

肺气虚证和肺阴虚证患者外周血 NK 细胞表达分析

李泽庚* 张杰根* 彭波* 张念志* 韩明向*

摘要 目的:观察肺气虚证患者和肺阴虚证患者外周血自然杀伤细胞(NK 细胞)表达状况。方法:应用流式细胞仪分别对 58 例肺气虚证患者、12 例肺阴虚证患者和 20 例健康查体者 CD₁₆/CD₅₆进行测定。结果:肺气虚证患者和肺阴虚证患者 NK 细胞活性下降;肺气虚证各组间 NK 细胞活性也存在明显的差异。结论:肺气虚证患者免疫功能由早期的活跃状态逐步发展到不同程度的免疫抑制,然后发展至肺阴虚证,最终导致免疫系统内环境稳定失调。

主题词 肺气虚/免疫学 肺阴虚/免疫学 杀伤细胞,天然/免疫学

Analysis on Expression of NK Cells in Peripheral Blood in the Patients of Lung-Qi Deficiency and Lung-Yin Deficiency

Li Zegeng, Zhang Jiegen, Peng Bo, et al.

(First Affiliated Hospital of Anhui TCM College, Hefei 230031)

Objective: To observe expression of NK cells in peripheral blood in the patients of lung-Qi deficiency and lung-Yin deficiency.

Methods: CD₁₆/CD₅₆ were determined by flow cytometry in 58 cases of lung-Qi deficiency, 12 cases of lung-Yin deficiency and 20 cases of healthy persons. **Results:** Activities of NK cells in both the patient of lung-Qi deficiency and the patient of lung-Yin deficiency decreased; There were significant differences in activities of NK cells among the various groups of lung-Qi deficiency syndrome. **Conclusion:** The immunological function in the patient of lung-Qi deficiency syndrome developed gradually to immunodepression of different degrees from active state at early stage, and then developed to lung-Yin deficiency syndrome, and finally leading to maladjustment of homeostasis of immunological system.

Key Words Lung-Qi deficiency/immunology; lung-Yin deficiency/immunology; killing cells, natural/immunology

自然杀伤细胞(NK 细胞)是一种异质性、多功能的细胞群体。现代医学研究认为, NK 细胞是反映细胞免疫功能的重要指标之一,不仅具有抗肿瘤、抗感染作用,还参与移植排斥反应、自身免疫和变态反应疾病的过程。对于其在中医肺虚证中的表达状况鲜见文献报道,为了探讨其相互关系和临床意义,我们对 58 例肺气虚证患者和 12 例肺阴虚证患者 NK 细胞表达状况的变化进行了观察,现报道如下。

1 临床资料

1.1 一般资料:58 例肺气虚证患者和 12 例肺阴虚证患者选自 2003~2004 年安徽中医学院第一附属医院门诊和住院病例,58 例肺气虚证患者中,轻度肺气虚 21 例、中度肺气虚 28 例、重度肺气虚 9 例,其中男性 25 例,女性 33 例,平均年龄(54.2±14.3)岁。12 例肺阴虚证患者中男性 5 例,女性 7 例,平均年龄(56.5±12.4)岁。西医诊断为慢性阻塞性疾病 36 例,支气管哮喘 24 例,易患感冒 10 例。两组患者在年龄、性别、病程等方面的差异无统计学意义。另选择 20 例健康查体者作为对照组,其中男性 9 例,女性 11 例,平均年龄(50.63±18.6)岁。各组入选者年龄、性别、身高、体重

差异无显著性($P>0.05$)。

1.2 诊断及排除标准:肺气虚证诊断符合 2002 年《中药临床研究指导原则》的诊断标准^[1]。肺阴虚证诊断参照 2003 年全国高等院校中医诊断学教材标准(第七版)^[2]。肺气虚证分度参照韩明向分度法^[3];慢性阻塞性疾病诊断参照 2002 年中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组制定的 COPD 标准^[4];支气管哮喘诊断参照 2003 年中华医学会呼吸病学分会哮喘学组制定的支气管哮喘诊断标准^[5];易患感冒诊断参照 2002 年《中药临床研究指导原则》诊断标准^[1]。

2 观察方法

2.1 检测指标及方法:CD₃/CD₁₆+CD₅₆(双色),均购自法国 Immunotech 公司,Epicsxl2 流式细胞仪为美国 Coulter 公司产品。方法:抽取患者外周血 3ml,用肝素钠抗凝管保存,6 小时内分析。向 TrueCount 管分别加入 5μl 的抗体和 50μl 的抗凝全血,振荡混匀 3 秒,避光放置 15 分钟;加入溶血剂氯化胺 500μl,振荡混匀后避光放置 10 分钟,上流式细胞仪,根据流动细胞的前向和侧向射光得到 DotPlot 直方图,在其中框出淋巴细胞群,再分别检测淋巴细胞群中标记的抗体,然后进行数据分析。

2.2 统计学方法:全部数据以均值±标准差表示,组间、组内比较采用 t 检验,应用 SPSS 11.0 统计软件进行分析。

基金项目:安徽省自然科学基金资助项目(010431006)

* 安徽中医学院第一附属医院呼吸科,安徽省合肥市梅山路 117 号(230031)

收稿日期:2004-08-30;修回日期:2004-12-12

3 结果

各组患者 NK 细胞表达状况比较:附表示,肺气虚证和肺阴虚证患者 NK 细胞活性下降,其中重度肺气虚证和肺阴虚证尤为显著,与对照组比较差异有显著性($P<0.01$);而轻度肺气虚证与对照组比较差异无显著性。

附表 各组 NK 细胞表达状况比较(%, $\bar{x}\pm s$)

组别	例数	NK 细胞表达率
对照组	20	23.56 $\pm$ 5.30
轻度肺气虚证组	21	25.09 $\pm$ 6.42
中度肺气虚证组	28	16.30 $\pm$ 4.82 Δ
重度肺气虚证组	9	10.36 $\pm$ 3.40 $\Delta\Delta$
肺阴虚证组	12	8.23 $\pm$ 3.50 $\Delta\Delta$

与对照组比较, * $P<0.05$, * * $P<0.01$;与轻度肺气虚证组比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$

4 讨论

NK 细胞在人体内分布相当广泛,除主要分布于外周血和脾脏,还分布于肺、肝、骨髓、淋巴结、黏膜等组织器官中。在肺组织中 NK 细胞约占淋巴细胞总数的 25%。大多数成熟的 NK 细胞同时或单独表达白细胞分化抗原 CD₁₆ 和 CD₅₆。CD₁₆(Fc γ R)是 NK 细胞表面的一种低亲和力 IgG Fc 受体,可介导抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用(ADCC)。CD₅₆(NCAM)抗原是一种糖蛋白,可与靶细胞膜上相应配体结合,介导细胞毒作用杀伤靶细胞,并且不受 MHC 限制。NK 细胞能产生炎性介质血小板激活因子(PAF)^[6]。此介质可收缩气道平滑肌,促进黏液分泌,增加血管通透性,趋化嗜酸性粒细胞浸润。以往大量研究发现,人和动物肿瘤组织中有相当数量 NK 细胞浸润,杀伤活性增强。近来发现,炎症病灶亦有 NK 细胞浸润,并参与炎症反应调节。Walker 等^[7]用豚草抗原诱发 C57BL/6 小鼠变态反应性腹膜炎,发现腹腔灌洗液中 NK 细胞数量显著增加,并分泌 IL-5 促进炎症反应发生。Stefano 等^[8]研究发现,吸烟的 COPD 患者气道黏膜中有明显的 NK 细胞浸润,其增加程度与肺功能检查气流受阻严重程度相关。Vliet 等^[9]研究认为,在人类胰岛素依赖性糖尿病、多发性硬化症和类风湿性关节炎等患者的发病过程中可出现 NK 细胞的数量减少和功能缺陷。综上所述,无论炎症或感染的急性发作期都能导致局部 NK 细胞活性增强,而在有免疫缺陷的疾病中 NK 细胞活性降低。前者与机体的代偿性有关系,后者与机体的失代偿有关系。轻度肺气虚证是早期症状,机体抗御外邪的能力处于激烈阶段, NK 细胞活性增强,但当机体正气不能抵御外邪时,处于失代偿阶段, NK 细胞活性就

开始降低,随着肺气虚程度的加重, NK 细胞活性也逐步降低。由“肺主气,肺气旺则四脏气旺,虚故脉绝气短也”(《成方切用·卷七》)和“肺气虚则治节有不”(《景岳全书发挥·卷三》)。可见,古人所说的肺气虚不能治节,与 NK 细胞活性低下、机体处于失代偿状态有关。肺阴虚证组的 NK 细胞活性显著降低,与正常组和肺气虚证组比较有明显差异。“气虚也,肺虚也”(《素问·通评虚实论》)。“肺虚者,由脾土不能生化,津液不得上布,则肺失所养而阴虚”(《医宗己任编·咳嗽》)。可见肺气虚,生化不足,气不化阴,阴液亏损,则发展为肺阴虚。NK 细胞活性逐步下降可能与这两组证候之间的转化有关。

本研究发现,肺气虚程度越重, NK 细胞活性降低越趋明显,反映肺气虚证患者和肺阴虚证患者机体的细胞免疫功能低下。肺气虚证患者免疫功能由早期的活跃状态逐步发展到不同程度的免疫抑制,肺阴虚证患者与中、重度肺气虚证患者也存在着同样的免疫功能抑制。因此,可以认为 NK 细胞的监测对肺气虚证分度和肺阴虚证及其本质研究具有一定意义。

参考文献

- 1 郑筱萸. 中药临床研究指导原则. 北京:中国医药科技出版社,2002:390.
- 2 朱文锋主编. 中医诊断学. 第 7 版. 北京:中国中医药出版社,2002:182.
- 3 韩明向,李泽庚. 肺气虚证浅探. 安徽中医学院学报,1993,12(2):2~3.
- 4 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. COPD 诊断标准. 中华内科杂志,2002,11(9):640~646.
- 5 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南. 中华结核和呼吸杂志,2003,26(3):132~138.
- 6 Bussolati B, Mariano F, Cignetti A, et al. Platelet-activating factor synthesized by IL-12-stimulated polymorphonuclear neutrophils and NK cells mediates chemotaxis. J Immunol, 1998, 161(3):1493~1500.
- 7 Walker C, Checkel J, Cammisuli S, et al. IL-5 production by NK cells contributes to eosinophil infiltration in a mouse model of allergic inflammation. J Immunol, 1998, 161(4):1962~1969.
- 8 Di Stefano A, Capelli A, Lusuardi M, et al. Severity of airflow limitation is associated with severity of airway inflammation in smokers. Am J Respir Crit Care Med, 1998, 158(4):1277~1285.
- 9 van der Vliet HJ, von Blomberg BM, Nishi N, et al. Circulating V α 24⁺ V β 11⁺ NKT cell number are decreased in a wide variety of disease that are characterized by autoreactive tissue damage. Clin Immunol, 2001, 100(2):144~148.

欢迎邮购《中医杂志》数据光盘

《中医杂志》数据光盘收录了《中医杂志》从 1951 年至 1986 年刊登的全部文章。本光盘按自然期排序,可对全光盘进行任意词或多组合条件方式检索,并可进行原文对照,方便实用。每套(4 张光盘):480 元。欲购者请汇款至北京东直门内南小街 16 号中医杂志医海林音像书店。

联系人:浦战兵. 电话:(010)64013164, (010)64035632