

骨科创伤患者T细胞亚群变化及 一盘珠汤对其免疫调节作用

同济医科大学附属协和医院骨伤科研究室(武汉 430022) 万圣祥 杨家玉 沈 霖

同济医科大学病理解剖学教研室 刘绍春

内容提要 本实验采用间接免疫荧光法对40例骨科创伤患者外周静脉血T细胞亚群进行检测, 且动态观察了中药一盘珠汤对创伤后T细胞亚群的免疫调节作用。结果显示: 创伤后24h内总T细胞百分率下降, Th细胞百分率无明显变化, Ts细胞百分率增高, Th/Ts细胞比值下降。一盘珠汤治疗3天后总T细胞略升高, 其他异常变化均可恢复正常, 而生理盐水对照组上述各项异常值仍无明显变化。两组各项异常指标比较, 除总T细胞百分率无显著性差异外($P>0.05$), Ts细胞百分率及Th/Ts细胞比值用药后各时期均有非常显著性差异($P<0.01$)。表明一盘珠汤对创伤后T细胞亚群变化具有一定的免疫调节作用。

关键词 创伤 T细胞亚群 一盘珠汤

创伤后机体免疫功能受抑制, 对病原菌易感性增加^①。感染并发症仍是创伤外科面临的重要问题。因此, 寻找有效调节免疫功能的药物对降低创伤患者的感染率、促进机体康复有重要意义。我们应用单克隆抗体对40例骨科创伤患者外周血T细胞亚群进行检测, 并动态观察了中药一盘珠汤对创伤后T细胞亚群的免疫调节作用。

资料与方法

一、观察对象与分组: 40例骨科创伤患者按受伤先后随机分为一盘珠汤治疗组与生理盐水对照组, 每组各20例。一盘珠汤治疗组: 男18例, 女2例; 年龄11~58岁, 平均27.6岁; 创伤部位: 上肢5例, 下肢13例, 躯干2例; 其中, 开放性创伤15例, 闭合性创伤5例。根据“创伤严重度评分”^②, 创伤严重度为4~20分, 平均 9.0 ± 4.78 ($\bar{x}\pm S$, 下同) 分。15例开放性创伤患者除服用一盘珠汤外, 在受伤后5~7天内静脉滴注无免疫调节作用的青霉素^③, 在观察2周期间, 仅2例并发伤口感染, 感染率为13.3%。生理盐水对照组: 男15例, 女5例; 年龄9~61岁, 平均31.3岁;

创伤部位: 上肢6例, 下肢9例, 躯干5例; 其中, 开放性创伤14例, 闭合性创伤6例; 创伤严重度为 8.8 ± 4.32 分。14例开放性创伤患者受伤后5~7天内静脉滴注青霉素, 在观察2周内, 7例并发伤口感染, 感染率为50%。以上两组资料除感染发生率有显著性差异外($P<0.05$), 其余均无显著性差异($P>0.05$)。

另外, 随机采用30例献血员外周血作为健康对照组。

二、药物配制: 一盘珠汤^④(由本院药剂科制剂室煎制): 广木香、红花、桃仁、大黄、甘草各10g, 生地、川芎、泽兰、赤芍、苏木、乌药各20g, 续断25g, 制乳香、制没药各15g, 每剂加水1000ml煎熬浓缩至100ml, 加防腐剂后每300ml分装于玻璃瓶中, 高压蒸汽灭菌后密封存放于阴凉处备用。

三、给药方法及标本收集: 两组均于伤后24h内采集外周静脉血。采血后一盘珠汤治疗组开始服一盘珠汤, 每日2次, 每次50ml, 连服3日; 生理盐水对照组在相同时间按相同方法服生理盐水。在病程第4、7、14天分别再采取外周静脉血, 每份标本2ml, 加肝素(10~20u/

ml血) 抗凝。

四、T细胞亚群检测⁽⁴⁾

将血液标本通过密度梯度离心法分离出淋巴细胞, 调整细胞浓度至 $5 \times 10^6/\text{ml}$ 。将1:20稀释的单克隆抗体抗 T_3 、抗 T_4 、抗 T_8 (由卫生部武汉生物制品研究所生产) 各 $20\mu\text{l}$ 分别加入3只含淋巴细胞混悬液 $20\mu\text{l}$ 的试管中, 4°C 孵化45分钟, 细胞洗液洗涤3次后, 再将每只试管中加入1:16稀释的 FITC 标记羊抗鼠 Ig (卫生部武汉生物制品研究所产品) $20\mu\text{l}$, 4°C 孵化45分钟, 洗涤3次后, 取样本置于玻片上, 加盖玻片, 在荧光显微镜下计200个淋巴细胞中阳性淋巴细胞数, 计算其百分率。

结 果

一、创伤对机体外周血T细胞亚群的影响: 见表1。

表2 一盘珠汤治疗组与生理盐水对照组T细胞亚群比较 ($\bar{x} \pm S$)

	一盘珠汤治疗组				生理盐水对照组			
	第1天	第4天	第7天	第14天	第1天	第4天	第7天	第14天
$T_3^+(\%)$	58.02 ± 6.53	58.90 ± 6.90	61.56 ± 6.26	60.94 ± 5.67	55.06 ± 5.46	55.93 ± 10.45	55.43 ± 10.71	57.64 ± 7.19
$T_4^+(\%)$	41.95 ± 5.30	45.84 ± 4.92	44.13 ± 7.51	44.64 ± 4.28	42.79 ± 5.16	45.28 ± 7.16	44.05 ± 2.80	44.60 ± 4.90
$T_8^+(\%)$	41.90 ± 6.28	31.10 ± 6.56	30.46 ± 7.03	28.21 ± 6.43	43.09 ± 7.98	41.26 $\pm 7.99^*$	39.23 $\pm 5.61^*$	41.45 $\pm 7.19^*$
T_4^+/T_8^+	1.00 ± 0.22	5.57 ± 0.45	1.58 ± 0.43	1.39 ± 0.39	1.03 ± 0.19	1.13 $\pm 0.16^*$	1.14 $\pm 0.16^*$	1.10 $\pm 0.15^*$

注: 与治疗组同期比较 $P < 0.01$

胞百分率仍稳定在正常范围; T_8^+ 细胞百分率迅速降至正常水平, 然后继续缓慢下降, 生理盐水对照组 T_8^+ 细胞百分率虽有所下降, 但终未达到正常水平, 两组各时期比较有显著性差异 ($P < 0.01$)。说明一盘珠汤对创伤后升高的 T_8^+ 细胞百分率有较明显的恢复作用。表2还显示, 创伤第1天两组 T_4^+/T_8^+ 细胞比值均下降, 服一盘珠汤3天后该比值迅速回升到正常水平, 且以后继续缓慢升高, 生理盐水对照组则无明显变化, 两组用药后各时期比较均有非常显著性差异 ($P < 0.01$)。可见, 一盘珠汤能使创伤后降低的 T_4^+/T_8^+ 细胞比值恢复正常。

表1 创伤患者与正常组T细胞亚群比较 ($\bar{x} \pm S$)

组 别	$T_3^+(\%)$	$T_4^+(\%)$	$T_8^+(\%)$	T_4^+/T_8^+
健 康	64.27 ± 6.03	43.27 ± 5.36	27.37 ± 4.52	1.61 ± 0.35
创 伤	56.23 $\pm 6.65^*$	42.34 ± 5.14	42.49 $\pm 7.11^*$	1.02 $\pm 0.18^*$

注: *与正常组比较 $P < 0.01$

从表1可见, 创伤后 T_3^+ 细胞百分率下降, T_8^+ 细胞百分率升高, T_4^+/T_8^+ 细胞比值下降。与健康组比较, 有非常显著性差异 ($P < 0.01$)。 T_4^+ 细胞百分率无明显变化。

二、一盘珠汤对创伤后T细胞亚群的影响: 从表2可见, 创伤第1天 T_3^+ 细胞百分率略降低, T_8^+ 细胞百分率升高, T_4^+ 细胞百分率正常, T_4^+/T_8^+ 细胞比值下降。服用一盘珠汤3天后, T_3^+ 细胞百分率稍升高, 但与生理盐水对照组比较无显著性差异 ($P > 0.05$); T_4^+ 细

讨 论

一、创伤对T细胞亚群的影响: 文献报道, 创伤后机体免疫功能降低, 特异性与非特异性免疫功能均受抑制, 其机理尚未阐明。近年来对T细胞的功能了解渐多。应用单克隆抗体可将它分为 T_h 、 T_s 、 T_i 、 T_c 细胞等功能不同的亚群, 其中 T_h 细胞与 T_s 细胞是调节免疫系统和与感染相关的最重要亚群。两者形成一种免疫调控网络, 前者具有协助B细胞产生抗体和辅助其它细胞亚群的功能, 后者具有相反作用⁽⁵⁾。国内外已广泛应用OKT单克隆抗体检测T细胞亚群。本实验所用的卫生部武汉生物

制品研究所生产的抗 T_3 、抗 T_4 及抗 T_8 单克隆抗体分别相当于 OKT_3 、 OKT_4 和 OKT_8 。 T_3^+ 细胞代表 T 细胞总数, T_4^+ 细胞代表 Th/T_i 细胞, T_8^+ 细胞代表 Ts/T_c 细胞, T_4^+/T_8^+ 细胞比值则代表 Th/Ts 细胞比值。Hansbrough 等⁽⁴⁾对11例胆囊切除患者手术前后外周血 T 细胞亚群检测结果显示, 术后 Th 细胞减少, Ts 细胞增多, 使 Th/Ts 细胞比值下降。O'mahony 等⁽⁶⁾对31例多发性创伤患者 T 细胞亚群的观察发现, 伤后早期 T 细胞总数下降, Th 细胞无变化, Ts 细胞增多, Th/Ts 细胞比值下降。本实验对40例骨科创伤患者外周血 T 细胞亚群检测结果与 O'mahony 报道完全一致, 与 Hansbrough 的结果也很相似。由于 Th 细胞与 Ts 细胞在免疫调节和免疫自稳中所起的重要作用, 创伤后 Th/Ts 细胞比值变化可被认为是其他免疫功能改变的关键。 Th/Ts 细胞比值下降将使两者之间的调控网络失衡, 免疫抑制作用过盛, 导致 B 细胞抗体生成减少、巨噬细胞功能下降及其他免疫细胞功能缺陷, 机体对病原菌易感性增加, 组织修复速度延缓。

二、一盘珠汤对创伤后 T 细胞亚群的调节作用: 孙燕⁽⁷⁾、张德山等⁽⁸⁾研究显示, 益气活血、扶正固本中药具有免疫促进作用。一盘珠汤是一典型益气活血复方, 根据他们的结论, 该方也应具有免疫调节功能。既往的研究已表明, 一盘珠汤具有增强巨噬细胞吞噬活性、激活补体 C_3 旁路系统、提高血清溶菌酶含量、增加玫瑰花结形成率等免疫药理作用⁽⁹⁾。本实验进一步研究显示, 该方能使创伤后增多的 Ts 细胞减少及降低的 Th/Ts 细胞比值恢复正常。如前所述,

Th 细胞与 Ts 细胞所构成的免疫调控网络在机体免疫系统中起重要作用。我们分析, 一盘珠汤对创伤机体的免疫促进作用可能是通过调节 Th/Ts 细胞比值, 使之恢复正常而实现的。由于一盘珠汤能促使创伤后增多的 Ts 细胞降低, Th/Ts 细胞比值得以恢复正常, 使巨噬细胞吞噬功能增强, 有利于清除创伤局部的血凝块、坏死组织及纤溶产物, 缩短了创伤修复过程, 提高了机体防御病原菌感染的能力。这与临床上一盘珠汤治疗组伤口感染率显著低于生理盐水对照组的疗效十分吻合。

参 考 文 献

1. McIrvine AJ, et al. Lymphocyte function in the critically ill surgical patients. *Surg Clin Nor Amer* 1983; 63(2):245.
2. Baker SP, et al. The injury severity score: A method for describing patients with multiple injuries and evaluating emergency care. *J Trauma* 1974; 14(3):187.
3. 武汉医学院第一附属医院主编. 中西医结合治疗骨与关节损伤. 北京: 人民卫生出版社, 1973: 276.
4. Hansbrough JF, et al. Altered helper and suppressor lymphocyte populations in surgical patients, a measure of postoperative immune suppression. *Amer Surg* 1984; 148(9):303.
5. 赵华斌. 辅助性 T 细胞和抑制性 T 细胞对免疫反应的调控作用 (综述). 国外医学免疫学分册 1982; 5(1):1.
6. O'mahony JB, et al. Depression of cellular immunity after multiple trauma in the absence of sepsis. *J Trauma*. 1984; 24(10):869.
7. 孙 燕. 扶正中药的免疫调节作用. 中西医结合杂志 1984; 4(6):368.
8. 张德山. 益气活血和扶正固本疗法对肺心病患者免疫功能影响的观察. 中西医结合杂志 1984; 4(6):340.
9. 沈 霖, 等. 一盘珠汤治疗软组织挫伤的疗效机理探讨. 骨伤科通讯 1988; 3:14.

《古今中药外治真传》一书出版

由中国中医研究院研究生部张树生同志编著的《古今中药外治真传》一书, 已由中国中医研究院古籍出版社出版。本书系统、全面、深入地发掘整理了各种中药外治方法, 如: 贴、敷、涂、吹、喷、吸、喘、嗅、嚏、洗、浴、淋、浸渍、喂、漱、点滴、灌鼻、灌导、围、裹、封、填、罨、搽、熏、熨、烘、焯灯火、药压、离子导入、药磁疗法、枕、卧、踏、佩戴、搨、

捋刮、塞、插、挺(栓)、擦(揩)、摩、揉、捻、握、扫、扑、坐、梳、含、刷、嚼、咬、舐、吮等。每法之下又按病列方, 遍收古今, 广采博引, 富实践之经验, 寓医理于其中, 内容翔实, 条目井然, 用法简便, 广泛易行。本书不仅有很高的实用价值, 而且也有研究和文献价值, 适用于中医临床、教学、科研工作者和广大农村医生参考。

releasing of β -TG with photoelectric turbidimetry and RIA methods with blood stasis. The results showed, during the acute phase of stroke, a high activated state of platelet existed, expressed as significant elevation both of the amount of β -TG releasing of post-aggregation and plasma β -TG level. However, no definite correlation between rate of PA and subsequent amount of β -TG releasing was found, and detection of aggregation rate alone did not disclose truly the state of activation. As compared with the acute phase, during the recovery stage of stroke in which the clinical symptom of blood stasis was improved, the plasma β -TG level declined significantly, however, was still higher than in normal controls; amount of releasing β -TG was declining which denoted that the platelet functions were reducing then, but were still in a higher state of activation. These results suggested that there were changes both in number and quality of platelet in patients with blood stasis.

Key Words blood stasis, platelet aggregation function, platelet releasing function, β -thromboglobulin.

(Original article on page 334)

Clinical and Experimental Studies on Treatment of Severe Facioplegia with Sacrification, Compressing Drug, Acupuncture and Infrared Rays

Jin Wan-cheng(金完成), et al

General Military Hospital of Guangzhou, Guangzhou(510010)

In 160 patients with severe facioplegia detected by the strength-duration curve, partial or complete reaction of degeneration of the facial nerve and its related muscles occurred in 158 patients and no reaction of degeneration in 2 patients. All the patients were arbitrarily divided into 2 groups. One group of 62 patients was treated with the regimen 1: Mianmasan(面麻散) adding acupuncture and the other of 98 patients with the regimen 2: modified Mianmasan adding acupuncture and red lighting. The treatment concretely was an application method by dusting the Mianmasan, over the scarified skin corresponding to the selected acupoints and motor points, and finally stick a piece of adhesive plaster on them. The clinical experiment was carried out by using double contrast method, i. e., autogenous and allogenic contrasts with ear pulse wave and skin temperature records. It was confirmed that the affected side of the face had chronic tissue ischemia and returned to normal after treatment. The results showed that among 160 treated patients, 70(43.8%) were cured, 46 (28.7%) markedly improved, 43 (26.9%) improved and 1 (0.6%) remained ineffective. By the statistical analysis, it was demonstrated that the curative effect of regimen 2 was superior to that of regimen 1 ($P < 0.01$), and the effective rate in the patients with partial reaction of degeneration was higher than that in those with complete reaction of degeneration ($P < 0.05$).

Key Words severe facioplegia, compressing drug, acupuncture, red light, strength-duration curve.

(Original article on page 337)

Changes of T Lymphocyte Subsets in Patients with Orthopedic Trauma and Effects of Yipanzhu Decoction(一贯珠汤)on the Impaired Immune Function

Wan Sheng-xiang(万圣祥), Yang Jia-yu(杨家玉), Liu Shao-chun(刘绍春)*, et al

Xiehe Hospital/ Dept. of Pathology, Tongji Medical University, Wuhan(430022)*

The effects of Yipanzhu decoction (YD) on immune function in 40 patients [2 groups, YD and normal saline (NS) group] with orthopedic trauma by taking T lymphocyte subsets as indexes were observed. The peripheral venous blood samples randomly taken from 30 healthy subjects served as control. The blood were collected within 24 hours after trauma. Then the YD and NS were respectively given to the patients in the 2 groups for 3 days, and the blood were harvested 4th, 7th, 14th day after trauma for the observation of T subsets. The results revealed that before administration of YD the percentage of pan-T cells was reduced with an increased percentage of Ts cells and a decreased ratio between Th and Ts cells; 3 days after giving the drugs in YD group the percentage