

百合胶囊对Graves病患者T淋巴细胞亚群的影响

黄虹,杨丕坚*,李舒敏,吕以培,黄中莹

(广西壮族自治区钦州市第二人民医院内分泌科,广西 钦州 535000)

[摘要] 目的:探讨观察百合胶囊对Graves病(Graves' disease, GD)患者T淋巴细胞亚群及远期预后的影响。方法:选择GD患者60例,分为常规治疗组、百合胶囊治疗组,每组30例,常规治疗组予甲巯咪唑治疗,百合胶囊治疗组在常规治疗组治疗的基础上加用百合胶囊,4粒/次,3次/日,连续用药12个月,观察两组治疗前后外周血T淋巴细胞亚群、甲状腺功能、干扰素- γ (IFN- γ)、白细胞介素-4(IL-4)、自身抗体变化,停药后随访1年,观察GD复发率。结果:治疗结束时两组甲状腺功能差异不显著,百合胶囊治疗组治疗后外周血CD4 $^{+}$,CD4/CD8,IFN- γ ,促甲状腺激素受体抗体(TRAb)[CD4 $^{+}$ (30.6±2.1)%,CD4/CD8(1.5±1.7),IFN- γ (25.8±4.2) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,TRAb(18.2±10.6) $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$]较常规治疗组[(35.9±1.8)%,(1.7±1.3),(34.8±2.4) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,(25.9±8.8) $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$]下降更明显,且差异有统计学意义($P<0.05$),CD8 $^{+}$ T细胞亚群数、IL-4水平升高更明显[CD8 $^{+}$ (23.1±1.8)% vs (20.2±1.3)% , IL-4(14.8±3.2) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ vs (12.5±1.7) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$],且差异有统计学意义($P<0.05$);停药1年后随访,百合胶囊治疗组16.7%,较常规治疗组40%复发率明显降低,差异有显著性意义($P<0.05$)。结论:百合胶囊能有效的调节GD患者细胞免疫,降低GD患者自身抗体水平。

[关键词] Graves病; T淋巴细胞亚群; 百合胶囊

[中图分类号] R287 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)20-0296-04

[doi] 10.11653/syfj2013200296

[收稿日期] 20130127(007)

[基金项目] 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科攻0816004-26)

[通讯作者] *杨丕坚,硕士,主治医师,从事2型糖尿病慢性并发症的发病机制研究,Tel:13471717133, E-mail:ypj0106@yahoo.com.cn

噬功能,提高小鼠NK细胞活性,对其免疫功能有显著地促进作用^[11]。诸药合用,可明显调节肝郁脾虚证乙肝患者免疫紊乱状态。

本文观察到治疗组患者在治疗后CD3,CD4升高,CD8下降,CD4/CD8升高,患者免疫功能得到增强,较对照组在改善患者症状及病毒学应答方面有明显优势,表明慢肝康丸可通过调整患者细胞免疫状态,达到增强抗病毒效果及改善症状的目的。中药扶正祛邪各有所侧重,证不同则治法亦不同,本研究亦再次证实了辨证论治在慢性乙肝治疗中的重要性。

[参考文献]

- [1] 王振城,赵海燕.乙型肝炎与免疫[J].现代中西医结合杂志,2004,13(18):2514.
- [2] 王振常,毛德文,黄彬,等.中医慢性乙型肝炎中医证型与免疫功能关系的初步研究[J].广西中医药,2009,32(4):9.
- [3] 杨宏志,边壮,王拥泽,等.慢性乙型肝炎虚实病机与病毒复制及T细胞关系的研究[J].中国中西医结合急救杂志,2003,10(3):158.

- [4] 朱兰香,刘世增,顾振纶.柴胡皂苷的药理作用及抗肝纤维化的应用[J].中草药,2002,3(10):附5.
- [5] 杨铁虹,贾敏,梅其炳.当归多糖对细胞免疫功能的增进作用[J].第四军医大学学报,2006,27(5):782.
- [6] 李伟,王加志,李健民,等.当归多糖对Graves病模型大鼠肝脏保护作用究[J].中医药学报,2012,40(5):61.
- [7] 蒋午峻,王巧,李小娜.白芍总苷的药理作用和质量控制方法研究进展[J].河北医科大学学报,2006,26(5):500.
- [8] 陈刚,邓小红,郭莉霞,等.白芍总苷对巨噬细胞核转录因子- κ B活化的影响及其机制研究[J].中国中药杂志,2008,33(6):669.
- [9] 余上才,章育正,赵慧娟,等.枸杞子和白术免疫调节作用的实验研究[J].上海免疫学杂志,1994,14(1):12.
- [10] 邓旻,窦晓兵,史亦谦,等.黄芪多糖定向诱导脾血来源树突状细胞及其对T细胞增殖作用的研究[J].中华免疫学杂志,2007(6):539.
- [11] 栾玉泉,董莎莎,方淑环,等.大理百合多糖对小鼠免疫功能的影响[J].四川生理科学杂志,2009(2):67.

[责任编辑 邹晓翠]

Effect of Bailing Capsule on T Lymphocyte Subsets in Patients with Graves' Disease

HUANG Hong, YANG Pi-jian*, LI Shu-min, LV Yi-pei, HUANG Zhong-ying

(Department of Endocrinology, the Second People's Hospital of Qinzhou, Qinzhou 535000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Bailing capsule on T lymphocyte subsets in patients with Graves' disease (GD). **Method:** Sixty patients with GD were selected and randomly divided into 2 groups, routine group ($n = 30$) was treated with Methimazole; the Bailing capsule group ($n = 30$) was treated with Bailing capsule (4 # Tid) combined with Methimazole. The levels of T-lymphocyte subsets, free triiodothyronine 3 (FT3), FT4, sensitive thyroid stimulating hormone (sTSH), thyrotrophin receptor antibody (TRAb), interferon- γ (IFN- γ), interleukin-4 (IL-4) were measured in two group pre and post treatment. Follow-up 1 year after treatment, observe the recurrence rate of GD. **Result:** The thyroid function of the two groups was not significant after treatment. After treatment the CD4 $^+$ T cells, CD4/CD8, IFN- γ , TRAb in the Bailing Capsule group [CD4 $^+$ (30.6 ± 2.1) %, CD4/CD8 (1.5 ± 1.7), IFN- γ (25.8 ± 4.2) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, TRAb (18.2 ± 10.6) U $\cdot \text{L}^{-1}$] was decreased more significantly than routine group [(35.9 ± 1.8) %, (1.7 ± 1.3), (34.8 ± 2.4) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, (25.9 ± 8.8) U $\cdot \text{L}^{-1}$]. After treatment the CD8 $^+$ T cells and IL-4 in the Bailing capsule group was increased more significantly than routine group [CD8 $^+$ (23.1 ± 1.8) % vs (20.2 ± 1.3) %, IL-4 (14.8 ± 3.2) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ vs (12.5 ± 1.7) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$] ($P < 0.05$). Follow-up 1 year after withdrawal, the Bailing capsule group than the routine group recurrence rate was significantly lower (16.7% VS40%) ($P < 0.05$). **Conclusion:** The Bailing capsule can effectively regulate the GD patient's cellular immunity and reduce autoantibody levels in GD patients.

[Key words] Graves' disease; T-lymphocyte subsets; bailing capsule

Graves病(Graves' disease, GD)属于甲状腺激素分泌增多的自身免疫性疾病,其发病机制尚未明确,目前研究认为,在GD病发病初期,机体主要以Th1类细胞免疫占优势,在疾病的后期逐步向Th2类细胞免疫发生漂移^[1]。临床单用抗甲状腺药物治疗GD仅获得40%~60%的治愈率,甲状腺自身抗体迁延不降是导致GD复发的主要原因。冬虫夏草是我国传统的名贵药材,研究发现冬虫夏草具有多重药理活性,如免疫调节、肝肾保护等^[2]。百令胶囊为发酵冬虫夏草粉(中华被毛孢经液体深层发酵所得菌丝体的干燥粉末)制成的胶囊,与天然冬虫夏草基本一致,常作为天然冬虫夏草代用品用于临床,具有明显的免疫调节作用。本次研究着重探讨GD患者T淋巴细胞的变化及百令胶囊的免疫干预治疗,为临床治疗GD提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择2008~2011年在广西壮族自治区钦州人民医院住院或门诊治疗的GD患者60例,均符合GD诊断标准^[3],排除GD合并浸润性突

眼和(或)甲状腺Ⅲ度肿大、妊娠或哺乳期妇女、甲亢复发者、甲亢危象,合并糖尿病、肝、肾疾病及其他系统严重的疾病者。将患者按随机数字法分为常规组[30例,男16例,女14例,年龄(30.3 ± 7.2)岁,病程(5.4 ± 2.4)个月]和百令胶囊治疗组[30例,男15例,女15例,年龄(32.8 ± 8.3)岁,病程(6.2 ± 2.7)个月]。两组年龄、性别、病程差异无统计学意义。另选取同期在本院门诊体检的健康者30例作为对照组[男14例,女16例,年龄(31.2 ± 6.8)岁],3组性别、年龄差异无统计学意义。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 常规治疗组予常规抗甲状腺药物治疗:甲巯咪唑10 mg,每日3次,酌情加用普萘洛尔或B族维生素,根据患者甲状腺功能测定结果调整甲巯咪唑用量,症状缓解、甲状腺功能正常后逐渐减量至 $5 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$,总疗程12个月;百令胶囊组在常规治疗的基础上加用百令胶囊(杭州中美华东制药有限公司生产),4粒/次,3次/d。两组患者均不再服用任何除百令胶囊以外的免疫调节剂或抑

制剂。

1.2.2 血清干扰素-γ(IFN-γ)、白细胞介素-4(IL-4)及一般指标检测 ①两组患者均于治疗前及疗程结束后检测IFN-γ, IL-4, 采用ELISA法检测;②两组患者定期复查血象,肝、肾功能,其中肝、肾功能采用全自动生化法;血象为全自动血球仪测定;③观察停药1年后复发率。

1.2.3 T淋巴细胞亚群的检测 抽取患者肘静脉血3 mL置于肝素抗凝管中,在6 h内测定T淋巴细胞亚群,采用贝克曼公司 Coulter Epics XL流式细胞仪进行检测,CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺抗体购自BD公司。

1.2.4 甲状腺激素及特异性甲状腺抗体检测 两组患者均于治疗前及疗程结束后检测游离三碘甲原

氨酸(FT3)、游离甲状腺素(FT4)、超敏促甲状腺分泌激素(sTSH)、促甲状腺激素受体抗体(TRAb),采用化学发光法测定。

1.3 统计学方法 采用SPSS 11.5统计软件处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较用t检验,计数资料采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脱落或退出病例 两组连续观察1年,均无脱落或退出病例。

2.2 GD患者治疗前与对照组各项指标的比较 GD组外周血CD4⁺, CD4/CD8, IFN-γ, TRAb均高于对照组($P < 0.05$);GD组CD8⁺, IL-4低于对照组($P < 0.05$)。见表1。

表1 GD组治疗前与对照组各项指标的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD4 ⁺ T淋巴细胞/%	CD8 ⁺ T淋巴细胞/%	CD4/CD8	IFN-γ/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	IL-4/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	TRAb/ $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$
GD	60	46.7 ± 5.2 ¹⁾	17.7 ± 2.8 ¹⁾	2.83 ± 0.5 ¹⁾	46.8 ± 6.9 ¹⁾	9.6 ± 3.8 ¹⁾	59.6 ± 12.6 ¹⁾
对照	30	26.7 ± 4.3	25.4 ± 6.2	1.26 ± 0.3	32.1 ± 7.4	13.8 ± 3.4	7.26 ± 2.5

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

2.3 GD患者常规治疗组治疗前与百令胶囊组治疗前各项指标的比较 GD患者常规治疗组治疗前与百令胶囊组治疗前T细胞亚群,IFN-γ, IL-4, FT3, FT4, sTSH, TRAb差异无统计学意义;百令胶囊组治疗后CD4⁺T淋巴细胞计数,IFN-γ水平,CD4/CD8, TRAb下降,且较常规治疗组下降更为显著($P < 0.05$);百令胶囊治疗组治疗后CD8⁺T淋巴细胞计

数、IL-4水平升高,且较常规治疗组升高更为显著($P < 0.05$)。两组治疗前FT3, FT4明显升高,sTSH降低,两组间比较差异无显著性;两组疗程结束后FT3, FT4, sTSH均恢复正常,与治疗前相比,差异有显著性意义($P < 0.05$);两组间FT3, FT4, sTSH相比,差异无显著性意义(表2)。

表2 GD常规治疗组与百令胶囊治疗组治疗前后参数的比较($\bar{x} \pm s, n = 30$)

组别	时间	CD4 ⁺ T /%	CD8 ⁺ T /%	CD4/CD8	IFN-γ / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	IL-4 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	TRAb / $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$	FT3 / $\text{pmol}\cdot\text{L}^{-1}$	FT4 / $\text{pmol}\cdot\text{L}^{-1}$	sTSH / $\text{mU}\cdot\text{L}^{-1}$
百令胶囊	治疗前	47.5 ± 3.2	18.2 ± 2.2	2.72 ± 1.7	47.8 ± 6.6	8.8 ± 2.5	62.4 ± 14.5	35.8 ± 10.4	63.5 ± 16.5	0.008 ± 0.05
	治疗后	30.6 ± 2.1 ²⁾	23.1 ± 1.8 ²⁾	1.5 ± 1.7 ²⁾	25.8 ± 4.2 ^{1,2)}	14.8 ± 3.2 ^{1,2)}	18.2 ± 10.6 ^{1,2)}	4.8 ± 1.6 ¹⁾	15.8 ± 7.4 ¹⁾	2.7 ± 1.1 ¹⁾
常规治疗	治疗前	45.1 ± 3.0	17.4 ± 1.8	2.93 ± 2.0	45.9 ± 4.2	10.7 ± 3.1	57.9 ± 12.7	34.7 ± 9.2	58.4 ± 6.5	0.007 ± 0.06
	治疗后	35.9 ± 1.8 ¹⁾	20.2 ± 1.3 ¹⁾	1.7 ± 1.3 ¹⁾	34.8 ± 2.4 ¹⁾	12.5 ± 1.7 ¹⁾	25.9 ± 8.8 ¹⁾	4.9 ± 1.7 ¹⁾	17.2 ± 3.5 ¹⁾	2.5 ± 0.5 ¹⁾

注:与同组治疗前比较¹⁾ $P < 0.05$;与常规组治疗后比较²⁾ $P < 0.05$ 。

2.4 GD患者两组治疗前后TRAb阳性变化 治疗前两组TRAb阳性率无显著差异,疗程结束后两组TRAb阳性率均较治疗前下降,百令胶囊组下降尤为显著,差异有显著性意义($P < 0.05$)(表3)。

2.5 两组患者复发情况 停药后随访1年,结果显示百令胶囊组与常规治疗组相比,复发率明显下降($P < 0.05$)(表4)。

3 讨论

Graves病是一种与遗传和环境相关的器官特异

表3 两组治疗前后TRAb阳性变化比较($n = 30$) 例(%)

组别	时间	TRAb
百令胶囊	治疗前	28(93.3)
	治疗后	6(20.0) ^{1,2)}
常规治疗	治疗前	24(80.0)
	治疗后	14(46.7) ¹⁾

注:与同组治疗前比较¹⁾ $P < 0.05$;与常规治疗组治疗后比较²⁾ $P < 0.05$ 。

性自身免疫性疾病,其免疫应答机制尚未完全阐明。

表4 停药1年后两组患者复发情况比较($n=30$)

组别	治愈/例	复发/例	复发率/%
百令胶囊	25	5	16.7 ¹⁾
常规治疗	18	12	40.0

注:与常规治疗组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

CD4⁺, CD8⁺ T 淋巴细胞持续甲状腺腺浸润是 GD 的特征性表现^[4],但 GD 患者外周血中 T 淋巴细胞的免疫表型及 Th1/Th2 的免疫失衡一直为争议的热点。本研究的结果显示,与健康者比较, GD 患者 CD4⁺ T 淋巴细胞增高, CD8⁺ T 淋巴细胞减少, CD4/CD8 增高,说明 GD 患者中由于 Ts 细胞数量减少, Ts 细胞的免疫监视及调节功能障碍,不能有效维持机体的免疫稳定性,最终导致机体免疫调节机制的障碍。IFN-γ 主要由 Th1 细胞分泌, IL-4 主要由 Th2 分泌,笔者发现在 GD 患者中 IFN-γ 水平升高, IL-4 水平下降,说明在未经治疗的 GD 患者是以 Th1 细胞介导的细胞免疫反应调节为主的。IFN-γ 对胸腺上皮细胞上主要组织相容性 II 类抗原的表达具有促进作用,并能增强巨噬细胞和树突状细胞对自身抗原提呈的能力,从而在 TRAb 等甲状腺特异性抗体的生成和 GD 的发生和发展中扮演重要角色^[5]。笔者亦发现在 GD 患者中 TRAb 水平明显高于健康者,而 TRAb 的存在和升高是 GD 最主要和直接的致病因素,在 GD 的发病和病情演变中起重要作用^[6]。

由于 GD 发生、发展与免疫密切相关,因此如果在关键环节上打断甲状腺的自身免疫反应,可以降低患者向甲状腺机能失调发展的可能。但单纯应用 ATD 治疗很难使 TRAb 完全降至正常,导致 GD 反复发作。虫草真菌可对机体的免疫系统进行不同层次的调节^[7],研究亦表明虫草真菌有较强的免疫抑制作用,能抑制绵羊红细胞免疫所致的特异性抗体的产生,具有免疫调节作用^[8]。百令胶囊是冬虫夏草菌种经低温发酵研制而成的纯中药制剂,主要成分是人工虫草菌粉,与天然虫草主要成分一致。研究表明,百令胶囊具有双向免疫调节作用^[9]。本研究发现,百令胶囊联合甲巯咪唑与单纯甲巯咪唑治疗均可使 GD 患者血清 TRAb 水平和阳性率下降,治疗组较对照组下降更为显著。停药后随访 1 年,治疗组复发率明显下降($P < 0.01$)。说明百令胶囊

对 GD 患者的异常免疫反应有一定的调节作用。同时百令胶囊联合甲巯咪唑与单纯甲巯咪唑治疗均能使 GD 患者外周血 CD4⁺ T 淋巴细胞计数、IFN-γ 水平降低, CD4/CD8 下降,但百令胶囊治疗组下降更为显著, CD8⁺ T 淋巴细胞计数、IL-4 水平升高,但百令胶囊治疗组升高更为显著。考虑百令胶囊可能通过调节 Th1/Th2 的平衡,由 Th1 转向 Th2, 减少 IFN-γ 分泌来阻断 TRAb 等的产生,或打断免疫反应的连锁效应,进而在 GD 治疗中发挥免疫调节作用,使病情得到长期缓解。

总之,细胞免疫功能参与了 GD 的发生、发展。百令胶囊可以作为 GD 一种有效辅助治疗药物,对于改善 GD 的预后具有重要意义,为临床治疗 GD 提供出新的理论依据。

[参考文献]

- [1] Aniszewski J P, Valyasevi P W, Rebecca S, et al. Relationship between disease duration and predominant orbital T cell subset in Graves' ophthalmopathy [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2000, 85(2):776.
- [2] 刘阳,张力心,刘九惠.50 例 Graves 病患者血清 IL-6 和 IFN-γ 含量分析与临床意义[J].中国现代药物应用,2009,3(9):97.
- [3] 冯凭. Graves 病的诊断与治疗[J]. 国外医学:内分泌学分册,2004,24(1):68.
- [4] Weetman A P. Graves' disease [J]. N Engl J Med, 2000, 343(17):1236.
- [5] 崔魏,施兼银. 自身免疫性甲状腺疾病患者甲状腺内 Th1/Th2 细胞失衡的研究[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2004, 20(2):96.
- [6] 胡宇美,刘伟,陆广华. 甲状腺自身抗体联合测定在 Graves 病与桥本甲状腺功能亢进症鉴别诊断中的意义[J]. 中华医学杂志, 2003, 83(11):840.
- [7] 丁宝金,邱相君. 虫草真菌对机体的免疫调节作用 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(1):17.
- [8] 宫壮,张晓良,刘必成. 冬虫夏草研究现状及治疗进展[J]. 东南大学学报:医学版, 2008, 27(2):140.
- [9] 王苏娅,孟雪芹,陈江华,等. 人工培养冬虫夏草(百令胶囊)免疫抑制作用细胞因子及可溶性细胞间黏附因子-1 调控机制探讨[J]. 中国中西医结合杂志, 2001, 21(6):152.

[责任编辑 邹晓翠]