

脾虚肿瘤患者免疫功能的研究

北京市中医医院肿瘤科(北京 100010)

郁仁存 关崇芬* 张建华 徐淑玲* 胡玉芳 王运琦* 饶燮卿 林 燕* 冯灵娟 方 晶*

内容提要 按中医理论,采用免疫指标(T细胞亚群、NK细胞活性及唾液 SIgA 等)及荧光激活细胞分类仪 FACS420,研究了脾虚证肿瘤患者的免疫功能,发现其 Th 淋巴细胞减少, NK 细胞杀伤和结合功能降低,唾液的 SIgA 升高,部分病例经有健脾补肾作用的升血汤治疗后,唾液 SIgA 降至正常, NK 细胞杀伤功能明显提高, Th 淋巴细胞有恢复趋势。为中医证型本质研究和中医药在肿瘤治疗中免疫调节作用提供了新资料。

关键词 脾虚证 T 淋巴细胞亚群 NK 细胞杀伤活性 升血汤 荧光激活细胞分类仪

免疫系统和免疫功能的改变是脾虚证本质研究的重要内容之一,脾虚证患者的细胞免疫功能及体液免疫功能异常已有报道。近年来基础免疫学和临床免疫学发展迅速,免疫系统的新成分不断被发现,免疫调节的理论不断被充实、发展或更新。随着这种进展而出现的新的免疫学指标,常常更深入、更精细地反映免疫系统的变化和机体免疫功能状态。本文采用淋巴细胞亚群、NK 细胞活性、唾液 SIgA 和血清溶菌酶为指标,研究脾虚证肿瘤患者(以下简称患者)免疫功能的变化,以期对脾虚证的本质从免疫学角度提供新的说明。

对象与方法

一、对象:北京中医医院肿瘤科住院及门诊患者 62 例,中医辨证均为脾虚证或以脾虚为主兼有他证者。脾虚证的诊断是根据全国脾虚证辨证标准^①由全科查房讨论确定。全部病例的西医诊断均经手术和/或病理证实。计直、结肠癌 16 例,胃癌 15 例,乳腺癌 11 例,其他 20 例。正常人为本院健康工作人员共 43 人,年龄 20~54 岁,男女各半,均无脾虚证。

二、指标观察方法

1. 淋巴细胞亚群测定:分离外周血中单个核细胞,分别用 Leu2、Leu3 和 Leu11 荧光标记

单克隆抗体(BD 公司,美国)直接染色法染色后,用荧光激活细胞分类仪(FACS420, BD 公司,美国)计数阳性细胞并计算阳性百分率。

2. NK 细胞杀伤和结合活性测定:分离外周血中单个核细胞,置玻璃培养瓶中 37℃, 5%CO₂ 孵育 1 h,使单核-巨噬细胞贴壁,取出淋巴细胞以 50:1 比例与 K₅₆₂ 细胞混合,于微孔培养板上每份标本加 3 个孔,37℃, 5%CO₂ 中作用 16 h 后以台盼蓝染色,每孔计数 200 个靶细胞并算出 3 个孔的平均值,以蓝染的靶细胞计算杀伤率,以蓝染加上未蓝染而结合淋巴细胞的计算结合率。

3. 唾液 SIgA 测定:由产妇初乳中常规方法分离、纯化 SIgA,常规制备、纯化兔抗人 SIgA 抗体,以火箭电泳法测定唾液标本中 SIgA 量。

4. 血清溶菌酶测定:单向琼脂扩散法,以黄色微球菌为试验菌,以标准溶菌酶做标准曲线。

结 果

一、T 细胞亚群:见表 1。

患者 Th 细胞减低明显,而 Ts 细胞和 Th/Ts 比值变化不显著。

二、NK 细胞活性和 Leu11 阳性细胞:见表 2。

肿瘤患者组 Leu11 阳性细胞与正常人组相

* 中国中医研究院基础研究所免疫室

表1 正常人及肿瘤患者T细胞亚群($\bar{x} \pm S$, 下同)

	Th(Leu3) (%)	Ts(Leu2) (%)	Th/Ts
正常人	30.86 $\pm$ 9.10 (n=26)	23.24 $\pm$ 7.03 (n=31)	1.42 $\pm$ 0.67 (n=24)
肿瘤患者	22.62 $\pm$ 9.92 (n=43)	21.85 $\pm$ 6.88 (n=46)	1.10 $\pm$ 0.63 (n=41)
P 值	<0.002	>0.2	>0.1

表2 正常人及肿瘤患者NK活性和Leu11阳性细胞

	KN杀伤活性 (%)	NK结合活性 (%)	Leu11阳性细胞 (%)
正常人	25.51 $\pm$ 14.10 (n=43)	55.88 $\pm$ 17.94 (n=41)	15.69 $\pm$ 6.92 (n=26)
肿瘤患者	17.65 $\pm$ 10.58 (n=59)	39.11 $\pm$ 19.44 (n=48)	12.25 $\pm$ 6.41 (n=16)
P	<0.002	<0.001	>0.1

比减少不明显, 但NK细胞杀伤和结合活性均明显低于正常人, 说明它主要是功能的而非数量的减低。

三、唾液SIgA: 正常人组(n=24)唾液SIgA为0.30 $\pm$ 0.062ug/ml($\bar{x} \pm S$, 下同), 患者组(n=37)为0.44 $\pm$ 0.17ug/ml。患者明显高于正常人(t=3.8618, P<0.001)。

四、血清溶菌酶: 正常人组(n=19)为302.95 $\pm$ 44.66ug/ml, 患者组(n=30)为328.29 $\pm$ 51.6ug/ml, 差异不显著(0.05<P<0.1)。

五、对部分病例我们使用具有健脾补肾作用的升血汤治疗1~3个月^②, 发现以上免疫指标中的一些指标随着治疗后脾虚症状的好转而有所变化。Th(Leu3)阳性细胞(n=9)由疗前16.698 $\pm$ 11.762%升至疗后24.611 $\pm$ 14.758%, NK杀伤活性(n=13)由治疗前11.796 $\pm$ 8.957%升至20.515 $\pm$ 11.383%(t=3.125 P<0.01), 唾液SIgA(n=8)由治疗前0.549 $\pm$ 0.179mg/ml降至0.304 $\pm$ 0.050mg/ml(t=3.521, P<0.01), 即降至与正常人值相同。

讨 论

目前国内对脾虚证本质的研究, 在消化吸收功能, 血中各种酶类及代谢产物的变化及神经、内分泌方面积累了不少资料。为深入研究

脾虚证本质中的免疫学表现, 本研究采用较新的免疫学指标, 并利用先进设备和试剂, 旨在对脾虚证的免疫功能状态做进一步的研究探讨, 其结果讨论如下。

一、T细胞亚群: T细胞亚群是当前免疫学中研究活跃的课题之一。Th和Ts两者相互诱导、相互制约所形成的T细胞网络, 对机体免疫应答的调控和维持免疫稳定具有重要作用。在中医证型研究中, 曾有用细胞表面IgG, Fc受体(Tr)和IgM Fc受体(Tu)区别Ts和Th的。目前认为Tr不是一个均一的群体, 且在特定条件下, Fc受性质可以改变, 故国外用T细胞分化抗原区分T细胞亚群实际上已作为一种标准的方法, 但应用T细胞分化抗原的单克隆抗体研究中医证型和中药在临床上的免疫调节作用, 国内外尚未见报道。

荧光抗体标志阳性细胞的计数, 可以采用荧光显微镜肉眼计数或荧光激活细胞分类仪(FACS)测定, 前者所用设备较普及, 但存在着肉眼计数难以避免的人为误差, 且每份标本每种抗体一般只计数200个细胞, 容易带来误差。后者仪器昂贵, 优点是在短时间内可检测大量细胞(10 000个/min), 客观性和重复性均优于荧光显微镜肉眼观察。

本研究发现患者的Th(Leu3)减低明显而Ts和Th/Ts变化不显著。9例患者经升血汤治疗后, 减低的Th有恢复的趋势。升血汤具有健脾补肾作用, 其调节Th的作用值得进一步研究。Th减少不仅见于肿瘤病人, 亦见于其他多种免疫失调性疾病, 包括艾滋病。因此中药对这一细胞亚群的促进作用是一个非常有价值, 值得进一步研究的课题。

二、NK细胞活性和Leu11阳性细胞: 自然杀伤(NK)细胞是肿瘤免疫的重要成分, 且在抗病毒免疫等方面发挥重要作用。NK细胞对靶细胞的作用可分为识别、结合和溶解杀伤等阶段, 临床上检测NK活性多采用杀伤靶细胞百分率为判定NK活性的指标, 考虑到结合与溶解杀伤涉及不同的机理, 本研究还测定了NK细胞结合百分率。

Leu11 阳性细胞主要是 NK 细胞。本研究发现肿瘤患者 Leu11 阳性细胞数目减少不明显, 但 NK 细胞杀伤和结合活性则明显减低, 说明患者 NK 细胞既有结合功能障碍又有杀伤功能障碍。13 例患者经升血汤治疗后 NK 细胞杀伤功能明显恢复, 治疗前后有显著性差异 ($P < 0.01$)。国内已有报道中药有效成分在体外对 NK 细胞活性有促进作用, 但尚未见用中药复方提高肿瘤患者 NK 细胞活性的报道。NK 细胞是体内杀伤肿瘤细胞最重要的免疫活性细胞之一, 中医药通过促进和恢复 NK 细胞功能达到治疗和预防的目的, 是值得深入研究的, 本研究在这方面的探索取得了初步结果。

三、唾液 SIgA: 中医证型研究中, 血清 Ig 常作为体液免疫功能指标之一。脾虚证患者血清 IgG、IgA、IgM 检测结果, 各家报道很不一致。本研究根据中医理论中“涎为脾之液”的原理, 采用唾液中局部抗体 SIgA 为指标进行观察, 结果证实脾虚患者唾液 SIgA 升高。8 例病人用具有健脾作用的升血汤治疗后, 唾液

SIgA 含量降至正常, 治疗前后有显著性差异 ($P < 0.01$), 这在一定程度上支持患者唾液 SIgA 增高是由脾虚所致, 健脾治疗后即可调节至正常。

一般认为虚证患者抗体合成和分泌能力低下。抗体合成和分泌受多种辅助性和抑制性因素的影响, 在不同生理和病理条件下引起抗体的增加或减少, 其调节是复杂的。患者 SIgA 增高的确切机制亦尚待进一步研究。

四、血清溶菌酶: 文献曾有报道, 肿瘤患者血清溶菌酶活性降低, 且与巨噬细胞吞噬活性平行。本研究未能重复该结论。考虑到本组患者为脾虚证肿瘤患者而非一般肿瘤患者, 推测不同证型的肿瘤患者血清溶菌酶可能有差异, 这点尚待进一步证实。

参 考 文 献

1. 中西医结合研究会. 中医虚证辨证参考标准. 中西医结合杂志 1983; 3 (2): 117.
2. 饶燮卿, 等. 升血汤伍用化疗治疗晚期胃癌的临床和实验研究. 中西医结合杂志 1987; 7 (12): 715.

“根叶煎剂”治疗男性尖锐湿疣 28 例

解放军第 323 医院外一科(西安 710054) 韩崇义 胡乃扬

一般资料 28 例全为男性(女性转妇科治疗)。年龄: <20 岁 6 例; 21~30 岁 17 例(占 60.7%); 30~40 岁 5 例; 最小 16 岁, 最大 38 岁, 平均 26.3 岁。从发现皮损到就诊时间: 最短 20 天, 最长 1 年 8 个月, 3 月内者占 67.8% (19/28)。发病部位: 冠状沟 18 例, 占 64%, 龟头 4 例, 包皮系带 3 例, 尿道口 2 例, 肛周 1 例。多数多发, 较少单发。皮损病型: 寻常型多见, 巨大型较少, 本组仅 4 例, 占 14%。合并包皮过长 9 例。

治疗方法 处方: 板蓝根、大青叶各 30g, 金钱草 15g, 大黄 12g。以上诸药用水浸数小时后慢火煎熬半小时。取其汤液一半口服。另一半和药渣用以熏洗或湿热敷患处, 可反复加温应用 2~3 次。1 日 1 剂。用药后感有阴茎龟头发凉感。个别有稀便, 可去大黄和减其它药量。尚未见其它副作用, 对疣体较大者, 为加速治愈速度可用激光刀或手术刀切刮大块疣体。然后用“根叶煎剂”治疗。但一律不加用西药。

结 果 治愈: 皮损全部消失, 一月内无复发或出现新皮损, 共 14 例, 占 50%; 好转: 绝大部分皮损

消失, 残留者不增长有退变表现, 一月内无复发, 共 12 例, 占 42.8%; 无效: 皮损无明显消退或有新皮损出现, 共 2 例, 占 7.2%。治疗总有效率 92.8%。药后见效 10 剂以内 6 例, 20 剂以内 15 例, 30 剂以内 4 例。一例 60 剂治愈。无效 2 例超过 20 剂自停。

体 会 尖锐湿疣系感染乳头病毒(HPV)引起的良性皮肤肿瘤, 性接触是主要传播途径, 故归属性传播性疾病(STD)。又名“性病性疣”。本组全部是处于性活跃期的 40 岁以前的男性。承认有不洁性交史者 11 例, 并存淋菌性尿道炎 2 例, 配偶有尖锐湿疣 1 例。总计 50% 与不洁性交有关。合并包皮过长 9 例, 占 32%。中医认为与风热血燥、湿热毒邪有关。板蓝根和大青叶性寒味苦, 具有清热、解毒、凉血、消肿等功能。临床上用以治疗病毒性疾病已屡有报道。因此, 我们自拟该二药为主的处方治疗尖锐湿疣, 考虑局部熏洗或湿热敷能增强疗效, 既内攻又外消, 从而取得明显疗效。

Application of Xin Bao(心宝) in the Treatment of 87 Patients with Sick Sinus Syndrome

Chen Zhen-yun(陈振云), et al

Chinese PLA No. 113 Hospital, Ningbo (315040)

Since 1987, the authors have observed the therapeutic effect of Xin Bao on 87 patients with sick sinus syndrome. Electrophysiological stimulation examination: SNRT > 1900 ms and CSNRT > 600 ms in all patients. Routine ECG and Holter monitoring ECG: (1) Persistent sinus bradycardia or/and atrio-ventricular junction escape rhythms or/and premature beat, heart rate $< 48 \pm 6$ beats/min in 40 patients; (2) sinus standstill (arrest) or secondary degree sinoatrial block in 10 patients; (3) bradycardia-tachycardia syndrome in 30 patients; (4) the heart rate > 60 beats/min in 7 patients. The major symptoms were dizziness, palpitation, chest press, malaise, remission in memory, nocturia, amaurosis and Adams-Stokes syndrome, etc. Self-comparison was taken. Xin Bao was given 2~10 tablets 2 or 3 times a day by oral administration for 2 months. The major symptoms of sick sinus syndrome was greatly improved after treatment. The total effective rate attaining to 85%. The improvement in heart function was also significant, the total effective rate being 80%. After treatment SNRT and CSNRT were shortened ($P < 0.01$), the total heart beats for 24 hours and the average heart beats/min greatly increased ($P < 0.01$), CO and EF increased too ($P < 0.05$). No serious adverse reactions were found during the treatment. It was believed that Xin Bao could stimulate sino-atrial node and increase its excitability. The basic heart rate was increased and the heart function improved with no adverse reactions. It may be administrated in long term. Therefore, Xin Bao may be recommended as appropriate drug for treating sick sinus syndrome.

(Original article on page 529)

Clinical Study on Hyperlipidemia Treated with Xiaobu Jianfei Pian(消补减肥片)

Qiu Wan-song(丘万嵩), Chen Ke-ji(陈可冀), Li Chun-seng(李春生), et al

Xiyuan Hospital, China Academy of TCM, Beijing (100091)

A total of 51 cases with hyperlipidemia, who were defined deficiency symptom-complex complicated by symptoms of excessiveness in TCM were studied clinically. The patients were divided into two groups at random. One group was treated with Xiaobu Jianfei Pian (XJP) as treated group, another with Fangfeng Tongsheng San (防风通圣散) as a control. It was found that XJP was able to lower total serum cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and apolipoprotein (apo) B significantly ($P < 0.001, 0.001, 0.001$) while it had markedly improved clinical symptoms. It was also observed that XJP had good effects on the ratios of apoA₁/B and TC/HDL-C, and was able to reduce body weight index. All of these were better than those of the control group statistically. These evidences indicate that XJP possesses clinical therapeutic effects on both lipid-lowering and lipid-adjusting, which suggest that XJP may be an effective anti-hyperlipidemia medicine.

(Original article on page 532)

Study on Immune Function of Cancer Patients with Spleen-Deficiency Syndrome

Yu Ren-cun(郁仁存), Guan Chong-fen(关崇芬)*, Zhang Jian-hua(张建华), et al

Beijing Hospital of TCM, Beijing (100010)

*Institute of Basic Theory, China Academy of TCM, Beijing (100700)

According to this study, the immunological function was aberrant in cancer patients with Spleen-deficiency syndrome. The T_H cell in normal persons (n=26) was $30.86 \pm 9.70\%$ ($\bar{x} \pm S$) and in these cases (n=43) was $22.62 \pm 9.92\%$, $P < 0.002$. The cytotoxicity of NK cell in patients (n=59) was $17.65 \pm 10.58\%$, in normal controls (n=43) was $25.51 \pm 14.10\%$. The combining ability of NK cell in patients (n=48) was $39.11 \pm 19.43\%$, the normal persons (n=41) was $55.88 \pm 17.94\%$. It showed that the immune function of the cancer patients with Spleen-deficiency syndrome were markedly lower than that of normal persons. The serum IgA in saliva of patients (n=37) was $0.44 \pm 0.17 \mu\text{g/ml}$. It was much higher than that of normals (n=24, $0.30 \pm 0.06 \mu\text{g/ml}$), $P < 0.001$. Some patients' NK cell function and the level of SIgA in saliva were recovered to normal after treatment of Shengxue Tang (升血汤) which could strengthen the Spleen and replenish the Kidney. These studies proved that the TCM played an important role for modulating immune function in treating cancer patients.

(Original article on page 535)