

· 临床论著 ·

哮喘患者淋巴细胞 β 受体功能测定 和对温阳片疗效的评价

上海医科大学中西医结合研究所脏象研究室

胡国让 沈自尹 许得盛 陈伟华 张玲娟 陈素珍 吴波水

内容提要 本文报告以异丙基肾上腺素负荷下淋巴细胞内 cAMP 水平变化反映 β 受体功能的方法, 观察到哮喘患者病程越长, 病情越重, 用药量越大, β 受体功能越低。在温阳片获效的同时, 伴有 β 受体功能改善。若单纯测定血浆或淋巴细胞内 cAMP 水平则对哮喘疗效观察并无重要意义。温阳片使 β 受体功能改善除与病情好转, 用药量减少有关外, 还可能与其调节内分泌和免疫功能的作用有关。

本文以异丙基肾上腺素负荷下测定淋巴细胞内 cAMP 水平变化的实验方法, 反映哮喘患者的 β 受体功能, 取得了较为满意的结果, 并以此法验证了温阳片预防支气管哮喘的疗效。现将结果报告如下。

材料与方法

一、临床资料: 哮喘患者均符合下列条件: (1) 年龄在 16 周岁以上, (2) 最近连续三年均有哮喘秋季发作史, (3) 无合并慢性肺部感染、肺心病、妊娠期及长期服用肾上腺皮质激素等情况。

作 β 受体功能观察的哮喘患者治疗组采用温阳片治疗(本室自拟方, 上海中药一厂加工), 每日三次, 每次 5 片。每年 8 月初开始服药至 10 月底止。对照组服用安慰剂。发作季节中根据患者用药习惯, 采用氨茶碱、氯喘片、舒喘灵气雾剂等作对症治疗, 作 β 受体功能测定时不停药。

1981 和 1982 年曾对哮喘患者作血浆和淋巴细胞内 cAMP 测定, 本文根据当年未经治疗的对照组病例的测定结果, 以探讨哮喘患者 cAMP 变化的一些规律。

健康人对照组为本院医务工作者, 均无哮喘、湿疹等过敏性疾患。

二、检测方法

1. 外周血淋巴细胞 β 受体功能测定: 取肝素抗凝血 5ml, 用比重为 1.078 的淋巴细胞分离液(上海试剂二厂)离心分离淋巴细胞, Hanks 液洗涤 2 次, 用不加血清的 RPMI1640 培养液重悬细胞至 2×10^6 细胞/ml, 分装每管 0.5ml, 并每管加维生素 C $5\mu\text{l}$ (使浓度为每毫升细胞悬液含维生素 C 1mg), 氨茶碱 $100\mu\text{l}$ (使浓度为每毫升细胞悬液含氨茶碱 $2\mu\text{M}$)。然后基值管加生理盐水 $50\mu\text{l}$, 反应管加异丙基肾上腺素 $50\mu\text{l}$, $10\mu\text{M}$ 或 $50\mu\text{l}$, $100\mu\text{M}$ 。轻轻摇匀, 37°C 水浴中孵育 15 分钟, 离心倾去上清液, 每管加 pH4.75, 0.05M 的醋酸缓冲液 0.5ml, 重悬细胞, 立即用酒精干冰及沸浴冻融 3 次, 以裂解细胞, -20°C 保存待测。RIA 法测定 cAMP 含量(试剂盒由上海第二医科大学同位素室提供)。为减少批间误差, 7 月份和 10 月份采集制备的标本均一次测定。 β 受体功能用异丙基肾上腺素刺激后细胞内 cAMP 上升百分率表示, 即:

$$\text{刺激后细胞内 cAMP 上升百分率} = \frac{\text{反应管 cAMP 值} - \text{基值管 cAMP 值}}{\text{基值管 cAMP 值}} \times 100\%$$

2. 淋巴细胞及 T 淋巴细胞内 cAMP 含量测定: 取肝素抗凝血, 分离淋巴细胞后(方法同上), 加 pH4.75, 0.05M 的醋酸缓冲液, 调节细胞至 2×10^6 细胞/ml, 摇匀, 立即置酒精干冰及沸水中冻融 3 次, -20°C 保存待测。部分标本在分离得淋巴细胞后进一步采用尼龙毛法分离 T 淋巴细胞, 然后按上法调节细胞密度及冻融, -20°C 保存待测。

3. 血浆 cAMP 含量测定: 采用 RIA 法, 药盒同上。

结 果

一、淋巴细胞 β 受体功能测定

1. 健康人外周血淋巴细胞对异丙基肾上腺素的剂量反应: 为选择异丙基肾上腺素的最适剂量, 设定每毫升细胞含异丙基肾上腺素为 0, 0.01, 0.1, 1, 10, 100, 180 μM 七种浓度, 选择健康成人, 分三批测定, 每批 3~5 例, 取三批的平均值作比较, 结果异丙基肾上腺素各种剂量的刺激值分别为 3.02 ± 0.33 ($M \pm SE$, 下同), 3.64 ± 0.80 , 2.88 ± 0.07 , 7.08 ± 0.36 , 8.89 ± 1.69 , 12.71 ± 2.52 , 11.30 ± 6.18 。峰值剂量在 100 μM 浓度。当刺激剂量上升至 180 μM 时, 刺激值的均值开始下降, 离散度增大, 主要原因是部份刺激值已明显降低所致。故本文选择 100 μM 为异丙基肾上腺素的最适剂量, 10 μM 为亚适剂量。这一剂量反应的总趋势和最适剂量均与文献报告相一致^(1,2)。

2. 哮喘患者淋巴细胞的 β 受体功能

(1) 哮喘患者与健康成人 β 受体功能的比较: 1983 年, 我们开始建立实验方法, 在哮喘患者和健康人之间作了比较。次年又作了重复。从表 1 可以看出, 哮喘患者淋巴细胞的异丙基肾上腺素刺激上升值明显低于健康成人, 用上升百分率比较, 差异极为显著 ($P < 0.001$)。表明哮喘患者 β 受体功能明显低于健康成人。不仅如此, 哮喘患者淋巴细胞对异丙基肾上腺素剂量变化的反应也较小, 表现在异丙基肾上腺素的刺激值在 10 μM 和 100 μM 时虽然上升趋势与健康成人相同, 但上升幅度较小。

表 1 哮喘患者与健康成人 β 受体功能比较 ($M \pm SE$)

组别	例数	细胞内 cAMP* 基值	异丙基 10 μM 反应值	上升百分率**	异丙基 100 μM 反应值	上升百分率
健康成人	25	1.62 ± 0.24	8.35 ± 1.33	324 ± 35	9.28 ± 1.88	354 ± 37
哮喘患者	33	3.52 ± 0.43	5.14 ± 0.87	147 ± 15	5.74 ± 0.67	193 ± 19
P		NS	< 0.05	< 0.001	< 0.05	< 0.001

* cAMP 单位为 $\text{pmol}/10^6$ 细胞 (下同)

** 上升百分率为每个受试者上升百分率的均值

(2) 哮喘患者 β 受体功能与病情、病程和用药的关系: 根据我们沿用多年的哮喘临床观察标准⁽³⁾ 将病情分为轻症和重症两大类, 轻症

指发作较轻, 口服药可以控制; 重症者指发作较重, 需静脉给药或急诊处理者。本组 38 例患者中, 轻症 17 例, 异丙基肾上腺素 10 μM 刺激后 cAMP 上升百分率为 181%, 重症 21 例, cAMP 上升百分率为 119%, $P < 0.05$, 显示病情重者 β 受体功能明显低于病情轻者。

按哮喘病程 10 年为一段, 将哮喘患者分为三组: 病程少于 10 年者 7 例, cAMP 上升百分率为 232%; 11~20 年者 8 例, 上升百分率为 151%; 20 年以上者 23 例, 上升百分率仅为 119%。结果表明, 病程越长, β 受体功能越低。

进一步将患者按用药量大、中、小分为三组: 基本不用喷雾剂, 氨茶碱 < 50 片/发作季节 (三个月) 为用药量小; 喷雾剂 < 2 瓶, 氨茶碱 < 200 片为用药量中等; 喷雾剂 > 2 瓶, 氨茶碱 > 200 片为用药量大。用药量小者 7 例, 上升百分率为 233%, 用药量中等者 17 例, 上升百分率 140%, 用药量大者 14 例, 上升百分率为 113%。用药量越大, β 受体功能越低。

综合上述结果, 哮喘患者 β 受体功能较健康成人低, 而且与病情、病程和用药量有关。病情越重, 病程越长, 用药量越大, β 受体功能越低。

3. 温阳片对哮喘患者 β 受体功能的影响

(1) 温阳片的临床疗效: 1984 年观察 87 例, 其中温阳片组 58 例, 对照组 29 例。临床疗效分为极显著进步、显著进步、好转、无效四个等级⁽³⁾。温阳片组有效以上者 54 例, 占 93.1%, 显著进步以上者 38 例, 占 65.5%, 而对照组有效以上者 11 例, 占 37.9%, 显效以上者仅 3 例, 占 10.3%。两组作卡方检验, 有极显著差异, $P < 0.005$ 。这一疗效完全能重复以往观察结果⁽³⁾。

(2) 温阳片对哮喘患者 β 受体功能的影响: 本组 87 例中, 治疗前后实验室资料完整者共 79 例, 其中温阳片 52 例, 对照组 27 例。治疗前后 β 受体功能比较见表 2。

作为对比, 本组同时测定健康成人 β 受体功能 22 例, 淋巴细胞内 cAMP 基值为 $5.59 \pm$

0.56pmol/10⁶细胞, 异丙基肾上腺素刺激后上升为 9.26 ± 1.01 pmol/10⁶细胞, 上升百分率为 188%。明显高于哮喘患者 ($P < 0.01$)。能够重复出前一年的结果。有意义的是若单纯比较 cAMP 水平, 无论血浆还是淋巴细胞内, 均与健康成人组之间无明显差异, 而以上升百分率比较, 则哮喘患者明显低于健康成人组。提示只要在异丙基肾上腺素负荷下, 即可显示出哮喘患者与健康成人之间的差异。在秋季哮喘发作期间(10月份), 对照组 β 受体功能较发作前(7月份)进一步降低 ($P < 0.05$), 而温阳片组的 β 受体功能则维持在发作前(7月份)的水平。而且治疗前两组的 β 受体功能接近, 治疗后(10月份)则对照组明显低于温阳片组 ($P < 0.01$)。说明温阳片可使哮喘患者免于因哮喘发作和用药等因素造成 β 受体功能下降。

表2 温阳片对哮喘患者 β 受体功能的影响 ($M \pm SE$)

组别	例数	治 疗 前			治 疗 后		
		cAMP		上升百分率	cAMP		上升百分率
		基 值	反应值		基 值	反应值	
温阳片组	53	5.22 ± 0.50	6.51 ± 0.62	136.1 ± 9.7	5.31 ± 0.61	6.36 ± 0.63	141.9 $\pm 9.4^*$
对照组	27	6.78 ± 0.30	8.29 ± 0.38	122.9 ± 6.1	4.05 ± 0.42	4.34 ± 0.50	104.9 $\pm 6.5^{**}$

* 与对照组比, $P < 0.01$; ** 与治疗前比, $P < 0.05$

二、血浆及淋巴细胞内 cAMP 测定: 我们曾于 1981, 1982 和 1984 年分别测定过哮喘患者的血浆、淋巴细胞及 T 淋巴细胞内 cAMP 水平, 结果都不满意。说明单以 cAMP 水平测定对哮喘患者并无重要意义。

讨 论

支气管哮喘是以呼吸道症状为主的变态反应疾病, 但其病理生理变化则不止是呼吸系统, 除影响免疫系统外, 还涉及神经内分泌系统等, 肾上腺素能活动就是其中一个重要环节。 β 受体功能降低较早受到重视。临床六十年代以来就已经注意到长期应用 β 受体兴奋剂使急性哮喘患者死亡率增高。临床研究发现哮喘患

者有多方面的肾上腺素能低下表现, 例如用肾上腺素能制剂刺激后, 血糖上升幅度较健康成人小, 嗜酸细胞减少反应较正常为低, 以及尿中 cAMP 排泄量较正常增加量减少^[6]等。哮喘患者 β 受体功能低下的原因一直是有争论的, 是哮喘本身的原因还是长期应用 β 受体兴奋剂所致? Goldberg^[6](1980) 的分析较为全面, 他认为哮喘患者 β 肾上腺素能受体敏感性下降的原因有三个方面: (1) 哮喘本身的原因; (2) 哮喘发作造成内源性儿茶酚胺增高; (3) 过量应用 β 受体兴奋剂。本文结果支持这一论点。我们看到哮喘患者 β 受体功能与病程、病情和肾上腺素能药物的用药量均有关, 而病程、病情和用药量又都与过量外源或内源性儿茶酚胺有关。不论外源性还是内源性儿茶酚胺增高, 都可造成 β 肾上腺素能受体耐受而致功能低下。这种功能低下既是哮喘发作的结果, 又成为哮喘反复发作的病因。因此, β 受体功能低下是哮喘发病过程中的一个重要病理生理环节。

机体的许多组织细胞表面都有肾上腺素能受体, 淋巴细胞表面也有 β 肾上腺素受体^[7]。用 β 肾上腺素能兴奋剂可使淋巴细胞内 cAMP 水平增高, 根据增高幅度, 可以反映肾上腺素能受体的功能^[1,2]。我们采用此法首先根据健康成人对异丙基肾上腺素的剂量反应确定刺激的最适和亚适剂量, 然后以这两个剂量测定哮喘患者的 β 受体功能, 两年中测定两批哮喘患者, 取得一致结果。哮喘患者呈低反应, 但未作更大剂量的刺激, 因而不能排除峰值后移的“延迟反应”型表现。这种低反应性与哮喘的病程、病情和用药有关, 说明用这种方法能够反映出哮喘患者的发病程度, 是哮喘疗效验证的一项较为敏感的指标。若单纯测定血浆或淋巴细胞内 cAMP 水平, 则不易得到满意的结果。这是由于 cAMP 作为“第二信使”, 是一种非特异性介质, 许多因素都可引起细胞内 cAMP 变化, 因而单凭 cAMP 水平变化, 不能确认是哪一种原因引起, 没有特异性。只有当已知某种受体特异性的制剂(例如异丙基肾上腺素是 β 受

体兴奋剂) 负荷下, 使细胞内cAMP发生变化, 这种变化对 β 受体就具有特异性。

温阳片预防支气管哮喘发作的治愈原理, 我们已先后报告过内分泌和免疫两方面的结果^(8,9)。温阳片(温补肾阳法)可提高哮喘患者降低的垂体—肾上腺皮质系统功能, 减轻哮喘患者对肾上腺皮质激素的依赖; 可提高哮喘患者的抑制性T细胞功能, 抑制血清IgE的季节性升高。从这些作用推测, 温阳片可能通过下丘脑而对神经—内分泌—免疫网发挥了多环节的调节作用, 提高机体的免疫自稳能力, 从而达到预防哮喘发作的目的。

温阳片是否能改善 β 受体功能? 固然, 我们还不能确定是用药减少还是其他环节的作用, 但 β 受体功能改善则是疗效的佐证。就治愈机制而言, 除病情减轻、用药减少等因素外, 还有其他途径可使哮喘患者的 β 受体功能改善, 例如: 文献报告⁽¹⁰⁾将氢化可的松加入淋巴细胞悬液中, 可加强异丙基肾上腺素增加细胞内cAMP的作用。在氢化可的松存在时, 哮喘患者淋巴细胞内cAMP显示正常范围内的反应。提示肾上腺皮质激素与 β 受体功能有密切关系, 改善肾上腺皮质功能, 也可改善 β 受体功能。综合温阳片对内分泌系统和免疫系统的作用, 推论温阳片可能通过整体调节作用而对 β 受体

发挥保护或改善功能的作用。

参 考 文 献

1. Conolly ME, et al. The lymphocyte β -adrenoceptor in normal subjects and patients with bronchial asthma. *J Clin Invest* 1976; 58:1307.
2. Gillespie E, et al. Cyclic AMP metabolism in asthma. Studies with leukocytes and lymphocytes. *Allergy Clin Immunol* 1974; 53(1): 27.
3. 胡国让, 等。血清IgE检测在评价补肾法防治支气管哮喘疗效中的应用。中医杂志1982; 5:23.
4. Parker CW, et al. Alteration in cyclic adenosine monophosphate metabolism in human bronchial asthma. *J Clin Invest* 1973; 52: 48.
5. Bernstein RA, et al. Decreased urinary cyclic 3',5'-adenosine monophosphate (cAMP) after epinephrine in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol* 1972; 49: 86.
6. Goldberg ND. Cyclic nucleotides, receptors and asthma. *Advances in Cyclic Nucleotide Research* 1980; 12: 147.
7. Verhaegen H, et al. Histamine receptor-bearing peripheral T lymphocytes in patients with allergies. *J Allergy Clin Immunol* 1978; 59(3):266.
8. 沈自尹, 等。支气管哮喘采用补肾法防治及其内分泌和免疫方面的观察。中医杂志1981; 5: 21.
9. 沈自尹, 等。温阳片预防支气管哮喘季节性发作及其原理研究。中西医结合杂志1986; 6(1):17.
10. Lee TP, et al. Effect of Beta-adrenergic agonist, prostaglandins and cortisol on lymphocyte levels of cyclic adenosine monophosphate and glycogen. *J Allergy Clin Immunol* 1977; 59: 409.

中西医结合治疗包皮阴茎头炎30例

陕西省绥德县医院外科 霍兴隆

包皮阴茎头炎是一常见病, 发病后, 局部水肿炎症, 甚至溃烂, 过去单用抗生素治疗, 效果不佳。我们采用中西医结合治疗30例, 效果满意, 现报告如下。

一般资料 30例年龄最小14岁, 最大60岁, 包皮过长22例, 包茎8例; 多数包皮内外板缘水肿严重, 有溃烂, 其中1例嵌顿包茎, 包皮内外板缘坏死化脓; 8例反复发病2~4次; 病程最短3天, 最长18天; 多数已采用抗生素治疗, 但无明显好转。

治疗方法 (1)内服中药汤剂: 银花30g 蒲公英30g 野菊花15g 黄柏12g 茯苓12g 每日一剂, 水煎, 分两次服。(2)外洗: 上药第三煎, 约500ml, 温热适度, 浸泡包皮阴茎头肿胀部分约15分钟, 每日

2~3次。(3)感染较重化脓者: 卡那霉素肌注, 每次0.5g, 每日两次, 口服复方新诺明, 每次两片, 每日两次。本组6例用抗生素治疗。(4)用一纱布带将阴茎头部悬起, 系于腰部, 以免下垂。

治疗结果 30例均治愈, 治疗时间最短3天, 最长9天(该例系嵌顿包茎, 包皮内外板缘坏死化脓), 多数治疗时间为3~5天。

体会 包皮阴茎头炎为一常见病, 多数因包皮过长或包茎发病。过去用大量抗生素, 患处高锰酸钾液泡洗, 治疗时间既长, 效果又不佳。我们采用中西医结合治疗, 用五味消毒饮加减方, 内服外洗, 效果显著。

Abstracts of Original Articles

β -Adrenergic Receptor Function Assay and Its Valuation on Prevention Effects of Wen Yang Pill (温阳片) in Asthmatics

Hu Guorang (胡国让), et al

*Research Laboratory of Visceral Manifestation, Institute of Integrated Traditional
and Western Medicine, Shanghai Medical University, Shanghai*

It was reported here that the human peripheral blood lymphocytes stimulated with isoprenaline in vitro could be a model to indicate the β -adrenergic receptor function of asthmatics depending on the varieties of intracellular cAMP level, which correlated with the degree of attacks, the duration of courses and the amount of dosages in asthmatics. The use of this method has revealed that the β -adrenergic receptor function of controls with the stimulating rates of intracellular cAMP was from $122.9 \pm 6.1\%$ ($M \pm SE$) to $104.9 \pm 6.5\%$ ($P < 0.05$) pre- and post-treatment in the attack season, whereas those of Wen Yang Pill (WYP) group was from $136.1 \pm 9.7\%$ to $141.9 \pm 9.4\%$ before and after treatment, the latter being significantly higher than the controls ($P < 0.01$). The results indicated that WYP could protect or promote the β -adrenergic receptor function, so that it could prevent the seasonal attack of asthma. Combined with the results of the endocrinological and immunological study in asthmatics, we suggested that WYP possibly affected the nervous-endocrine-immune net via hypothalamus to adjust the β -adrenergic receptor function.

(Original article on page 71)

An Exploration of Microcosmic Syndrome Differentiation of Blood Stasis during Acute Attack of Cor Pulmonale

Chen Zhiying (陈治英), Cui Shurong (崔淑荣), Cao Shuyuan* (曹素元), et al

*Dept. of Int. Med., 2nd Affiliated Hospital, and*Section of mathematics Teaching,
Guiyang College of TCM, Guiyang*

To differentiate blood stasis syndrome microcosmically in cor pulmonale during acute attack, 9 indices in hemorheology were evaluated in 109 patients with stasis and 80 normal adults. Results from the experiment in 65 typical stasis patients and 20 randomly picked normals were fed into a microcomputer for multiple-factor-discrimination analysis. By careful screening, 3 of the 9 indices were proved valuable in detection of blood stasis: [they were blood specific viscosity (η_b), concentration of fibrinogen in plasma (Fib) and RBC electrophoretic] mobility (EPM), on the basis of which an discriminative function (f) was found [$f = 0.00333 (\eta_b - 5.173) + 0.0000355 (\text{Fib} - 377) - 0.0244 (0.5 \text{ EPM} - 0.682)$]. The function, in its turn, enabled the researchers to evaluate the critical value in discriminating blood stasis: a value of (f) superior over or inferior to -0.003335 would suggest presence or absence of stasis respectively. A test to certify the correctness of the function and the critical value in 109 patients with blood stasis and a control group of 20 normal adults revealed that 87 of the 109 patients were confirmed positively, giving a conforming rate 79.8%, whereas not a single case in the control group was erroneously diagnosed as blood stasis syndrome. The efficiency rate in diagnosis was 83%. Observation of the mobile values of (f) prior and post to a subsequent treatment in 20 randomly selected patients with blood stasis in cor pulmonale showed that the value of (f) descended with improvement of clinical symptoms after a therapy of promoting the blood circulation and relieving the stasis. All these led to a conclusion that the established function (f) and the critical value found in the experiment were of significance in microcosmic syndrome differentiation of blood stasis in cor pulmonale not only qualitatively but, to some extent, quantitatively as well.

(Original article on page 75)