

## 慢性阻塞性肺疾病大鼠体内调节性 T 细胞、Th17 细胞的变化

王成阳<sup>1,2</sup>, 刘向国<sup>2</sup>, 彭青和<sup>2</sup>, 王传博<sup>3</sup>, 李 达<sup>4</sup>, 季乔雪<sup>4</sup>, 李泽庚<sup>4</sup>

**摘要** 目的 观察慢性阻塞性肺疾病(COPD)模型大鼠调节性 T 细胞(Treg)、Th17 细胞的变化。方法 将 30 只大鼠随机均分为正常组、模型组。模型组采用烟熏加脂多糖(LPS)气管滴入方法建立 COPD 肺气虚证大鼠模型。模型复制成功第 28 天,采用动物肺功能仪检测大鼠肺功能,酶联免疫吸附法检测大鼠血清白细胞介素(IL)-1 $\beta$ 、IL-10、IL-17、IL-35 水平,免疫组化法检测肺组织 FoxP3、IL-17 表达,流式细胞术检测外周血 Treg 表达。结果 模型组大鼠肺泡腔及肺间质内大量炎性细胞浸润,肺组织结构破坏。与正常组比较,模型组大鼠肺功能参数 0.3 s 用力呼气容积(FEV<sub>0.3</sub>)、用力肺活量(FVC)、FEV<sub>0.3</sub>/FVC 值降低( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ );模型组大鼠血清 IL-1 $\beta$ 、IL-17、肺组织 IL-17 表达升高,血清 IL-10、IL-35、肺组织 FoxP3、外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 表达降低( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ );相关性分析显示,肺功能参数 FEV<sub>0.3</sub>、FEV<sub>0.3</sub>/FVC、最大呼气流量(PEF)分别与 IL-1 $\beta$ 、IL-17 呈负相关,与 IL-35、FoxP3 及 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 呈正相关( $P < 0.05$ )。结论 COPD 存在高炎症反应,CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg、Th17 表达失衡,调节功能降低,导致炎症反应升高。

**关键词** 慢性阻塞性肺病;肺功能;调节性 T 细胞;Th17 细胞;炎症反应

中图分类号 R 563

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)01-0036-05

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是由免疫反应引起的、不完全可逆性气流受限的慢性炎症疾病。其主要病理特征表现为阻塞性细支气管炎,黏液分泌增加以及肺气肿。COPD 的发展与气道炎症密切相关,气道中的炎性细胞包括中性粒细胞、巨噬细胞、T 淋巴细胞等。COPD 是由多种炎性细胞参与的免疫反应慢性炎症<sup>[1]</sup>。调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg)在自身免疫性疾病、慢性感染性疾病等方面均参与免疫

调节的作用。研究<sup>[2-3]</sup>表明, Treg 在 COPD 发病机制中发挥着重要作用。该研究通过观察 COPD 大鼠肺功能变化、外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 表达水平,同时观察 Treg 与 Th17 及炎性细胞因子关系,以探讨 COPD 肺功能降低的机制。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 清洁级雄性 SD 大鼠 30 只,鼠龄 6 月(180 $\pm$ 15)g,由南京医科大学实验动物中心提供。将实验动物均分为正常组和模型组,清洁级标准饲养。

**1.2 主要试剂** 脂多糖(LPS,美国 Sigma 公司,批号 20100109558);红三环牌香烟(滁州卷烟厂,焦油含量 11 mg/支,尼古丁含量 0.8 mg/支);白细胞介素(interleukin, IL)-1 $\beta$ 、IL-10、IL-17、IL-35 检测试剂盒购自美国 R&D 公司(批号:2011041205、2012052011、2012012510、2011100801);FoxP3 兔 IgG 单克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司(批号:sc-165),通用型二抗和 DAB 试剂免疫组化染色试剂盒购自北京中杉金桥生物有限公司(批号:12167A03、12196A10);异硫氰酸荧光素(FITC)标记的 CD4 单抗、红蛋白(PE)标记的 CD25 单抗购自美国 BD 公司(批号:110240、132004)。

**1.3 主要设备** 动物肺功能分析系统由北京贝兰博科技有限公司生产(型号:AniRes2003);形态学图像分析系统购自江苏捷达公司(型号:JD801);生物组织石蜡包埋机购自德国 LEICA 公司(型号:BM-IX);显微镜购自日本 OLYMPUS 公司(型号:BX51);洗板机购自美国 Bio-TEK 公司(型号:ELX50);酶标仪购自美国 Bio-TEK 公司(型号:ELX800);流式细胞仪购自美国 Beckman Coulter 公司(型号:Epics XL)。

**1.4 模型复制** 采用 COPD 改良方法建立动物模型<sup>[4]</sup>:于实验第 1、14 天,采用 6% 水合氯醛麻醉大鼠后,手术暴露气管,注入 LPS(1 mg/ml) 200  $\mu$ l 至气管内;LPS 滴入的次日,将大鼠置于烟室中,用锯末 50 g 加 10 支香烟烟丝混和点燃烟熏,每日烟熏 1 次,每次 30 min,造模周期 28 d。COPD 模型成功标准依据肺功能及组织形态学改变。

2013-08-30 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81072781)

作者单位:<sup>1</sup>湖北中医药大学研究生院,武汉 430065

<sup>2</sup>安徽中医药大学中西医结合临床学院,合肥 230038

<sup>3</sup>安徽医科大学第二附属医院中医科,合肥 230601

<sup>4</sup>安徽中医药大学第一附属医院呼吸科,合肥 230031

作者简介:王成阳,男,主治医师,博士研究生;

李泽庚,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者, E-mail: li6609@126.com

## 1.5 检测指标

**1.5.1 一般情况观察** 每天观察大鼠的活动、反应、精神、皮毛、大便、死亡等情况,同时观察大鼠呼吸系统的改变,如咳嗽、呼吸道分泌物、痰鸣音等体征。

**1.5.2 肺功能检测** 肺功能参数测定 0.3 s 用力呼气容积 (FEV<sub>0.3</sub>)、用力肺活量 (FVC)、FEV<sub>0.3</sub>/FVC、用力呼气峰值流速 (PEF)。操作过程: 10% 水合氯醛 (0.35 ml/100 g) 腹腔注射麻醉,气管切开后行气管插管,将大鼠置于体描箱内,保持头低位,与呼吸机管路相连,行机械通气测肺功能。在测定过程中,采用外加压力的办法,使动物深吸气/深呼气,电脑自动快速而准确地测出以上各项指标。

**1.5.3 肺组织病理形态学观察** 模型建立 28 d 后,取大鼠右肺组织经 10% 甲醛固定 48 h 后,将右肺上叶及肺门组织,进行常规冲洗、脱水、透明、浸蜡、包埋,连续 5 μm 厚切片;再将切片进行常规脱蜡、脱水、HE 染色、中性树胶封片,光镜观察支气管与肺组织形态学变化并摄片。

**1.5.4 测定细胞因子 IL-1β、IL-10、IL-17、IL-35 水平** 采用酶联免疫吸附 (ELISA) 法检测模型建立 28 d 后血清细胞因子水平,严格按照 ELISA 试剂盒说明书操作测定。用包被缓冲液稀释 IL-1β、IL-10、IL-17、IL-35 捕获抗体至最适浓度;每凹孔加入 100 μl 稀释抗体,在室温孵育 2 h;移去包被液,每凹孔用 0.05% 吐温-20 洗涤缓冲液洗 2 次;每凹孔加入 300 μl 封闭液,室温孵育 1 h;倒出残留液,300 μl 洗涤液洗 2 次;每凹孔加入 100 μl 稀释生物素化检测抗体,37 °C 孵育 1 h;倒出洗涤液,重复 3 次;每凹孔加 100 μl 稀释的碱性磷酸酶标记特异性抗体溶液,室温孵育 1 h;移出残余液体,洗涤 3 次;在洗涤液中浸 5 min;倒出液体,每凹孔加入洗涤液洗涤,再倒出洗涤液,重复 5 次;每孔加 200 μl 底物;室温显色 30 min,每凹孔加 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.05 ml,用酶标仪测定 405 ~ 410 nm 波长 IL-1β、IL-10、IL-17、IL-35 的光密度 (optical density, OD) 值。

**1.5.5 FoxP3、IL-17 蛋白的测定** 模型建立 28 d 后,采用链霉抗生物素蛋白-过氧化酶 (SP) 法检测肺组织 FoxP3、IL-17 蛋白表达,参照试剂盒说明书进行操作。FoxP3、IL-17 单克隆抗体 1:200 稀释,每组切片中任选 1 张用 0.01 mol/L PBS 液代替一抗进行染色,为阴性对照。每张切片任选 5 个视野,以细胞胞质、胞核中出现黄色或棕褐色颗粒为阳性反应。免疫组化染色的半定量判定:采用图象分析

软件 (美国 Image-pro plus 专业图像分析软件系统,美国 Media Cybernetics 公司) 进行图像分析,用积分光密度 (IOD) 表示 FoxP3、IL-17 蛋白的表达;IOD = 面积密度 × 平均光密度。IOD 越大,表示蛋白表达高,阳性反应越强。

**1.5.6 外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 检测** 模型建立 28 d 后采用流式细胞术检测大鼠外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg。取大鼠新鲜血液 100 μl,按每 10<sup>6</sup> 个细胞/管分别加入 CD4<sup>-</sup>FITC 0.25 μg、抗-鼠 CD25<sup>-</sup>PE 1.0 μg,避光 20 ~ 30 min;加红细胞裂解液 1 ml,避光 15 ~ 25 min;用 PBS 洗 2 遍,离心弃上清液,流式细胞仪检测 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 表达。

**1.6 统计学处理** 采用 SPSS 17.0 软件进行分析,实验数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,计量资料采用独立样本 *t* 检验,相关性分析采用 Spearman 分析,检验水准为 0.05。

## 2 结果

**2.1 两组大鼠一般情况观察** 正常组大鼠活泼好动,毛发光泽,食量正常,体重逐渐增加;呼吸平稳,呼吸道无分泌物,未闻及痰鸣音。模型组大鼠逐渐出现蜷伏少动,拱背蜷卧,撮毛,食量减少,毛失光泽、发黄、易脱落,大便稀溏,体重较正常组减轻;呼吸急促,呼吸道有分泌物从口鼻流出,偶可闻及咳嗽及气道痰鸣音,随着造模时间的延长,上述症状逐渐加重。

**2.2 两组大鼠肺功能比较** 与正常组比较,模型组大鼠肺功能参数 FEV<sub>0.3</sub>、FVC、FEV<sub>0.3</sub>/FVC 值降低 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ),见表 1、图 1。

表 1 两组大鼠肺功能参数比较 ( $n = 15$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	FEV <sub>0.3</sub> (ml)	FVC(ml)	FEV <sub>0.3</sub> /FVC(%)	PEF(ml/s)
正常	6.45 ± 1.32	7.84 ± 2.21	98.52 ± 24.73	38.73 ± 12.23
模型	4.64 ± 1.06**	6.39 ± 1.56*	76.21 ± 22.81**	22.66 ± 9.84**

与正常组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

**2.3 两组大鼠肺组织的病理形态学观察** 正常组大鼠肺组织结构清晰,未出现明显形态学改变。模型组大鼠肺泡腔及肺间质内大量炎性细胞浸润,以淋巴细胞和中性粒细胞为主,少量巨噬细胞浸润,病变区肺泡结构破坏,肺泡腔消失,呈肺实变,周围区域肺泡变大、变形,部分肺泡腔内有不同程度的出血、水肿。见图 2。

**2.4 两组大鼠血清 IL-1β、IL-10、IL-17、IL-35 的表达** 模型组大鼠血清 IL-1β、IL-17 表达水平较正常

组明显升高,而 IL-10、IL-35 表达降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) ,见表 2。

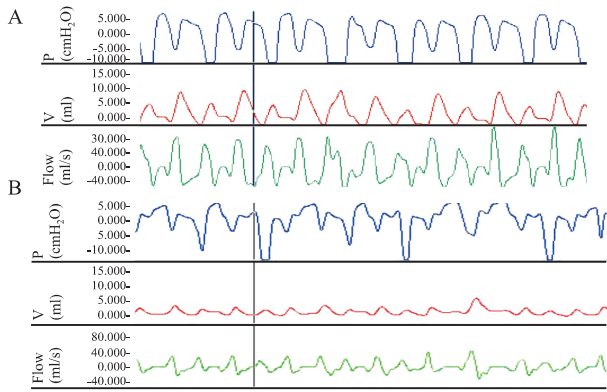


图 1 两组大鼠肺功能检测结果图  
A: 正常组; B: 模型组

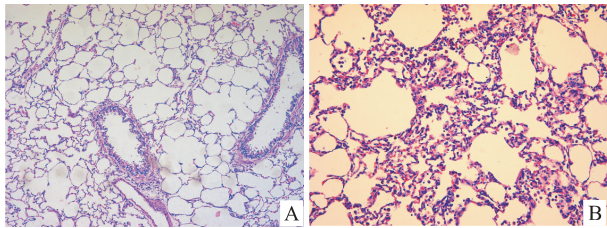


图 2 大鼠肺组织的病理形态学观察 HE × 200  
A: 正常组; B: 模型组

表 2 两组大鼠血清 IL-1 $\beta$ 、IL-10、IL-17、IL-35 比较 (ng/L,  $n = 15$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	IL-1 $\beta$	IL-10	IL-17	IL-35
正常	60.40 ± 12.83	108.20 ± 16.29	44.60 ± 18.42	35.80 ± 14.39
模型	89.30 ± 14.75**	82.70 ± 14.15**	59.40 ± 16.78*	23.20 ± 12.55*

与正常组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

**2.5 两组大鼠肺组织 FoxP3、IL-17 表达及外周血 Treg 的变化** 免疫组化染色显示: FoxP3 主要表达于肺泡上皮细胞、支气管黏膜上皮细胞胞质中,见图 3; IL-17 主要表达于肺泡上皮细胞、支气管黏膜上皮细胞、血管内皮细胞胞质中; 偶在炎性细胞核中表达,见图 4; 与正常组比较,模型组 FoxP3 蛋白表达降低,IL-17 蛋白表达升高( $P < 0.01$ ); 模型组、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 表达较正常组降低( $P < 0.05$ ),见图 5、表 3。

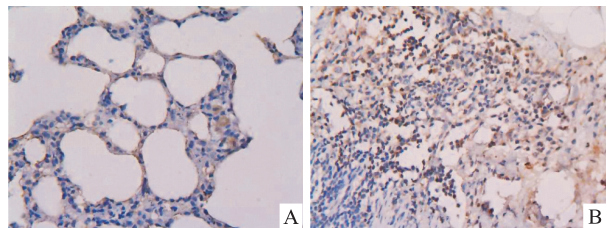


图 3 大鼠肺组织 FoxP3 表达 SP × 200  
A: 正常组; B: 模型组

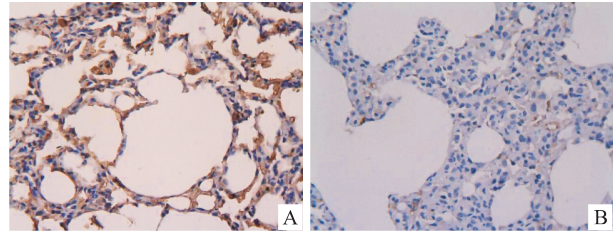


图 4 大鼠肺组织 IL-17 表达 SP × 200  
A: 正常组; B: 模型组

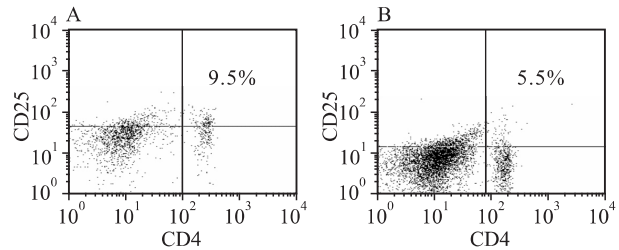


图 5 大鼠外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 表达  
A: 正常组; B: 模型组

表 3 两组 FoxP3、IL-17 及 Treg 比较 ( $n = 15$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	FoxP3	IL-17	CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> Treg(%)
正常	0.57 ± 0.13	0.13 ± 0.05	8.21 ± 2.86
模型	0.18 ± 0.06**	0.32 ± 0.08**	5.77 ± 1.85*

与正常组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

**2.6 大鼠肺功能与其他指标的相关性分析** 相关性分析显示,肺功能参数 FEV<sub>0.3</sub> 与血清 IL-1 $\beta$ 、IL-17 呈负相关,与血清 IL-35、肺组织 FoxP3 及外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 呈正相关( $P < 0.05$ ); FEV<sub>0.3</sub>/FVC 与肺组织 IL-17 呈负相关,与 IL-10 呈正相关( $P < 0.05$ ); PEF 与血清 IL-17 呈负相关,与外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 呈正相关( $P < 0.05$ ),见表 4。

表 4 大鼠肺功能参数其他指标相关性分析( $r$ ,  $n = 30$ )

指标	肺功能参数			
	FEV <sub>0.3</sub> (ml)	FVC(ml)	FEV <sub>0.3</sub> /FVC(%)	PEF(ml/s)
血清 IL-1 $\beta$ (ng/L)	-0.530*	-0.142	-0.355	-0.233
血清 IL-10(ng/L)	0.262	0.215	0.625*	-0.419
血清 IL-17(ng/L)	-0.513*	-0.407	-0.170	-0.673*
血清 IL-35(ng/L)	0.620*	-0.303	-0.267	-0.215
肺组织 FoxP3	0.585*	-0.297	0.206	0.114
肺组织 IL-17	-0.185	-0.165	-0.585*	-0.009
外周血 CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> Treg(%)	0.634*	-0.218	-0.073	0.598*

\*  $P < 0.05$

### 3 讨论

COPD 的炎症反应受 Treg 调节。研究<sup>[5]</sup>显示, Treg 在机体中可以保护避免发生过强的免疫反应。同时, Treg 也可以通过抑制炎性细胞释放,从而减少

炎症对肺组织脏器的损伤。

Treg 通过抑制其他的 T 淋巴细胞的反应抑制炎症反应,其抑制炎症反应是通过 Treg 细胞的分化,而 Treg 细胞的分化依赖抗原、共刺激因子和调节因子共同参与。Treg 细胞捕获抗原是通过细胞接触的方式,还可以通过释放细胞因子或其他细胞(如巨噬细胞、中性粒细胞等),通过释放诱导产生大量的抗炎性细胞因子发挥作用。反之,当机体中 Treg 细胞表达过少后,会对自身功能失去调节功能,不能正常抑制炎症性细胞因子的释放,导致炎症的持续发生。本研究显示,在 COPD 大鼠模型中,当外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞表达降低后,血清中 IL-1 $\beta$  随之升高,而 IL-10 表达降低;同时, COPD 大鼠炎症反应升高,直接表现为肺功能降低。说明 Treg 在 COPD 感染性疾病中起重要作用, Treg 则在 COPD 患者中上调不足,发生了钝化,这与 Barceló et al<sup>[6]</sup> 研究结果相似。

FoxP3 是 Treg 表面具有特异性的标志物, Treg 发挥免疫调节作用和抑制炎症反应与 FoxP3 表达密切相关。有研究<sup>[7]</sup>表明, COPD 中 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 减少时, FoxP3 表达随之减少。本研究也表明,在 COPD 模型大鼠外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 表达减少后,肺组织 FoxP3 蛋白也减少,这与临床研究<sup>[8]</sup>在 COPD 患者中 Treg 细胞数量和 FoxP3 mRNA 均减少报道一致。本研究中 COPD 模型大鼠肺功能降低,说明当肺组织 FoxP3 表达降低后, FoxP3 发挥免疫调节作用减弱,不足以抑制炎症对机体的刺激,从而导致肺组织或小气道的炎症反应增加,最终出现 COPD 模型大鼠肺功能降低,这可能是临床 COPD 患者发生肺气肿的直接原因。

Treg 在 COPD 中发挥抑制炎症反应的作用同样与其他炎症性细胞因子如 Th17 细胞、IL-35 有关。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 释放抗炎性细胞因子如 IL-10 等抑制炎症反应,而炎症因子之间相互作用又影响 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 和 Th17 细胞的产生。Th17 细胞主要产生细胞因子 IL-17 等。IL-17 是促炎因子,参与多种炎症反应。COPD 患者支气管黏膜中 IL-17 表达增加,同时, COPD 中 IL-17 的表达水平与中性粒细胞增多呈直接相关<sup>[9-10]</sup>。本研究显示, COPD 模型大鼠肺功能参数与 IL-17、IL-1 $\beta$  呈负相关,与 IL-10 呈正相关,说明 IL-17 可以促进炎症细胞向肺组织浸润,如可以分泌趋化因子 IL-1 $\beta$  招募中性粒细胞向肺组织积聚,同时抑制 IL-10 表达,导致肺部炎症升高,肺功能降低。研究<sup>[11]</sup>显示,在 COPD 患

者和吸烟者的黏膜下层产生 IL-17 的细胞增多。COPD 患者机体中的 Treg 的免疫调节功能不足以有效的控制炎症,导致机体平衡向 Th17 主导的促炎方向倾斜。研究<sup>[12]</sup>表明 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 还可以产生细胞因子 IL-35,它具有抗炎效应, IL-35 能抑制 Th17 细胞的功能。

综上所述, COPD 肺功能水平降低与 Treg 表达失衡密切相关,而 Treg 发挥免疫和抑制炎症反应是通过其表面标志物 FoxP3 调节实现的,同时与细胞因子 IL-17、IL-35 存在相互协同作用,共同作用参与 COPD 的发病过程。

### 参考文献

- [1] 乔云兰,梅晓冬. 高迁移率族蛋白 B1 在香烟诱导的慢性阻塞性肺疾病模型大鼠肺部的表达 [J]. 安徽医科大学学报, 2012, 47(1): 9-12.
- [2] Hou J, Sun Y, Hao Y, et al. Imbalance between subpopulations of regulatory T cells in COPD [J]. Thorax, 2013, 12(7): 956-68.
- [3] Limón-Camacho L, Solleiro-Villavicencio H, Pupko-Sissa I, et al. Regulatory T cells in chronic obstructive pulmonary disease [J]. Arch Cardiol Mex, 2013, 83(1): 45-54.
- [4] 宋一平, 崔德健, 茅培英. 慢性阻塞性肺病大鼠模型的建立及药物干预的影响 [J]. 军医进修学院学报, 2001, 22(2): 99-101.
- [5] 王坤, 宣秀敏, 王莲, 等. 溃疡性结肠炎大鼠外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 的变化及相关性研究 [J]. 安徽医科大学学报, 2012, 47(3): 354-6.
- [6] Barceló B, Pons J, Ferrer J M, et al. Phenotypic characterisation of T-lymphocytes in COPD: abnormal CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T-lymphocyte response to tobacco smoking [J]. Eur Respir J, 2008, 31(3): 555-62.
- [7] Limón-Camacho L, Solleiro-Villavicencio H, Pupko-Sissa I, et al. Regulatory T cells in chronic obstructive pulmonary disease [J]. Arch Cardiol Mex, 2013, 83(1): 45-54.
- [8] 熊先智, 金阳, 周琼, 等. FoxP3<sup>+</sup> 调节性 T 细胞与慢性阻塞性肺疾病的相关性 [J]. 中华医学杂志, 2008, 88(7): 471-4.
- [9] Wang H, Peng W, Weng Y, et al. Imbalance of Th17/Treg cells in mice with chronic cigarette smoke exposure [J]. Int Immunopharmacol, 2012, 14(4): 504-12.
- [10] 张伟, 谷明明, 孙璐璐, 等. COPD 大鼠肺血管重构与气管重塑的实验研究 [J]. 安徽医科大学学报, 2013, 48(3): 245-8.
- [11] Vargas-Rojas M I, Ramírez-Venegas A, Limón-Camacho L, et al. Increase of Th17 cells in peripheral blood of patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. Respir Med, 2011, 105(11): 1648-54.
- [12] Castellani M L, Anogeianaki A, Felaco P, et al. IL-35, an anti-inflammatory cytokine which expands CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg cells [J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2010, 24(2): 131-5.

(下转第 112 页)

[6] Coppejans H C, Hendrickx E, Goossens J, et al. The sitting versus right lateral position during combined spinal-epidural anes-

thesia for cesarean delivery: block characteristics and severity of hypotension [J]. *Anesth Analg* 2006, 102(1): 243-7.

## Comparison of puncture in different positions with combined spinal and epidural anesthesia in obese parturients for cesarean section

Zhang Qingmei, Xia Xiaoqiong, Zha Xianzhong

(Dept of Anesthesia, The Affiliated Chaohu Hospital of Anhui Medical University, Chaohu 238000)

**Abstract Objective** To observe the influence of combined spinal and epidural anesthesia (CSEA) of different positions on the anesthesia effect, anesthesia operation and hemodynamic index during cesarean section of obese parturients. **Methods** Eighty obese parturients [BMI  $\geq 30$ ] undergoing cesarean section were randomly divided into two groups, that was group A and B, with 40 cases each. In group A, the parturients were required to undergo lateral decubitus position with 0.5% ropivacaine hydrochloride of 2.4 ml. In group B, the parturients were required to undergo sitting position with the same ropivacaine hydrochloride as group A. The following data was recorded, which were the percentage of one-attempt's successful epidural needle placement, the anesthesia level, the anesthesia effect and the hemodynamic change. All the complications were also observed, such as the supine hypotension syndrome during operation, headache after spinal anesthesia and postoperative spinal nerve stimulation. **Results** The difference of anesthetic effect between the two groups was insignificant in statistics while group B's rate of one-attempt successful puncture was higher than group A ( $P < 0.05$ ). The difference of hemodynamic index between them was significant in statistics ( $P < 0.05$ ) with group B's rate of supine hypotension syndrome lower than group A. **Conclusion** Both body positions have the same anesthetic effect for obese parturients during cesarean section while the puncture operation of sitting position is easier than lateral decubitus position and the hemodynamic change is also more stable.

**Key words** combined spinal and epidural anesthesia; sitting position; obese parturients; cesarean section

(上接第 39 页)

## Changes of regulatory T cells, Th17 cells in rats with chronic obstructive pulmonary disease

Wang Chengyang<sup>1,2</sup>, Liu Xiangguo<sup>2</sup>, Peng Qinghe<sup>2</sup>, et al

(<sup>1</sup>School of Graduate, Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430065;

<sup>2</sup>Dept of Pulmonary Disease, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230038)

**Abstract Objective** To observe the change of regulatory T cells (Treg) and Th17 cells in rat model of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Methods** 30 rats were randomly divided into normal group, and model group. In addition to the normal group, the remaining rats were smoked plus lipopolysaccharide (LPS) tracheal instillation method to establish COPD lung deficiency rat model. 28 days after the model copied, pulmonary function was tested using animals seized spirometer, interleukin (IL)  $-1\beta$ , IL-10, IL-17, IL-35 in serum were detected by enzyme-linked immunosorbent assay, FoxP3, IL-17 was detected in lung tissue by immunohistochemistry staining. Treg of peripheral was detected by flow cytometry. **Results** A large number of inflammatory cell infiltration and pulmonary alveolar interstitial intrinsic in rat model group. Compared with normal group, lung function parameters such as FEV<sub>0.3</sub>, FVC, FEV<sub>0.3</sub>/FVC were decreased in model group ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ); IL-1 $\beta$ , IL-17 were increased, expression of IL-17 in serum, IL-10, IL-35, FoxP3, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg were reduced ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ). Correlation analysis showed that lung function parameters FEV<sub>0.3</sub>, FEV<sub>0.3</sub>/FVC, PEF, and IL-1 $\beta$ , IL-17 were negative correlation respectively, IL-35, FoxP3 and CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg were positive correlation ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** There is high inflammatory response in COPD. The high inflammatory response is caused by the imbalanced expression of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg and Th17, which leads to increase in inflammatory response.

**Key words** chronic obstructive pulmonary disease; lung function; regulatory T cells; Th17 cells; inflammatory response