

脾虚证患者部分细胞和局部免疫功能指标的测定

天津市中西医结合急腹症研究所(天津 300100)

丁洁 吴威中 薛小平

内容提要 本实验对 30 例脾虚证和 20 名正常人的末梢血 OKT 系统 T 细胞亚群分类、淋巴细胞体外白细胞介素 2 (IL2) 的分泌功能及局部免疫功能——唾液中分泌型免疫球蛋白 A (SIgA) 进行测定。结果: 脾虚证患者与正常人相比, 末梢血中 T 淋巴细胞总数 (T_E)、辅助性 T 细胞 (T_H) 明显减少, 抑制性 T 细胞 (T_S) 相对增多, T_H 与 T_S 比值异常, 单位淋巴细胞体外分泌 IL2 功能无明显改变; 唾液 SIgA 水平在酸刺激前明显高于正常人, 负荷实验储备力降低。说明脾虚证患者细胞免疫功能降低, 免疫调节机制紊乱, 免疫抑制占优势, 消化道局部免疫功能低下。

关键词 脾虚 OKT 单克隆抗体 白细胞介素 2 分泌型免疫球蛋白 A

中医认为“脾开窍于口”、“脾主涎”、“涎为脾液”。本文通过对脾虚患者唾液中 SIgA 的测定研究脾虚患者局部免疫机能的盛衰。

资料与方法

病例选择: 中医辨证为脾虚证患者 30 例。其中西医诊断为消化系统疾病 28 例(胆囊炎、胆石症 9 例, 急性水肿性胰腺炎 5 例, 慢性腹泻 5 例, 消化性溃疡 3 例, 急性单纯性肠梗阻 3 例, 慢性胃炎 2 例, 胆总管囊性扩张 1 例); 乳腺癌 1 例; 腮腺脂肪瘤 1 例。以上做为实验组, 男女之比为 14:16, 年龄 26~68 岁之间, 平均 45.7 岁。20 名正常献血员及健康家属做为对照组。

脾虚辨证标准: 参照 1982 年在广州召开的“全国中西医结合虚证与老年病防治学术会议”上确定的“中医虚证辨证参考标准”, 具备以下三项者为脾虚: (1) 食欲减退。(2) 食后或午后腹胀。(3) 大便溏薄。(4) 面色萎黄。(5) 肌瘦无力。兼伴以下三项者为脾气虚: (1) 神疲乏力。(2) 少气懒言。(3) 自汗。(4) 舌胖有齿印。(5) 脉虚无力。本文主要讨论脾气虚(简称脾虚)

淋巴细胞悬液的制备: 无菌取人外周血

8 ml, 肝素抗凝(75u/ml)室温静置数分钟, 充分抗凝。Hank's 液对倍稀释, 沿管壁分别滴入 2 个装有 4 ml 的淋巴细胞分层液(上海试剂二厂, 870404) 的玻璃管中, 静置 5 min, 离心 2500rpm 20min (HITACHI 20PR-52D)。将白细胞层吸入无菌试管, Hank's 洗 2 次, 1700rpm 5 min, 10% FCS RPMI 1640 完全培养基调细胞浓度为 1×10^5 个/ml 和 1×10^6 个/ml。(FCS, 胎牛血清, 天津生化制品厂, 19262; 1640 干粉: Serva Feinbiochemica Heidelberg)。

OKT 单克隆抗体 (OKT McAb) 检测人外周血 T 细胞亚群: 采用间接免疫荧光法 (IFA)。将 1×10^6 /ml 淋巴细胞悬液加到 48 孔板中, 加 3 孔, 每孔 $10 \mu\text{l}$, 分别加 Wu 系列相当于 OKT3, OKT4, OKT8 McAb $50 \mu\text{l}$, (卫生部武汉生物制品所), 4°C , 30min, PBS 洗 1 次, 1000 rpm 5 min, 弃上清, 加兔抗鼠 (R-M) IgG-FITC $50 \mu\text{l}$, 4°C , 30min (卫生部武汉生物制品所), PBS 洗 2 次, 1000rpm, 5 min, 再加 60% 甘油 PBS $5 \mu\text{l}$, 点片, 荧光显微镜下计数 200 个淋巴细胞中荧光阳性细胞百分率(%)。

人外周血 IL2 的制备及活性测定: 将 1×10^6 /淋巴细胞悬液加入 24 孔板中, 加 2~3 孔, 每孔 1 ml, 加入植物血凝素 (PHA; 广州医药工业研究所 850207) $150 \mu\text{g}/\text{ml}$, 置 37°C ,

5%CO₂孵箱培养48h,离心取上清,即为粗制IL2,置-60℃保存待测。活化C₂₇BL/6纯系鼠脾细胞做为IL2依赖细胞株,用³H-TdR掺入法(³H-TdR购于北京原子能研究所),液闪分析仪计数标本中cpm的值(液闪分析仪,PACKARD 2000CA)。以下式计算增殖指数(GI):

$$GI = \frac{\text{加 IL2 孔 cpm 均值}}{1640 \text{ 对照孔 cpm 均值}}$$

唾液的收集:晨起空腹收集自然流出唾液1ml,做为刺激前标本(SIgA₁)。再用2片1cm²的柠檬酸纸片舌尖含数秒钟,收集唾液1ml,做为刺激后标本(SIgA₂)。-10~20℃保存1周内待测。柠檬酸纸片的制备:1cm²普通滤纸于1g/ml的柠檬酸溶液中浸泡1h,烘干备用。

检测方法:唾液SIgA选用Beckman微量免疫化学分析仪ICS-I型标本原倍检测。

统计学处理:DTS-033微型计算机方差分析。

结 果

在OKT系统T淋巴细胞亚群分类中,OKT3⁺代表外周血T淋巴细胞总数,OKT4⁺代表T_H,OKT8⁺代表T_S。测定结果,与正常对照组相比,脾虚组T淋巴细胞总数、T_H细胞明显减少($P<0.01$),T_S绝对值无明显改变,然而与总体相比相对增加。T_H与T_S细胞数之比超过正常范围,绝大多数呈现倒置。另外出现了少量OKT4⁺、OKT8⁺双标记细胞。这与以往报道一致^(1,2),见表1。脾虚患者与正常人相比,酸刺激前唾液中SIgA₁水平明显增加。刺激后两组均呈下降趋势,脾虚组下降程度较正常组有显著性差异,见表2。

表1 脾虚患者和正常人OKT系统T淋巴细胞亚群分类 ($\bar{x} \pm S$, %)

组别	OKT4	OKT8	OKT4/OKT8
脾虚	26.45±6.59	21.89±5.81	1.33±0.54
正常	37.11±2.25	22.09±1.79	1.69±0.17
P值	<0.01	<0.05	<0.01

表2 脾虚患者和正常人酸刺激前后唾液SIgA水平 (mg/dl, $\bar{x} \pm S$)

组别	例数	SIgA ₁	SIgA ₂ -SIgA ₁
脾虚	30	12.234±9.407	-5.946±7.369
正常	20	7.376±2.933	-2.593±2.948
P值		<0.01	<0.05

脾虚患者体外PHA刺激单位淋巴细胞分泌IL2的能力($\bar{x} \pm S$ 为1.639±0.868)与正常人(1.587±0.926)相比无显著性差异($P<0.05$)。

讨 论

最初的报道^(3~5)认为,人外周血T细胞可分为OKT4⁺和OKT8⁺两个亚类,分别占T细胞总数的55~65%和30~40%。近来的研究证明,T淋巴细胞是一个具有多功能的细胞群体,按其在免疫应答中的功能不同,可将T细胞分成若干亚群,其中T_H和T_S是两类重要的细胞亚群,两者相互协调,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。

OKT单克隆抗体对精确分类T细胞亚群,探讨疾病与免疫失调关系提供了可靠的研究方法。本文实验结果显示脾虚患者末梢血T淋巴细胞总数和T_H细胞明显减少,T_S细胞相对增多,T_H与T_S比值超过正常范围,绝大多数出现倒置,单位淋巴细胞IL2分泌水平无明显改变,但由于T_H细胞数的降低,推测体内IL2含量也下降。有人认为免疫抑制细胞T_S数量的增加及功能的亢进是引起细胞免疫低下的重要因素⁽⁶⁾。本研究证明,脾虚证患者细胞免疫功能下降,免疫调节机制紊乱,免疫抑制占优势,这与临床上一些症状也是相一致的。但细胞免疫功能低下是该证的病因还是结果,目前还很难说清楚。有待更深入地开展研究。

文献报道,小肠粘膜有一种类淋巴细胞,可吸收肠道的各种抗原,在其下方的集合淋巴结内母细胞化,再经肠系膜淋巴结进一步分化,然后以浆母细胞的形式经胸导管进入血液

循环, 选择性地“归巢”在唾液腺等固有膜上, 在此再分化为成熟的 SIgA 分泌细胞, 分泌 SIgA 于唾液中^(7,8)。因此, 肠道中抗原的质和量直接影响唾液中 SIgA 的质和量。同时, 口腔中抗原也可直接引起唾液腺 SIgA 的分泌。本文在排除口腔抗原直接作用的前提下, 观察患者柠檬酸刺激前唾液中 SIgA1 水平明显高于正常对照组, 负荷实验结果 Δ SIgA (SIgA2-SIgA1) 的下降幅度也比正常对照组大。这与以往报道是一致的⁽⁹⁾。据此我们推论脾虚证患者 SIgA 的增高是由于该类患者消化道局部免疫防御能力减弱, 使肠道正常菌群和食物成为抗原, 通过损伤的粘膜使机体致敏, 引起 SIgA 的代偿性分泌增加。但由于负荷实验所得 Δ SIgA 值下降幅度很大, 说明其分泌 SIgA 的储备力很差, 表明脾虚患者实质上局部免疫功能低下。

从实验结果我们还发现: 酸刺激后两组被检者的 SIgA 不仅不升高, 反而下降。从理论上分析, 正常情况下食物或进食动作均能刺激消化腺分泌活跃, 以保证食物得以顺利消化。如果进食后消化液的质和量不相应提高, 反而下降, 则营养物的消化吸收势必受到影响。因此, 从理论上讲选择唾液腺对柠檬酸的反应作为判断消化系统状态的指标可能是可取的⁽¹⁰⁾。但实验结果恰恰相反, 而且国内的学者也有过报道⁽¹¹⁾。我们考虑这可能与柠檬酸刺激人的唾液腺分泌的质和量的程度不同有关, 可能存在增加的唾液量对不同程度提高的 SIgA 有稀释作用。另外考虑唾液通过酸的刺激可迅速增加, 但免疫物质的形式与释放应当是一个缓慢

的过程, 用急性实验不易反映免疫状态的变化。因此, 我们认为单纯采用柠檬酸刺激后唾液 SIgA 水平来反映机体局部免疫状态不一定能反映消化系统免疫功能的实际情况。

参 考 文 献

1. Mingari MC, et al. Cellular interactions of human T cell subsets defined by monoclonal antibody in Regulating B cell differentiation: a comparative study in *in vivo* and *in vitro* water-soluble mitogen- and pokeweed mitogen-stimulated culture systems. *J Immunol* 1982; 128:899.
2. Blue ML, et al. Coexpression of T4 and T8 on peripheral blood T cells demonstrated by two-color fluorescence flow cytometry. *J Immunol* 1985; 134: 2281.
3. Reinherz EL, et al. Separation of functional subset of human T cells by a monoclonal antibody. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76: 4061.
4. Reinherz EL, et al. A monoclonal antibody reactive with the human cytotoxic/suppressor T cell subset previously defined by a heteroantiserum termed TH₁. *J Immunol* 1980; 124:1301.
5. Thomas Y, et al. Functional analysis of human T cell subsets defined by monoclonal antibodies. *J Immunol* 1980; 125:2402.
6. 张学庸, 等. 用 Ia 和 OKT 单克隆抗体研究胃癌和食管癌病人的免疫功能. *中华消化杂志* 1988; 8 (3):169.
7. Goldblum RM, et al. Antibody-forming cells in human colostrum after oral immunization. *Nature (L)* 1975; 257:797.
8. Craig SW, et al. *J Exp Med* 1971; 134:188.
9. 李振华, 等. 脾胃气虚本质的研究. *河南中医* 1986; 3: 1.
10. 许长照, 等. 脾虚患者唾液 SIgA 含量测定. *南京中医学院学报* 1985; 3:43.
11. Davenport HW. 消化道生理学. 第1版. 北京: 科学出版社, 1976:123.

桃树皮、枇杷树皮浸泡液治疗扁平疣66例

解放军第173医院(广东惠州 516001) 何和平 高巨广 朱开行

一般资料 本组66例, 男性21例, 女性45例, 年龄: 16~22岁; 病程最长2年6月, 最短2个月, 平均8个月。全部发生于颜面部及手背。皮损绿豆大及针尖大小不等。色泽近似正常皮肤, 稍淡及稍高于皮肤。

治疗方法 制作药液, 取新鲜桃树皮和枇杷树皮各20g, 去外层表皮, 切碎浸泡于75%酒精200ml,

1周后即可使用。用温热水洗净患处, 将浸泡液内涂患处, 每日2次, 1~2周为1疗程。

结果 本组66例全部治愈, 治愈时间1~2周, 大多在1周内治愈。一般用药1~2周后, 无新病灶出现, 原有病灶缩小, 脱落, 1月内病灶完全消失。

Abstracts of Original Articles

Comparative Study of Chuanxiong and Dextran 40 in the Treatment of Acute Cerebral Infarction

Chen Da-ren(陈达仁), et al

Department of Neurology, Changhai Hospital, Second Military Medical College, Shanghai (200433)

This paper reports the results of a double-blind trial in 220 patients with acute cerebral infarction evidenced by CT, who were randomly divided into *Ligusticum chuanxiong* group (134 cases) and low molecular weight dextran group (86 cases). A weighted scoring system was adopted to evaluate the neurologic function and living capability. The results showed that the total therapeutic efficacy rate in Chuanxiong group and in dextran 40 group were 86.6% and 62.8% respectively. The effect of Chuanxiong on the treatment of acute cerebral infarction was superior to low molecular weight dextran and the difference between the two groups was statistically significant ($P < 0.01$).

Key Words Chuanxiong, dextran 40, acute cerebral infarction

(Original article on page 71)

Clinical and Experimental Study of Semen-Persical Decoction for Purgation with Addition in Type II Diabetes Mellitus

Xiong Man-qi(熊曼琪), et al

Guangzhou College of TCM, Guangzhou (510407)

This paper reported the results of clinical observation on a treatment with Semen Persical decoction for purgation with addition (SPDPA) in type II diabetes mellitus. The effective rate of SPDPA on 106 cases of noninsulin dependent diabetes mellitus (NIDDM) was 79%. The efficiency of SPDPA was equivalent to glyburide. From the experimental study, it can be concluded that SPDPA could reduce blood sugar and relieve symptom in diabetic patients and rats. Its mechanism may be due to improving secretion of insulin, inhibiting production of glucagon, repairing insular endocrine cell, increasing endocrine pellet of insular B cell and improving composition of hepatic glucogen. In traditional Chinese medicine theory, the mechanism of therapeutic action of SPDPA in diabetes mellitus is based on synergistic regulation of benefiting Qi(气) and nourishing Yin(阴), activating blood circulation to dissipate blood stasis and loosening the bowel to relieve constipation.

Key Words Semen Persical decoction for purgation, pharmacodynamics, type II diabetes mellitus, traditional Chinese medicine therapy

(Original article on page 74)

Determination of Partially Cellular and Local Immune Function in Patients with Spleen Deficiency Syndrome

Ding Jie(丁洁), Wu Xian-zhong(吴咸中), Xue Xiao-ping(薛小平)

Tianjin Institute of Acute Abdominal Diseases, Tianjin (300100)

The immune function status as reflected by the peripheral blood OKT system T cell subset classification and the lymphocyte in vitro interleukin 2 (IL2) secretory function were determined in