

三氧自血疗法对肺结核患者细胞免疫功能的影响

石自力, 邓高炎, 白丽琼, 何超, 范明, 王勋, 王永利, 周月兰, 唐细良

湖南省胸科医院, 湖南 长沙 410013

摘要: **目的** 探讨三氧自血疗法对活动性肺结核患者细胞免疫功能的影响。 **方法** 以湖南省胸科医院 2018 年 1 月—2019 年 2 月在外科住院治疗的肺结核患者为研究对象,在知情同意下将纳入患者随机分为研究组(三氧自血疗法+抗结核治疗组)和对照组(单纯抗结核治疗组),分别检测两组患者治疗前和治疗 10 d 后外周血 T 淋巴细胞亚群(CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺、CD45⁺、CD56⁺、CD19⁺)的值,比较两组治疗前后和两组间各项指标的差异。 **结果** 共有 133 例活动性肺结核患者纳入研究,其中治疗组 71 例,对照组 62 例。治疗前研究组与对照组患者外周血 T 淋巴细胞亚群的各项指标的差异均无统计学意义($P>0.05$);研究组与对照组在治疗后外周血 T 淋巴细胞亚群 CD4⁺、CD8⁺、CD56⁺ 的差异有统计学意义($P<0.05$),CD4⁺/CD8⁺、CD19⁺、CD45⁺ 的差异无统计学意义($P>0.05$)。研究组治疗前后外周血 T 淋巴细胞亚群 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、CD56⁺、CD45⁺ 的差异有统计学意义($P<0.05$),CD8⁺、CD19⁺ 的差异无统计学意义($P>0.05$)。对照组治疗前后外周血 T 淋巴细胞亚群 CD4⁺、CD8⁺ 的差异有统计学意义($P<0.05$),CD4⁺/CD8⁺、CD45⁺、CD56⁺、CD19⁺ 的差异无统计学意义($P>0.05$)。 **结论** 三氧自血疗法能够改善肺结核患者的细胞免疫功能。

关键词: 肺结核;三氧自血疗法;免疫功能;T 淋巴细胞亚群

中图分类号:R521 文献标识码:A 文章编号:1006-3110(2020)01-0030-03 DOI:10.3969/j.issn.1006-3110.2020.01.008

Effect of ozonated autohemotherapy on cellular immune function in patients with pulmonary tuberculosis

SHI Zi-li, DENG Gao-yan, BAI Li-qiong, HE Chao, FAN Ming, WANG Xun, WANG Yong-li, ZHOU Yue-lan, TANG Xi-liang
Hunan Chest Hospital, Changsha, Hunan 410013, China

Corresponding author: TANG Xi-liang, E-mail: dgy917724@163.com

Abstract: **Objective** To explore the effect of ozonated autohemotherapy (O3-AHT) on cellular immune function among patients with pulmonary tuberculosis. **Methods** Patients with active pulmonary tuberculosis hospitalized in Department of Surgery, Hunan Chest Hospital from January 2018 to February 2019 served as the study subjects. Following the informed consent process, eligible patients were randomly assigned to the study group (O3-AHT and antituberculosis treatment group) and the control group (antituberculosis medication alone group). The ratios of T-lymphocyte subsets (including CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺, CD45⁺, CD56⁺ and CD19⁺) in peripheral blood of patients in the two groups were detected before the treatment and 10 days after the treatment. The changes in various ratios before and after the treatment were compared within each group as well as between the two groups. **Results** A total of 133 patients with active pulmonary tuberculosis were enrolled in this study, including 71 patients in the study group and 62 in the control group. No statistically significant differences were found in the ratios of the T-lymphocyte subsets in peripheral blood before the treatment between the two groups (all $P>0.05$). After the treatment, statistically significant differences were observed in the ratios of CD4⁺, CD8⁺ and CD56⁺ T-lymphocyte subsets in peripheral blood between the two groups (all $P<0.05$), but no statistically significant differences were found in the ratios of CD4⁺/CD8⁺, CD19⁺ and CD45⁺ T-lymphocyte subsets in peripheral blood between the two groups (all $P>0.05$). In the study group, statistically significant differences were discovered in the ratios of CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺, CD56⁺ and CD45⁺ T-lymphocyte subsets in peripheral blood between the pre- and post-treatment (all $P<0.05$), but no statistically significant differences were discovered in the ratios of CD8⁺ and CD19⁺ T-lymphocyte subsets between the pre- and post-treatment (both $P>0.05$). In the control group, there were statistically significant differences in the ratios of CD4⁺ and CD8⁺ T-lymphocyte subsets in peripheral blood between the pre- and post-treatment (both $P<0.05$), but no statistically significant differences were found in the ratios of CD4⁺/CD8⁺, CD45⁺, CD56⁺ and CD19⁺ T-lymphocyte subsets between the pre- and post-treatment (all $P>0.05$). **Conclusion** Ozonated autohemotherapy can improve the cellular immune function of patients with pulmonary tuberculosis.

Key words: pulmonary tuberculosis; ozonated autohemotherapy; immune function; T-lymphocyte subset

基金项目:湖南省自然科学基金科卫联合基金(2019JJ80045);湖南省科技厅、湖南省卫计委科研基金课题(2018SK7003);湖南省卫生计生委科研计划课题(B2015-140)

作者简介:石自力(1974-),男,湖南邵阳人,本科学历,副主任医师,研究方向:肺结核的诊治。

通信作者:唐细良, E-mail: dgy917724@163.com。

结核病是严重危害人民群众健康的慢性传染病,我国是结核病高负担国家之一,排全球第二。细胞免疫在结核病的发生、发展及预后中起重要作用,部分肺结核患者的细胞免疫功能出现明显下降,提高肺结核患者的细胞免疫功能有助于改善患者治疗效果^[1]。三氧自体血疗法(ozonated autohemotherapy, O3-AHT)从本世纪初开始在我国逐渐开展,已广泛应用临床多个科室。O3-AHT 是通过医用三氧发生器在安全惰性环境下对医用纯氧进行处理后得到的不含有毒物质的纯净三氧气体,将一定浓度氧气和三氧混合气体与自体血等容量混匀,再回输到体内的一种治疗^[2]。湖南省胸科医院自 2017 年 11 月开展三氧自体血疗法联合抗结核药物治疗肺结核患者,本研究旨在三氧自体血疗法对活动性肺结核患者细胞免疫功能的影响,为肺结核的免疫治疗新方法提供依据。

1 对象和方法

1.1 研究对象 本研究以 2018 年 1 月—2019 年 2 月在湖南省胸科医院外科住院治疗的活动性肺结核患者连续病例为研究对象。

1.1.1 纳入标准 符合“WS 288-2017 肺结核诊断”标准^[3]和接受抗结核治疗的活动性肺结核患者。

1.1.2 排除标准 (1)三氧自体血疗法禁忌症者,包括葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症,Graves 病,血小板减少低于 $50 \times 10^9/L$,严重的凝血障碍,严重的不稳定性心血管病,急性心肌梗死,急性酒精中毒,中、重度贫血,癫痫,妊娠,严重肝功能不全,月经期,血色素沉着病,接受铜或铁剂治疗,抗凝剂(枸橼酸钠)过敏的患者^[2]; (2)合并 HIV 等免疫缺陷疾病的患者; (3)研究前 3 个月内使用免疫增强剂或抑制剂的患者; (4)不愿参与本研究者,未完成本研究者。

1.2 研究方法

1.2.1 研究分组 将观察对象分为研究组和对照组。以研究期间纳入患者入院治疗时间先后编号,单号为研究组(三氧自体血疗法+抗结核治疗组),双号为对照组(单纯抗结核治疗组)。

1.2.2 治疗方案 研究组在抗结核治疗方案为 HREZ(H 异烟肼、R 利福平、E 乙胺丁醇、Z 吡嗪酰胺)的基础上行三氧自体血疗法。三氧自体血疗法为每次抽取患者外周静脉血液 100 ml 与三氧气呈 1:1 的比例混合 3~5 min,30 min 内回输完毕,1 次/d,10 d 为 1 个疗程,三氧气由德国卡特三氧治疗仪制备(浓度:25~40 ug/ml)。抗结核治疗药物中,异烟肼(H)0.3 g/d,利福平(R)0.45 g/d,乙胺丁醇(E)0.75 g/d,吡嗪酰

胺(Z)1.25 g/d,以上抗结核药物均由沈阳红旗制药有限公司生产。对照组单纯接受 HREZ 抗结核治疗,不使用三氧自体血疗法。

1.2.3 观察指标和实验方法 本研究以患者外周血 T 细胞亚群 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 、 $CD45^+$ 、 $CD56^+$ 、 $CD19^+$ 作为免疫功能的观察指标。对所有病例在治疗前和开始治疗 10 d 后,分别采集空腹静脉血 3 ml(2 管),置入 EDTA 抗凝,经 4 000 r/min 离心后,取上清液分装, -20 ℃ 冰箱保存备用待检测,采用双抗夹心 ELISA 法检测外周血 T 细胞亚群各指标。试剂盒购自美国 BD 公司,流式细胞检测严格按照说明进行操作。

1.3 伦理学 本研究经湖南省胸科医院医学伦理委员会批准(201702),对纳入研究的所有患者或授权人在治疗前均签订“三氧自体血疗法改善结核病患者免疫功能研究知情同意书”。

1.4 统计学分析 所有病例数据采用 EXCEL 表整理,用 SPSS 22.0 统计软件包进行分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,主要检测样本均行正态性检验。两组治疗前后和两组间指标比较采用 *t* 检验,结果均以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 纳入患者的一般情况 研究期间共纳入共 148 例患者,因各种原因退组 15 例(研究组 6 例,对照组 9 例)。共纳入病例 133 例,其中男 75 例,女 58 例。研究组 71 例[男性 34 例,年龄(42 ± 5.2)岁;女性 37 例,年龄(40 ± 9.1)岁],对照组 62 例[男性 30 例,年龄(43 ± 5.2)岁;女性 32 例,年龄(45 ± 3.7)岁]。两组患者在性别、年龄的差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 治疗前两组患者外周血 T 淋巴细胞亚群指标的比较 研究组与对照组在治疗前外周血 T 淋巴细胞亚群的各项指标的差异均无统计学意义($t = 0.221 \sim 1.268, P = 0.211 \sim 0.772$)。见表 1。

表 1 两组治疗前外周血 T 淋巴细胞亚群指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	$CD4^+\%$	$CD8^+\%$	$CD4^+/CD8^+$	$CD56^+\%$	$CD19^+\%$	$CD45^+\%$
研究组	71	38.8 ± 7.57	28.2 ± 6.72	1.5 ± 0.61	14.8 ± 8.78	11.5 ± 5.79	70.6 ± 8.73
对照组	62	39.0 ± 7.96	27.6 ± 8.28	1.6 ± 0.93	12.2 ± 5.31	11.7 ± 6.52	70.8 ± 9.54
<i>t</i> 值		0.295	0.863	1.268	0.221	0.316	0.291
<i>P</i> 值		0.769	0.393	0.0211	0.826	0.754	0.772

2.3 治疗后两组患者外周血 T 淋巴细胞亚群指标的比较 两组除了 $CD4^+/CD8^+$ 比值和 $CD19^+\%$ 、 $CD45^+\%$ 差异没有统计学意义外,研究组治疗后外周血 T 淋巴细胞亚群 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD56^+$ 高于对照组,两组的差异有统计学意义($t = 3.013 \sim 4.287, P = 0.000 \sim 0.004$);而两组 $CD4^+/CD8^+$ 、 $CD19^+$ 、 $CD45^+$ 的差异无

统计学意义 ($t = 0.063 \sim 1.26, P = 0.664 \sim 0.95$), 见表 2。

表 2 两组治疗后外周血 T 淋巴细胞亚群指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CD4 ⁺ %	CD8 ⁺ %	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD56 ⁺ %	CD19 ⁺ %	CD45 ⁺ %
研究组	71	43.7±7.19	27.3±6.38	1.7±0.55	17.7±8.16	10.9±5.60	73.1±9.60
对照组	62	36.3±6.03	23.8±6.42	1.7±0.59	11.6±5.23	11.4±6.89	71.4±8.57
<i>t</i> 值		4.287	3.013	0.437	3.387	0.063	1.26
<i>P</i> 值		0.001	0.004	0.664	0.001	0.95	0.214

2.3 研究组治疗前后外周血 T 淋巴细胞亚群指标的比较 治疗后研究组外周血 T 淋巴细胞亚群 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、CD56⁺、CD45⁺ 高于治疗前, 其差异有统计学意义 ($t = 2.733 \sim 5.791, P = 0.000 \sim 0.008$); 而 CD8⁺、CD19⁺ 的差异无统计学意义 ($t = 0.999 \sim 1.317, P = 0.192 \sim 0.322$), 见表 3。

表 3 研究组治疗前后外周血 T 淋巴细胞亚群指标比较 ($n = 71, \bar{x} \pm s$)

治疗情况	CD4 ⁺ %	CD8 ⁺ %	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD56 ⁺ %	CD19 ⁺ %	CD45 ⁺ %
治疗前	38.8±7.57	28.2±6.72	1.5±0.61	14.8±8.78	11.5±5.79	70.6±8.73
治疗后	43.7±7.19	27.3±6.38	1.7±0.55	17.7±8.16	10.9±5.60	73.1±9.60
<i>t</i> 值	5.791	1.317	3.488	3.342	0.999	2.733
<i>P</i> 值	0.001	0.192	0.001	0.001	0.322	0.008

2.4 对照组治疗前后外周血 T 淋巴细胞亚群指标的比较 对照组治疗前外周血 T 淋巴细胞亚群 CD4⁺、CD8⁺ 高于治疗后, 其差异有统计学意义 ($t = 3.051 \sim 4.102, P = 0.000 \sim 0.004$); 而治疗前后 CD4⁺/CD8⁺、CD45⁺、CD56⁺、CD19⁺ 的差异无统计学意义 ($t = 0.078 \sim 0.766, P = 0.448 \sim 0.938$)。见表 4。

表 4 对照组治疗前后外周血 T 淋巴细胞亚群指标比较 ($n = 62, \bar{x} \pm s$)

治疗情况	CD4 ⁺ %	CD8 ⁺ %	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD56 ⁺ %	CD19 ⁺ %	CD45 ⁺ %
治疗前	39.0±7.96	27.6±8.28	1.6±0.93	12.2±5.31	11.7±6.52	70.8±9.54
治疗后	36.3±6.03	23.8±6.42	1.7±0.59	11.6±5.23	11.4±6.89	71.4±8.57
<i>t</i> 值	3.051	4.102	0.078	0.732	0.411	0.766
<i>P</i> 值	0.04	0.000	0.938	0.468	0.683	0.448

2.5 不良反应 在研究期间, 三氧自血疗法联合抗结核治疗组患者没有发生三氧自血治疗相关的不良反应。

3 讨论

结核病分枝杆菌所引起的保护性免疫反应是依赖细胞介导免疫。在结核病细胞介导免疫反应中起主要作用的是 T 细胞亚群中 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞^[4-5]。NK 细胞在对抗 MTB 的先天性免疫中起关键作用。NK 细胞在体内存在正负双相调节现象^[6]。CD8⁺ 细胞可产生颗粒素、穿孔素来杀死细胞内外的结

核分枝杆菌^[7]。B 细胞在结核病的发生中起重要作用, CD19⁺ B 细胞被认为是一种具有调节功能的 B 细胞^[8]。因此, 本研究以患者外周血 T 细胞亚群 CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺、CD45⁺、CD56⁺、CD19⁺ 作为免疫功能的测量指标。

三氧在体内可引起多种生理反应, 如改善细胞氧供及代谢, 激活抗氧化酶, 清除自由基, 激活、调节免疫等^[9]。O3-AHT 可通过氧化、诱导产生活性氧, 作为生物信使诱导机体产生多种细胞因子, 激活免疫活性细胞, 从而有效调节机体免疫反应^[10]。李丽等^[11]用三氧疗法治疗淋巴瘤患者, CD4⁺ 细胞、CD4⁺/CD8⁺ 明显提高。但三氧自血疗法在结核病领域文献报道较少。本研究表明, 研究组与对照组在治疗前外周血 T 淋巴细胞亚群的各项指标比较无明显差异, 研究组治疗后外周血 T 淋巴细胞亚群 CD4⁺、CD8⁺、CD56⁺ 高于对照组。此外, 研究组治疗后外周血 T 淋巴细胞亚群 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、CD56⁺、CD45⁺ 高于治疗前, 提示三氧自血疗法能够改善患者的细胞免疫功能, 与相关文献结果相近^[11]。

结核患者的免疫功能状态对疾病预后、演变起重要作用, 免疫功能低下往往会导致结核播散等, 本研究结果显示, 对照组治疗前外周血 T 淋巴细胞亚群 CD4⁺ 和 CD8⁺ 高于治疗后, 其可能原因是抗结核病治疗时间太短有关。

参考文献

- [1] Lu J, Ye S, Qin R, et al. Effect of Chinese herbal medicine extracts on cell-mediated immunity in a rat model of tuberculosis induced by multiple drug-resistant bacilli[J]. Mol Med Rep, 2013, 8(1):227-232.
- [2] 王永, 钱晓燕. 三氧自体血疗法专家共识[J]. 转化医学杂志, 2018, 7(6):10-12, 29.
- [3] 高孟秋. 《WS 288-2017 肺结核诊断》新标准中关于临床诊断患者判定的解析[J]. 中国防痨杂志, 2018, 40(3):243-246.
- [4] 赵紫平, 陈安基. 星状神经节阻滞对结核患者免疫功能的影响[J]. 实用预防医学, 2018, 25(10):1256-1257.
- [5] 庞增, 何日东, 陈勇军, 等. 不同治疗时期肺结核患者 T 淋巴细胞亚群的动态变化及临床意义[J]. 现代医院, 2018, 18(4):543-545.
- [6] 唐神结, 高文. 临床结核病学[Z]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 66-70.
- [7] 张青, 肖和平. T 细胞、NKT 细胞和 NK 细胞在结核病诊断中的意义探讨[J]. 中国防痨杂志, 2010, 32(5):267-271.
- [8] Yanaba K, Bouaziz JD, Haas KM, et al. A regulatory B cell subset with a unique CD1dhiCD5⁺ phenotype controls T cell-dependent inflammatory responses[J]. Immunity, 2008, 28(5):639-650.
- [9] Bocci V. Biological and clinical effects of ozone. Has ozone therapy a future in medicine? [J]. Br J Biomed Sci, 1999, 56(4):270-279.
- [10] Harkema JR, Plopper CG, Hyde DM, et al. Response of macaque bronchiolar epithelium to ambient concentrations of ozone[J]. Am J Pathol, 1993, 143(3):857-866.
- [11] 李丽, 张巧花, 侯淑玲, 等. 三氧治疗对淋巴瘤患者 T 细胞亚群、NK 细胞的影响[J]. 山西医科大学学报, 2007, 38(3):210-212.

收稿日期: 2019-06-14