

自拟流感方治疗儿童乙型流行性感胃的疗效及作用机制研究

金海燕 许斌斌 詹璐

浙江省中西医结合医院(杭州市红十字会医院)儿科,浙江杭州 310000

通信作者:詹璐, Email: 273427705@QQ.com

【摘要】目的 观察自拟流感方对儿童乙型流行性感胃(乙流)的疗效及其作用机制。**方法** 采用前瞻性随机对照研究方法,选择 2019 年 1 月至 2020 年 2 月就诊于浙江省中西医结合医院儿科门诊的 60 例表寒里热型乙流患儿。按随机数字表法,并取得患儿监护人知情同意后患儿分为观察组及对照组,每组 30 例。两组均予基础对症支持治疗,观察组口服自拟流感方方剂,对照组口服奥司他韦,均治疗 5 d。观察两组患儿治疗前后临床症状并计算中医症状积分,判定患儿临床疗效;同时采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清白细胞介素-6(IL-6)、 γ -干扰素(IFN- γ)及超氧化物歧化酶(SOD)水平。**结果** 60 例乙流患儿中因病情加用其他药物退出 2 例、失访脱落 1 例,共获得有效病例 57 例,其中观察组 28 例,对照组 29 例。两组患儿在性别、年龄方面差异均无统计学意义,具有可比性。两组治疗后中医证候积分均较治疗前明显降低,且观察组治疗后中医证候积分明显低于对照组(分: 1.93 ± 1.15 比 3.90 ± 2.87 , $P < 0.01$)。观察组总有效率明显高于对照组[96.4% (27/28) 比 72.4% (21/29), $\chi^2 = 6.179$, $P = 0.013$]。两组治疗前血清 IL-6、IFN- γ 及 SOD 水平差异均无统计学意义;两组治疗后 IL-6、IFN- γ 水平均明显下降,且观察组治疗后血清 IL-6 及 IFN- γ 较对照组下降更明显[IL-6 (ng/L): 0.69 ± 0.06 比 1.14 ± 0.20 , IFN- γ (ng/L): 5.56 ± 0.87 比 9.08 ± 1.64 , 均 $P < 0.01$]。观察组治疗后 SOD 水平较治疗前明显升高,而对照组无明显变化;观察组治疗后 SOD 明显高于对照组(ng/L: 37.27 ± 20.76 比 29.14 ± 10.93 , $P < 0.01$)。**结论** 自拟流感方能有效治疗儿童乙流,改善临床症状,其作用机制可能通过减低 IL-6、IFN- γ 炎症因子水平,提升 SOD 活性减轻细胞氧化损伤来发挥作用的。

【关键词】 流感方; 流行性感胃,乙型; 邪犯肺卫; 白细胞介素-6; γ -干扰素; 超氧化物歧化酶

基金项目:浙江省中医药科技计划项目(2019ZB091)

临床注册:中国临床试验注册中心, ChiCTR 2100046997

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2023.01.005

Efficacy and mechanism of self-designed influenza formula in the treatment of influenza B in children

Jin Haiyan, Xu Binbin, Zhan Lu

Department of Pediatrics, Zhejiang Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital (Hangzhou Red Cross Hospital), Hangzhou 310000, Zhejiang, China

Corresponding author: Zhan Lu, Email: 273427705@QQ.com

【Abstract】Objective To observe the therapeutic effect and mechanism of self-designed influenza formula in children with influenza B. **Methods** A prospective randomized controlled study was conducted. Sixty children infected with influenza B virus and with superficial cold and li-fever admitted to the pediatric outpatient department of Zhejiang Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital from January 2019 to February 2020 were enrolled. After obtaining consent of their guardians, children were randomly divided into observation group and control group using random number table method, with 30 cases in each group. Both groups were given basic symptomatic supportive treatment. The observation group was given self-designed influenza formula, and the control group was given oseltamivir orally. Both groups were treated for 5 days. The clinical symptoms of the two groups were observed before and after treatment and the traditional Chinese and Western (TCM) symptom score was calculated to determine the clinical efficacy of the children. Serum levels of interleukin-6 (IL-6), interferon- γ (IFN- γ) and superoxide dismutase (SOD) were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** Among the 60 cases, 2 cases were withdrawn due to additional use of other drugs and 1 case was lost to follow-up. A total of 57 effective cases were obtained, including 28 cases in the observation group and 29 cases in the control group. There were no significant differences in gender and age between the two groups, which was comparable. After treatment, the TCM syndrome score in both groups were significantly lower than those before treatment, and the TCM syndrome score in the observation group was significantly lower than that in the control group (1.93 ± 1.15 vs. 3.90 ± 2.87 , $P < 0.01$). The total effective rate of the observation group was significantly higher than that of the control group [96.4% (27/28) vs. 72.4% (21/29), $\chi^2 = 6.179$, $P = 0.013$]. There was no significant difference in serum IL-6, IFN- γ and SOD levels between the two groups before treatment. After treatment, the levels of IL-6 and IFN- γ in both groups decreased significantly, and the decrease of serum IL-6 and IFN- γ in the observation group was more obvious than those in the control group [IL-6 (ng/L): 0.69 ± 0.06 vs. 1.14 ± 0.20 , IFN- γ (ng/L): 5.56 ± 0.87 vs. 9.08 ± 1.64 , both $P < 0.01$]. After treatment, SOD level in the observation

group was significantly higher than that before treatment, while there was no significant change in the control group. SOD in the observation group was significantly higher than that in the control group (ng/L: 37.27 ± 20.76 vs. 29.14 ± 10.93 , $P < 0.01$). **Conclusions** Self-designed influenza formula can effectively treat children with Influenza B and improve clinical symptoms. Its effects maybe achieved by reducing the levels of IL-6 and IFN- γ inflammatory factors, enhancing SOD activity and alleviating oxidative damage of cells.

【Key words】 Influenza formula; Influenza B; Interleukin-6; Interferon- γ ; Superoxide dismutase

Fund program: Zhejiang Traditional Chinese Medicine Science and Technology Plan Project of China (2019ZB091)

Trial Registration: Chinese Clinical Trial Registry, ChiCTR 2100046997

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2023.01.005

乙型流行性感(乙流)是儿科常见的急性上呼吸道感染,以高热、全身酸痛、乏力和呼吸道症状为特征,重症可导致肺部感染、神经系统感染、中耳炎等,此病传染性强、发病率高,儿童普遍易感,一年四季均具有流行性^[1],给儿童生命健康带来严重危害,也造成了巨大的经济损失。流感方是浙江省名中医邵征洋教授根据柴葛解肌汤化裁而来,临床用于治疗儿童表寒里热型乙流取得了较好的疗效。本研究进一步探讨自拟流感方治疗儿童乙流的疗效及可能的作用机制。

1 资料与方法

1.1 病例的纳入及排除标准:选取 2019 年 1 月至 2020 年 2 月就诊于本院儿科门诊的 60 例表寒里热型乙流患儿。

1.1.1 纳入标准:①符合西医流感诊断标准^[2]及中医表寒里热证诊断标准^[3];②3岁 \leq 年龄 \leq 14岁;③无长期药物治疗或参与其他临床研究者;④发病 48 h 内;⑤监护人知情,同意受试。

1.1.2 排除标准:①合并免疫缺陷或存在循环、神经等其他系统疾病者;②因各种原因无法配合研究者;③发展成重症,继发或并发其他病原体感染者;④临床资料不完整者。

1.1.3 脱落标准:患儿或家属依从性差,或中途自行停药、更换药物,或自行退出研究;病情恶化,或出现严重过敏反应,根据医生判断终止研究;患儿随访期间因各种原因失访。

1.2 伦理学:本研究符合医学伦理学标准,经医院伦理委员会审核(审批号:2018726),所有治疗及检测均征得患儿家属的知情同意,并于中国临床试验注册中心注册(注册号:ChiCTR 2100046997)。

1.3 分组及治疗

1.3.1 分组:采取整体随机化方法,随机数字表产生随机数列,按患儿就诊顺序分为观察组和对照组。

1.3.2 治疗方法:两组均予基础对症支持治疗。此外,观察组予以口服自拟流感方颗粒剂(生葛根、柴

胡、荆芥、防风、薄荷、生麻黄、黄芩、连翘、生草、生石膏、羌活、桔梗、川芎、石菖蒲、生姜、大枣),由浙江中西医结合医院颗粒剂药房提供(浙江惠松制药有限公司制备),每日 1 剂,早晚饭后 1 h 分服。对照组予以口服奥司他韦颗粒(宜昌长江药业有限公司,国药准字:H20080763,规格:15 mg),温水冲服;若体质量 \leq 15 kg 者,每次 30 mg,每日 2 次;15 kg $<$ 体质量 \leq 23 kg 者,每次 45 mg,每日 2 次;23 kg $<$ 体质量 \leq 40 kg 者,每次 60 mg,每日 2 次;体质量 $>$ 40 kg 者,每次 75 mg,每日 2 次。两组均治疗 5 d。

1.4 观察指标及方法:建立标准临床病例模板,对于符合纳入标准的患儿,记录治疗前的病史、症状、体征等基础信息,并检测实验室相关指标;治疗 5 d 后再次记录症状、体征,复查相关指标。

1.4.1 中医症状积分:参照《中药新药临床研究指导原则(试行)》^[4]对流感主要症状轻重等级进行评分,计算其症状积分。

1.4.2 疗效评价标准:根据《中药新药临床研究指导原则(试行)》^[4]将各主要症状评分相加得总分,总分越大,说明症状越严重。采用尼莫地平法计算公式:积分减少值 $=$ [(治疗前积分-治疗后积分) \div 治疗前积分] \times 100%。疗效判定:①痊愈:主要症状完全消失,积分减少值 $>$ 95%;②显效:主要症状基本消失,积分减少值 $>$ 70%;③有效:主要症状部分消失,积分减少值 $>$ 30%;④无效:主要症状积分值减少不足 30%。总有效率 $=$ (痊愈+显效+有效) \div 总例数 \times 100%。

1.4.3 血清学指标检测:治疗前后分别抽取静脉血 3 mL,分离血清,3 000 r/min(离心半径 9 cm)离心 10 min,取上清液置于 -80 °C 冰箱保存。采用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)集中检测血清白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、 γ -干扰素(interferon- γ , IFN- γ)及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)水平,严格按照试剂盒说明书步骤操作,由本院中心实验室专业

实验人员进行指导质控。

1.5 统计学方法：采用 SPSS 20.0 软件对所收集的数据进行录入和分析。所有计量资料均符合正态分布和方差齐性检验条件，以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，采用 *t* 检验；计数资料以例数或率表示，采用 χ^2 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患儿基本情况 (表 1)：符合病例选取标准的乙流患儿 60 例，后因病情加用其他药物退出 2 例、失访脱漏 1 例，共获得有效病例 57 例，其中观察组 28 例，对照组 29 例。两组患儿在性别及年龄方面差异均无统计学意义 (均 *P* > 0.05)。

表 1 不同治疗方法两组乙型流行性感冒患儿基线资料比较

组别	例数 (例)	性别 (例)		年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)
		男性	女性	
观察组	28	14	14	7.89 ± 2.06
对照组	29	12	17	8.00 ± 1.95
χ^2/t 值		0.427		0.385
<i>P</i> 值		0.514		0.537

2.2 临床疗效

2.2.1 两组治疗前后中医症状积分变化比较 (表 2)：两组治疗后中医证候积分均较治疗前明显降低 (均 *P* < 0.01)，且观察组治疗后中医证候积分明显低于对照组 (*P* < 0.01)。

表 2 不同治疗方法两组乙型流行性感冒患儿治疗前后中医症状积分变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数 (例)	中医症状积分 (分)		<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
		治疗前	治疗后		
观察组	28	10.82 ± 1.61	1.93 ± 1.15	30.403	< 0.001
对照组	29	10.34 ± 1.93	3.90 ± 2.87	11.370	< 0.001
<i>t</i> 值		0.479	8.100		
<i>P</i> 值		0.492	0.006		

2.2.2 两组临床疗效比较 (表 3)：观察组总有效率明显高于对照组 (*P* < 0.05)。

表 3 不同治疗方法两组乙型流行性感冒患儿临床疗效比较

组别	例数 (例)	临床疗效 (例)				总有效率 [% (例)]	χ^2 值	<i>P</i> 值
		痊愈	显效	有效	无效			
观察组	28	13	9	5	1	96.4 (27)	6.179	0.013
对照组	29	8	6	7	8	72.4 (21)		

2.3 两组治疗前后血清学指标变化比较 (表 4)：两组治疗前 IL-6、IFN- γ 及 SOD 水平相当，差异无统计学意义 (均 *P* > 0.05)。两组治疗后 IL-6、IFN- γ 均较治疗前明显下降，且观察组 IL-6、IFN- γ 较对照组下降更明显 (均 *P* < 0.01)。观察组治疗后 SOD 较治疗前明显升高 (*P* < 0.01)，而对照组未见明显改变 (*P* > 0.05)；两组治疗后 SOD 水平差异有统计学意义 (*P* < 0.01)。

2.4 安全性评价：治疗中两组均未出现不适症状及不良反应，体格检查无特殊表现，生命体征稳定，未出现心律失常、肝功能损害、过敏等不良事件。

2.5 护理：乙流患儿需静卧休息，病室保持干爽，通风良好，温度适宜。因该病具有传染性，故需进行呼吸道隔离，陪护人员不易过多。流感方中药物多为清热解表之品，密切观察体温与发汗情况，观察出汗与体温关系，如是否战汗、战汗之后体温转归等，并及时向临床医生反映，以便调整治疗方案；同时注意保证患儿保暖，即确保患者无掀被、露手足等。服药频次根据患儿情况而定，但应保证每日服药量足够。以清淡饮食为主，清淡之品如稀粥等，不但可以起到养胃的作用，还可以补充因发汗而丢失的水分，切不可过食辛辣及滋补之品。

3 讨论

祖国医学认为流感属“时行感冒”“时疫”“伤寒”等范畴，由温热病邪通过口鼻侵袭人体而发病，以发热、恶寒、鼻塞、流涕、喷嚏、头痛、全身不适等为主要临床表现^[5]。临床医家认为乙流多由于疫气为病，临床以寒包火证为主，风热证次之^[6]。邵征洋教授基于以上观点，化裁柴葛解肌汤，自拟流感方，取其祛邪解表，宣肺清热之效，临床疗效颇佳。

表 4 不同治疗方法两组乙型流行性感冒患儿治疗前后血清 IL-6、IFN- γ 及 SOD 水平变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数 (例)	IL-6 (ng/L)		IFN- γ (ng/L)		SOD (ng/L)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	28	1.24 ± 0.17	0.69 ± 0.06 ^a	10.63 ± 1.77	5.56 ± 0.87 ^a	21.72 ± 15.45	37.27 ± 20.76 ^a
对照组	29	1.34 ± 0.23	1.14 ± 0.20 ^a	11.35 ± 2.05	9.08 ± 1.64 ^a	24.96 ± 17.89	29.14 ± 10.93
<i>t</i> 值		2.555	16.052	0.782	12.175	0.022	13.066
<i>P</i> 值		0.116	< 0.001	0.380	0.001	0.882	0.001

注：与本组治疗前比较，^a*P* < 0.01

流感方主要以生葛根、柴胡、黄芩、生石膏、生麻黄、荆芥、防风、薄荷、连翘、羌活、川芎、生姜、大枣、石菖蒲、桔梗、甘草组成,方中柴胡、葛根辛凉透泄,解肌发表为君;加麻黄、荆芥、防风增强辛散之功,薄荷、连翘清扫气分之热,黄芩、石膏清肺胃之热以除烦,羌活、川芎疏风化湿,上行下达,散邪以除痹痛,用为臣,配君药以辛透宣散,解肌发表,清热止痛;石菖蒲性辛散,祛风理气,豁痰开窍,其气芳香,又可除四时不正之气,桔梗、甘草清热解毒,宣肺利咽为佐;生姜、大枣解表和营卫,并可鼓舞脾胃生发之气为使。诸药和用使全方共奏祛邪解表,宣肺清热之效。现代药理学研究认为葛根^[7]、柴胡^[8]等均具有良好的抗炎、抗氧自由基、解热镇痛等作用。王靖等^[9]用益气解表方治疗小儿乙型流感有明显效果。本研究也证实了流感方能有效治疗儿童表寒里热型乙流,并显著改善其临床症状。

现代医学有关乙流发病机制迄今仍未完全阐明,既往多从细胞直接损伤、免疫炎症反应及氧化损伤等角度进行阐述。IFN- γ 是流感病毒在感染人体的过程中导致全身感染症状化的主要因子,IFN- γ 能直接抑制病毒复制,诱导主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC) I 类分子的表达,活化巨噬细胞并刺激巨噬细胞释放氧自由基,直接杀伤靶细胞,参与细胞免疫,但同样也使炎症介质大量释放,使炎症反应加剧^[10],致使患者感染后发病。而且研究表明,IFN- γ 信号和信号转导及转录激活子 1(signal transduction and activator of transcription 1, STAT1)非依赖性 IFN- γ 信号在调节 CD8⁺T 细胞介导的急性肺损伤中具有重要作用^[11]。IL-6 作为促炎因子,通过细胞因子的级联反应,产生以细胞因子分泌失调和过度释放为特征的“细胞因子风暴”^[12];有研究表明,IL-6 能介导 MrD88 依赖的肺组织细胞 Toll 样受体信号转导通路影响 NF- κ B 表达^[13];IL-6 还与肺部损伤密切相关,可以造成机体的免疫病理损伤^[14]。诸多研究均表明,流感发病的严重程度与患者血清中 IL-6、IFN- γ 等因子水平有着密切关系^[15-16]。SOD 是一类广泛存在于线粒体中的抗氧化酶,能清除体内自由基,从而保护细胞组织免受损伤。研究显示,病毒感染时产生的活性氧(reactive oxygen species, ROS)会受到 SOD 的调控,而且病毒感染早期会诱导抗氧化酶 SOD 的自噬降解,从而促进肺泡上皮细胞 ROS 生成和病毒感染^[17]。本研究显示,两组治疗前

IL-6、IFN- γ 均处于较高水平,治疗后 IL-6、IFN- γ 均有下降,且观察组 IL-6、IFN- γ 较对照组下降更明显;观察组治疗后 SOD 水平升高,而对照组未见明显改变,提示流感方治疗流感的可能机制是通过下调 IL-6 及 IFN- γ 等炎性因子的表达抑制免疫损伤,同时通过提升 SOD 水平以减轻细胞氧化损伤来实现的,且该方安全、无不良反应,为临床治疗儿童乙流表寒里热证提供了切实可行的方法。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王芳,孙宇,赵林清,等. 2006 至 2014 年北京单中心儿童乙型流感病毒流行监测[J]. 中国循证儿科杂志, 2015, 10 (4): 255-259. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5501.2015.04.004.
- [2] 国家卫生健康委员会. 流行性感冒诊疗方案(2018 年版修订版)[J]. 传染病信息, 2018, 31 (6): 500-504. DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2018.06.002.
- [3] 国家药品监督管理局. 中药新药治疗流行性感冒临床研究技术指导原则[EB/OL]. (2016-10-11) [2016-09-29]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/qtggtg/20161011172501767.html>.
- [4] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 58-60.
- [5] 杨金亮,刘畅,齐文升. 流行性感冒的中医预防研究[J]. 中医学报, 2018, 33 (9): 1679-1681. DOI: 10.16368/j.issn.1674-8999.2018.09.398.
- [6] 吕小琴,李敏,刘清泉. 流行性感冒不同病原的中医病证研究[J]. 中国中医急症, 2020, 29 (1): 61-64. DOI: 10.3969/j.issn.1004-745X.2020.01.016.
- [7] Yang L, Chen J, Lu H, et al. *Pueraria lobata* for diabetes mellitus: past, present and future [J]. Am J Chin Med, 2019, 47 (7): 1419-1444. DOI: 10.1142/S0192415X19500733.
- [8] 姚玉乔,高映,彭财英,等. 竹叶柴胡化学成分及药理活性的研究进展[J]. 安徽医药, 2019, 23 (10): 1913-1916. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2019.10.002.
- [9] 王靖. 益气解表方治疗小儿乙型流感的疗效观察及预后分析[J]. 中华危重病急救医学, 2020, 32 (11): 1310-1314. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200628-00492.
- [10] 李杨,秦晓松. 甲型 H1N1 流感患者 Th1/Th2 细胞因子水平的观察[J]. 中国医科大学学报, 2012, 41 (8): 753-755. DOI: 10.3969/j.issn.0258-4646.2012.08.024.
- [11] Ramana CV, DeBerge MP, Kumar A, et al. Inflammatory impact of IFN- γ in CD8⁺T cell-mediated lung injury is mediated by both Stat1-dependent and -independent pathways [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2015, 308 (7): L650-657. DOI: 10.1152/ajplung.00360.2014.
- [12] 于卓男,林树鹏,顾立刚,等. 川芎嗪对甲型流感病毒 H1N1 诱导炎症细胞因子分泌作用的研究[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32 (6): 2680-2683.
- [13] 刘琪,王建国,马彦平,等. 疏风宣肺和解表清里方药对流感病毒性肺炎小鼠 Toll 样受体通路影响的研究[J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26 (5): 321-324. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.05.007.
- [14] 田同德,杨峰,唐静雯,等. 清热活血散结复方对放射性肺炎及肺纤维化血清细胞因子 IL-6、TNF- α 、TGF- β 1 水平的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20 (5): 127-130. DOI: 10.11653/syjf.2014050127.
- [15] Davey RT Jr, Lynfield R, Dwyer DE, et al. The association between serum biomarkers and disease outcome in influenza A (H1N1) pdm09 virus infection: results of two international observational cohort studies [J]. PLoS One, 2013, 8 (2): e57121. DOI: 10.1371/journal.pone.0057121.
- [16] Graham MB, Dalton DK, Giltinan D, et al. Response to influenza infection in mice with a targeted disruption in the interferon gamma gene [J]. J Exp Med, 1993, 178 (5): 1725-1732. DOI: 10.1084/jem.178.5.1725.
- [17] Jung KI, Pyo CW, Choi SY. Influenza A virus-induced autophagy contributes to enhancement of virus infectivity by SOD1 downregulation in alveolar epithelial cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 498 (4): 960-966. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.03.089. (收稿日期: 2020-07-09)