Traditional Chinese Medicine 中医学, 2021, 10(1), 132-137
Published Online January 2021 in Hans. http://www.hanspub.org/journal/tcm
https://doi.org/10.12677/tcm.2021.101018

Hans汉斯

热毒宁、甘草酸苷联合治疗对II期手足口病患儿免疫细胞及炎性细胞因子的影响

黄胜贤，罗杰平，陈丽珍，邓少芳，黄庆华，叶潇鸣

南宁市第二人民医院，广西 南宁
Email: 46805193@qq.com

收稿日期：2020年12月24日；录用日期：2021年1月21日；发布日期：2021年1月29日

摘 要

目的：探讨热毒宁、甘草酸苷联合治疗对II期手足口病患儿的免疫细胞及炎性细胞因子的影响。方法：286例II期手足口病患儿随机分成实验1组(66例)、实验2组(73例)、实验3组(72例)及实验4组(75例)，同期63例健康体检儿童作为对照组。应用流式细胞术检测所有研究对象外周血T淋巴细胞、Th细胞、Tc细胞、NK细胞和B淋巴细胞所占淋巴细胞的百分比。酶联免疫吸附法测定炎性细胞因子IL-6、IL-10.、TNF-*a*水平，分析各组间上述指标的差异。结果：1) II期手足口病患儿T淋巴细胞、Th细胞、Th/Tc细胞比值较对照组显著降低，而B淋巴细胞百分比、IL-6、IL-10和TNF-*a*水平明显升高，差异有统计学意义(P < 0.05)；2) 较实验1组，实验2组、实验3组及实验4组的T淋巴细胞、Th细胞、Th/Tc比值显著升高，B淋巴细胞及IL-6、IL-10.、TNF-*a*的水平明显降低(P皆 < 0.05)；且实验2组与实验4组的Th细胞、B淋巴细胞、Th/Tc比值、IL-6、IL-10.、TNF-*a*间的差异有统计学意义(P < 0.05)。结论：较单用热毒宁，热毒宁及甘草酸苷联合治疗能显著地缓解II期手足口患儿的免疫功能紊乱，但热毒宁联合甘草酸苷改善免疫功能的作用较单独用药是否有叠加作用需进一步研究。

关键词

热毒宁，甘草酸苷，手足口病，免疫细胞，炎性细胞因子

Effect of Reduning Combined with Glycyrrhizin on Immune Cells and Inflammatory Cytokines of Children with the Second Stage of Hand Foot and Mouth Disease

Shengxian Huang, Jieping Luo, Lizhen Chen, Shaofang Deng, Qinghua Huang, Xiaoming Ye

文章引用: 黄胜贤, 罗杰平, 陈丽珍, 邓少芳, 黄庆华, 叶潇鸣. 热毒宁、甘草酸苷联合治疗对 II 期手足口病患儿免疫细胞及炎性细胞因子的影响[J]. 中医学, 2021, 10(1): 132-137. DOI: 10.12677/tcm.2021.101018

The Second Nanning People's Hospital, Nanning Guangxi
Email: 46805193@qq.com

Received: Dec. 24th, 2020; accepted: Jan. 21st, 2021; published: Jan. 29th, 2021

Abstract

Objective: To investigate the effect of Reduning combined with glycyrrhizin on immune cells and inflammatory cytokines in children with hand-foot-mouth disease (HFMD). Methods: 286 children with Stage II HFMD were randomly divided into the routine group (66 cases), the Reduning group (73 cases), the glycyrrhizin group (72 cases) and the combined group (75 cases), and 63 healthy children as the control group. The percentage of T lymphocyte, Th cells, Tc cells, NK cells, and B lymphocyte in the lymphocyte of all subjects' peripheral blood was measured by flow cytometry. Inflammatory cytokines IL-6, IL-10 and TNF-*a* were measured by ELISA, to analyze the differences of the above indicators among the groups. Results: 1) The ratio of T lymphocyte cells, Th cells and Th/Tc cells was significantly lower than that of the control group, but the percentage of B lymphocyte, IL-6, IL-10 and TNF-*a* levels was significantly higher than that of the control group (P < 0.05); 2) Compared with the conventional medication group, the T lymphocytes, Th cells, and Th/Tc ratios of the Reduning group, the glycyrrhizin group and the combined medication group were significantly increased, and the B lymphocytes and the level of IL-6, IL-10 and TNF-*a* were significantly reduced (P < 0.05); there were significant differences in Th cells, B lymphocytes, th/TC ratio, IL-6, IL-10 and TNF-*α* between the Reduning group and the combination group. Conclusion: Compared with the treatment of Reduning, Reduning and glycyrrhizin combined treatment can significantly alleviate the immune dysfunction in children with Stage II hand-foot-mouth disease; however, the effect of Reduning combined with glycyrrhizin on improving immune function should be further studied.

Keywords

Reduning, Glycyrrhizin, Hand-Foot-and-Mouth Disease, Immunocyte, Inflammatory Cytokines

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.
This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).
http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Open Access

1. 引言

手足口病(hand-foot-mouth disease, HFMD)是多种肠道病毒引起的，以发热、手足臀膝皮疹，口腔粘膜出现疱疹或溃疡为主要临床症状的常见的婴幼儿急性传染病。因感染的肠道病毒类别不同，且患儿的状态特别是免疫功能的不同，HFMD 患儿的临床症状呈现较大差异，大部分 HFMD 患儿仅表现出发热、足臀膝疱疹等症状，预后良好，而部分 HFMD 患儿除上述症状外，还表现出中枢神经系统损伤，继发严重的后遗症甚至危及生命[1] [2]。有研究表明热毒宁、甘草酸苷均具有抗病毒、抗炎及提高免疫力的作用[3] [4]。本研究旨在探讨热毒宁和甘草酸苷对 II 期 HFMD 患儿免疫细胞及炎性细胞因子的影响是否存在免疫调节作用的叠加情况，为临床治疗 HFMD 提供新的视角。

2. 材料与方法

2.1. 研究对象

2017 年 1 月至 2019 年 10 月就诊于我院的第 2 期手足口病患儿(286 例)为实验组，并按照电子表格随机数字分为四组，对照组为 63 例健康儿童，5 组的年龄和性别无差异(P > 0.05)。见表 1。

HFMD 患儿纳入研究标准：① 参照《肠道病毒 71 型(EV71)感染重症病例临床救治专家共识(2011 版)》[5]明确诊断的第 2 期 HFMD 患儿。根据疾病的发生、发展过程，将 HFMD 分为第 1~第 5 期。第 2 期(神经系统受累期)，属于 HFMD 重症病例重型；② 患儿年龄 < 14 岁；③ 征得患儿监护人同意，并签订知情同意书。

排除标准[6]：① 有药物变态反应史者；② 合并其他心、肺、脑、血液系统等疾病者；③ 严重细菌感染者；④ 合并湿疹、水痘或口蹄疫等疾病者；⑤ 严重营养不良者；⑥ 依从性差，或者中途退出研究者。本研究经我院医学伦理委员会批准。

Table 1. Basic information of research objects
表 1. 研究对象基本情况

组别	n (例)	性别(男/女)	年龄(月)	平均年龄(月)
II 期 HFMD 患儿	286	157/129	5~84	36.9
实验 1 组	66	37/29	5~77	34.4
实验 2 组	73	39/34	7~76	36.9
实验 3 组	72	39/33	6~81	34.3
实验 4 组	75	42/33	6~84	35.7
健康对照组	63	35/28	10~81	38.3

2.2. 治疗方案[6]

① 实验 1 组：该组 HFMD 患儿实施常规治疗:利巴韦林抗病毒治疗，以及退热、局部止痛、维持水电解质及酸碱平衡等对症治疗；

② 实验 2 组：该组 HFMD 患儿在实验 1 组治疗方案上，增加热毒宁注射液静脉滴注；

③ 实验 3 组：该组 HFMD 患儿在实验 1 组治疗方案上，增加复方甘草酸苷片口服治疗；

④ 实验 4 组：该组 HFMD 患儿在实验 3 组治疗方案上，给予热毒宁注射液静脉滴注。

2.3. 免疫细菌及炎性细胞因子检测

抽取观察组患儿治疗 5 d 后、对照组儿童体检时的空腹静脉血约 5 mL，注入 EDTA-K_2 抗凝管和干燥管中，送至我院检验科，分别进行外周血免疫细胞及血清炎性细胞因子检测。具体如下。① 免疫细胞检测：应有流式细胞仪检测研究对象外周血中的 T 细胞，辅助 T 细胞(Th)，细胞毒性 T 细胞(Tc)，自然杀伤细胞(NK)和 B 细胞数量及其所占淋巴细胞的百分比。② 采用酶联免疫吸附法，测定外周血血清 IL-6、IL-10、TNF-*a* 水平。

2.4. 统计学分析

应用 SPSS 22.0 软件整理分析，Mean ± SD 表示数据。计量资料的比较采用 t 检验或方差分析。P < 0.05，表明差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. 第 2 期 HFMD 患儿组与健康对照组的免疫细胞及炎性细胞因子的水平比较

结果如表 2 所示，实验组的免疫细胞(除 Tc 细胞以外)及炎性细胞因子与对照组间有显著差异，差异有统计学意义(P 皆 < 0.05)。

Table 2. Results of immune cells and inflammatory cytokines in children with stage 2 HFMD and control group (Mean ± SD)
表 2. 第 2 期 HFMD 患儿与对照组的免疫细胞及炎性细胞因子的结果(Mean ± SD)

组别	n	T 淋巴细胞	Tc 细胞	Th 细胞	Th 细胞/Tc 细胞	B 淋巴细胞
实验组	286	56.58 ± 10.36	18.72 ± 5.93	34.46 ± 7.25	1.84 ± 0.39	22.73 ± 4.93
对照组	63	63.34 ± 11.67	19.24 ± 5.27	39.82 ± 7.79	2.08 ± 0.47	20.82 ± 4.41
t		4.607	0.642	5.24	4.253	2.835
P		<0.001	0.521	<0.001	<0.001	0.005
组别	n	NK 细胞	IL-6 (ng/L)	IL-10 (ng/L)	TNF-*a* (ng/L)	
患儿组	286	9.11 ± 2.23	24.02 ± 5.88	37.73 ± 5.42	3.83 ± 0.43	
对照组	63	9.86 ± 2.26	13.34 ± 2.15	25.48 ± 4.68	1.32 ± 0.31	
t		2.411	6.151	7.082	18.688	
P		0.017	<0.001	<0.001	<0.001	

3.2. 不同治疗方案的第 2 期 HFMD 患儿外周血免疫细胞的检测结果比较

结果如表 3 所示，不同治疗方案的第 2 期 HFMD 患儿外周血的免疫细胞(除 Tc 细胞以外)有显著差异(P 皆 < 0.05)。进一步组间比较，实验 2 组、实验 3 组和实验 4 组的免疫细胞(除 Tc 细胞以外)较实验 1 组有显著差异(P 皆 < 0.05)。实验 4 组的 Th 细胞、Th 细胞/Tc 细胞比值与实验 2 组有差异(P = 0.027, P = 0.019)，实验 4 组的 Th 细胞、Th 细胞/Tc 细胞比值虽略高于实验 3 组，但差异无统计学意义(P = 0.094, P = 0.073)。实验 3 组和实验 4 组的 B 淋巴细胞明显低于实验 2 组(P = 0.024, P = 0.013)。

Table 3. Results of immune cell test in children with stage 2 HFMD treated with different regimens (Mean ± SD)
表 3. 不同治疗方案的第 2 期 HFMD 患儿免疫细胞测定结果(Mean ± SD)

组别	n	T 淋巴细胞(%)	Th 细胞(%)	Tc 细胞(%)	Th 细胞/Tc 细胞	NK 细胞(%)	B 细胞(%)
实验 1 组	66	51.28 ± 11.93	29.83 ± 6.84	18.59 ± 4.40	1.69 ± 0.32	9.08 ± 1.95	24.5 ± 5.3
实验 2 组	73	55.89 ± 9.34*	33.74 ± 7.66*	19.19 ± 4.66	1.81 ± 0.36*	9.09 ± 2.06	22.8 ± 5.2*
实验 3 组	72	57.21 ± 8.85*	35.32 ± 7.32*	19.06 ± 5.02	1.91 ± 0.38*	9.15 ± 2.43	21.9 ± 4.9*#
实验 4 组	75	58.82 ± 9.93*	36.47 ± 7.27*#	18.54 ± 4.61	1.97 ± 0.41*#	9.17 ± 2.56	20.9 ± 5.6*#
F 值		3.673	4.364	0.947	2.869	0.958	2.963
P		<0.001	<0.001	0.122	<0.001	0.103	0.011

注：*：较实验 1 组比较，P < 0.05；#：较实验 2 组比较，P < 0.05。

3.3. 不同治疗方案的第 2 期 HFMD 患儿血清中炎性细胞因子的检测结果比较

第 2 期 HFMD 患儿不同治疗方案间的血清炎性细胞因子 IL-6、IL-10、TNF-*a* 水平有显著差异(P < 0.05)。组间进一步比较，较实验 1 组，实验 2 组、实验 3 组和实验 4 组的免疫球蛋白 IL-6、IL-10、TNF-*a*

有显著差异，差异有统计学意义(P < 0.05)。实验 4 组的 IL-6、IL-10、TNF-*a* 水平高于实验 2 组，差异有统计学意义(P = 0.027; P = 0.019; P = 0.026)，实验 3 组的 IL-6、IL-10、TNF-*a* 水平较实验 2 组略低，但差异无统计学意义(P = 0.089; P = 0.074; P = 0.153) (见表 4)。

Table 4. Detection of inflammatory cytokines in peripheral blood of children with stage 2 HFMD before and after treatment (Mean ± SD)
表 4. 第 2 期 HFMD 患儿治疗前后外周血中炎性细胞因子的检测结果(Mean ± SD)

炎性细胞因子	实验 2 组 (n = 73)	实验 3 组 (n = 72)	实验 4 组 (n = 75)	实验 1 组 (n = 66)	*F* 值	P
IL-6 (ng/L)	25.89 ± 7.34*	23.74 ± 7.85*	22.82 ± 6.93*#	28.28 ± 2.78	6.735	<0.001
IL-10 (ng/L)	39.74 ± 6.46*	37.72 ± 6.39*	35.64 ± 7.47*	41.83 ± 6.44	2.674	0.015
TNF-*a* (ng/L)	4.39 ± 0.46*	3.71 ± 0.47*	3.64 ± 0.33*#	4.89 ± 0.37	2.725	0.013

注：*：较实验 1 组比较，P < 0.05；#：较实验 2 组比较，P < 0.05。

4. 讨论

热毒宁是临床经常使用的中药注射剂，主要药材为金银花、栀子和青蒿。3 味药材的相互协同，使得热毒宁具有退热、抗炎、抗病毒及提高免疫力的功效[3]。在临床使用中，热毒宁常与其他药物(如抗病毒药物、抗生素、糖皮质激素、肾上腺素等)联用，能显著缓解临床症状、缩短病程[3]。甘草酸苷是甘草的主要活性成分，研究表明具有抗炎、抗病毒、免疫调节以及抗肿瘤等多种功效[4]。尹翠红等[7]研究表明甘草酸苷在消化道被 *β*-D-葡萄糖醛酸糖苷酶进一步分解为 18 *β*-甘草次酸，而 18 *β*-甘草次酸的类皮质醇样结构，可抑制 11 *β*-羟基固醇脱氢酶的活性，表现出皮质醇的功效，但不良反应却较常见的皮质醇少[8]。HFMD 是肠道病毒引起的常见急性婴幼儿传染病，临床根据疾病进展过程可分为 5 期。第 2 期(神经系统受累期)患儿的临床症状除发热、手足口臀疱疹以外，还有嗜睡、吸吮无力、呕吐、体抖动、肌无力、颈强直项等中枢神经系统受损表现，此期病情进展快、凶险、易发展为危重症，但及时采取有效的治疗可痊愈[5]。当前临床治疗 HFMD 的重点和难点在于第 2 期 HFMD 的明确诊断和防止患儿由第 2 期向危重症发展的合理治疗[7]。有学者认为重症 HFMD 的发生与感染病毒的类别及患儿免疫功能密切相关，缓解免疫功能紊乱和抗病毒是防止第 2 期 HFMD 向危重症发展的的主要措施[9]。

本研究结果显示，第 2 期 HFMD 患儿的免疫细胞和炎性细胞因子较健康儿童有明显差异。这与国内外学者的研究结论基本一致[10] [11] [12]，认为婴幼儿感染肠道病毒后，机体免疫系统启动，刺激非特异性免疫细胞和易感细胞释放各种细胞因子(如 TNF-*a*、IL-10 等炎性细胞因子)，这些细胞因子进一步引导机体特异性或非特异性炎症的发生，使机体清除与抑制病毒，促进疾病痊愈。机体炎症反应的发生，与其相关的细胞因子随之发生变化，通过检测相关的细胞因子可以判断机体的炎性反应程度和间接判断免疫状况[11]。HFMD 患儿感染初期，机体已通过多种途径激活免疫系统，重症化后，T 细胞及 NK 细胞大部分已凋亡或处于功能障碍状态，引起固有免疫和细胞免疫紊乱。当细胞免疫不能有效抑制或杀灭病毒时，机体通过活化 B 细胞，启动体液免疫来参与抗病毒过程[13]。同时机体免疫功能紊乱时，大量促炎症细胞因子被释放，引起组织损伤，加重疾病，而这又进一步加剧炎症反应，产生大量炎性细胞因子[11] [14]。较常规抗病毒对症治疗的第 2 期 HFMD 患儿，单独或联合使用热毒宁、甘草酸苷治疗的患儿免疫细胞和炎性细胞因子显著差异，提示热毒宁、甘草酸苷能显著地提高第 2 期 HFMD 患儿 T 细胞及 NK 细胞数量，改善 HFMD 患儿的细胞免疫功能及固有免疫功能障碍状况，降低患儿炎性反应及抑制炎性细胞因子的释放。热毒宁联合甘草酸苷治疗的第 2 期 HFMD 的患儿 Th 细胞百分比、Th 细胞/Tc 细胞比值较热毒宁治疗显著升高，炎性细胞因子明显降低。热毒宁联合甘草酸苷治疗的 HFMD 的患儿炎性细

胞因子较甘草酸苷治疗略降低，Th 细胞百分比、Th 细胞/Tc 细胞比值却略升高，但差异并无统计学意义。说明甘草酸苷、热毒宁联合在纠正第 2 期 HFMD 患儿免疫功能紊乱问题上较单用甘草酸苷无明显差异。这与我们的预期设想不一致，分析原因可能是热毒宁、甘草酸苷可能存在部分相同途径的免疫调节机制，两种药物竞争相同的药物受体，因此两种药物的免疫调节作用无叠加效果。但是否存在相同的免疫调节，需进一步研究。

5. 结论

综上，较单用热毒宁，热毒宁联合甘草酸苷能显著地缓解第 2 期手足口患儿免疫功能紊乱，但热毒宁、甘草酸苷改善免疫功能的作用是否存在相同的免疫调节机制还需要进一步研究加以论证。

基金项目

广西壮族自治区卫生计生委自筹经费科研课题(Z20170116)。

参考文献

[1] Zhang, Q., Zhou, M., Yang, Y., *et al.* (2019) Short-Term Effects of Extreme Meteorological Factors on Childhood Hand, Foot, and Mouth Disease Reinfection in Hefei, China: A Distributed Lag Non-Linear Analysis. *Science of the Total Environment*, **653**, 839-848. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.349

[2] 国家卫生部手足口病临床专家组. 手足口病诊疗指南(2010 年版) [EB/OL]. http://www.chinanews.com/jk/news/2010/04-21/2240255.shtml, 2019-12-01.

[3] 赵慧, 王丽, 冷红春, 等. 热毒宁注射液治疗小儿胃肠型上呼吸道感染的效果观察[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(11): 2581-2583.

[4] 梁占捧, 李敬, 李舒, 等. 复方甘草酸苷片联合米诺地尔液治疗斑秃 34 例临床分析[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2018, 32(12): 1216-1218.

[5] 国家卫生部手足口病临床专家组. 肠道病毒 71 型(EV71)感染重症病例临床救治专家共识(2011 年版) [EB/OL]. http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s3593/201105/203be457f36145058108fd818d9119db.shtml, 2011-05-13.

[6] 黄胜贤, 罗杰平, 陈丽珍, 等. 热毒宁联合甘草酸苷治疗 II 期手足口病及其免疫相关指标的改变[J]. 吉林医学, 2020, 8(41): 1809-1813.

[7] 尹翠红, 车雅敏. 复方甘草酸苷对 T 细胞相关细胞因子的影响[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2015, 9(22): 4124-4127.

[8] Chen, Q., Zhang, Q. and Hu, Z. (2019) Profiles of Human Enteroviruses Associated with Hand, Foot, and Mouth Disease in Nanjing, China. *Disaster Medicine and Public Health Preparedness*, **13**, 740-744. https://doi.org/10.1007/s13365-019-00724-3

[9] Li, H., Su, L., Zhang, T., *et al.* (2019) MRI Reveals Segmental Distribution of Enterovirus Lesions in the Central Nervous System: A Probable Clinical Evidence of Retrograde Axonal Transport of EV-A71. *Journal of NeuroVirology*, **25**, 354-362. https://doi.org/10.1007/s13365-019-00724-3

[10] Pei, X., Fan, X., Zhang, H., *et al.* (2019) Low Frequency, Weak MCP-1 Secretion and Exhausted Immune Status of Peripheral Monocytes Were Associated with Progression of Severe Enterovirus A71-Infected Hand, Foot and Mouth Disease. *Clinical & Experimental Immunology*, **196**, 353-363. https://doi.org/10.1111/cei.13267

[11] Jiao, W., Tan, S.R., Huang, Y.F., *et al.* (2019) The Effectiveness of Different Doses of Intravenous Immunoglobulin on Severe Hand, Foot and Mouth Disease: A Meta-Analysis. *Medical Principles and Practice*, **28**, 256-263. https://doi.org/10.1159/000496926

[12] 王洁, 陈东, 赵昕峰, 等. EV71 型手足口患儿免疫相关指标变化水平分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2018, 28(14): 2197-2201.

[13] 潘招军. 手足口病患儿外周血 CD56~(bright)和 CD56~(dim)自然杀伤细胞的频率、表型和功能活性分析[D]: [硕士学位论文]. 重庆: 重庆医科大学, 2019.

[14] Noisumdaeng, P., Korkusol, A., Prasertsopon, J., *et al.* (2019) Longitudinal Study on Enterovirus A71 and Coxsackievirus A16 Genotype/Subgenotype Replacements in Hand, Foot and Mouth Disease Patients in Thailand, 2000-2017. *International Journal of Infectious Diseases*, **80**, 84-91. https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.12.020