Treg)免疫应答失衡,进而增加肺心病的肺外并发症的发生风险^[1-2]。近年来,中药方剂在慢性肺部疾病治疗中的价值受到了越来越多的关注,根据中医理论,肺主气、具有调节全身气机并推动血液循环的作用,COPD 属于“肺胀”的范畴,应当进行

补气活血的治疗。已有研究报道,补气活血汤用于 COPD 治疗能够显著改善证候积分、调节痰炎症细胞比例^[3],但关于补肺活血汤对 COPD 稳定期患者肺血管重塑及 Th17/Treg 平衡的影响尚未明确。在下列研究中,我们具体分析了补肺活血汤治疗 COPD 稳定期患者的疗效及对肺血管重塑、Th17/Treg 免疫平衡的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 3 月至 2017 年 10 月期间天津中医药大学第二附属医院确诊为稳定期 COPD 的患者 134 例作为研究对象,均符合 COPD 诊断标准且分期为稳定期,肺功能分级为 III-IV 级,排除合并支气管哮喘、支气管扩张、肺部感染、自身免疫性疾病、恶性肿瘤的患者。共 134 例符合标准的患者纳入研究,采用随机数字表将其分为观察组和对照组,每组 67 例。观察组中男 38 例,女 29 例,年龄 59~73 岁,平均年龄(66.41±7.93)岁,肺功能 III 级 41 例、IV 级 26 例;对照组中男 40 例,女 27 例,年龄 61~74 岁,平均年龄(66.98±7.84)岁,肺功能 III 级 42 例、IV 级 25 例。2 组间一般资料的比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。此次研究经伦理委员会批准(伦理批件号:20141121)。

1.2 诊断标准

1.2.1 西医诊断标准 依据《慢性阻塞性肺疾病诊治指南》标准患者有:1)呼吸困难、慢性咳嗽、咳痰病史;2)有吸烟等危险因素或 COPD 家族史;3)存在气流受限:吸入支气管扩张剂之后 FEV1/FVC 小于 70%。

1.2.2 中医诊断标准 参照我国中药管理局《中医病证诊断疗效标准》存在慢性咳嗽、乏力气短,咯大量白色黏痰,呼吸困难,畏寒肢冷,面色紫暗,心悸,舌质暗、苔滑,舌下瘀点、脉弦细;有危险因素接触史。

1.3 纳入标准 1)所有患者诊断明确,均完善各种化验指标;2)所有患者均签署自愿参与治疗同意书。

1.4 排除标准 1)伴有严重心脑血管疾病患者;2)对治疗药物有过敏的患者;3)有精神疾病患者。

1.5 脱落与剔除标准 治疗期间未能规律服药及中途退出治疗的患者。

1.6 治疗方法 2 组患者按照 COPD 稳定期的常规方法进行治疗,包括长期家庭氧疗、沙美特罗替卡松(Glaxo Wellcome production,1 吸/次、2 次/d,噻托溴

铵粉雾剂(正大天晴)、1 粒/次、1 次/d。观察组在常规治疗的基础上加用补肺颗粒治疗,方法如下:黄芪 45 g、丹参 30 g、全瓜蒌 20 g、赤芍、茯苓各 15 g、紫苏子、浙贝母、甘草各 10 g(天津中经堂大药房供应)煎取药汁 300 mL 后分早晚各一次服用。连续治疗 12 周为治疗疗程。

1.7 观察指标及方法

1.7.1 肺功能观察指标 治疗前及治疗后 12 周时,分别采用肺功能仪测定 2 组患者的用力肺活量(FVC)及第 1 秒用力呼气量(FEV1),计算 FEV1/FVC。

1.7.2 外周血指标测定 治疗前及治疗后 12 周时,采集空腹肘静脉血 5 mL,按照 Elisa 试剂盒进行操作并测定缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、血管内皮生长因子(VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、高迁移率族蛋白 1(HMGB1)、白细胞介素-17(IL-17)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)的含量;孵育 CD4、IL-17 的荧光抗体后在流式细胞仪上测定 Th17 的含量,孵育 CD4、CD25、FOXP3 的荧光抗体后在流式细胞仪上测定 Treg 的含量。

1.8 疗效判定标准 观察 2 组患者治疗后肺功能 FVC/FEV1/FVC 改善情况及外周血中 HIF-1 α 、VEGF、bFGF、HMGB1、Th17、Treg 细胞及细胞因子,依据其正常临床值指标及意义,判断 2 种治疗方式的优劣。

1.9 统计学方法 采用 SPSS 18.0 统计软件进行数据分析,2 组间计量资料的比较采用成组 t 检验、组内计量资料的比较采用配对 t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组患者疗效的比较 与治疗前比较,2 组患者治疗后的 FVC、FEV1、FEV1/FVC 水平均升高($P<0.05$);观察组患者治疗前的 FVC、FEV1、FEV1/FVC 水平与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$),治疗后的 FVC、FEV1、FEV1/FVC 水平高于对照组($P<0.05$)。见表 1。

表 1 2 组患者治疗前后肺功能参数的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	FVC	FEV1	FEV1/FVC
对照组($n=67$)			
治疗前	1.91±0.22	1.24±0.17	64.92±7.68
治疗后	2.18±0.28*	1.55±0.14*	71.10±8.34*
观察组($n=67$)			
治疗前	1.89±0.25	1.22±0.17	64.55±8.12
治疗后	2.41±0.36* Δ	1.89±0.22* Δ	78.42±9.85* Δ

注:与治疗前比较,* $P<0.05$;与对照组比较, $\Delta P<0.05$

表2 2组患者治疗前后外周血中血管重塑分子的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	HIF-1 α (pg/mL)	VEGF (pg/mL)	bFGF (ng/mL)	HMGB1 (ng/mL)
对照组 ($n=67$)				
治疗前	80.12 \pm 8.72	88.93 \pm 9.41	143.89 \pm 14.77	3.25 \pm 0.42
治疗后	68.94 \pm 8.14*	70.46 \pm 7.29*	114.52 \pm 14.85*	2.41 \pm 0.33*
观察组 ($n=67$)				
治疗前	79.51 \pm 9.32	89.31 \pm 10.32	144.18 \pm 15.85	3.18 \pm 0.46
治疗后	56.31 \pm 7.23* Δ	61.38 \pm 7.84* Δ	89.33 \pm 10.38* Δ	1.88 \pm 0.24* Δ

注:与治疗前比较,* $P < 0.05$;与对照组比较, $\Delta P < 0.05$

2.2 2组患者外周血中血管重塑分子的比较 与治疗前比较,2组患者治疗后的外周血 HIF-1 α 、VEGF、bFGF、HMGB1 含量均降低($P < 0.05$);观察组患者治疗前的外周血 HIF-1 α 、VEGF、bFGF、HMGB1 含量与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),治疗后的外周血 HIF-1 α 、VEGF、bFGF、HMGB1 含量低于对照组($P < 0.05$)。见表2。

2.3 2组患者外周血 Th17、Treg 细胞及细胞因子的比较 与治疗前比较,2组患者治疗后的外周血 Th17/Treg 比例及 IL-17、TGF- β 1 含量均降低($P < 0.05$);观察组患者治疗前的外周血 Th17/Treg 比例及 IL-17、TGF- β 1 含量与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),治疗后的外周血 Th17/Treg 比例及 IL-17、TGF- β 1 含量低于对照组($P < 0.05$)。见表3。

表3 2组患者治疗前后外周血中 Th17、Treg 细胞及细胞因子的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	Th17/Treg	IL-17 (pg/mL)	TGF- β 1 (pg/mL)
对照组 ($n=67$)			
治疗前	1.01 \pm 0.13	37.11 \pm 5.13	84.12 \pm 9.98
治疗后	0.89 \pm 0.12*	28.48 \pm 3.61*	63.41 \pm 7.86*
观察组 ($n=67$)			
治疗前	1.04 \pm 0.16	36.58 \pm 4.47	83.58 \pm 10.72
治疗后	0.73 \pm 0.09* Δ	20.33 \pm 3.32* Δ	48.71 \pm 6.24* Δ

注:与治疗前比较,* $P < 0.05$;与对照组比较, $\Delta P < 0.05$

3 讨论

COPD 的病理特征的气道慢性炎症及不可逆性气流受限,常用的西医药物,如沙美特罗替卡松、噻托溴铵等,能够在一定程度上抑制气道炎症、舒张气道平滑肌,进而使患者的肺功能得到改善。但在 COPD 病理进程中,不仅存在气流受限及肺功能的改变,还会在长期气流受限、慢性缺氧的基础上引起肺血管重塑、免疫应答紊乱并增加肺心病等肺外并发症的发生风险,常规西医药物对 COPD 病程中肺血管重塑、免疫应答紊乱的改善作用并不理想^[4-5]。根据中医理论,COPD 属于“肺胀”范畴、病位在肺,肺主气,COPD 患者体内肺脏调节全身气机并推动

血液循环的作用受到影响,应当针对性地给予补肺活血的药物。本研究所采用的补肺活血方已经被证实能够显著改善 COPD 稳定期患者的证候积分^[3],但对肺功能的影响尚未明确。肺功能改变是 COPD 病程中最基本的病变特征,为了明确补肺活血汤用于稳定期 COPD 治疗的效果,我们对治疗前后肺功能的变化进行了分析并发现:2组患者治疗后的 FVC、FEV1、FEV1/FVC 水平均明显升高且观察组患者治疗后的 FVC、FEV1、FEV1/FVC 水平均高于对照组。这一结果表明常规西医药物治疗能够使 COPD 稳定期患者的肺功能得到改善,在西医药物治疗的基础上加用补肺活血汤能够进一步改善 COPD 稳定期患者的肺功能、具有更为确切的疗效。

在 COPD 的慢性进程中,气道持续存在的炎性反应刺激以及气流受限所造成的缺氧刺激能够使肺血管发生收缩,同时诱导多种血管活性细胞因子的表达和分泌发生改变并造成肺血管发生重塑,最终会发展为肺动脉高压^[6-7]。缺氧是刺激肺血管发生重塑至关重要的病理因素,HIF-1 α 是机体应对缺氧条件、调节氧稳态的核心转录因子,持续缺氧能够使 HIF-1 α 生成增多进而启动多种与血管新生密切相关的细胞因子的分泌^[8];VEGF 和 bFGF 是受到 HIF-1 α 调控并参与血管新生过程的 2 种细胞因子,能够使血管内皮细胞、血管平滑肌细胞以及血管间质内的成纤维细胞发生增殖,进而使血管结构产生无序化改变并发生重塑^[9-10]。炎性反应是刺激肺血管重塑的另一病理因素,炎性反应细胞在肺间质内的大量浸润能够造成血管结构异常并发生重塑, HMGB1 是参与炎性反应过程的重要细胞因子、与肺血管重塑直接血管^[11-12]。我们通过分析治疗前后外周血中上述分子含量的变化来反应肺血管重塑的程度,结果显示:2组患者治疗后的外周血 HIF-1 α 、VEGF、bFGF、HMGB1 含量均降低且观察组患者治疗后的外周血 HIF-1 α 、VEGF、bFGF、HMGB1 含量均低于对照组。这一结果表明常规西医药物治疗能够

在抑制气道炎症的基础上使 COPD 稳定期患者的肺血管重塑得到一定改善,在西医药物治疗的基础上加用补肺颗粒能够进一步纠正 COPD 稳定期患者的肺血管重塑。

COPD 患者体内炎性反应的持续存在与免疫平衡的破坏有关,而免疫平衡的破坏以及炎性反应的激活又可以同时作用于肺血管并引起血管重塑。CD4⁺T 细胞中的 Th17 及 Treg 亚群是调节 COPD 病程中免疫应答的重要细胞群,前者特异性分泌 IL-17 并具有具有强大的促炎活性,能够介导气道及肺间质内炎性反应的级联放大^[13-14];后者具有免疫抑制活性,所分泌的 TGF- β 1 一方面能够抑制 Th17 所介导的炎性反应,另一方面又直接参与了肺间质内血管重塑的过程^[15]。已有研究报道,COPD 稳定期患者体内 Th17 和 Treg 的数目均增多且 Th17/Treg 的平衡向 Th17 偏移^[16]。我们通过分析治疗前后外周血中上述免疫细胞及细胞因子含量的变化来反映 Th17/Treg 免疫平衡,结果显示:2 组患者治疗后的外周血 Th17/Treg 比例及 IL-17、TGF- β 1 含量均降低且观察组患者治疗后的外周血 Th17/Treg 比例及 IL-17、TGF- β 1 含量均低于对照组。这一结果表明常规西医药物治疗能够同时抑制 Th17、Treg 的功能且对 Th17 的抑制更为显著、使 Th17/Treg 的平衡向 Treg 偏移,在西医药物治疗的基础上加用补肺活血汤能够进一步纠正改善 Th17 及 Treg 的功能及平衡。

综上所述可以得出结论:补肺活血法治疗 COPD 稳定期患者能够改善肺功能、延缓肺血管重塑、改善 Th17/Treg 免疫平衡,联合使用西医常规药物及补肺活血能够在 COPD 稳定期的治疗中取得更为确切的疗效,对 COPD 患者外周血多种炎性反应因子改善更加显著,患者肺功能治疗后恢复良好,但该研究病例数较少,治疗后未能进行长期随访及各种指标测定,存在不足。

参考文献

- [1] Eapen MS, Myers S, Walters EH, et al. Airway inflammation in chronic obstructive pulmonary disease (COPD): a true paradox [J]. *Expert Rev Respir Med*, 2017, 11(10): 827-839.
- [2] Lim TK, Ko FW, Benton MJ, et al. Year in review 2016: Chronic obstructive pulmonary disease and asthma [J]. *Respirology*, 2017, 22(4): 820-828.
- [3] 王倩. 补肺活血胶囊治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期临床观察 [J].

湖北中医药大学学报, 2016, 18(6): 62-64.

- [4] Murtha LA, Schuliga MJ, Mabotuwana NS, et al. The Processes and Mechanisms of Cardiac and Pulmonary Fibrosis [J]. *Front Physiol*, 2017, 12(8): 777.
- [5] Morjaria J B, Rigby A, Morice A H. Inhaled Corticosteroid use and the Risk of Pneumonia and COPD Exacerbations in the UPLIFT Study [J]. *Lung*, 2017, 195(3): 281-288.
- [6] Zuo L, Chuang CC, Clark AD, et al. Reactive Oxygen Species in COPD-Related Vascular Remodeling [J]. *AdvExp Med Biol*, Jan 2017, 967: 399-411.
- [7] Aleva F E, Voets L W L M, Simons S O, et al. Prevalence and Localization of Pulmonary Embolism in Unexplained Acute Exacerbations of COPD: A systematic review and meta-analysis [J]. *Chest*, 2017, 151(3): 544-554.
- [8] 林琳. 老年慢性阻塞性肺病患者外周血 HIF-1 α 、IL-18、Th17 和 Treg 的表达及与肺功能的关系 [J]. *中国老年学*, 2015(17): 4927-4929.
- [9] Jr R R. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptor inhibitors in the treatment of renal cell carcinomas [J]. *Pharmacological Research*, 2017, 120: 116-132.
- [10] Thimraj T A, Birru R L, Mitra A, et al. Homeobox, Wnt, and Fibroblast Growth Factor Signaling is Augmented During Alveogenesis in Mice Lacking Superoxide Dismutase 3, Extracellular [J]. *Lung*, 2017, 195(2): 263-270.
- [11] Zabini D, Crnkovic S, Xu H, et al. High-mobility group box-1 induces vascular remodelling processes via c-Jun activation [J]. *J Cell Mol Med*, 2015, 19(5): 1151-1161.
- [12] Zhang P, Xin X, Fang L, et al. HMGB1 mediates *Aspergillus fumigatus*-induced inflammatory response in alveolar macrophages of COPD mice via activating MyD88/NF- κ B and syk/PI3K signalings [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 53: 125-132.
- [13] Zhao P, Li J, Tian Y, et al. Restoring Th17/Treg balance via modulation of STAT3 and STAT5 activation contributes to the amelioration of chronic obstructive pulmonary disease by Bufe Yishen formula [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 10(217): 152-162.
- [14] Imani S, Salimian J, Fu J, et al. Th17/Treg-related cytokine imbalance in sulfur mustard exposed and stable chronic obstructive pulmonary (COPD) patients: correlation with disease activity [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2016, 38(4): 270-280.
- [15] Di Stefano A, Sangiorgi C, Gnemmi I, Casolari P, Brun P, Ricciardolo FLM, et al. TGF- β Signaling Pathways in Different Compartments of the Lower Airways of Patients With Stable COPD [J]. *Chest*, 2018, 153(4): 851-862.
- [16] 严青, 徐晓玲, 夏淮玲, 等. 稳定期 COPD 患者外周血中 Th17 和 Treg 的表达及平衡关系变化 [J]. *安徽医科大学学报*, 2014, 49(6): 800-803.

(2018-12-18 收稿 责任编辑: 苍宁)