

· 临床 ·

漏芦升麻汤联合阿奇霉素对邪热壅肺型支原体肺炎患儿 调节性T细胞及Foxp3 mRNA表达的影响

张辉果*, 董志巧, 王晓利, 陈团营, 田新磊
(河南省中医院, 郑州 450009)

[摘要] 目的:探讨漏芦升麻汤联合阿奇霉素治疗小儿邪热壅肺型支原体肺炎(MPP)的临床疗效,以及对患儿调节性T细胞及核转录因子叉状头/翅膀状螺旋转录因子3(Foxp3) mRNA表达的影响。方法:将274例MPP患儿随机分为观察组与对照组,每组各137例。观察组给予漏芦升麻汤联合阿奇霉素干混悬剂治疗,对照组单独给予阿奇霉素干混悬剂治疗。观察两组患儿治疗后体征、临床症状消失时间、中医邪热壅肺证评分、血清炎症因子白细胞介素-6(IL-6),白细胞介素-10(IL-10),肿瘤坏死因子- α (TNF- α),C反应蛋白(CRP),CD4⁺CD25⁺Treg和CD4⁺Foxp3⁺Treg及Foxp3 mRNA表达水平变化情况。比较两组患儿的临床疗效及不良反应发生率。结果:治疗后观察组总有效率94.16%(129/137),高于对照组(77.37%,106/137)($P<0.05$);观察组患儿治疗后咳嗽、肺部啰音的消失时间、退热时间及X射线检查肺部阴影消失时间均短于对照组($P<0.05$);治疗后观察组中医邪热壅肺证评分的改善情况优于对照组($P<0.05$);治疗后观察组血清IL-6,IL-10,TNF- α 和CRP水平较对照组降低明显($P<0.05$, $P<0.01$),观察组CD4⁺CD25⁺Treg,CD4⁺Foxp3⁺Treg及Foxp3 mRNA表达水平明显高于对照组($P<0.05$)。不良反应的发生率观察组(7/137,5.11%)低于对照组(16/137,11.68%)。结论:漏芦升麻汤联合阿奇霉素干混悬剂治疗小儿邪热壅肺型MPP的临床疗效明显,可明显改善患儿病证,对患儿调节性T细胞及Foxp3 mRNA表达的影响优于单用阿奇霉素干混悬剂,具有有效性,且不良反应的发生率较单用阿奇霉素干混悬剂低。

[关键词] 漏芦升麻汤;阿奇霉素;小儿支原体肺炎;邪热壅肺;调节性T细胞;核转录因子叉状头/翅膀状螺旋转录因子3(Foxp3) mRNA

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)15-0090-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201524

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200522.1442.002.html>

[网络出版日期] 2020-5-22 17:22

Efficacy of Loulu Shengma Tang Combined with Azithromycin in Treating Children with Mycoplasma Pneumonia with Obstruction of Lung by Pathogenic Heat and Its Effect on Treg and Foxp3 mRNA

ZHANG Hui-guo*, DONG Zhi-qiao, WANG Xiao-li, CHEN Tuan-ying, TIAN Xin-lei
(Henan Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450009, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the clinical efficacy of Loulu Shengma Tang combined with azithromycin in the treatment of pediatric mycoplasma pneumoniae pneumonia(MPP) with obstruction of lung by pathogenic heat, and its effect on inflammatory factors, treg and Foxp3 mRNA. **Method:** Totally 274 children with MPP were divided into observation group (137 cases) and control group (137 cases). Observation group was treated with Loulu Shengma Tang combined with azithromycin dry suspension, while control group was treated with azithromycin dry suspension alone. The changes of traditional Chinese medicine (TCM) syndrome score of pathogenic-heat obstruction in the lung, serum inflammatory cytokines [interleukin-6 (IL-6),

[收稿日期] 20200507(001)

[基金项目] 河南省卫生厅科技创新人才项目(172102310322)

[通信作者] *张辉果,硕士,主治医师,从事中医儿科疾病研究,Tel:0371-60908747,E-mail:zhanghuiguo2@163.com

interleukin-10 (IL-10), tumor necrosis factor- α (TNF- α), C-reactive protein (CRP)], CD4⁺CD25⁺Treg, CD4⁺Foxp3⁺Treg and Foxp3 mRNA expressions were observed after treatment. The clinical efficacy and the incidence of adverse reactions were compared between two groups. **Result:** The total effective rate of observation group was 94.16% (129/137) after treatment, which was significantly higher than 77.37% (106/137) of observation group ($P < 0.05$). The disappearance times of cough, lung rale, fever and lung shadow in observation group were shorter than that in control group ($P < 0.05$). After treatment, TCM syndrome score of pathogenic-heat obstruction in lung was significantly higher than those in control group ($P < 0.05$), serum IL-6, IL-10, TNF- α and CRP levels in observation group were significantly lower than those in control group ($P < 0.05$, $P < 0.01$), while CD4⁺CD25⁺Treg, CD4⁺Foxp3⁺Treg and Foxp3 mRNA expressions were significantly higher than those in control group ($P < 0.05$). The incidence of adverse reactions in observation group was 7/137 (5.11%), which was significantly lower than 16/137 (11.68%) in control group. **Conclusion:** The clinical efficacy of Loulu Shengma Tang combined with azithromycin dry suspension in the treatment of pediatric MPP and its effect on serum inflammatory factors (IL-6, IL-10, TNF- α , CRP), regulatory T cells and Foxp3 mRNA expressions were better than those of azithromycin dry suspension alone. The incidence of adverse reactions of Loulu Shengma Tang was lower than that of azithromycin dry suspension alone.

[Key words] Loulu Shengma Tang; azithromycin; mycoplasma pneumonia in children; pathogenic-heat obstruction in the lung; regulatory T cells; Foxp3 mRNA

支原体(MP)是介于细菌和病毒之间的无细胞壁病原体^[1]。支原体肺炎(MPP)是一种由MP感染引起的支气管炎样病变,为儿科常见病、多发病,由肺炎支原体感染所致,可发生于任何季节,易在学校、幼儿园等封闭的环境中传播流行^[2]。对MPP的临床治疗,西医尚未形成规范的治疗方案,多用大环内酯类抗生素进行抗感染治疗,该类药物治疗确切,但易出现恶心、腹痛、肝功能损害等不良反应,阿奇霉素作为目前治疗MPP的一线药物,临床疗效切实可靠^[3]。中医古籍中对MPP并未见有明确的记载,现代医家大多将其归属于“肺炎喘嗽”的范畴。小儿肺炎喘嗽的主要病机为肺气郁闭,失于宣肃,日久生热,灼津炼液为痰,而致痰热互结,痰、热为本病的主要致病因素^[4]。

中医在临床上治疗该病的方法众多,有活血化瘀法、养阴清热法、清肺泻肝法、健脾益气法、清热化痰止咳法等^[5]。邪热雍肺型MPP在临床症状上主要表现为发热、咳嗽、咳痰、气喘等证候,漏芦升麻汤出自《景岳全书》卷六十四,功能清热解毒,主治热毒壅盛,脏腑素有积热,发为肿毒疮瘡,一切红肿恶毒,对小儿MPP的邪热雍肺证有较好的疗效,可用于小儿MPP患者邪热雍肺证的治疗。MPP的免疫学发病机制主要有免疫功能紊乱、细胞因子表达异常等^[6]。核转录因子叉状头/翅膀状螺旋转录因子3(Foxp3)是一种具有抑制T细胞表达能力的转录因子,具有调节细胞免疫的重要功能,能够引

发机体的免疫耐受^[7]。本研究的目的是观察漏芦升麻汤联合阿奇霉素对邪热雍肺型MPP患儿的疗效及其炎症因子、调节性T细胞及Foxp3 mRNA表达水平影响,为小儿邪热雍肺型MPP的诊断和治疗提供理论基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取于2017年2月至2018年6月河南省中医院儿科收治的确诊为邪热雍肺型MPP的患儿共281例,其中体温 $>39^{\circ}\text{C}$ 的患儿49例, $38\sim 39^{\circ}\text{C}$ 患儿171例, $<38^{\circ}\text{C}$ 的患儿61例,且所有患儿均有咳嗽的症状。按随机数字表法将281例患儿分为观察组(139例)和对照组(142例),其中观察组患儿男74例,女65例,年龄2.6~10.8岁,平均年龄 (6.7 ± 1.9) 岁,病程4~12 d,平均病程 (7.2 ± 2.8) d,对照组男73例,女69例,年龄2.9~11.3岁,平均年龄 (7.3 ± 2.6) 岁,病程4~11 d,平均病程为 (7.1 ± 2.9) d,在年龄、性别比、病程、临床症状、抗体滴度等资料比较时,两组患儿差异无统计学意义,具可比性。本研究通过河南省中医院医学伦理委员会批准,批号2017KY053。研究过程中观察组脱落2例,对照组脱落5例。

1.2 临床诊断标准

1.2.1 西医诊断标准 参照《诸福棠实用儿科学》^[8]对小儿MPP的诊断标准,①发热,持续的剧烈咳嗽;②X射线检查见扇状或云雾状游走形阴影;③支原体特异性抗体免疫球蛋白(Ig)M(MP-IgM)

检测结果显示为阳性(抗体滴度 $\geq 1:64$);④白细胞正常或稍高,头孢或青霉素类抗生素治疗无效。

1.2.2 邪热雍肺证辨证标准 参照《国家标准应用-中医内科疾病诊疗常规》^[9]风温肺热病中对邪热雍肺证型的标准进行中医学辨证诊断,主证为高热持续不退,咳嗽,咳痰铁锈色或咳痰黄稠,胸痛,呼吸气促;次证为口渴烦躁,大便干燥,小便黄赤;舌脉,舌红,苔黄,脉滑数或洪数。主证必备并具次证中2项者参照舌脉可辨证为本证。

1.3 病例纳入标准 ①符合上述西医诊断标准;②符合邪热雍肺证辨证标准;③患者家属知情并签署书面知情同意书。

1.4 病例排除标准 ①家属未能签署知情同意书者;②肺炎病因不是因支原体感染引起者;③有药物过敏史者;④心、肝、肾功能异常者;⑤在治疗过程中不能积极配合医护人员开展相关诊疗工作者;⑥伴有其他系统疾病及治疗过程中接受其他药物或手段治疗可能影响本研究结果者。

1.5 治疗方法 观察组给予漏芦升麻汤联合阿奇霉素治疗。漏芦升麻汤方剂组成为漏芦10g,大青叶10g,升麻8g,黄芩5g,生甘草5g,玄参5g,牛蒡子^(炒)5g,桔梗5g,连翘5g,组方所需饮片均来自河南省中医院门诊药房,经河南中医药大学药学院生药教研室董诚明教授鉴定均为正品。饮片由河南省中医院制剂室以YY-W3+1型微压三缸全自动煎药包装一体机(济南永延机械有限公司)煎药机统一煎煮,每剂药物煎煮2次,混合药液至300mL,7岁以内每次100mL,7岁以上每次150mL,分早、晚饭后温服;阿奇霉素干混悬剂(希舒美,辉瑞制药有限公司,国药准字H10960112,0.1g/袋), $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,口服,溶于温开水中,服用前搅拌均匀,每天1次。对照组患儿口服阿奇霉素干混悬剂联合双黄连口服液(郑州太龙药业股份有限公司,国药准字Z20133010)治疗,双黄连口服液,口服,7岁以内1次10mL,7岁以上1次20mL,1日3次;阿奇霉素干混悬剂用法用量与观察组相同。两组患儿均10d为1个疗程进行观察,治疗期间禁用其他药物或任何其他治疗方法。

1.6 观察指标

1.6.1 疗效性观察 对两组患儿的体征及临床表现症状进行详细的观察,记录临床症状消失与改变的具体时间,如咳嗽、肺部啰音的消失时间、退热的具体时间及X射线检查肺部阴影的消失时间。

1.6.2 邪热雍肺证评分 参照《国家标准应用-中

医内科疾病诊疗常规》^[9]对邪热雍肺型MPP患儿的邪热雍肺证进行评分,各证每项0~10分,分值越高表示症状越严重。各受试患儿于治疗前后各评价1次。

1.6.3 炎症因子的检测 于治疗前后早晨空腹抽取患儿外周静脉血,检测患儿血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-6(IL-6),白细胞介素-10(IL-10)及C-反应蛋白(CRP)水平的高低。其中CRP采用免疫比浊法,利用7020型全自动生化分析仪(日本Hitachi公司)检测,CRP试剂盒购于南京建成生物工程研究所,批号20180314;TNF- α ,IL-6及IL-10以酶联免疫吸附测定(ELISA)检测,试剂盒购于南京建成生物工程研究所,批号分别为20180209,20180503,20180416,具体测定方法以试剂盒说明书进行。

1.6.4 Foxp3表达检测 ①Foxp3蛋白表达检测,于治疗前后早晨空腹抽取各患儿外周静脉血,采用密度梯度离心法获得单个核细胞(PBMC),取细胞总蛋白,BCA试剂盒(Proteintech公司,批号P0017)测定蛋白浓度,煮沸5min,采用Mini PROTEAN型电泳仪及转膜仪(美国Bio-Rad公司),10%SDSPAGE电泳,半干转膜,室温封闭2h,Foxp3单克隆抗体(1:1000)置于4℃孵育过夜,标记有辣根过氧化物酶二抗(1:2000)室温孵育2h,化学发光检测,Quantity One软件测条带灰度值, β -肌动蛋白(β -actin,美国CST公司,批号4952)为内参照蛋白,以Foxp3/ β -actin计算Foxp3蛋白表达。Foxp3单克隆抗体(英国Abcam公司,批号83109)。②Foxp3 mRNA表达检测,采用实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测患儿外周血中Foxp3 mRNA的表达水平。按照trizol试剂盒(美国Mvirogen公司,批号91112)的操作说明书进行患儿外周血总RNA的提取,逆转录合成cDNA,逆转录试剂盒(美国Promega公司,批号84107),反应条件:15min 42℃,5min 95℃,5min 4℃。以cDNA 1 μ L为模板,扩增Foxp3,GAPDH,引物序列由北京六合华大基因科技股份有限公司合成,Foxp3(238bp):上游5'-CACTTCTGCTGTGGGTAGGT-3',下游5'-AAGGCAGCGGGACGATATGT-3';GAPDH(426bp):上游5'-CCAAGAGTGATGGTGACGTC-3',下游5'-TCGTCGTTTGTCCACCAACCTC-3'。PCR试剂盒(美国Promega公司,批号850921),PCR扩增条件:2min 95℃,1min 95℃,1min 72℃,39个循环,5min 72℃。1.5%琼脂糖凝胶进行电泳,用

FluorChem 软件对特异性电泳条带进行分析,以 Foxp3/GAPDH 积分吸光度作为 Foxp3 mRNA 相对表达量。

1.6.5 血清相关T细胞检测 分别于治疗前后,抽取两组患儿空腹静脉血于抗凝管内,取抗凝血加入流式管中,加入溶血剂 1 mL 混匀,37 °C 避光静置 15 min,加入磷酸盐缓冲液(PBS) 1 mL 洗涤,3 000 r·min⁻¹离心 5 min,弃去上清液,加入 Foxp3 固定液 2 mL,22 °C 避光静置 15 min,加 PBS 1 mL 洗涤,3 000 r·min⁻¹离心 5 min,弃去上清液,加入 Foxp3 缓冲液 500 μL,22 °C 避光静置 20 min,加入 PBS 1 mL 洗涤,3 000 r·min⁻¹离心 5 min,弃去上清液,加入 APC-CD25, FITCCD4, PEFoxp3 单克隆抗体(英国 Abcam 公司,批号分别为 83127, 85094, 92018)各 10 μL,22 °C 避光静置 30 min,加入 PBS 1 mL 洗涤,3 000 r·min⁻¹离心 5 min,弃去上清液,加入 PBS 液 500 μL,采用 Gallios 型流式细胞仪(美国贝克曼库尔特公司)检测 CD4⁺CD25⁺Treg 和 CD4⁺Foxp3⁺Treg 比例。

1.6.6 安全性评价 于治疗前后分别对两组受试患儿以下影响用药安全性的项目进行检测,以评价治疗药物的安全性,胃肠反应(恶心、呕吐、便秘、腹泻及消化不良等);血、尿、便常规检查;心、肝、肾功能检测。

1.7 临床疗效评价标准 收集两组患儿的退热时间、咳嗽症状的消失时间、肺部啰音的消失时间,X 射线检查炎症的消失时间、抗体滴度等临床资料,参照文献[10-11],制定小儿 MPP 的临床疗效评价标准,痊愈,用药治疗 3 d 内患儿体温恢复正常,5 d 内咳嗽症状完全消失,10 d 内患儿肺部的啰音症状消失,X 射线检查肺部阴影情况完全消失不见,特异抗体滴度<1:64。显效,用药治疗 3 d 内患儿体温恢复正常,7 d 内咳嗽症状大幅缓解,10 d 内肺部的啰音症状明显减少,X 射线检查肺部阴影基本消失,抗体滴度<1:64。有效,用药治疗 7 d 内患儿的体温基本恢复为正常,10 d 内咳嗽症状较治疗前减轻,肺部啰音情况及 X 射线检查炎症情况有所减轻,抗体滴度<1:64。无效,用药疗程结束时患儿发热情况仍未消失,咳嗽症状未见缓解,肺部啰音情况及 X 射线检查肺部阴影情况仍然存在,抗体滴度≥1:64。总有效率=(痊愈+显效+有效)/总人数×100%。

1.8 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计分析软件对两组患儿治疗前后各项指标之间的差异进行统计学分析处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,患儿各项指

标组间的比较均采用 *t* 检验,计数资料采用卡方检验,以 *P*<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患儿临床疗效比较 观察组的临床治疗总有效率高高于对照组($\chi^2=21.917, P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组患儿临床疗效比较

组别	痊愈	显效	有效	无效	总有效
观察	41(29.93)	58(42.33)	30(21.90)	8(5.84)	129(94.16)
对照	27(19.71)	38(27.74)	41(29.93)	31(22.63)	106(77.37) ¹⁾

注:与对照组比较¹⁾*P*<0.05(表 2,7 同)。

2.2 两组患儿临床指标消失时间比较 治疗后与对照组比较,观察组咳嗽、肺部啰音的消失时间、退热时间及 X 射线检查肺部阴影症状消失时间均短于对照组(*P*<0.01)。见表 2。

表 2 两组患儿临床指标消失时间比较($\bar{x} \pm s, n=137$)

组别	咳嗽消失	肺部啰音消失	退热	肺部阴影消失
观察	4.38±2.17 ¹⁾	4.21±1.76 ¹⁾	3.67±1.52 ¹⁾	7.75±1.68 ¹⁾
对照	7.54±2.59	6.46±1.91	5.49±1.73	9.63±1.77

2.3 两组患儿邪热雍肺证评分比较 与本组治疗前比较,治疗后两组患儿的邪热雍肺证评分均有明显降低(*P*<0.05, *P*<0.01),其中对照组改善明显(*P*<0.05),观察组改善显著(*P*<0.01),观察组改善情况优于对照组(*P*<0.05)。见表 3。

2.4 两组患儿治疗前后炎症因子比较 与本组治疗前比较,治疗后两组患儿血清 IL-6, IL-10, TNF- α 与 CRP 水平均有明显降低(*P*<0.05, *P*<0.01);与对照组治疗后比较,观察组患儿血清 IL-6, IL-10, TNF- α 和 CRP 水平降低更明显(*P*<0.05, *P*<0.01)。见表 4。

2.5 两组患儿治疗前后 Foxp3 相对表达比较 与本组治疗前比较,治疗后 Foxp3 蛋白及 mRNA 表达水平明显升高(*P*<0.05, *P*<0.01),治疗后观察组患儿的 Foxp3 蛋白及 mRNA 表达水平明显高于对照组(*P*<0.05)。见图 1, 2, 表 5。

2.6 两组患儿 CD4⁺CD25⁺Treg, CD4⁺Foxp3⁺Treg 比较 与本组治疗前比较,治疗后 CD4⁺CD25⁺Treg 和 CD4⁺Foxp3⁺Treg 均明显升高(*P*<0.05),治疗后观察组 CD4⁺CD25⁺Treg 和 CD4⁺Foxp3⁺Treg 明显高于

表 3 两组患儿邪热雍肺证评分比较($\bar{x}\pm s, n=137$)

Table 3 Comparison of pathogenic-heat obstruction in lung syndrome score between two groups($\bar{x}\pm s, n=137$)

组别	时间	高热持续不退	咳嗽	胸痛	呼吸气促	次证	舌脉	邪热雍肺证评分
观察	治疗前	5.74±0.69	4.91±0.56	4.33±0.61	5.08±0.64	16.68±2.92	15.47±2.56	52.21±7.17
	治疗后	1.54±0.38 ^{2,3)}	1.79±0.36 ^{2,3)}	1.62±0.42 ^{2,3)}	2.13±0.49 ^{2,3)}	5.61±1.27 ^{2,3)}	6.69±1.71 ^{2,3)}	19.38±5.19 ^{2,3)}
对照	治疗前	5.71±0.66	4.89±0.52	4.32±0.57	5.06±0.63	16.53±2.78	15.63±2.71	52.14±7.32
	治疗后	3.45±0.53 ¹⁾	3.43±0.42 ¹⁾	3.28±0.46 ¹⁾	4.03±0.56 ¹⁾	11.74±1.83 ¹⁾	11.84±2.25 ¹⁾	37.77±5.93 ¹⁾

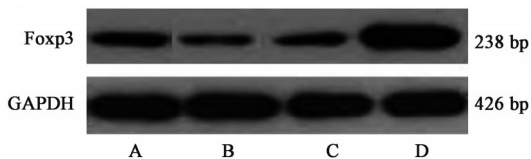
注:与治疗前组内比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与治疗前对照组比较³⁾ $P<0.05$ (表 5,6 同)。

表 4 两组患儿治疗前后血清 IL-6, IL-10, TNF- α , CRP 水平比较($\bar{x}\pm s, n=137$)

Table 4 Comparison of levels of serum IL-6, IL-10, TNF- α and CRP between two groups of children before and after treatment($\bar{x}\pm s, n=137$)

组别	时间	IL-6/ng·L ⁻¹	IL-10/ng·L ⁻¹	TNF- α /ng·L ⁻¹	CRP/mg·L ⁻¹
观察	治疗前	29.34±6.27	13.71±4.39	21.29±5.78	53.88±11.19
	治疗后	8.29±2.55 ^{2,3)}	7.58±2.43 ^{2,3)}	7.91±2.35 ^{2,3)}	16.57±5.12 ^{2,4)}
对照	治疗前	29.26±5.93	13.37±4.24	20.87±5.65	54.26±11.38
	治疗后	11.38±3.12 ²⁾	10.31±2.76 ¹⁾	11.23±2.97 ²⁾	9.73±3.24 ²⁾

注:与本组治疗前比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与对照组治疗后比较³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$ 。



A. 对照组治疗前;B. 观察组治疗前;C. 对照组治疗后;D. 观察组治疗后(图 2 同)

图 1 两组患儿治疗前后 Foxp3 mRNA 表达电泳

Fig. 1 Electrophoresis of Foxp3 mRNA expression before and after treatment in both groups

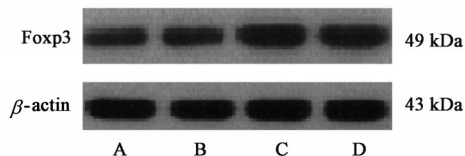


图 2 两组患儿治疗前后 Foxp3 蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of Foxp3 protein expression before and after treatment in both groups

表 5 两组患儿 Foxp3 蛋白及 mRNA 表达水平比较($\bar{x}\pm s, n=137$)

Table 5 Comparison of levels of Foxp3 protein and mRNA expressions between two groups of children($\bar{x}\pm s, n=137$)

组别	时间	Foxp3 蛋白	Foxp3 mRNA
观察	治疗前	0.13±0.02	1.27±0.15
	治疗后	0.29±0.04 ^{2,3)}	1.68±0.19 ^{2,3)}
对照	治疗前	0.13±0.02	1.26±0.15
	治疗后	0.18±0.03 ¹⁾	1.45±0.17 ¹⁾

对照组($P<0.05$)。见表 6。

2.7 安全性评价 于治疗前后对两组患儿的胃肠反应(恶心、呕吐、便秘、腹泻、消化不良、食欲减退

表 6 两组患儿 CD4⁺CD25⁺Treg 和 CD4⁺Foxp3⁺Treg 比较($\bar{x}\pm s, n=137$)

Table 6 Comparison of percentage rate of CD4⁺CD25⁺Treg and CD4⁺Foxp3⁺Treg between two groups of children($\bar{x}\pm s, n=137$)

组别	时间	CD4 ⁺ CD25 ⁺ Treg	CD4 ⁺ Foxp3 ⁺ Treg
观察	治疗前	3.37±1.15	3.91±1.53
	治疗后	7.28±1.41 ^{2,3)}	6.59±2.16 ^{2,3)}
对照	治疗前	3.43±1.19	3.94±1.57
	治疗后	5.87±1.66 ¹⁾	4.83±1.75 ¹⁾

等)、尿常规、血常规、过敏、肝肾功能等影响安全用药的项目进行监控,结果显示,两组患儿治疗过程中均有不同程度的不良反应发生,其中观察组低于对照组的不良反应率($P<0.05$)。见表 7。

3 讨论

MPP 为儿科常见的呼吸系统疾病,是小儿肺炎常见的类型,报道显示, MPP 占有类型肺炎的 25%~35%^[12]。近年来,随着环境的污染与恶化日益严重,抗生素滥用现象的日益增加,导致小儿支气管肺炎的发病率逐年升高,且病原体耐药性增高,疾病治疗难度加大,目前在临床治疗上,大环内酯类抗生素阿奇霉素是临床治疗小儿 MPP 的首选药物,阿奇霉素对小儿 MPP 的临床疗效已得到肯定,但其存在胃肠道不良反应、过敏、肝肾功能损害等副作用^[13]。在临床治疗中,将中药与抗感染西药联用对于改善抗感染药物耐药性与降低西药的毒副作用提供了新的思路和途径^[14]。

表7 两组患儿不良反应发生率比较

Table 7 Incidence of adverse reactions between two groups of children

组别	胃肠反应/例(%)	血常规/例(%)	尿常规/例(%)	过敏/例(%)	肝肾功能/例(%)	不良反应率/%
观察	3(2.19)	1(0.73)	-	2(1.46)	1(0.73)	5.11
对照	6(4.38)	2(1.46)	1(0.73)	4(2.92)	3(2.19)	11.68 ¹⁾

MPP属中医“肺炎喘嗽”范畴,由于儿童脏腑娇嫩,肺常不足,外邪客肺,肺气失宣,入里化热,炼液为痰,痰浊停聚于肺,阻塞气道,肺气郁闭,阻滞气机,则生发热、咳喘、气急之证,病因是外感温热邪毒,病机为温毒湿邪闭郁肺气的演变^[15]。漏芦升麻汤由漏芦、大青叶、升麻、黄芩、生甘草、玄参、牛蒡子、桔梗、连翘组成,方中漏芦、大青叶、升麻、黄芩、连翘清热解毒、凉血消肿,玄参清热滋阴、解毒散结,牛蒡子疏散风热、宣肺利咽,桔梗宣肺、祛痰、排脓,甘草祛痰止咳、调和诸药,诸药合用全方结构严谨,药性平和,共具清热解毒、化痰排脓之效,主治肺痈,热毒壅滞,痰瘀互结证,用于邪热雍肺等脏腑积热恶毒,可用于肺部感染性疾病邪热雍肺型小儿MPP的治疗。

有研究表明,小儿MPP的发生及病程发展不仅与感染病原菌有关,同时与炎症因子的过度表达密切相关,机体较高的炎症因子水平导致全身性炎症反应综合征的发生^[16]。MPP炎症因子在临床中主要包括IL-6,IL-10,TNF- α 及CRP等,其中IL-6作为一种重要的非特异性炎症因子,在机体的炎症反应、抗感染、自身免疫方面起着重要作用,尤其是IL-6参与了肺部炎症的病理及MP的感染过程,在小儿MPP的发生与发展过程中起着非常重要的作用,为炎症急性期的反应指标,IL-10作为一种负性炎症调节因子,能抑制TNF- α 等细胞因子及其促炎因子的产生和释放,具有很强的抗炎症作用,血清TNF- α 是提示机体炎症的敏感指标,机体在遭受病原微生物感染时,一方面产生IL-6,TNF- α 等促炎因子以清除病原微生物,促进机体组织的修复,另一方面又通过释放IL-10等抑炎因子来下调或平衡炎症反应^[17]。CRP对MPP患病机体具有非常重要的防御作用,也是反映MPP小儿机体炎症的常用指标,检测CRP指标水平有助于明确MPP患儿病情,指导临床治疗^[18]。Foxp3是一类叉头样转录因子,其主要功能是维持机体免疫功能,是CD₄⁺T细胞群的特异性标志。Foxp3是能够上调CD₄⁺CD₂₅⁺Treg表达的基因,提高CD₄⁺CD₂₅⁺Treg的免疫抑制作用,Foxp3 mRNA的表达与CD₄⁺CD₂₅⁺Treg的水平

在机体内呈正相关,故本研究选取Foxp3与CD₄⁺CD₂₅⁺Treg进行研究^[19]。

本研究将漏芦升麻汤与阿奇霉素联用治疗小儿邪热雍肺型MPP,结果表明,观察组患儿的临床治疗有效率高于单用阿奇霉素的对照组,说明漏芦升麻汤能显著提高小儿邪热雍肺型MPP的治疗效果;观察组患儿的咳嗽、肺部啰音症状的消失时间,X射线检查肺部阴影症状的消失时间及退热时间均显著短于对照组,提示漏芦升麻汤能更快速的控制患儿肺炎症状;观察组患儿邪热雍肺证评分改善显著优于对照组,说明漏芦升麻汤能显著改善患儿的中医邪热雍肺证,有利于减轻或消除患者的中医症状体征;观察组患儿血清IL-6,IL-10,TNF- α 及CRP水平显著低于对照组,说明漏芦升麻汤与阿奇霉素联用能有效控制邪热雍肺型MPP患儿炎症;观察组患儿Foxp3蛋白及mRNA表达水平高于对照组,CD₄⁺CD₂₅⁺Treg和CD₄⁺Foxp3⁺Treg均高于对照组,表明Foxp3蛋白及mRNA表达水平的升高以及CD₄⁺CD₂₅⁺Treg和CD₄⁺Foxp3⁺Treg升高能提高CD₄⁺CD₂₅⁺Treg细胞的活性^[20],从而增强机体的免疫抑制功能,表明漏芦升麻汤有通过调节Foxp3基因而调控小儿邪热雍肺型MPP炎症反应的作用。

综上所述,漏芦升麻汤联合阿奇霉素对邪热雍肺型MPP患儿临床疗效明显,可明显改善患儿症状及中医邪热雍肺证,减轻炎症反应,其作用机制可能是通过提高Foxp3蛋白及mRNA表达水平使CD₄⁺CD₂₅⁺Treg细胞的活性增强,从而增强机体的免疫活性,发挥炎症抑制作用。

【参考文献】

[1] 郭清,韩登高. 肺痈宁方辅助治疗对肺炎支原体肺炎患儿早期血清中sIL-2R、IL-6与外周血单个核细胞SOCS3表达的影响[J]. 中药材, 2016, 39(7): 1664-1666.
[2] 陈团营,朱珊,边红恩,等. 莲花清瘟颗粒对小儿肺炎支原体肺炎肺功能指标、血清炎症因子水平影响及疗效分析[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(11): 2713-2715.
[3] 林坚,许志有,邢东文. 痰热清注射液联合阿奇霉素

- 治疗小儿支原体肺炎的疗效及对炎症因子的影响[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(9): 2418-2420.
- [4] 王丹. 清肺饮合槐杞黄颗粒治疗小儿支原体肺炎(痰热闭肺型)的临床疗效评价[D]. 长春: 长春中医药大学, 2018.
- [5] 陈弘韬. 风热方配合肺炎贴治疗小儿支原体肺炎风热闭肺证的临床观察[D]. 福州: 福建中医药大学, 2018.
- [6] SONG Q, XU B P, SHEN K L. Bacterial co-infection in hospitalized children with mycoplasma pneumoniae Pneumonia[J]. Indian Pediatr, 2016, 53(10): 879-882.
- [7] 沈彩红, 刘云, 余宪文, 等. 茜草醇提物对佐剂性关节炎大鼠肝脏、脾脏损伤及 Foxp3 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(7): 147-153.
- [8] 胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 7版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1204-1205.
- [9] 朱文锋. 国家标准应用-中医内科疾病诊疗常规[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1999: 272-279.
- [10] 郑锋, 陆凤娟, 徐颖, 等. 双黄连颗粒联合阿奇霉素干混悬剂治疗小儿支原体肺炎的临床疗效观察[J]. 中草药, 2015, 38(2): 416-418.
- [11] 廖震, 楼凌云. 小儿肺咳颗粒辅助治疗儿童支原体肺炎的疗效及其对血清活化蛋白C和白介素1受体1型水平的影响[J]. 中国妇幼保健, 2018, 33(2): 369-371.
- [12] 钟红平, 王宽锋, 刘世平. 蛇胆川贝液治疗小儿难治性支原体肺炎的临床疗效观察[J]. 中药药理与临床, 2017, 33(2): 192-194.
- [13] 罗玉君, 温晓莹, 倪晓良, 等. 喜炎平注射液联合阿奇霉素治疗小儿支原体肺炎疗效及安全性的 Meta 分析[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(10): 2153-2161.
- [14] 徐志立, 张莹, 陶小军, 等. 中药与抗感染西药联用中的增效减毒相互作用[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(1): 202-204.
- [15] 张宁. 儿童肺炎支原体肺炎合并腺病毒感染的证治研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2015.
- [16] 陈棉, 王伟杰, 谢维维, 等. 支气管肺炎患儿 IL-6、IL-8、CRP 等感染标志物的变化及临床意义分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(18): 4207-4209.
- [17] 苑伟, 杨慧, 谢勇, 等. 连翘酯苷 A 对全身内毒素血症小鼠调节性 T 细胞的影响[J]. 中成药, 2014, 36(8): 1584-1588.
- [18] 刘桂兰. 肺炎支原体肺炎患儿血清 IL-37、IL-18 水平变化的研究[D]. 南昌: 南昌大学第一附属医院, 2015.
- [19] 柯胜忠, 张多, 张洪雷. 加味千金苇茎汤对小兒支原体肺炎患儿调节性 T 细胞及其相关蛋白 Foxp3 表达的影响[J]. 中医学报, 2018, 33(8): 1388-1391.
- [20] 周奕辰, 王金岩. CD4⁺CD25⁺Treg 细胞在小鼠 Lewis 肺癌生长及转移中的作用[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(14): 1712-1716.

[责任编辑 张丰丰]