

# 观察防风固本颗粒对变应性鼻炎肺郁脾虚患者外周血单个核细胞培养上清中 IL-4、IL-5、IL-10、IFN-γ 细胞因子水平的影响\*

马瑞霞<sup>1</sup> 侯丽<sup>1</sup> 虎峻瑞<sup>2</sup>

**[摘要]** 目的:观察防风固本颗粒对变应性鼻炎肺郁脾虚患者 PBMC 培养上清中 IL-4、IL-5、IL-10、IFN-γ 细胞因子水平的影响。方法:将 100 例患者按照自愿原则分为 2 个组。其中治疗组 50 例,予以古方防风固本颗粒;对照组 50 例,给予盐酸左西替利嗪。均口服 4 周为 1 个疗程,治疗前和治疗满 4 周后分别测定 2 组患者的 IL-4、IL-5、IL-10、IFN-γ 情况,比较 2 组患者治疗前后实验室指标的变化。结果:经 4 周治疗后,2 组患者 IL-4 含量明显比用药前下降,与用药前值相比,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );IL-5、IL-10 的含量均在治疗前后无明显变化(均  $P > 0.05$ );IFN-γ 含量明显比用药前上升( $P < 0.01$ )。治疗后 2 组间鼻痒、喷嚏、流涕比较差异有统计学意义(均  $P < 0.01$ ),防风固本汤疗效明显。结论:防风固本颗粒对变应性鼻炎肺郁脾虚患者的作用机制可能在于升高血清 IFN-γ 水平,降低血清 IL-4 水平,改善细胞因子水平,从而从整体改善 Th1/Th2 失衡状态。

**[关键词]** 防风固本颗粒;鼻炎,变应性;肺郁;脾虚;细胞因子

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2017.21.010

**[中图分类号]** R765.21 **[文献标志码]** A

## To observe the effect of " Fangfenggubenke" on IL-4, IL-5, IL-10 and IFN-γ cytokines in PBMC supernatant of allergic rhinitis patients with lung depression and spleen efficiency

MA Ruixia<sup>1</sup> HOULi<sup>1</sup> HU Junrui<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Department of Otorhinolaryngology, the General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, 750004, China; <sup>2</sup>Department of Otorhinolaryngology, the Third People's Hospital of Yinchuan)

Corresponding author: MA Ruixia, E-mail: Maruixia4368@sina.com

**Abstract Objective:** To observe the effect of " Fangfenggubenke" on IL-4, IL-5, IL-10 and IFN-γ cytokines in PBMC supernatant of allergic rhinitis' patients with lung depression and spleen deficiency. **Method:** One hundred patients were randomly divided into two groups. The treatment group of 50 cases, was given to ancient side of the " Fangfenggubenke". The control group of 50 patients, was given to cetirizine hydrochloride, oral treatment. The levels of IL-4, IL-5, IL-10 and IFN-γ in the two groups were measured before and after treatment of 1 month. The changes of the laboratory indexes were compared between the two groups before and after treatment. **Result:** The levels of IL-4 in the two groups were significantly lower than those before treatment ( $P < 0.01$ ), and the levels of IFN-γ were significantly higher than those before treatment ( $P < 0.01$ ), there was a statistically significant difference. **Conclusion:** The mechanism of " Fangfenggubenke" in patients with allergic rhinitis with lung depression may be related to the IFN-γ level, lower IL-4 level. Thereby Fangfenggubenke would improved the Th1/Th2 imbalance state as a whole.

**Key words** Fangfenggubenke; rhinitis, allergic; lung depression; spleen deficiency; cytokines

变应性鼻炎(allergic rhinitis, AR)<sup>[1]</sup>是以 IgE 介导为主的炎性递质释放和多种免疫活性细胞、细胞因子参与的鼻腔黏膜慢性非感染性炎症反应。调查发现近三十年来全球性呈增长趋势,其发病率在 10%~26%,某些发达国家高达 40%<sup>[2]</sup>。治疗上多采用药物治疗、免疫疗法、手术疗法等。药物

治疗时间长、不良反应高、易复发;免疫治疗疗程长,费用昂贵<sup>[3]</sup>。中医药防治 AR 以改善患者免疫病理体质为目标,从关键病理环节为切入点,对 AR 的多个病理环节进行双向调节的药理作用<sup>[4]</sup>。本文观察防风固本颗粒对 AR 肺郁脾虚患者外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)培养上清的 IL-4、IL-5、IL-10、IFN-γ 水平含量的改变,探讨中药复方防治 AR 的作用机制,从而为临床寻找治疗 AR 的有效方法,同时为临床

\* 基金项目:宁夏自然科学基金(No: N215231)

<sup>1</sup> 宁夏医科大学总医院耳鼻咽喉科(银川,750004)

<sup>2</sup> 银川市第三人民医院耳鼻咽喉科

通信作者:马瑞霞, E-mail: Maruixia4368@sina.com

提供疗效确切、更好的治疗方剂。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

2016-05—2017-05 期间银川市第三人民医院耳鼻咽喉科门诊符合条件的 AR(肺郁脾虚)患者 100 例。按照自愿原则分为治疗组和对照组,每组各 50 例。治疗组:男 29 例,女 21 例;年龄( $36.89 \pm 3.68$ )岁;病程( $4.92 \pm 2.21$ )年。对照组:男 25 例,女 25 例;年龄( $37.26 \pm 2.97$ )岁;病程( $4.26 \pm 3.62$ )年。2 组性别、年龄分布差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),体温、心率、呼吸次数、收缩压、舒张压均差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),有可比性(表 1)。

所有患者根据 2015 年天津指南<sup>[5]</sup>确诊为 AR。均为季节性 AR 患者,特异性 IgE 检测阳性,临床症状为轻度(治疗组:男 9 例,女 10 例;对照组:男 11 例,女 9 例)及中重度(治疗组:男 19 例,女 12 例;对照组:男 20 例,女 10 例),2 组性别、疾病程度分布差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),无哮喘。参考国家中医药管理局《中医病症诊断疗效标准》<sup>[6]</sup>确诊为肺郁脾虚型;年龄 14~65 岁的男女;符合中医鼻鼽(肺郁脾虚)辨证标准者;符合西医 AR 诊断标准的患者;临床以(喷嚏、流涕、鼻塞和鼻痒)症状发作突然,消失亦快为特征,既往有反复发作病史;1 个月内未接受任何相关治疗;自愿知情同意参加本试验者。临床上排除:临床上有严重的心血管、肝、肾并发症、神经精神或呼吸等系统疾病,可能干扰结果评估或影响受试者安全者;伴有严重的鼻中隔偏曲或鼻窦炎、鼻息肉者;血清特异性 IgE 检测排除血管运动性鼻炎患者;妊娠或哺乳期妇女;正在参加其他药物临床试验者;未签订知情同意书,依从性较差者;无明显感染史及免疫抑制剂应用史。

表 1 2 组患者基线资料的比较

基线资料	组别	例数	$\bar{x} \pm s$	<i>T</i>
体温/°C	治疗组	50	$36.72 \pm 0.16$	0.457
	对照组	50	$36.70 \pm 0.18$	
心率/ (次·min <sup>-1</sup> )	治疗组	50	$73.90 \pm 5.22$	0.720
	对照组	50	$72.70 \pm 6.53$	
呼吸/ (次·min <sup>-1</sup> )	治疗组	50	$17.70 \pm 1.59$	1.021
	对照组	50	$17.67 \pm 1.70$	
收缩压/mmHg	治疗组	50	$116.50 \pm 10.04$	1.210
	对照组	50	$117.21 \pm 9.77$	
舒张压/mmHg	治疗组	50	$70.30 \pm 6.29$	1.023
	对照组	50	$71.60 \pm 7.01$	

### 1.2 治疗方案

治疗组:给予防风固本颗粒(组成:防风、独活、

葛根、当归、白芍、人参、生黄芪等)。观察期间患者所服汤药组成固定;口服,9 g/次,3 次/d;早、中、晚饭后 30 min 服用。对照组给予盐酸左西替利嗪(规格:10 mg,国药准字 H20000379,鲁南贝特制药有限公司);口服,10 mg/次,1 次/d。均连续用药 4 周为 1 个疗程。4 周后进行 PBMC 培养上清中 IL-4、IL-5、IL-10、IFN- $\gamma$  细胞因子的测定。

### 1.3 标本采集及检测<sup>[7]</sup>

测定外周血 IL-4、IL-5、IL-10、IFN- $\gamma$  水平。测定方法:无菌采集 2 组治疗前后的外周静脉血 2 ml,2 h 内分离 PBMC,并进行细胞分离和培养。采用密度梯度离心法按常规分离 PBMC,用 RPMI-1640 培养液将细胞调至  $1 \times 10^6/L$ ,各组加植物血凝素(phytohe maglutinin, PHA),活化,37°C 5%CO<sub>2</sub> 孵箱孵化 48 h,收集培养上清液,测定 IL-4、IL-5、IL-10、IFN- $\gamma$  含量。本实验采用酶联免疫吸附试验(ELISA)双抗体夹心法;均采用仪器为 KC-100A 酶标分析仪。试剂盒(深圳市新产业生物医学工程股份有限公司)。均按说明书操作。

### 1.4 统计方法

本研究数据均采用 SPSS 17.0 统计软件处理。计量采用  $\bar{x} \pm s$  进行统计。组间比较采用 *t* 检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。不符合正态分布及方差齐性的数据用秩和检验。

## 2 结果

### 2.1 治疗前后 2 组 IL-4、IL-5、IL-10、IFN- $\gamma$ 变化情况的比较

经检验分析,IL-4 含量:治疗后组内比较,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );治疗后组间比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。IL-5 含量:治疗后组内、组间比较,均差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。IL-10 含量:治疗后组内、组间比较,均差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。IFN- $\gamma$  含量:治疗后组内比较,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );治疗后组间比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。治疗前后 2 组 IL-4、IL-5、IL-10、IFN- $\gamma$  变化情况的比较见表 2。

### 2.2 治疗后临床症状的比较

治疗后临床症状的比较见表 3。可见防风固本汤在临床治疗中显示出明显的效果,但其效果常常在治疗第 2 周后显示出,临床显效较慢。

## 3 讨论

AR<sup>[8]</sup>是一种常见病、多发病,其发病机制目前观点认为是体外环境因素作用于机体造成和免疫反应失衡而引发的以鼻腔黏膜免疫反应为主的变应性炎症。中医学认为,AR 主要为肺脾两虚所致。AR“肺脾两虚效应”的发生涉及肺、脾系统并有 T 细胞、B 细胞的参与。

I 型变态反应是由变应原所引起的通过 IgE

表 2 PBMC 培养上清中 IL-4、IL-5、IL-10、IFN- $\gamma$  含量的变化情况

			$\mu\text{g/L}, \bar{x} \pm s$			
细胞因子	组别	例数	治疗前	治疗后	Z	P
IL-4	治疗组	50	50.89 $\pm$ 12.66	10.75 $\pm$ 3.77	-4.560	0.000
	对照组	50	51.41 $\pm$ 18.81	11.73 $\pm$ 4.50	-2.300	0.020
IL-5	治疗组	50	60.79 $\pm$ 25.22	42.12 $\pm$ 28.43	-0.800	0.423
	对照组	50	62.47 $\pm$ 37.48	51.32 $\pm$ 23.68	-0.191	0.848
IL-10	治疗组	50	1258.79 $\pm$ 819.52	1164.32 $\pm$ 678.98	-0.161	0.874
	对照组	50	1696.90 $\pm$ 970.58	1862.07 $\pm$ 1164.88	-0.577	0.556
IFN- $\gamma$	治疗组	50	838.53 $\pm$ 562.59	2431.63 $\pm$ 1525.53	-3.235	0.001
	对照组	50	936.53 $\pm$ 519.13	2543.03 $\pm$ 1312.91	-3.956	0.000

表 3 治疗后临床症状的比较  $\bar{x} \pm s$

临床 症状	治疗组 (50 例)	对照组 (50 例)	$t$ P	
鼻痒	0.660 $\pm$ 0.678	0.272 $\pm$ 0.477	3.722	0.000
喷嚏	0.640 $\pm$ 0.733	1.100 $\pm$ 0.737	-2.236	0.028
流涕	0.560 $\pm$ 0.643	0.510 $\pm$ 0.674	2.752	0.006
鼻塞	0.640 $\pm$ 0.775	0.550 $\pm$ 0.703	0.578	0.553
鼻甲肿大	0.664 $\pm$ 0.680	1.262 $\pm$ 0.723	1.816	0.073

介导的速发型超敏反应<sup>[9]</sup>,而 T 淋巴细胞(Th1/Th2 细胞)所分泌的细胞因子的调节 IgE 水平尤为重要。Th1 亚群主要合成 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  等细胞因子,它们功能主要是介导细胞的免疫反应,Th2 亚群主要合成 IL-4、IL-5、IL-10 等,它们的主要功能是介导体液的免疫反应。

其中 IL-4<sup>[10]</sup>是 Th2 细胞分泌的标志性细胞因子,提供 B 细胞活化的信号,可以促使抗原或丝裂原活化的细胞进行分裂增殖和分化,还可增加 Fc $\epsilon$ R II /CD32(IgEFc 段低亲和力受体)的表达,释放可溶性的 CD23(sCD23)/IgE 结合因子(IgE-BF)并与 mIgE 阳性细胞结合,诱导其分化,这可能与促进 B 细胞的 IgE 产生有关。IL-5<sup>[11]</sup>主要的生物活性是促进 B 细胞分化为抗体并合成浆细胞,增加活化 B 细胞的 IL-2R 的表达。再就是促进 IgA 合成,IL-5 是特异性启动子,可促使 mIgM 阳性 B 细胞分化为 mIgA 阳性 B 细胞;同时 IL-5 也可趋化嗜酸粒细胞,并能有效延长成熟嗜酸粒细胞的存活时间,激活嗜酸粒细胞的功能,诱导嗜酸粒细胞的分化。IL-10<sup>[12]</sup>是一种细胞因子合成抑制剂,可以抑制单核巨噬细胞释放炎症递质,从而抑制 IFN- $\gamma$  导致的 G-CSF 和 GM-CSF 分泌,同时可以增强抗炎因子释放。IL-10 本身抑制 Th1 细胞的 IFN- $\gamma$  产生,IFN- $\gamma$  缺乏就会增强 APC 的失活,IFN- $\gamma$  是一种活性较高多功能分泌蛋白,是体内最主要的巨噬细胞刺激因子,在预防及治疗免疫性疾病中具有重要作用。

本研究结果显示,经 4 周治疗后,2 组鼻痒、喷嚏、流涕比较均差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。此临床表现与细胞因子水平检测基本一致。2 组患者 IL-4 含量明显比用药前下降( $P < 0.01$ );IFN- $\gamma$  含量明显比用药前上升( $P < 0.01$ )。IL-5、IL-10 治疗

前后含量差异不明显。可能由于人体内 IL-5 半衰期短,含量低且不稳定,IL-5 不仅仅是 Th1 和 Th2 细胞产生,可以由多种细胞产生,直接检测血清中细胞因子的量,并不能直接反映 Th1 和 Th2 细胞的功能,只能反映机体免疫功能的增强或降低。而且临床检测采用 PBMC 分离在体外刺激培养后,其结果精确反映了体内 T 淋巴细胞激活释放细胞因子的状况。本实验先用 PHA 刺激细胞,再用 ELISA 法检测的 IL-10 含量,只能解释抗原特异性 CD4<sup>+</sup> 细胞分泌 IL-10 的量,但不能排除其他细胞因 PHA 刺激后产生 IL-10,这也可能是 IL-10 含量改善不明显的原因。

这些实验室治疗给研究者提供了一个信号,即防风固本颗粒对 AR 肺郁脾虚患者的作用机制可能在于升高血 IFN- $\gamma$  水平,降低血 IL-4 水平,改善细胞因子水平,从而从整体上改善 Th1/Th2 失衡状态。究其原因主要有 2 个方面,一方面,研究者对症型的把握非常准确;其二看本药的组方,防风固本颗粒主要由防风、独活、葛根、当归、白芍、人参、生黄芪、甘草等组成。生黄芪对迟发性超敏反应有显著促进作用;人参主要成分为人参皂苷,影响免疫功能,能提高机体免疫力,能作用且参与淋巴细胞的分化及增殖分裂的 cAMP 和 cGMP,发挥其免疫调整效应。对环磷酸胺所致巨噬细胞功能抑制、白细胞减少和迟发型超敏反应抑制均有对抗作用。当归多糖能调节淋巴细胞膜上的补体受体活性,增强淋巴细胞免疫应答。白芍对免疫细胞功能的影响主要表现在对刀豆蛋白(ConA)和脂多糖诱导(LPS)的 T、B 淋巴细胞以及腹腔巨噬细胞(PMm)异常的增殖反应有抑制作用。白芍的主要成分 TGP 能够显著抑制这些与疼痛相关的细胞因子的过高水平表达,达到抗炎镇痛的效果。TGP 能够调节促炎物质的生成和相关蛋白激酶的磷酸化,通过 PGE2-EP-G 蛋白-cAMP 信号通路起到抗炎的作用。对于辅助性 T 细胞,芍药苷还可以提高 Th1 细胞耐受性,通过激活 Th2、Th3 发挥抗炎及免疫调节作用。防风具有抗炎及增强免疫作用,增强免疫功能的作用表现为促进 T、B 淋巴细胞增殖,提高巨噬细胞的吞噬功能,提高细胞的杀伤活性。葛根具有抗 I 型变态反应的作用,葛根素具有保护鼻黏膜上皮细胞免受雌激素缺乏的损害作用,

葛根总黄酮对卵巢切除大鼠鼻黏膜的保护作用可能在于大豆黄酮的雌激素作用,也可能与抗氧化等作用有关。葛根素具有扩张血管的作用,在鼻黏膜因缺乏雌激素而发生上皮细胞凋亡的发病过程中,改善局部微循环,也可能发挥保护作用。甘草次酸能抑制组胺对血管通透性的影响,且具有抗 I 变态反应的作用:①抑制 IgE 产生;②抑制靴细胞脱颗粒和释放组胺;③对抗过敏递质;④中和变应原;⑤肾上腺皮质激素样作用等。所有的药物成分在调节机体的免疫反应的不同环节发挥着重要作用。

由此可见,防风固本颗粒对 AR 肺郁脾虚患者作用机制可能是调节机体免疫反应的不同环节,而纠正 Th1/Th2 失衡状态,改善 AR 肺郁脾虚患者临床躯体症状、精神症状,从整体上调节神经内分泌免疫网络。

#### 参考文献

- [1] 韩德民. 变应性鼻炎[M]. 北京:人民卫生出版社, 2007:5-5.
  - [2] RHEE C S. Current specific immunotherapy for allergic rhinitis; perspectives from otorhinolaryngologists[J]. Allergy Asthma Immunol Res, 2014, 6: 273-275.
  - [3] 张迎宏,朱丽,王琳,等. 变应性鼻炎鼻部及鼻外症状学分析[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2014, 24(2):133-135.
  - [4] 李阳阳,赵明,文连姬,等. 白细胞介素-5 和白细胞介素-16 在变应性鼻炎患者血清中的表达及临床意义[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2015, 22(3):135-137.
  - [5] 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会鼻科学组. 变应性鼻炎诊断和治疗指南(2015 年,天津)[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2016, 51(1):6-24.
  - [6] 国家中医药管理局批准发布. 中医病证诊断疗效标准[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2012:101-108.
  - [7] 李丹青,常惠玉,骆寒冰. 布地奈德联用沙丁胺醇雾化吸入结合内服中药汤剂治疗过敏性鼻炎疗效观察[J]. 中华中医药学刊, 2012, 21(12):2798-2801.
  - [8] 祁雪萍,索利敏,赵长青,等. T 细胞免疫球蛋白黏蛋白分子 4 参与变应性鼻炎发病机制的实验研究[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2014, 49(4):283-287.
  - [9] 陈玉卿,穆会君,张桢,等. 孟鲁司特钠辅助治疗老年变应性鼻炎的疗效及对 IL-6、IL-8、IL-10 的影响[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(13):3263-3265.
  - [10] 史军,刘玉,严士海,等. 益气温阳方对变应性鼻炎 Treg 细胞调控的研究[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(6):2037-2039.
  - [11] 徐友文,李婉红,张亚琼,等. 布地奈德对支气管哮喘儿童血 CKLF-1、IL-4 和 IFN- $\gamma$  水平的影响[J]. 中华全科医学, 2015, 13(6):992-995.
  - [12] 张卫华,刘舟,王俊壹,等. 桂枝汤对 AR 大鼠鼻黏膜上皮细胞 AQP5 表达及 cAMP/PKA-CREB 信号通路的影响[J]. 中华中医药杂志, 2016, 5(1):283-287.
- (收稿日期:2017-09-17)
- 
- (上接第 1661 页)
- [10] INOUE A, WADA K, MATSUURA K, et al. IgG4-related disease in the sinonasal cavity accompanied by intranasal structure loss[J]. Auris Nasus Larynx, 2016, 43:100-104.
  - [11] TAKANO K, YAMAMOTO M, KONDO A, et al. A clinical study of olfactory dysfunction in patients with Mikulicz's disease[J]. Auris Nasus Larynx, 2011, 38:347-351.
  - [12] KAMISAWA T, FUNATA N, HAYASHI Y, et al. A new clinicopathological entity of IgG4-related autoimmune disease[J]. J Gastroenterol, 2003, 38: 982-984.
  - [13] MASAKI Y, DONG L, KUROSE N, et al. Proposal for a new clinical entity, IgG4-positive multiorgan lymphoproliferative syndrome: analysis of 64 cases of IgG4-related disorders[J]. Ann Rheum Dis, 2009, 68: 1310-1315.
  - [14] SNIDVONGS K, DAGLGORF D, KALISH L, et al. Modified Lund Mackay postopear-active endoscopy score for defining inflammatory burden in chronic rhinosinusitis[J]. Rinology, 2014, 52:53-59.
  - [15] 林玮,张文. IgG4 相关性疾病[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2010, 4(4):307-311.
  - [16] RUDMIK L, SMITH T. Olfactory improvement after endoscopic sinus surgery[J]. Nose Paranasal Sinuses, 2012, 20:29-32.
  - [17] SCHUBERT C R, CRUICKSHANKS K J, FISCHER M E, et al. Olfactory impairment in an adult population: the beaver dam offspring study[J]. Chem Senses, 2012, 37:325-334.
  - [18] MURPHY C, SCHUBERT C R, CRUICKSHANKS K J, et al. Prevalence of olfactory impairment in older adults[J]. JAMA, 2002, 288:2307-2312.
  - [19] DOTY R L, SHAMAN P, APPLEBAUM S L, et al. Smell identification ability: changes with age[J]. Science, 1984, 226:1441-1443.
  - [20] WALLACE Z S, DESHPANDE V, MATTOO H, et al. IgG4-related disease: clinical and laboratory features in 125 patients[J]. Arthritis Rheumatol, 2015, 67:2466-2475.
  - [21] SUZUKI M, NAKAMARU Y, AKAZAWA S, et al. Nasal manifestations of immunoglobulin G4-Related Disease[J]. Laryngoscope, 2013, 123:829-834.
  - [22] 吕晶,刘红刚. IgG4 在鼻腔鼻窦炎性病变组织中的表达及其意义[J]. 中华病理学杂志, 2013, 42(6):386-391.
  - [23] YAGI-NAKANISHI S, KONDO S, KANEDA M, et al. Olfactory dysfunction in IgG4-related disease[J]. Chem Senses, 2016, 41:721-725.
- (收稿日期:2017-07-03)