

温阳片对哮喘患者组胺释放、IgE 作用的同步观察

上海医科大学中西医结合研究所脏象研究室 许得盛 沈自尹 胡国让 陈伟华

上海静安区康定地段医院 涂 灏 黄淑玲

内容提要 本文报告以组胺释放率、血清总 IgE、尘螨特异性 IgE 及皮肤挑刺试验等为指标,进一步探究温阳片预防支气管哮喘发作的机理。在温阳片获效的同时,哮喘患者血清总 IgE 和尘螨特异性 IgE 的季节性升高受到明显抑制;组胺释放率明显下降;尘螨皮肤挑刺试验也呈好转趋势,表明温阳片可能通过抑制总 IgE 和特异性 IgE 的季节性升高,从而减少组胺等过敏介质的释放,以至减轻或中止哮喘的季节性发作。

在支气管哮喘的发病机理中,组胺等过敏介质的释放是 IgE 免疫应答之后的又一重要环节。本文进一步以同步观察组胺释放率、血清总 IgE、尘螨特异性 IgE 及尘螨皮肤挑刺试验等指标,考核温阳片疗效并探讨预防哮喘发作的原理。现将结果报告如下。

资料和方法

一、病例与分组:102 例支气管哮喘患者均符合下列条件:(1)16 岁以上。(2)最近连续 3 年均有秋季发作史。(3)无合并慢性肺部感染、严重肺气肿、肺心病、肝肾疾病、妊娠期、易地者,无长期用肾上腺皮质激素或同时接受其它特殊治疗者。(4)无湿疹、血吸虫病等影响血清 IgE 水平的疾病。102 例分为温阳片组 77 例,男 52 例,女 25 例,平均年龄 33.4 岁,平均病程 22 年;对照片组 25 例,男 19 例,女 6 例,平均年龄 32 岁,平均病程 21.4 年。发作程度两组均以重型居多,温阳片组为 70.1%,对照片组为 68%。

健康人对照组:均为本院健康职工,共 22 名,男 13 名,女 9 名,平均年龄 31 岁。

温阳片组从 7 月底至 10 月底服用温阳片。其主要成分为附子、生地、熟地、仙灵脾、补骨脂、菟丝子等。由上海中药一厂加工。每次 5 片,一日三次。对照片组同时服用外观与温阳片相

同的空白片。疗效考核方法及标准同前文⁽¹⁾。

二、实验室检测:治疗前后分别采血作下列检测。

1. 组胺释放试验:采用微量组胺荧光测定法。静脉采血 2 ml (采血前二天禁用可能影响组胺测定和皮试结果的药物),置肝素抗凝硅化试管中。血标本加样参照殷凯生等方法⁽²⁾,其中过敏原为粉尘螨提取液,由上海医科大学寄生虫教研室提供,蛋白质含量 1 mg/ml,用 Tris-ACM 缓冲液稀释成 1:1000,于 4℃ 保存;组胺标准液由上海生化制剂厂生产,按碱基计算以 0.1N HCl 稀释成 10 μg/ml, -20℃ 保存;50%三氯乙酸;0.1%邻苯二甲醛系瑞士 Fluka 出品,经石油醚纯化,再用甲醇稀释。组胺提取和缩合参照向军俭等方法⁽³⁾。组胺测定用日立 560 型荧光分光光度计,在发射波长 360nm,荧光波长 450nm 处测定。组胺释放率 (%)

$$= \frac{T_{\text{测}} - T_{\text{对照}}}{T_{\text{总}} - T_{\text{对照}}} \times 100\%$$
, T 为荧光读数。

按 $\frac{\text{组胺内标准荧光值} \times 4}{\text{组胺外标准荧光值} \times 3}$ × 100% 公式⁽²⁾ 计算

回收率,平均回收率为 87.8% (CV=10.3%),表明本实验系统较灵敏、可靠。实验结果按正常人平均组胺释放率加 2 SD 为上限,即 ≥ 9% 者为阳性。本组 102 例哮喘患者中,根据病史和尘螨皮试阳性为条件,判为尘螨过敏者 81 例,其中 69 例组胺释放试验阳性,诊断符合率为

85.2%。

2. 血清总 IgE、特异性 IgE 测定：均采用酶标法。粉尘螨提取液由上海医科大学寄生虫教研室提供，酶标羊抗人 IgE 抗体和包被抗体由中国医学科学院基础医学研究所免疫室提供。血清总 IgE 结果采用秩和检验法统计。尘螨特异性 IgE 浓度以 OD 值计算，经方差齐性检验后 ($F=1.32$, $P>0.05$)，故用 t 检验法统计。

3. 皮肤挑刺试验：用 1:100 (W/V) 粉尘螨提取液 (上海医科大学寄生虫教研室提供)，结果判定标准参照参考文献⁽⁴⁾。

结 果

一、临床疗效：温阳片组 77 例，总有效者 69 例，总有效率 89.6%；显效 (显著进步以上) 者 41 例，占 53.2%。对照片组 25 例，总有效者 5 例，总有效率 20%；显效者 1 例，显效率 4%。两组相比差异有极显著性意义 ($P<0.005$)。

二、组胺释放试验：健康人组平均组胺释放率为 2.4%，哮喘患者治疗前组胺释放率为 15.4%，明显高于健康人 ($t=5.423$, $P<0.001$)。哮喘患者中对照片组治疗前平均组胺释放率为 14.9%，温阳片组为 15.7%。治疗后温阳片组平均组胺释放率为 8.4%，与治疗前相比明显降低 ($t=7.70$, $P<0.001$)；对照片组平均组胺释放率为 15.5%，较治疗前略高。治疗后两组组胺释放率相比，温阳片组明显低于对照片组 ($t=4.052$, $P<0.005$)，表明哮喘患者的组胺释放率较正常人明显增高，经温阳片治疗后则显著下降。

三、血清总 IgE、尘螨特异性 IgE 检测结果：见附表。

附表显示哮喘患者的血清总 IgE 有季节性升高趋势，而温阳片组的这种升高趋势受到明显抑制。同时表明两组特异性 IgE 的变化趋势与总 IgE 相似。

四、尘螨皮肤挑刺试验：22 名健康人尘螨皮肤挑刺试验无 1 例阳性。而 102 例哮喘患者治疗前 81 例阳性，对照片组和温阳片组皮试结

附表 两组哮喘患者治疗前后总 IgE、特异性 IgE 的比较

		总 IgE* (IU/ml)	特异性 IgE** (OD 值)
温阳片组 n=77	治 前	420.7 (168.5~1051)	0.36±0.23
	治 后	395.0 (154.2~911.8)	0.33±0.24
对照片组 n=25	治 前	405.9 (140.1~1176)	0.36±0.22
	治 后	550.5 (182.1~1665)	0.40±0.23
P 值		<0.005	<0.005

*均数为几何均值，统计时经反对数转换，秩和法检验差别的显著性。**治疗前后差别用配对资料 t 检验法比较

果相似。治疗后对照片组较治疗前几乎无变化，而温阳片组中皮试阴性和轻度阳性 (+) 的例数分别从 16 例和 6 例增加到 19 例和 11 例，皮试阳性 (++) 的不变，皮试重度阳性 (+++) 和 (++++) 的则分别从治疗前的 23 例和 3 例减少到 18 例和 0 例。可见，经温阳片治疗，哮喘患者的皮肤挑刺试验也呈好转趋势。但皮试结果经 χ^2 检验，无显著差别，表明皮试尚不能灵敏地反映治疗前后的变化。

五、各检测指标间的相互关系

1. 组胺释放与血清 IgE：将特异性 IgE 按健康人均值加 2 SD 以下为 (-) 组，以上为 (+) 组；加 3 SD 为 (++) 组；加 4 SD 为 (+++) 组；加 5 SD 为 (++++) 组。各组间的特异性 IgE 与组胺释放率成明显相关 ($n'=3$, $r=0.848$, $P<0.05$)。表明特异性 IgE 越高，组胺释放率也越高，这一结果与 Tonizaki 等的报告相吻合⁽⁵⁾。进一步将温阳片组中特异性 IgE (+) 以上患者治疗前后特异性 IgE 变化差数与组胺释放率变化差数作相关分析 ($n'=45$, $r=0.2902$, $P<0.05$)，表明两指标具相同的变化趋势，能与温阳片疗效相应。

2. 血清总 IgE 与特异性 IgE 关系：治疗前 102 例患者的总 IgE 与特异性 IgE 成明显相关 ($n'=100$, $r=0.6526$, $P<0.001$)。治疗后温

阳片组的总 IgE 和特异性 IgE 均下降, 而对照片组的两者均上升, 相关性检验 (P 均 < 0.001), 显示总 IgE 与特异性 IgE 之间具有明显相关性。

3. 皮肤挑刺试验与其它指标: 皮肤挑刺试验与组胺释放, 特异性 IgE 和总 IgE 的符合率分别为 85.2%、78.8% 和 65%, 显示组胺释放较能反映机体的过敏状态。

讨 论

IgE 一直被认为是介导 I 型变态反应的主要反应素, 据统计约 60% 的哮喘患者 IgE 水平显著升高。然引起哮喘发作的变态反应, 更直接取决于致敏的 (表面结合有特异性 IgE 的) 嗜碱细胞和肥大细胞, 在相应过敏原刺激下释放介质的反应性^[6]。这些释放的介质与哮喘发作程度密切相关^[7], 因而组胺释放试验也就可作为判定疗效的一项有价值的指标, 并用于哮喘发病机制研究^[8]。IgE 反应和介质释放同属哮喘发病中的两个重要环节, 因此同步观察这些指标, 有助于进一步阐明温阳片预防哮喘的机理。

用白细胞测组胺释放, 采血量较大。自 Siraganian^[9]创全血法, 向氏、殷氏都作了方法学上改进。我们用上海地区主要过敏原——尘螨激发组胺释放, 仅采血 2 ml。在公式组胺释放率 = $\frac{T_{\text{测}} - T_{\text{对照}}}{T_{\text{总}} - T_{\text{对照}}} \times 100\%$ 中, “T 总” 为破坏全血细胞后的总组胺。文献报道多用 12% 过氯酸或 25% 三氯乙酸破坏血细胞, 我们经比较发现用 50% 三氯乙酸破坏全血细胞远较上二种试剂彻底, 造成全血组胺值 (T 总) 大, 故组胺释放率较低, 但仍能反映哮喘患者与健康人的差别及治疗前后的变化。

本研究中温阳片组的总有效率达 89.6%, 显效率为 53.2%, 而对照组分别为 20% 与 4%, 再次重复以往的效果^[10], 表明温补肾阳确能对哮喘的发作起较明显的预防作用。由于疗效是一种宏观评价, 从微观角度分析, 与疾病有关的病理生理指标定会有与疗效相应的变化, 关键是这些指标是否关联, 能否为阐明治愈原理

提供相应依据。

经温阳片三个月治疗, 在 10 月份哮喘发作季节, 哮喘患者的血清总 IgE、特异性 IgE 的季节性升高受到明显抑制, 组胺释放明显下降, 而且特异性 IgE 的变化与组胺释放变化成正相关关系。结合我们以往工作^[10], 温阳片可提高哮喘患者已降低的 T 抑制细胞功能, 并与 IgE 水平的下降成负相关, 因而我们推测温阳片之所以能起预防支气管哮喘季节性发作的作用, 很可能通过影响免疫活性细胞的调节作用, 提高哮喘患者已降低的 T 抑制细胞功能, 从而抑制血清总 IgE 及各种特异性 IgE 的季节性升高, 一定程度上减轻了变态反应的程度, 使组胺等过敏介质的释放明显减少, 最终减轻甚至中止支气管哮喘的季节性发作。但由于组胺释放还受其它因素调节^[11], 故不能排除温阳片还可能通过其他途径影响过敏介质的释放, 有待进一步研究。

参 考 文 献

1. 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; 23(5):343.
2. 殷凯生, 等. 一种改良的嗜碱细胞组胺释放试验. 中华微生物和免疫学杂志 1983; 3(6):362.
3. 向军俭, 等. 组胺的荧光测定法的研究. 中国医学科学院学报 1981; 3(3):183.
4. 彭志康, 等. 吸入型哮喘患者尘螨皮肤挑刺试验、鼻腔激发试验和特异性 IgE 的测定. 上海医学 1985; 5(1):29.
5. Tonizaki Y, et al. Allergen and Anti-IgE induced histamine release from whole blood. Int Arch Allergy Appl Immun 1984; 73:141.
6. Skov PS, et al. Basophil histamine release in patients with hay fever. Clin Exp Immunol 1977; 27:432.
7. Frederick E, et al. Mediators, airway responsiveness, and asthma. J Allergy Clin Immunol 1985; 76(2):272.
8. Findlay SR, et al. Basophil “releasability” in patients with asthma. Am Rev Respir Dis 1980; 122:53.
9. Siraganian RP, et al. Automated histamine analysis for in vitro allergy testing. J Allergy Clin Immunol 1976; 57:525.
10. 沈自尹, 等. 温阳片预防支气管哮喘季节性发作及原理研究. 中西医结合杂志 1986; 6(1):17.
11. 诸君龙. 国际预防变态反应性疾病学术研讨会. 上海免疫学杂志 1984; 4(6):379.

Abstracts of Original Articles

Observation on Effect of Wenyang Tablet (温阳片) on Histamine Release, Serum IgE in Asthmatics

Xu Desheng (许得盛), et al

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

Wenyang Tablet (WYT) was given to 77 adult asthmatics and placebo to the other 25 asthmatics as control. The results showed that the total effective rate was 89.6% and the markedly effective rate was 53.2% in WYT group, significantly higher than 20% and 4% of the controls ($P < 0.005$). There was no significant difference in serum IgE and specific IgE levels, histamine release and skin prick test between WYT group and controls before treatment (in July). After treatment (in October), however, serum IgE and specific IgE levels were increased in the controls ($P < 0.005$) and decreased in WYT group ($P < 0.005$), showing that the seasonal increase of serum IgE and specific IgE could be inhibited by WYT. Meanwhile, histamine release rate was decreased from 15.7% before treatment to 8.4% after treatment in WYT group ($P < 0.001$), whereas the controls was 14.9% and 15.5% respectively. WYT group also had a tendency to improve skin prick test. Serum IgE level was closely related to specific IgE level ($P < 0.001$) in asthmatics. Moreover, the difference of specific IgE between pre- and post-treatment was significantly related to the difference of histamine release between pre- and post-treatment in WYT group ($P < 0.005$).

Our previous study has showed that the suppressor T cell function was negatively correlated to the level of serum IgE in asthmatics treated with WYT. So it was suggested that WYT acted on the regulation of immunologically competent cell and in this way it enhanced Ts cell function and inhibited the seasonal increase of IgE. As a result, histamine release was decreased and seasonal attack of bronchial asthma was relieved.

(Original article on page 330)

A Preliminary Study on Nasal Cavity Exfoliative Cells in "Lung Diseases" in TCM

Li Hao (李浩), Tan Jingshu (谭敬书)

Hunan College of TCM, Changsha

This paper reports the changes of nasal cavity exfoliative cells consisted of the total cell, epithelial cell, ciliated cell and neutrophil count in patients who suffered from lower respiratory tract diseases, the "lung diseases" in TCM, which belonged to the syndromes of lung-Qi (气) deficiency, lung-Yin (阴) deficiency and lung excess. A group of healthy subjects was taken as control. All of the observed subjects had no nasal symptoms whatsoever and abnormalities in nasal cavity in macroscopical observation as well. The results showed that lower respiratory tract diseases significantly affected the nasal cavity, and this was influenced by different syndrome types and sexes. (1) The squamous epithelial cell count had no significant difference among the four groups. (2) The neutrophil count in lung-Qi deficiency group was lower than that of the control ($P < 0.01$), which indicated that there was a parallel relation of neutrophil between the nasal secretion and blood. (3) The ciliated cell count was increased in the two groups of lung deficiency, which was significantly higher than that of the control ($P < 0.01$). It showed that the mucous membrane of nasal cavity was impaired in these patients. (4) In females, the ciliated cell count was significantly increased in the three studied groups than the control ($P < 0.05$, $P < 0.01$), but in males of lung excess group it was similar to that of the control ($P > 0.05$). This meant that the female's nasal cavity was more susceptible in lower respiratory tract diseases. (5) Although there were considerable variation in the above-mentioned three kinds of cell count, but the total cell count of nasal cavity exfoliative cells among 4 groups showed no significant difference, which revealed that the influence of lower respiratory tract diseases on nasal cavity was mainly reflected in the changes of cellular properties and the ratio of cells in nasal cavity mucous membrane. The defence functions of nasal cavity were impaired by these changes, which should be one of the physio-pathological basis that the patient was susceptible to cold when the patient suffered from lung deficiency.

(Original article on page 333)

Observation on Effect of Treating 223 Asthma Patients with Xiaochuangao (消喘膏) for 10 Years

Dong Zheng (董征), Hua Ruicheng (华瑞成), et al

Guang'anmen Hospital, China Academy of TCM, Beijing

Applying the method of sticking medicated plaster (Xiaochuangao) to the acupoint Feishu (B13), Xinshu (B15), Geshu (B17) on the back for treating 223 patients suffering from bronchial asthma. A follow-up of these patients over 10 years was made. 72 of 223 patients were cured, markedly effective 86, improved 35, ineffective 30, the total effective rate was 86.5%. Among the patients, the cold type