

本文引用:魏高文,魏歆然,裴 异,肖作为,朱 旭,刘芸青,陈 书,裴 芸.蜂胶类黄酮对糖尿病合并肺结核患者外周血 WBC 与 T 淋巴细胞亚群的影响[J].湖南中医药大学学报,2017,37(8):891-894.

## 蜂胶类黄酮对糖尿病合并肺结核患者外周血 WBC 与 T 淋巴细胞亚群的影响

魏高文<sup>1</sup>,魏歆然<sup>1</sup>,裴 异<sup>2</sup>,肖作为<sup>1</sup>,朱 旭<sup>1</sup>,刘芸青<sup>1</sup>,陈 书<sup>1</sup>,裴 芸<sup>1\*</sup>

(1.湖南中医药大学,湖南 长沙 410208;2.长沙市中心医院,湖南 长沙 410004)

**[摘要]** 目的 探讨蜂胶类黄酮对糖尿病合并肺结核(diabetes mellitus complicated with pulmonary tuberculosis,DM-PTB)患者外周血中 WBC 与 T 淋巴细胞亚群的影响。方法 以 DM-PTB 患者 120 人为对象,利用随机数字表采用完全随机法分成 A(蜂胶黄酮 1 000 mg/d)、B(蜂胶黄酮 2 000 mg/d)、C(条件对照)三组,每组 40 人,观察 6 个月,比较综合治疗前后白细胞计数(WBC)及分类(淋巴细胞 L 和中性粒细胞 N)、T 淋巴细胞亚群 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>数量及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值的变化,并比较组内前后差异和组间差异。结果 三组 7 项观测指标自身前后配对差值(治疗后-治疗前)的均数比较 Hotelling  $T^2=515.359, P=0.000$ ;治疗 7 项观测指标差别 Wilks  $\lambda=0.017, P=0.000$ ,其中多重比较结果为 WBC 的 B 组大于 A 与 C 组,L 的 B 组>A 组>C 组,N 的 B 组大于 A 与 C 组,CD3<sup>+</sup>的 B 与 A 组大于 C 组,CD4<sup>+</sup>的 B 组>A 组>C 组,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值多重比较结果为 B 与 A 组大于 C 组。结论 蜂胶类黄酮能提高 DM-PTB 患者的细胞免疫水平。

**[关键词]** 蜂胶类黄酮;DM-PTB;WBC;T 淋巴细胞亚群;细胞免疫

**[中图分类号]**R932;R521;R587.1

**[文献标志码]**B

**[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2017.08.019

### Effect of Propolis Flavonoids on WBC and T lymphocyte Subsets in Peripheral Blood of Patients with Diabetes Mellitus Complicated with Pulmonary Tuberculosis

WEI Gaowen<sup>1</sup>, WEI Xinran<sup>1</sup>, PEI Yi<sup>2</sup>, XIAO Zuowei<sup>1</sup>, ZHU Xu<sup>1</sup>, LIU Yunqing<sup>1</sup>, CHEN Shu<sup>1</sup>, PEI Yun<sup>1\*</sup>

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Changsha Central Hospital, Changsha, Hunan 410004, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effect of propolis flavonoids on the level of the WBC and T lymphocyte subsets in peripheral blood of patients with diabetes mellitus complicated with pulmonary tuberculosis (DM-PTB). **Methods** The 120 DM-PTB patients were randomly divided into group A (propolis flavonoids 1 000 mg/d), group B (propolis flavonoids 2 000 mg/d), group C (control), 40 cases in each group. The WBC count and classification (lymphocyte L and neutrophil N), T lymphocyte subsets CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio in within and between groups were compared. **Results** The 7 sets of indicators before and after the treatment in the three groups were compared, Hotelling  $T^2=515.359, P=0.000$ . The 7 sets of indicators after treatment were tested, Wilks  $\lambda=0.017, P=0.000$ . Multiple comparison results showed that WBC: group A > group B and group C, L: group B > group A > group C, N: group B > group A and group C, CD3<sup>+</sup>: group A and B > group C, CD4<sup>+</sup>: group B > group A > group C, CD4<sup>+</sup> / CD8<sup>+</sup> ratio: group A and B > group C. **Conclusion** Propolis flavonoids can enhance the cellular immunity of DM-PTB patients.

**[Keywords]** propolis flavonoids; WBC; T lymphocyte subsets; cellular immunity

糖尿病(diabetes mellitus,DM)已成为继心脑血管疾病、恶性肿瘤之后的另一种严重危害人民健康的慢性非传染性疾病<sup>[1]</sup>。长期的高血糖可导致 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、B 细胞、NK 细胞显著性减低,机体

免疫功能下降,从而引起肺结核、肾病等并发症的发生<sup>[2]</sup>。糖尿病合并肺结核(diabetes mellitus complicated with pulmonary tuberculosis,DM-PTB)是指集糖尿病和肺结核于一身的综合病症,是导致肺结

**[收稿日期]**2016-09-17

**[基金项目]**湖南省自然科学基金项目(14JJ2112)。

**[作者简介]**魏高文,男,教授,主要研究方向为中西医结合防治糖尿病。

**[通讯作者]**\*裴 芸,女,讲师,E-mail:758090368@qq.com。

核治疗失败最常见的因素之一<sup>[3-4]</sup>。蜂胶中包含 300 多种已知的物质,其主要有效成份为类黄酮等<sup>[5]</sup>,一般说明书上以类黄酮标注为有效成份,其具有抗菌消炎、增强免疫、改善微循环、抗氧化、促进组织再生等广泛的生物学作用<sup>[6-9]</sup>。本课题的研究,旨在探讨蜂胶类黄酮对 DM-PTB 患者的细胞免疫水平的影响,为临床应用提供参考。

## 1 研究对象

### 1.1 一般资料

以 2014 年 1 月到 2015 年 12 月期间来长沙市中心医院就诊的 DM-PTB 患者 120 人为对象,其中男性 62 人,女性 58 人,平均年龄 56.3 岁,最小 42 岁,最大 72 岁。利用随机数字表采用完全随机法分成 A、B、C 三组,每组 40 人,各组治疗前的年龄、性别差别无统计学意义(以  $P>0.20$  为均衡可比)。

### 1.2 纳入标准

肺结核的诊断依据中华医学会结核病学分会 2013 年修订的《肺结核诊断和治疗指南》进行<sup>[10]</sup>, 糖尿病的诊断依据中华医学会糖尿病学分会制定的《中国血糖监测临床应用指南(2011 年版)》<sup>[11]</sup>。对所有符合条件的 DM-PTB 患者进行宣传教育,在充分了解本研究的前提下,自愿接受本研究治疗方案的治疗及检测,签署《知情同意书》后方纳入研究。

### 1.3 排除标准

符合下列条件之一者排除出研究对象:(1)广泛耐药肺结核(XDR-PTB)患者;(2)合并 HIV 感染者;(3)肝功能异常者(AST、ALT 超过正常上限 1.2 倍)或 HbsAg、HbeAg 和 HbcAg 同时阳性者;(4)慢性肾病及肾功能异常者;(5)合并有心脑血管、肾脏、造血系统等严重原发性疾病,消化道溃疡病,或影响其生存的严重疾病(如肿瘤);(6)对试验方案西药治疗药物过敏或对中药复方中药物过敏者;(7)妊娠、准备妊娠或哺乳期妇女;(8)精神或法律上的残疾患者。

### 1.4 退出(脱落)病例标准

因以下原因未完成临床方案的入组病例应视为脱落(脱落的病例应详细记录原因):(1)患者自行退出(疗效太差、不良反应等);(2)失访;(3)研究者令其退出(依从性差、出现夹杂症、严重不良事件)。

## 2 研究方法

### 2.1 治疗方法

2.1.1 常规临床治疗 对所有 DM-PTB 患者全程

督导短程化学治疗(directly observed treatment short-course, DOTS), 初治痰涂片阳性者用 2H3R3Z3S3/4H3R3 方案,其中链霉素过敏者予 2H3R3Z3E3/4H3R3 方案,初治痰涂片阴性者予 2H3R3Z3/4H3R3 方案,复治痰涂片阳性者予 2H3R3Z3E3S3/6H3R3E3 方案,其中链霉素过敏者用 3H3R3Z3E3S3/6H3R3E3,所有病例均给予降糖治疗,采用控制饮食、适当运动,对空腹血糖 7.0~11.1 mmol/L 者予口服降糖药(二甲双胍、格列齐特或格列吡嗪等),空腹血糖超过 11.1 mmol/L 者予早期正规使用小剂量(12~60 U/d)短效胰岛素,待症状控制后,胰岛素逐步减量,直至停用,后改为口服降糖药<sup>[11-13]</sup>。

2.1.2 治疗分组 蜂胶黄酮低剂量组(A组):在常规治疗的基础上辅以低剂量蜂胶黄酮口服,蜂胶软胶囊购自浙江康恩贝集团规格为 500 mg/粒,服用 1 000 mg/d,连续观察 6 个月;蜂胶黄酮常规剂量组(B组):在常规治疗的基础上辅以高剂量蜂胶黄酮口服,标准为 2000 mg/d(厂家推荐剂量),连续观察 6 个月;对照组(C组):常规临床治疗,辅以口服不含蜂胶黄酮的纯化水软胶囊,连续观察 6 个月,作为试验条件对照。

### 2.2 观测指标

所有入选病例均在治疗前空腹抽取外周静脉血液各测定一次白细胞计数(WBC)及分类(淋巴细胞 L 与中性粒细胞 N)、T 淋巴细胞亚群 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值,治疗结束(6 个月)时再次检测上述观测指标。

### 2.3 检验方法

血常规检查试剂异硫氰酸(FITC)荧光抗体抗 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>,藻红蛋白(PE)荧光抗体抗 CD3<sup>+</sup>购于美国 Pharmingen 公司,均为小鼠抗人 IgG 抗体。检测 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞使用美国 BD 公司 FACS calibur 流式细胞仪,用美国雅培公司全自动血细胞分析仪检测 WBC 及 L 与 N,用直接免疫荧光标记法检测外周血淋巴细胞亚群,并用流式细胞仪配套软件(cell quest)分析各样本  $1 \times 10^4$  个细胞中淋巴细胞各亚群阳性表达率。每个样本都以 FITC 和 PE 标记同型 IgG 作为相应的阴性对照。

### 2.4 统计学分析

本研究所获得的数据应用 Epidata 软件建立数据库,采用 SPSS 21.0 统计软件对资料进行统计学分析,以  $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。本次研究所获取资料为计量资料,采用“ $\bar{x} \pm s$ ”描述,组内多变量治疗前后配对比较采用 Hotelling  $T^2$  检验,三组间比较采用单因素方差分析或多元方差分析(MANO-

VA)<sup>[14]</sup>。

### 3 结果

#### 3.1 三组白细胞计数及分类的变化

三组治疗前与治疗 6 个月结束时,各空腹抽取外周静脉血测定白细胞计数(WBC)及分类(淋巴细

胞 L 与中性粒细胞 N),三组 3 项观测指标自身前后配对差值(治疗后-治疗前)的均数,Hotelling  $T^2=515.359, P=0.000$ ,差别有统计学意义,说明治疗后均有所提高;治疗后 3 项观测指标比较,Wilks  $\lambda=0.017, P=0.000$ ,差别有统计学意义,为 B 组高于 A、C 组,结果如表 1 所示。

表 1 三组 DM-PTB 患者白细胞计数及分类的变化 ( $\bar{x}\pm s, \times 10^9/L$ )

组别	n	治疗前			治疗后		
		WBC	L	N	WBC	L	N
A	39	3.83±0.53	0.96±0.13	2.69±0.38	5.08±0.56*#	1.71±0.16*#	3.16±0.37*#
B	37	3.87±0.50	0.95±0.14	2.74±0.34	6.76±0.49*#	2.27±0.14*#	4.23±0.34*#
C	39	3.91±0.59	0.94±0.15	2.77±0.41	4.90±0.61*	1.52±0.20*	3.23±0.39*

注:与同组治疗前比较,\* $P<0.05$ ;与对照组(C 组)比较,# $P<0.05$ 。

#### 3.2 三组 T 淋巴细胞亚群平均百分比及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值的变化

三组治疗前与治疗 6 个月结束时,各空腹抽取外周静脉血测定 T 淋巴细胞亚群 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 平均百分比及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值,以小数来表达。三组

4 项观测指标自身前后配对差值(治疗后-治疗前)的均数比较,Hotelling  $T^2=515.359, P=0.000$ ,差别有统计学意义,说明治疗后均有所提高;三组治疗后 3 项观测指标差别 Wilks  $\lambda=0.001, P=0.000$ ,A、B 组治疗后 3 项观测指标高于 C 组,结果如表 2 所示。

表 2 三组 DM-PTB 患者 T 淋巴细胞亚群平均百分比及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 的比值变化 ( $\bar{x}\pm s, \%$ )

组别	n	治疗前				治疗后			
		CD3 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>
A	39	47.42±6.60	20.30±4.10	25.67±3.01	0.79±0.11	61.38±6.84*#	32.09±4.52*#	27.87±3.41*	1.16±0.15*#
B	37	47.46±5.88	20.25±2.97	26.02±3.36	0.78±0.09	64.86±5.88*#	34.69±4.65*#	28.67±2.39*	1.22±0.16*#
C	39	48.52±7.28	20.71±4.12	26.39±3.60	0.78±0.10	59.74±7.96*	23.93±3.96*	27.82±2.97*	0.86±0.12*

注:与同组治疗前比较,\* $P<0.05$ ;与对照组(C 组)比较,# $P<0.05$ 。

### 4 讨论

本次研究初始纳入 120 例患者,试验过程中脱落失访 5 例,最终纳入分析数据集的病例数为 115 例,其中 A 组 39 例(男 21、女 18)、B 组 37 例(男 18、女 19)、C 组 39 例(男 20、女 19),三组性别构成差别无统计学意义( $\chi^2=0.205, P=0.902$ ),治疗前 7 项观测指标均满足方差齐性( $P>0.20$ ),差别无统计学意义( $P>0.20$ ),说明三组间均衡可比。

蜂胶是由工蜂采集植物树脂与其上颚腺、蜡腺等的分泌物混合形成的胶黏性物质,是一种传统的天然药物,在欧洲的应用历史已有两千多年。《神农本草经》中记载的“露蜂房”,其主要成分是蜂蜡、蜂胶和蜂房油 3 种,具有“主治惊疾、寒热邪气、癫疾、肠痔”的作用。20 世纪 90 年代以来,我国开始对蜂胶的成分、性质、药理和临床应用等进行了大量研究,蜂胶产品的开发应用得到了迅猛的发展,蜂胶现

已收载于《中华人民共和国药典》2010 年版一部。

胸腺依赖性淋巴细胞(T 细胞)是淋巴细胞的主要组分,具有杀伤靶细胞、辅助或抑制 B 细胞产生抗体、对特异性抗原的应答反应以及产生细胞因子等多种生物学功能,是身体中抵御疾病感染、肿瘤形成的“斗士”。1982 年以来,国际上根据分化群抗原(CD 抗原)已经命名了 CD1-CD166 共 180 个分化抗原群,其中 CD4 和 CD8 是区分成熟 T 细胞亚群的主要表面标志。

研究表明,三组治疗前、后白细胞计数及分类 3 项观测指标自身前后配对差值(治疗后-治疗前)的均数差别有高度统计学意义,且各组 3 项观测指标 95% CI 均 $>0$ ,说明治疗后各组 3 项观测指标均较治疗前均有提高,其中 WBC 均值分析的 B 组高于 A 与 C 组,L 均值多重比较结果为 B 组最高、A 组其次、C 组最低,N 数的多重比较结果为 B 组高于 A 与 C 组。这一结果提示蜂胶黄酮可改善 DM-PTB

患者外周血白细胞总数。三组观察对象 T 淋巴细胞亚群数量治疗后与治疗前的均数差值有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 且各组 3 项观测指标 95% CI 均  $> 0$ , 说明治疗后各组 3 项观测指标均值较治疗前均有提高; 与治疗前比较治疗后患者 T 细胞总数、T 细胞亚群及其 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值三组间 3 项观测指标差别有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 其中 CD3<sup>+</sup>T 的多重比较结果 B 组、A 组均高于 C 组, CD4<sup>+</sup>T 的多重比较结果 B 组最高、A 组其次、C 组最低; 三组间 CD8<sup>+</sup> 的差别无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值自身前后配对差值的均数差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 各组 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值自身前后配对差值的均数 95% CI 均  $> 0$ , 治疗后各组 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值均有提高 ( $P < 0.05$ ); 三组治疗后比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 提示: 蜂胶黄酮能提高患者外周血中 T 淋巴细胞亚群 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> 的比例, 提升患者机体的抗结核菌能力。

肺结核合并糖尿病患者的体内存在复杂的微环境, 影响 T 淋巴细胞亚群发挥其功能, 使其保护性的免疫力降低<sup>[15]</sup>。由于蜂胶类黄酮具有较强的清除自由基和抗氧化能力, 具有一定的抗炎功效, 能有效抑制炎症因子的生成, 缓解炎症对细胞造成的伤害<sup>[4-6]</sup>。因此, 在常规治疗的基础上辅以高剂量蜂胶类黄酮口服, 有助于控制血糖、消除炎症, 对 PTB-DM 患者的细胞免疫水平具有增强作用, 从而提高综合疗效。

本课题的研究结果表明, 蜂胶黄酮 1 000 mg/d, 连续服用 6 个月, 可以提升 T 淋巴细胞亚群 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> 的比例, 蜂胶黄酮 2 000 mg/d 时, 可显著改善白细胞计数总数、淋巴细胞数、T 淋巴细胞亚群 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> 的比例及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值, 说明蜂胶类黄酮对 DM-PTB 患者的细胞免疫水平具有增强作用, 其机制值得进一步探讨。

## 参考文献:

- [1] 罗美庄, 魏高文, 黄丹丹, 等. 蜂胶软胶囊辅助综合干预对糖尿病高危人群生命质量的影响[J]. 实用预防医学, 2008, 15(6): 1969-1970.
- [2] 刘伟, 吕晓红, 钱东华. 糖尿病合并肺结核患者外周血白细胞及 T 细胞亚群的变化[J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(5): 918-919.
- [3] L. Guariguata, D.R. Whiting, I. Hambleton, et al. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035 [J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2014, 1(3): 137-149.
- [4] 宋韬, 李莉. 血糖水平对肺结核合并 2 型糖尿病疗效的影响[J]. 临床医药文献杂志, 2016, 3(5): 793-796.
- [5] 王凯, 张江临, 胡福良. 蜂胶抗炎活性及其分子机制研究进展[J]. 中草药, 2013, 44(16): 2321-2329.
- [6] 魏高文, 冯务群, 夏晓凯, 等. 蜂胶软胶囊对小鼠糖尿病预防作用的实验研究[J]. 实用预防医学, 2007, 14(2): 530-531.
- [7] Satman I, Omer B, Tutuncu Y, et al. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults[J]. Eur J Epidemiol, 2013, 28(2): 169-180.
- [8] 李雅晶, 茹建甫. 蜂胶桑叶复合片对 2 型糖尿病病人糖脂代谢的调节作用[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(36): 20611-20613.
- [9] Wenying Yang, Juming Lu, Jianping Weng, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China[J]. The New England Journal of Medicine, 2010, 362(12): 1090-1101.
- [10] 中华医学会结核病学分会. 肺结核诊断和治疗指南[J]. 中国实用乡村医生杂志, 2013, 20(2): 7-11.
- [11] 中华医学会糖尿病学分会. 中国血糖监测临床应用指南(2011 年版)[J]. 中华糖尿病杂志, 2011, 1(3): 13-20.
- [12] 邓泽强, 陈玉兰, 吴荣辉, 等. 肺结核合并糖尿病患者的临床治疗探讨—附 151 例报告[J]. 新医学, 2012, 43(7): 492-494.
- [13] 刘建春, 杜敬华, 王晓军, 等. 胸腺肽在糖尿病合并肺结核患者中的应用[J]. 临床肺科杂志, 2014, 19(10): 1838-1841.
- [14] 魏高文. 卫生统计学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2014: 11.
- [15] Uesugi N, Sakata N, Nangaku M, et al. Possible mechanism for medial Smooth muscle cell injury in diabetic nephropathy; glycoxidation mediated local complement activation[J]. Am J Kidney Dis, 2004, 44(2): 224-238.

(本文编辑 李杰)