

有氧运动对慢性阻塞性肺疾病稳定期患者外周血调节性T细胞亚群与心肺运动功能的干预研究*

陈 玮¹ 郝 建¹ 杨 艳² 李成恩³ 侯晓丽⁴ 钱 钧^{2,5}

摘要

目的:探讨 COPD 稳定期患者有氧运动前后调节性 T 细胞(Treg)亚群细胞及心肺运动功能变化情况,研究有氧运动改善 COPD 稳定期患者临床症状、促进 COPD 患者康复的机制。

方法:选取 2016 年 1 月—2017 年 12 月我院住院 COPD 稳定期患者为研究对象。COPD 对照组 30 例用 12 周吸氧、化痰、舒张支气管等常规药物治疗,COPD 试验组 30 例用常规治疗同时施加有氧运动干预 12 周。比较患者治疗前后外周血中的 Treg 细胞亚群比例、IL-17 和 TGF- β 表达水平与心肺运动功能变化情况。

结果:有氧运动干预后,试验组 Treg 细胞亚群比例较干预前及对照组治疗后升高,且 IL-17 及 TGF β 表达水平降低($P < 0.05$);峰值公斤摄氧量(Peak VO_2/kg)、峰值功率(Peak Power)、峰值 CO_2 排出量(Peak VCO_2)较干预前及对照组药物治疗后得到一定改善($P < 0.05$)。

结论:有氧运动对 COPD 稳定期患者具有调节免疫功能、减轻炎症反应、改善肺功能和促进肺康复的作用,为临床 COPD 稳定期患者的有氧运动在免疫学上提供理论依据。

关键词 有氧运动;慢性阻塞性肺疾病;心肺运动试验;Treg 细胞亚群

中图分类号:R563.3,R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2020)-02-0161-05

The changes of Treg cells and cardiopulmonary exercise test before and after aerobic exercise in patients with chronic obstructive pulmonary disease/CHEN Wei, HAO Jian, YANG Yan, et al//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2020, 35(2): 161—165

Abstract

Objective: To analyze the changes of Treg cells and cardiopulmonary function exercise test(CPET) before and after aerobic exercise in patients with chronic obstructive pulmonary disease(COPD), and the mechanism of improving clinical symptoms and promoting recovery.

Method: Sixty inpatients with stable COPD were selected. 30 patients in the control group were given the stable COPD drug following the drug instruction for 12-week. 30 patients in the experimental group were treated with drug and aerobic exercise for 12-week. The index of Treg cells, cytokines and CPET were compared between groups before and after treatment.

Result: After aerobic exercise intervention, the proportion of Treg cells in the experimental group was higher than that before intervention, and after drug therapies in control group, and the expression of IL-17 and TGF- β decreased($P < 0.05$), the Peak VCO_2/kg , Peak power CO_2 emissions and Peak WR improved compared with those before intervention and after drug therapies in the control group ($P < 0.05$).

Conclusion: Aerobic exercise can regulate immune function, alleviate inflammatory reaction, improve lung func-

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2020.02.007

*基金项目:杭州市医药卫生科技计划项目(2016B63)

1 安徽医科大学解放军杭州临床学院(杭州 128 医院),杭州,310007; 2 杭州 128 医院心肺康复科; 3 中国人民解放军第一一七医院重症医学科; 4 浙江中医药大学基础医学院; 5 通讯作者

第一作者简介:陈玮,女,硕士研究生,住院医师; 收稿日期:2018-08-06

tion, promote lung recovery in stable COPD patients. These maybe immunological theoretical basis of aerobic exercise in patients with stable COPD.

Author's address Dept. of Cardiopulmonary Rehabilitation, Hangzhou Sanatorium of People's Liberation Army, Hangzhou, 310007

Key word aerobic exercise; chronic obstructive pulmonary disease; cardiopulmonary exercise test; regulatory cells

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)作为一种可以预防及治疗的临床常见病,是由环境中明显的暴露因子所引起气道和/或肺泡异常,进而造成肺单位的结构破坏^[1],临床上以持续的气流受限和呼吸道症状为特征。可以明确的是,慢性炎症反应是COPD不断进展的重要原因,其中CD4⁺T细胞介导的免疫学机制同样也发挥着重要的作用。

调节性T细胞(regulatory cells, Treg)和辅助性T细胞(Th17)分别是CD4⁺T细胞不同分化功能的亚群^[2-4]。Th17可通过分泌IL-6、IL-7、IL-17、IL-21、IL-22等炎性细胞因子来募集巨噬细胞和中性粒细胞,促使炎性因子的释放并加剧炎症反应^[5]。Treg细胞通过分泌IL-10、TGF- β 等细胞因子对疾病的炎症反应起到抑制的作用,减轻自身的免疫应答和降低氧化反应所致的损伤。有氧运动在呼吸康复过程中占有重要组成部分,对呼吸肌的锻炼、运动耐量的提高有显著作用。有氧运动目前仍未明确阐明其产生作用时的机制及应答过程,且尚欠缺从细胞因子的角度探讨对COPD患者心肺运动功能的影响。本课题希望通过Treg细胞亚群及其相关细胞因子、Th17细胞亚群相关细胞因子和心肺功能测定来探讨有氧运动作为一线的非药物治疗对改善COPD稳定期患者心肺运动功能、调节免疫功能的机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料

纳入标准:①符合中华医学会2016年COPD诊断和分组标准;②入院时即处于COPD稳定期。病情严重程度:选取中重度的COPD稳定期患者,急性发作风险小,且不伴有肺动脉高压;③无有创或无创

机械通气治疗;④无严重心、肝、肾及其他影响锻炼的局部或全身性疾病;⑤排除急性发作者。

本试验经过医院医学伦理委员会批准,同时取得患者及其家属的知情同意,并签署同意书,患者依从性可。在试验过程中如果患者出现急性发作或因各种原因无法完成相应的运动量或疗程,即作为样本脱落,需要重新选择试验对象。

随机分组:在2016年1月—2017年12月期间收集我院住院部COPD稳定期患者60例,通过随机数表法分为对照组与试验组,每组30例。研究所涉及的各项患者的性别、年龄、体重、身高、烟龄、病程以及呼吸困难分级等一般情况差异无显著性意义($P > 0.05$),见表1。

1.2 研究方法

对照组予吸氧、化痰、舒张支气管(沙美特罗替卡松粉吸入剂250 μ g,1—2吸/日)等常规治疗,试验组在常规治疗的基础上每天规律安排有氧运动训练。训练形式:功率自行车;训练仪器及监测:心肺运动仪(Cosmed 2900型,意大利)自带心电监护仪;训练内容:运动开始时,在10W的功率的情况下行热身运动10min,再通过取无氧阈时功率的70%,作为运动负荷完成有氧运动,女性以15W/min,男性以20W/min的负荷递增,运动中基本保持转速在55—65r/min;训练时限:45min/次·日(包含热身运动);训练周期:12周,5次/周;训练地点:杭州128医院心肺康复科试验室。患者依从性可,均能按试验所设计的方案完成12周运动试验。

训练中的不良反应:①患者乏力明显以至于无法维持要求转速;②出现胸闷、气促,头痛、胸痛,呼吸困难等不适症状;③出现面色苍白,口唇发绀,四肢湿冷;④血压波动超过180/120mmHg;⑤心电图

表1 研究对象一般临床资料

组别	例数	性别(例)		平均年龄 (岁)	体重 (kg)	身高 (cm)	烟龄 (年)	平均病程 (年)	呼吸困难分级 (mMRC)
		男	女						
对照组	29	15	14	60.00 $\pm$ 7.31	60.49 $\pm$ 5.44	164.79 $\pm$ 8.58	22.81 $\pm$ 7.54	18.83 $\pm$ 6.08	2.00 $\pm$ 0.80
试验组	28	16	12	63.46 $\pm$ 7.90	62.30 $\pm$ 7.04	167.24 $\pm$ 6.28	26.06 $\pm$ 9.52	16.14 $\pm$ 5.89	2.32 $\pm$ 0.90

提示ST-T改变或异常心律失常。出现上述不良反应时,立即予停止运动,降低运动负荷至5W缓慢踏约5min做调整运动。

对照组及试验组在运动前后通过流式细胞计数测定运动前后血清中的Treg亚群细胞比例及相关细胞因子变化,同时在运动前后进行心肺运动试验(cardiopulmonary exercise test,CPET)并记录相关数据。将上述各组测定和检查的指标进行统计。60例患者中,对照组有1例患者因出现急性发作症状而退出试验研究,试验组有2例患者因无法坚持有氧训练而退出试验,余均按照上述有氧运动方案完成训练,达到试验峰值指标。

1.3 主要试剂及仪器

1X Lysing solution、staining buffer(PBS-BSA)重悬细胞、1X Fix/Perm buffer、1X Perm/wash buffer、Human IL-17 ELISA KIT、Human TGF- β ELISA KIT等试剂购自上海优宁维生物科技股份有限公司;心肺运动仪(Cosmed 2900型,意大利);Bio-Tek ELX800全自动酶标仪,DGG-9240A型电热恒温箱,微量移液器(京君龙实验仪器北京有限公司);台式冷冻离心机centrifuge 5804R(Univer,德国);冷却高速离心机Legend Micro21R(Thermo-Fisher,德国);4℃保存箱(Panasonic,日本);流式细胞仪(Beckm Epics,美国)等。

1.4 测量指标

1.4.1 流式细胞学测定:室温下,分别抽取患者空腹状态下的外周静脉血6ml,均分2管,低温保存。取200 μ l抗凝血至离心管中,破膜10min后离心5min,随后固定5min再离心5min,制备细胞悬液;取100 μ l细胞悬液,加入相应的表面抗体染色,保存在4℃保存箱中30min,加入固定试剂后离心5min。在备用细胞悬液管中,反复加入缓冲液并离心,行固定及胞内染色,最后上机检测(以上操作试验均在浙江省中医药大学临床基础研究所流式细胞室内完成)。

1.4.2 细胞因子测定:抽取患者外周静脉血中的上清液200 μ l至离心管中。在20℃下,以200r/min速度离心4min。随后通过ELISA法检测各组试验血清中的细胞因子的浓度,试验步骤严格按照试剂盒说明进行操作(试验地点位于浙江省中医药大学临床基础研究所)。

1.4.3 CPET指标:实施有氧运动干预前后监测峰值公斤摄氧量(Peak VO_2/kg)、峰值功率(Peak Power)、 CO_2 排出量(Peak VCO_2)等指标评估患者心肺功能情况(以上指标的测量在杭州128医院心肺康复科实验室完成)。

1.5 统计学分析

采用SPSS 21.0 统计软件进行统计学分析。计量资料以平均值 $\pm$ 标准差,采用 t 检验比较各组间及组内的均数差异,计数资料数据采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 Treg亚群细胞比例变化情况

实施有氧运动干预前,观察对照组、试验组患者外周血中的Treg亚群细胞比例,差异不具有显著性意义($P>0.05$)。对照组经12周药物治疗后,Treg亚群细胞表达水平较药物治疗前升高,差异具有显著性意义($P<0.05$);试验组外周血中的Treg亚群细胞表达水平较有氧运动干预前及对照组药物治疗后升高,差异具有显著性意义($P<0.05$),见表2。

2.2 外周血中细胞因子变化情况

实施有氧运动干预前,观察对照组、试验组患者外周血中的细胞因子IL-17及TGF β 表达水平,差异不具有显著性意义($P>0.05$)。对照组经12周药物治疗后,细胞因子IL-17表达水平较药物治疗前降低,差异具有显著性意义($P<0.05$),而TGF β 表达水平较药物治疗前无明显变化,差异不具有显著性意义;试验组的IL-17及TGF β 表达水平较有氧运动干预前及对照组药物治疗后降低,差异具有显著性意义($P<0.05$),见表2,图1—2。

2.3 心肺运动功能变化情况

实施有氧运动干预前,观察对照组、试验组患者的Peak VO_2/kg 、Peak Power和Peak VCO_2 ,差异不具有显著性意义($P>0.05$)。对照组经12周药物治疗后,Peak Power和Peak VCO_2 较药物治疗前升高,差异具有显著性意义($P<0.05$),而Peak VO_2/kg 较药物治疗前无明显变化,差异不具有显著性意义($P>0.05$);试验组患者Peak VO_2/kg 、Peak Power和Peak VCO_2 较有氧运动干预前及对照组药物治疗后升高,差异具有显著性意义($P<0.05$),见表3。

表2 两组患者治疗前后外周血 Treg 亚群细胞比例、细胞因子变化情况 ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	Treg (%)	IL-17(pg/ml)	TGFβ ₁ (ng/ml)
对照组	29			
干预前		1.19±0.26	54.53±6.61	867.04±78.76
干预后		1.23±0.33 ^①	51.55±9.55 ^①	863.24±98.04
试验组	28			
干预前		1.32±0.30	53.21±9.66	862.55±84.03
干预后		6.64±2.28 ^{①②}	25.86±4.42 ^{①②}	548.74±54.10 ^{①②}

注:与组内干预前比较:① $P<0.05$;与对照组干预后比较:② $P<0.05$ 。

表3 两组患者治疗前后心肺运动功能变化情况 ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	Peak Power (W)	Peak VO ₂ /kg (ml/min)	Peak VCO ₂ (ml/min)
对照组	29			
干预前		80.76±14.89	20.83±3.29	1502.89±198.09
干预后		82.21±13.07 ^①	21.20±2.91	1558.57±168.56 ^①
试验组	28			
干预前		83.70±14.31	21.69±2.55	1517.45±201.85
干预后		99.53±7.65 ^{①②}	28.99±3.24 ^{①②}	1717.86±159.70 ^{①②}

注:与组内干预前比较:① $P<0.05$;与对照组干预后比较:② $P<0.05$ 。

图1 12周后对照组外周血中 CD4⁺IL-17⁺T 细胞(Th17 细胞)和 CD4⁺FoxP3⁺调节性 T 细胞(Treg 细胞)的流式细胞图

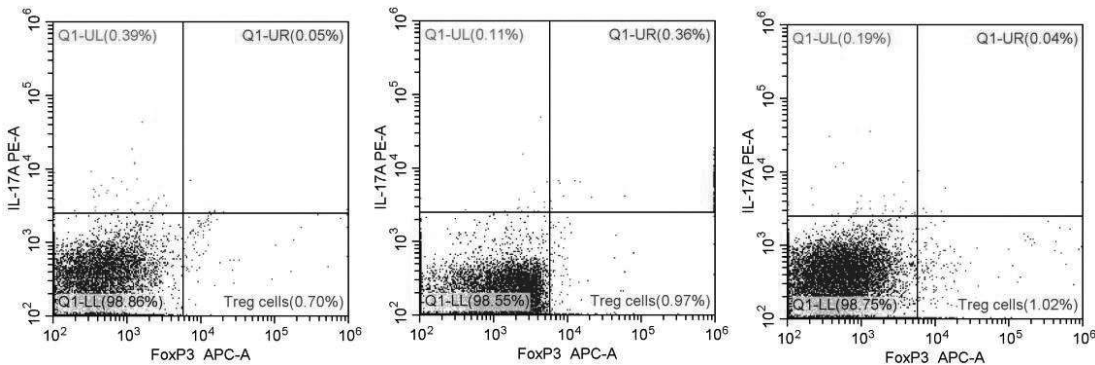
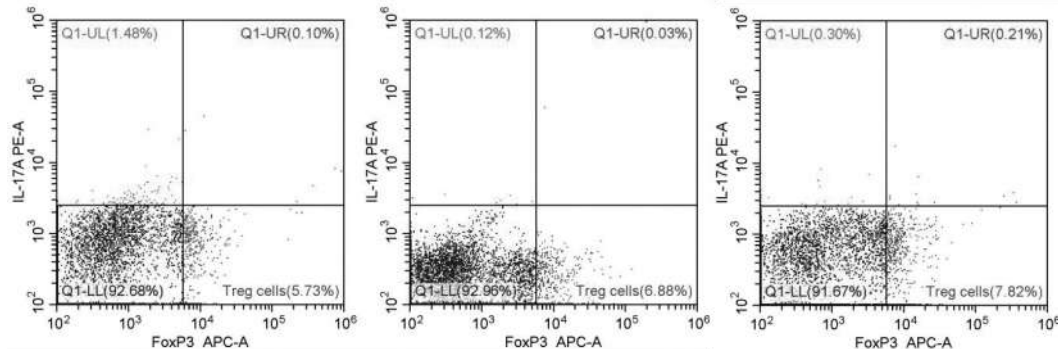


图2 12周后试验组外周血中 CD4⁺IL-17⁺T 细胞(Th17 细胞)和 CD4⁺FoxP3⁺调节性 T 细胞(Treg 细胞)的流式细胞图



3 讨论

在 COPD 的发病过程中,炎症反应起到重要的促进作用^[6-8]。活化的树突状细胞分泌的 IL-6 决定了 CD4⁺细胞的亚群分向,受不同受体特异性调控,CD4⁺细胞在高浓度 TGF-β 的刺激下,分化为 Treg 细胞亚群,而 TGF-β 在 IL-6 和 IL-1β 的共同诱导下趋向分化为 Th17 细胞亚群,在特定的细胞微环境中,Treg 细胞与 Th17 细胞可以相互转化。Park 等^[9]新发现,Th17 作为 Th 细胞亚群的一种,其介导的自身免疫应答与 Treg 亚群所具有的免疫抑制作用,在功能

上相互拮抗,在正常机体内维持动态平衡,并对炎症反应的发生和维持免疫耐受起到重要的作用。许多研究表明,Th17/Treg 的失衡在免疫性疾病中发挥重要的作用。

目前对于 COPD 的治疗大多依赖于长期的药物治疗,对疾病的控制情况有限,患者的生存质量及运动耐力改善情况并不明显。可以肯定的是,长期规律负荷的运动训练,对 COPD 患者的预后情况有明显改善作用。结合我们前期的临床研究^[10]及相关文献^[11-13],证实有氧运动对稳定期的 COPD 患者在呼

吸道症状的改善上有不同程度的作用,同时有效地提高患者运动耐力,对缓解慢性炎症也起到显著作用,但目前对其调节的机理尚不明确。本文创新地通过 Th17/Treg 亚群细胞及相关细胞因子的变化阐述有氧运动对 COPD 患者心肺运动功能有效性表达的意义,探讨在常规治疗的基础上采用有氧运动干预,对患者提升心肺运动功能,提高运动耐力及抑制炎症反应的作用机制。

有研究表明^[14],COPD 患者外周血中的 Treg 细胞亚群比例明显降低,且其所表达的 TGF- β 水平也表现出降低的趋势,而细胞因子 IL-17 表达水平升高,提示 COPD 患者免疫平衡状态受到破坏,介导炎症作用的细胞因子表达加强,而抗炎作用减弱。在经过常规的药物治​​疗及有氧运动 12 周的干预措施后,试验组 Treg 细胞亚群比例较运动前及对照组明显升高,IL-17 表达水平较运动前及对照组有显著降低。TGF- β 表达情况较运动前及对照组同样有降低趋势,TGF- β 作为抑制性炎症细胞因子,出现上述结果考虑可能同其与 IL-6 共同诱导 Th 细胞亚群分化有关,TGF- β 不仅可以作为炎症抑制性因子,调控抑制淋巴细胞增殖,同样也可诱导炎症细胞趋化,成为炎症反应发生的重要媒介。随着实施有氧运动的干预,COPD 患者慢性炎症反应得到一定缓解,Th17 与 Treg 细胞趋于平衡状态,可能导致 TGF- β 水平较干预前出现表达下降的结果。试验组在有氧运动后所测得的 Peak Power、Peak VO₂/kg 和 Peak VCO₂,均高于有氧运动干预前及对照组药物治疗后,提示有氧运动的干预能够有效提升患者心肺功能储备,提高运动耐量,缓解临床症状,其机制可能是通过抑制炎症反应,使机体对抗炎性物质的能力增强,提高机体免疫耐受情况。有氧运动训练作为一种功能锻炼,可能通过诱导抑制炎症反应的细胞因子升高,缓解机体免疫应激状态,从而改善机体免疫平衡状态。通过本次研究可以发现 COPD 稳定期患者明显受益于有氧运动,其对患者临床症状、健康状态及运动耐量均有明显的治疗作用。

综上所述,在 COPD 患者气道慢性炎症的发展过程中,Treg 细胞亚群及其相关细胞因子比例的失调起到重要的作用。在常规药物的作用下,应用有氧运动的干预,可以使细胞亚群失衡状态得到改善,

有效缓解炎症反应,对 COPD 患者在非药物治疗的效果上提供一定的理论依据。在今后的研究中,可研究 Th17/Treg 细胞亚群比例与有氧运动训练的关系,从而进一步探讨有氧运动训练在免疫学上对 COPD 稳定期患者的作用机制。

参考文献

- [1] The Global Strategy for Diagnosis, Management and Prevention of COPD (updated 2016), the Pocket Guide (updated 2016) and the complete list of references examined by the Committee are available on the GOLD website. www.gold-copd.org.
- [2] Zheng Y, Danilenko DM, Valdez P, et al. Interleukin-22, a Th17 cytokine, mediates IL-23-induced dermal inflammation and acanthosis[J]. *Nature*, 2007, 445(7128): 648—651.
- [3] 王晶,李凤森,比拉里,等. COPD 小鼠肺组织中 Th17 细胞相关因子的表达规律[J]. *新疆医科大学学报*, 2012, 35(10): 1308—1312.
- [4] Nurieva R, Yang XO, Martinez G, et al. Essential autocrine regulation by IL-21 in the generation of inflammatory T cells[J]. *Nature*, 2007, 448(7152): 480—483.
- [5] 张智勇,霍建民,鲍文华,等. 应用流式细胞技术检测 COPD 患者外周血中 Th17 细胞的变化及临床意义[J]. *当代医学*, 2012, 18(2): 31—32.
- [6] 陈雪松,吴宁,齐玉琴,等. 慢性阻塞性肺病稳定期患者外周血 Th17/Treg 失衡情况及与预后的关系[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2014, 19(12): 1383—1388.
- [7] 陈裕民,占学兵,张美娣. 不同分期老年 COPD 患者 Th17, Treg 细胞比例及炎症因子水平研究[J]. *临床肺科杂志*, 2015, 20(1): 83—86.
- [8] Harrison OJ, Foley J, Bolognese BJ, et al. Airway infiltration of CD4⁺ CCR6⁺ Th17 type cells associated with chronic cigarette smoke induced airspace enlargement[J]. *Immunol Lett*, 2008, 121: 13—21.
- [9] Park H, Li Z, Yang XO, et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17[J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(11): 1133—1141.
- [10] 吴海燕,钱钧,郝建. 康复训练对稳定期 COPD 患者肺功能的影响[J]. *临床肺科杂志*, 2014, 19(10): 1787—1789.
- [11] 姜文君,鲍军,王磊,等. 不同强度有氧训练对轻中度慢性阻塞性肺疾病的作用[J]. *中国康复医学杂志*, 2012, 27(2): 120—124.
- [12] 鲍军,王磊,陆甘,等. 高强度有氧训练对老年慢性阻塞性肺疾病稳定期患者血清炎症因子的影响[J]. *实用老年医学*, 2013, (9): 726—728.
- [13] 张彩虹,郭洪花,蔡小霞,等. 踏车运动对稳定期慢性阻塞性肺疾病患者的影响[J]. *海南医学院学报*, 2011, 17(12): 1731—1734.
- [14] 王华英,翁跃颂,应华娟,等. 慢性阻塞性肺疾病患者 Th17/Treg 细胞失衡与肺功能相关性研究[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2014, 34(7): 527—533.