

蜂胶类黄酮对肺结核合并糖尿病的辅助治疗作用探讨

魏歆然¹, 魏高文¹, 裴异², 肖作为¹, 裴芸¹, 朱旭¹, 刘芸青¹, 陈书¹

1. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208; 2. 长沙市中心医院

摘要: **目的** 探讨蜂胶类黄酮对肺结核合并糖尿病(PTB-DM)患者的辅助治疗作用及其免疫调节机制,为寻求安全有效的 PTB-DM 防治措施提供参考。**方法** 以 PTB-DM 患者 120 人为对象,利用随机数字表随机分为 A、B、C 三组,每组 40 人,A、B 组分别按 1 000、2 000 mg/d 剂量口服含蜂胶类黄酮的蜂胶软胶囊,C 组口服不含蜂胶类黄酮的蜂胶基质软胶囊作为对照,观察 6 个月,比较各组疗效差异、试验前后 WBC 及分类、T 淋巴细胞亚群 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺比值的差异。**结果** 三组有效率差异有统计学意义($P=0.005$),其中 B 组为 94.6%、A 组为 76.9%、C 组为 64.1%;细胞免疫 7 项指标差异有统计学意义($P=0.000$),其中 WBC 计数、中性粒细胞百分比为 B 组高于 A 与 C 组,淋巴细胞百分比为 B 组最高、A 组其次、C 组最低;T 淋巴细胞:CD3⁺、CD4⁺为 B 组>A 组>C 组,CD8⁺的组间差异无统计学意义($P>0.05$),CD4⁺/CD8⁺比值为 A 与 B 组高于 C 组。**结论** 蜂胶类黄酮对 PTB-DM 患者具有辅助治疗作用,可改善 WBC 及分类、T 淋巴细胞亚群 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺比值等指标,增强细胞免疫水平具有作用,且有剂量差异。

关键词: 蜂胶类黄酮;肺结核合并糖尿病;白细胞;T 淋巴细胞亚群;细胞免疫

中图分类号:R587.1 文献标识码:A 文章编号:1006-3110(2017)09-1037-04 DOI:10.3969/j.issn.1006-3110.2017.09.003

Auxiliary therapeutic effect of propolis flavonoid on pulmonary tuberculosis complicated by diabetes mellitus

WEI Xin-ran^{*}, WEI Gao-wen, PEI Yi, XIAO Zuo-wei, PEI Yun, ZHU Xu, LIU Yun-qing, CHEN Shu

^{*}Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China

Corresponding author: WEI Gao-wen, E-mail: 407423581@qq.com

Abstract: **Objective** To explore the auxiliary therapeutic effect and immune regulating mechanism of propolis flavonoid in patients with pulmonary tuberculosis complicated by diabetes mellitus (PTB-DM), and to provide references for seeking safe and effective PTB-DM prevention and control measures. **Methods** One hundred and twenty PTB-DM patients served as the objects, and were randomly divided into group A, group B and group C (each $n=40$) by the random digital table. The patients in group A and group B were assigned to take 1,000 mg/d and 2,000 mg/d propolis flavonoid soft capsule respectively. The patients in group C served as controls and received propolis soft capsule without flavonoid. After 6 months, the differences in curative effects, WBC count and classification, the levels of T lymphocyte subsets CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ and the ratio of CD4⁺/CD8⁺ before and after the test were compared among the groups. **Results** The effective rates in group B, group A and group C were 94.6%, 76.9% and 64.1% respectively, showing statistically significant differences ($P=0.005$). The 7 indexes of cellular immune function exhibited statistically significant differences ($P=0.000$), of which WBC count and neutrophil percentage were higher in group B than in the group A and group C, and lymphocyte percentage and the levels of CD3⁺ and CD4⁺ were the highest in group B, followed by group A and group C. No statistically significant difference was found in the level of CD8⁺ among the three groups ($P>0.05$). The ratio of CD4⁺/CD8⁺ was higher in group A and B than in group C. **Conclusions** Propolis flavonoid has auxiliary therapy effect in PTB-DM patients, and can improve WBC count and classification, the levels of T lymphocyte subsets CD3⁺, CD4⁺ and the ratio of CD4⁺/CD8⁺. It enhances cellular immunity in a dose-dependent manner.

Key words: propolis flavonoid; pulmonary tuberculosis complicated by diabetes mellitus; WBC; T lymphocyte subset; cellular immunity

糖尿病(diabetes mellitus, DM)已成为世界性的严

重的公共卫生问题^[1]。全世界范围约有 3.82 亿糖尿病患者,其中 80%患者分布在中低收入国家,WHO 估算全球共有 1 300 万结核病患病病例,150 万人因结核病死亡,中国肺结核患病人数为 110 万~140 万,死亡数为 3.8 万,WHO 已经确定糖尿病是肺结核容易复

基金项目:湖南省自然科学基金项目(14JJ2112)

作者简介:魏歆然(1991-),女,湖南东安人,硕士,医师,研究方向:中西医结合防治糖尿病。

通信作者:魏高文, E-mail: 407423581@qq.com。

发、重要且易被忽视的危险因素^[2-3]。肺结核合并糖尿病(pulmonary TB complicated by diabetes mellitus, PTB-DM)是指集糖尿病和肺结核于一身的综合病症,糖尿病导致的代谢紊乱、免疫损伤可促进结核病的发生和发展,结核病又可加重糖尿病的代谢紊乱,诱发各种并发症的出现,两者之间互为因果造成恶性循环^[4]。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,具有抗菌消炎、增强免疫等广泛的生物学作用^[5]。本课题组的前期研究结果表明,蜂胶软胶囊对小鼠糖尿病具有预防作用^[6-7],辅助综合干预措施可以提高糖尿病高危人群的生命质量影响^[8]。本课题的研究目的,旨在探讨蜂胶类黄酮对肺结核合并糖尿病(PTB-DM)患者的辅助治疗作用及其免疫调节机制,为临床上寻求安全有效的 PTB-DM 防治措施提供参考。

1 对象与方法

1.1 研究对象 以 2014 年 1 月-2015 年 12 月期间来长沙市中心医院就诊的全部 PTB-DM 患者中符合纳入标准的 120 人为对象,其中男性 62 人,女性 58 人,平均年龄为(56.3±5.6)岁,最小 42 岁,最大 72 岁。利用随机数字表随机分为 A、B、C 三组,每组 40 人,各组试验前的年龄、性别比例差异无统计学意义(以 $P>0.20$ 为均衡可比)。试验结束后,实际纳入分析 115 例,脱落 5 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),三组性别构成均衡可比($\chi^2=0.205, P=0.902$)。

1.2 相关标准

1.2.1 纳入标准 肺结核的诊断依据为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》^[9],糖尿病的诊断依据为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(2013 年版)》^[10]。对所有符合条件的 PTB-DM 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,本研究的医学伦理委员会伦理审批批准号 2015LCSY033 号。

1.2.2 排除标准 符合下列条件之一者排除出研究对象:①广泛耐药肺结核患者;②合并 HIV 感染者;③肝功能异常者(ASK、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。

1.2.3 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;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)。

1.2.4 综合疗效判断标准 ①有效:治疗后症状基本消失或明显好转,痰菌阴转,病变明显吸收、吸收或无改变,空洞闭合或缩小 1/3 以上,维持达 1 个月以上,空腹血糖 $<8.3\text{ mmol/L}$;②无效:治疗后症状无明显好转,痰涂片、肺部影像学检查、空腹血糖等检查未达到“有效”标准者^[9-10]。

1.3 研究方法

1.3.1 常规治疗 对所有 PTB-DM 患者全程督导短程化学治疗(directly observed treatment short-course, DOTS),强化期 2 个月/巩固期 4 个月。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^[10]。

1.3.2 各组个性化治疗方法

1.3.2.1 A 组 在常规治疗的基础上辅以低剂量蜂胶类黄酮口服,标准为厂家推荐剂量的一半(1 000 mg/d),胶囊规格为 500 mg/丸,2 丸/d,连续观察 6 个月^[8]。

1.3.2.2 B 组 在常规治疗的基础上辅以常规剂量蜂胶类黄酮口服,标准为厂家推荐剂量 2 000 mg/d,胶囊 500 mg/丸,4 丸/d,连续观察 6 个月。

1.3.2.3 实验对照组(C 组) 常规临床治疗,辅以口服不含蜂胶类黄酮的蜂胶基质软胶囊,4 丸/d,连续观察 6 个月,做为实验对照。

1.4 观测指标

1.4.1 观测指标 所有入选病例均在试验前空腹抽取外周静脉血各测定一次白细胞计数(WBC)及分类、T 淋巴细胞亚群 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺比值,试验 6 个月结束时再观测一次。

1.4.2 检验方法 血常规检查试剂异硫氰双(FITC)荧光抗体抗 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、藻红蛋白(PE)荧光抗体抗 CD3⁺试剂为美国 Pharmingen 公司产品,均为小鼠抗人 IgG 抗体。检测 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺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白细胞计数

(WBC)及分类(淋巴细胞 L 与中性粒细胞 N),用直接免疫荧光标记法检测外周血淋巴细胞亚群,以流式细胞仪配套软件(cell quest)获取样本中 1×10^4 个细胞中淋巴细胞的相应标记阳性表达率。每个样本都以 FITC 和 PE 标记同型 IgG 作为相应的阴性对照^[7]。

1.5 统计学方法 本研究所获得的数据应用 Epi Data 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, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 来描述,组内多变量试验前后配对比较采用 Hotelling T^2 检验,三组间比较采用多元方差分析(MANOVA),多重比较采用最小显著差异法(LSD)^[11-12]。计数资料可采取频率或构成比来描述,采用卡方检验进行假设检验,多组计数资料发现总体有差异再采用卡方分割法进行两两比较, $P<0.0125$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组综合疗效的比较 见表 1。三组总有效率差异有统计学意义($\chi^2=10.438, P=0.005$),其中 B 组有效率显著高于 C 组($\chi^2=10.621, P=0.001$)。

表 1 三组试验后综合疗效的比较(例)

组别	例数	有效	无效	有效率(%)
A 组	39	30	9	76.9
B 组	37	35	2	94.6
C 组	39	25	14	64.1
合计	115	90	25	78.3

2.2 白细胞计数及分类的变化 三组试验前后白细胞计数及分类的变化见表 2。各组试验前 3 项观测指标均满足方差齐性($P>0.20$),组间差异无统计学意义

表 3 DM-PTB 患者试验前后 T 淋巴细胞亚群平均百分比的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	试验前				试验后			
		CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
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:三组 4 项观测指标自身前后配对差值(试验后-试验前)的均数比较 Hotelling $T^2=0.920, P=0.000$, * 与试验前比较, $P<0.05$; 三组试验后 4 项观测指标差别 Wilks $\lambda=0.408, P=0.000$, #与对照组(C 组)比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

糖尿病和结核病是两种世界范围的常见病,两病联系密切,素有“姐妹病”之称,两者之间互为因果造成恶性循环^[13-14]。长期的高血糖可导致 CD3⁺、CD4⁺、CD4/CD8、B 细胞、NK 细胞显著减低,机体免疫功能下降,从而引起糖尿病并发症如肺结核、肾病等疾病的发生^[7]。以病程进展快、疗效差、耐药率高、预后凶险为特征的结核病并发糖尿病病人的大量出现,给两病的治疗和控制带来了新挑战。蜂胶是蜜蜂采集植物的树脂,并混和自身的唾液和蜂蜡而形成的一种有粘性的

($P>0.20$),均衡可比。三组试验前、后 3 项观测指标自身前后配对差值的均数差异有统计学意义,各组 3 项观测指标均值较试验前均有提高。三组试验后 3 项观测指标差异有统计学意义,其中 WBC 的多重比较结果为 B 组高于 A 与 C 组,L 的多重比较结果为 B 组最高、A 组其次、C 组最低,N 的多重比较结果为 B 组高于 A 与 C 组。

表 2 DM-PTB 患者试验前后白细胞计数及分类的变化($\times 10^9/L, \bar{x} \pm s$)

组别	例数	试验前			试验后		
		WBC	L	N	WBC	L	N
A 组	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 组	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 组	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:三组 3 项观测指标自身前后配对差值(试验后-试验前)的均数比较 Hotelling $T^2=1506.048, P=0.000$, * 与试验前比较, $P<0.05$; 三组试验后 3 项观测指标差别 Wilks $\lambda=0.023, P=0.000$, #与对照组(C 组)比较, $P<0.05$ 。

2.3 T 淋巴细胞亚群平均百分比的变化 三组试验前后 T 淋巴细胞亚群平均百分比的变化见表 3。各组试验前 4 项观测指标均满足方差齐性($P>0.05$),组间差异无统计学意义($P>0.20$),均衡可比;三组试验前、后 4 项观测指标自身前后配对比较差异有统计学意义($P<0.05$),较试验前均有提高。三组试验后 4 项观测指标差异有统计学意义($P<0.05$),其中 CD3⁺、CD4⁺的多重比较结果为 B 组最高、A 组其次、C 组最低,CD8⁺的组间差异无统计学意义($P>0.05$),CD4⁺/CD8⁺比值为 A 与 B 组高于 C 组。

胶状物质。具有抗菌消炎、抗病毒、抗真菌、排除毒素、增强免疫、软化血管、净化血液、改善微循环、抗氧化、抗肿瘤、抗细胞毒素、局部麻醉、促进组织再生等广泛的生物学作用^[5]。本课题组的前期研究结果表明,蜂胶软胶囊对小鼠糖尿病具有预防作用^[6-7],辅助综合干预措施可以降低空腹血糖(FBG)、体重指数(BMI)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL-C)水平,改善 SF-36 量表(Medical Outcome Study Short-form, MOS-SF)评分,从而提高糖尿病高危人群的生命质量影响^[8]。

(转 1047 页)