

• 临床论著 •

免疫性血小板减少性紫癜免疫学改变 与中医证候分型的关系

中国中医研究院西苑医院血液病研究室(北京 100091)

杨宇飞 周霭祥 麻 柔 郑金福 公殿广 薛向军

内容提要 为探讨免疫性血小板减少性紫癜(ITP)中医证候分型与免疫学改变关系,应用APAAP桥联酶标技术和双抗夹心ELISA法,测定了66例ITP患者与53名健康对照者外周血T淋巴细胞亚群(T亚群)、成熟B淋巴细胞、NK细胞、血小板相关抗体(PA Ig)和血浆抗血小板膜糖蛋白自身抗体,分析了它们与中医辨证分型、年龄、血小板计数、病程和免疫球蛋白间的关系。结果显示:T亚群和PA Ig的改变与中医证型密切相关。按血热妄行型→气血两虚型→脾肾阳虚型→肝肾阴虚型→阴阳两虚型的顺序,T亚群和PA Ig改变逐渐明显,年龄与病程依次递增,和各型轻重程度相吻合。中医各证型间不仅差异显著,还各有特点。证实ITP中医辨证分型的客观性和科学性。

关键词 血小板减少性紫癜 中医证型 T淋巴细胞亚群 血小板相关抗体 抗血小板膜糖蛋白自身抗体 B细胞 NK细胞

现代免疫学研究表明:ITP为自身免疫性疾病,其体液免疫和细胞免疫系统均有明显改变。为探讨ITP免疫学改变与中医辨证分型的关系,我们进行了一些研究,现报告如下。

资料与方法

一、观察对象:66例ITP患者均为1990年5月~1991年12月我院血液科门诊及住院患者。男24例,女42例;儿童10例,成人56例;年龄5~64岁,平均31.8岁;病程最短1个月,最长18年,平均42个月。其中初治5例,复治61例;急性型9例,慢性型48例,慢性型急性发作期9例;57例就诊前曾接受过系统泼尼松治疗无效或治疗有效后又复发(其中32例正在减量治疗过程中)。66例患者血小板计数为 $38.6 \pm 22.5 \times 10^9/L$ 。全部病例均符合1986年首届全国血栓与止血学术会议制订的ITP诊断标准⁽¹⁾。健康对照组共53名,均系健康自愿献血者,男25名,女28名,年龄22~65岁,平均32岁。外周血血小板计数均 $<100 \times 10^9/L$ 。

二、方法

1. T淋巴细胞亚群检测:采用APAAP桥联酶标法。由军事医学科学院第三研究所提供药盒及单克隆抗体(McAb)。McAb T₁₁(CD₂)、T₄(CD₄)、T₈(CD₈)、H₃₆₀、SmIg($\kappa + \lambda$)分别识别全部T、Th、Ts、NK细胞和成熟B细胞。T₄⁺双标记阳性细胞测定及计算方法以及其他检测方法见文献^(2,3)。

2. 血小板相关抗体PA IgG、PA IgA、PA IgM检测:采用双抗夹心ELISA法。由南通医学院血液研究室提供McAb和药盒。测定方法详见文献⁽⁴⁾。

3. 血浆抗血小板膜糖蛋白(GP)IIb、IIIa、Ib自身抗体检测:采用双抗夹心ELISA法,由苏州医学院血栓室提供McAb及药盒。McAb SZ-21、SZ-22、SZ-2分别识别血小板膜抗原。测定方法详见文献⁽⁵⁾。

三、中医证候分型:参考1984年全国中医内科学会关于ITP分型标准及文献⁽⁶⁾略加修订:(1)血热妄行型:起病急骤,出血量大而猛,紫癜色鲜红而密集,舌红,脉数有力。无气血阴阳虚损见症。病程在1年以内。可伴见畏热

汗出,烦躁咽痛,便干溲赤,口干喜冷饮。此型多见儿童及急性ITP患者。部分病例迁延超过1年可向以下几型转化。(2)气血两虚型:起病徐缓,出血量少色淡渗渗不止,月经后延。紫癜色淡红而稀疏,时隐时现。头晕乏力、心悸、气短自汗,活动后诸症加重,舌淡苔白,脉细。(3)脾肾阳虚型:除见气血两虚型各种表现外,必见畏寒怕冷,舌体胖大有齿痕,脉沉迟。病程多在2年以上,女性患者多见。可伴有腹胀、便溏、浮肿、腰酸等脾肾阳虚表现。(4)肝肾阴虚型:出血量大而猛,经期提前,量多色暗红,紫癜呈暗红色,下肢多见。手足心热,盗汗,口干,便干,舌红绛少苔或光苔,脉细数。病程多超过3年,可伴有肝肾阴虚诸症。(5)阴阳两虚型:病程3年以上,病势较急,出血部位广泛而严重,既可见畏寒,又可见五心烦热盗汗,多表现为上热下寒,阳虚阴虚症状杂见。均为久治不愈,有严重激素合并症或慢性型急性发作期患者。

四、统计学处理:采用t检验, F 检验, Duncan q 检验, 直线相关分析法。

结 果

一、ITP 患者外周血淋巴细胞亚群:与正常人比较改变明显,经t检验 T_4 (Th) 下降, T_8 (Ts) 上升, T_4/T_8 减低, $T_4^+T_8^+$ 双标记阳性细胞增多 (P 均 <0.001)。NK 细胞减少 ($P <$

0.05)。但 T_{11} 与成熟B淋巴细胞无明显改变 ($P > 0.05$)。

二、不同中医证型间T亚群有明显改变。经F及q检验按血热妄行型→气血两虚型→脾肾阳虚型→肝肾阴虚型→阴阳两虚型顺序, T_8 依次增高, T_4/T_8 渐次降低。在血热妄行型和气血两虚型中, T_4/T_8 虽降低但不倒置;从脾肾阳虚往后各型, T_4/T_8 倒置并逐渐加重;在脾肾阳虚型中, T_4 下降最为显著,但 $T_4^+T_8^+$ 增多和NK细胞减少最不明显。肝肾阴虚型反之, T_4 下降不明显,以 $T_4^+T_8^+$ 增多和NK细胞减少最为显著,同时 T_8 明显升高,详见表1。

三、ITP患者PAIg:和正常人相比均显著增高(t检验 $P < 0.001$)。中医各证型间F及q检验,按气血两虚型→血热妄行型→脾肾阳虚型→肝肾阴虚型顺序,PAIgA、PAIgM、PAIgG渐次增高。但在阴阳两虚型,除PAIgA外,PAIgG、PAIgM与正常对照组无差异,显示此型特殊性。

四、ITP患者血浆抗血小板GP II b、GP III a、GP I b自身抗体均增高(t检验, $P < 0.001, 0.05, 0.01$)。经F及q检验,按脾肾阳虚型→气血两虚型→血热妄行型→阴阳两虚型→肝肾阴虚型顺序渐次增高,但组间统计学差异不明显。详见表2。

五、对55例ITP患者NK细胞,成熟B淋巴细胞、PAIg、免疫球蛋白IgG、IgA、IgM结果进

表1 55例ITP 中医分型与淋巴细胞亚群的关系 (% , $\bar{x} \pm S$)

组 别	例数	T_{11}	T_4	T_8	T_4/T_8	$T_4^+T_8^+$	NK	SmIg
正常对照	25	64.7±7.8	40.8±5.1	24.3±4.5	1.79±0.45	3.4±2.3	4.6±2.7	9.7±2.3
ITP 总	55	66.6±9.4	35.0±7.9 [△]	38.1±7.4 [○]	0.99±0.30	16.3±10.1 ^{**}	1.6±2.4 ^{**}	8.9±3.9
血热妄行型	11	66.1±10.8	37.6±8.6 [△]	29.0±8.0 ^{▲▲○}	1.35±0.60 ^{**△△○}	14.7±12.7 ^{**}	1.6±2.4 ^{**}	9.6±4.4
气血两虚型	16	67.9±8.1	37.9±9.8 [△]	32.3±5.7 ^{**▲▲○}	1.22±0.39 ^{**▲▲○}	14.8±11.4 ^{**}	2.5±3.0 ^{**▲}	8.6±4.2
脾肾阳虚型	8	64.5±7.7	29.6±6.6 ^{**}	35.4±7.7 ^{**▲▲}	0.83±0.22 ^{**}	11.5±6.6 ^{**}	1.7±2.7 ^{**}	9.6±3.6
肝肾阴虚型	9	68.1±7.3	37.5±6.5 [△]	46.5±5.7 ^{**}	0.82±0.17 ^{**}	23.5±8.7 ^{**△}	0.3±0.4 ^{**}	8.6±4.6
阴阳两虚型	11	66.4±13.2	32.7±8.4 [*]	47.2±10.0 ^{**}	0.69±0.14 ^{**}	17.3±11.2 ^{**}	1.6±2.4 ^{**}	8.8±3.4

注:与对照组比较* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与脾肾阳虚组比较 $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与肝肾阴虚组比较 $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与阴阳两虚比较 $\circ P < 0.01$

表2 66例ITP中医分型与PAIg和血浆抗血小板GP自身抗体的关系 ($\bar{x} \pm S$)

组别	例数	PAIgG	PAIgA	PAIgM	抗GPIIb自身抗体(%)	抗GPIIIa自身抗体(%)	抗GPIb自身抗体(%)
		ng/10 ⁷ pt					
正常对照	28	1.21±0.13	1.11±0.01	1.12±0.11	72.5±23.2	61.9±29.8	55.9±29.5
ITP 总计	66	1.67±0.48 ^{**}	1.44±0.44 [*]	1.32±0.29	120.8±93.9	81.9±76.6	87.2±94.4
血热妄行	13	1.39±0.32 ^{△△△}	1.44±0.43 [*]	1.24±0.19 ^{△△}	114.9±53.2	80.2±57.1	61.1±23.3
气血两虚	21	1.55±0.35 ^{△△*}	1.26±0.29 [*]	1.20±0.17 ^{△△}	97.8±56.9	64.7±44.9	85.8±61.2
脾肾阳虚	10	1.73±0.56 ^{△△**}	1.47±0.46	1.35±0.27 ^{△*}	104.5±44.7	64.1±30.2	57.9±29.8
肝肾阴虚	12	2.40±0.88 ^{**}	1.55±0.48 ^{**}	1.57±0.56 ^{**}	163.7±192.4 [*]	100.9±145.6	120.6±221.8
阴阳两虚	10	1.29±0.30 ^{△△△△}	1.48±0.54 [*]	1.23±0.24 [△]	123.2±122.4	99.7±105.0	110.4±135.6

注: PAIg各栏内数字均经log (X+10)变量交换, 经F及Duncan检验, 抗GPIIb、IIIa、Ib自身抗体无明显组间差异; 与对照组比较, *P<0.05, **P<0.01; 与肝肾阴虚组比较, △P<0.05, △△P<0.01; 与脾肾阳虚组比较, ▲P<0.05, ▲▲P<0.01

行统计学处理, 未发现上述结果间有相关关系。

六、56例ITP患者外周血血小板计数与PAIg有显著负相关性(P均<0.01)。病程和年龄按血热妄行型→气血两虚型→脾肾阳虚型→肝肾阴虚型→阴阳两虚型顺序逐渐递增。

七、对未用泼尼松治疗的9例患者(3例复治)与25例正在服用泼尼松治疗的ITP患者的PAIg、T_H、T_S结果进行统计学处理, 未见明显差异。

讨 论

ITP为血液科常见多发病^[13], 根据临床表现归于中医“血证”、“发斑”范畴, 发病机理不详, 亦无有效根治手段。近年来因缺乏统一的中医辨证分型, 不能对中医药治疗ITP疗效进行科学对比与准确判断。本实验选择现代免疫学公认指标, 对ITP中医辨证分型进行探讨, 以期实现对ITP中医证型的客观化、标准化。

国内外文献报道: ITP不仅有一种以上的抗血小板抗体增高, 血小板计数与PAIg有显著负相关性^[4,5,7,8], 还表现为T_H下降, T_S增高, T_H/T_S减低, T_H+_S增多和NK细胞减少, 未发现成熟B淋巴细胞和Tpan有改变^[3,9,10]。本文结果与上述结论相符。

基础研究表明: ITP为自身免疫性疾病, 其自身抗血小板抗体的多样性和抗体作用部位的多样性提示ITP是一种多因素“杂源性”综合征^[11], 故目前尚无一种理想疗法可治疗全部ITP患者。所以探讨中医证型病理基础和辨证施治十分必要。对ITP的中医分型虽各家不统一, 但不外虚证与实证两大类。实证病机为血热妄行或瘀血阻络; 虚证病机为气不摄血或脾肾阳虚、肝肾阴虚。以上各型在文献中所占比例为: 血热妄行6%, 气虚47%, 瘀血21%, 阳虚15%, 阴虚11%^[12], 按此思路辨证分型, 未发现免疫学改变有明显组间差异。考虑到瘀血是贯穿本病发展全过程的病理现象, 出血与紫癜本身即属瘀血范畴, 故删去此型。又发现临床有一类ITP患者, 病程长, 病势重, 疗效差, 阳虚与阴虚见症同时可见, 将之单归阴阳两虚型。这样分为五型, 发现免疫学改变有明显组间差异: (1)按血热妄行型→气血两虚型→脾肾阳虚型(阳虚型)→肝肾阴虚型(阴虚型)→阴阳两虚型顺序, T亚群改变依次加重, 组间差异显著。但从临床症状、血小板计数、病程和疗效来分析, 此顺序并非疾病传变规律, 仅反映了各型病情轻重及治疗难易程度。(2)中医理论认为, 阴阳是人体生理病理的物质基础, 其动态平衡决定了人的体质及疾

病的发生与否。而现代免疫学则认为, ITP 发病机制可能与机体免疫内环境平衡紊乱有关。免疫调节细胞(Th、Ts)是决定机体内环境稳定的中心环节, 两者之间动态平衡决定了免疫反应的发生与否与发生类型。同时认为, $T_4^+8^+$ 双标记阳性细胞可能为功能和表型均未完全成熟提前释放入血的胸腺细胞, 在一定内外条件刺激下可失去其中一个抗原, 变为 $CD_4^+8^-$ 或 $CD_4^-8^+$ 细胞, 从而改变Th/Ts比值⁽³⁾。从本文结果可以看出, Th、Ts和 $T_4^+8^+$ 变化与阴阳消长规律一致。血热妄行与气血两虚型, Th、Ts变化均在正常范围内; 阳虚型Th减低最为显著, 阴阳两虚型次之; 阴虚型和阴阳两虚型Ts升高最为明显。同时发现, $T_4^+8^+$ 双标记阳性细胞在阴虚型增多最为显著, 在阳虚型则反之。T亚群与阴阳的关系值得进一步探索。(3)中医认为: 气血为阴阳的物质基础, 病及五脏气血者与病及五脏阴阳者有轻重之别。以上理论亦被T亚群变化所证实, 在Th/Ts变化上尤为明显: 血热妄行和气血两虚型, Th/Ts虽有下降, 但未倒置; 从阳虚型往后各型, Th/Ts倒置并顺序加重。提示Th/Ts可做为客观指标指导中医分型。(4)阴阳两虚型病程最长, 病情最重, 免疫学紊乱最为明显, 疗效亦最差。提示阳损及阴和阴损及阳导致的阴阳两虚阶段为疾病严重阶段, 其PAIgG、PAIgM较其他各型反而下降。证实ITP发展至阴阳两虚阶段其血小板减少的原因, PAIgG、PAIgM变化已不是中心环节, 可能另有其他病理过程参与, 值得进一步研究。NK细胞与T亚群关系及在ITP发病机制

中的作用尚待进一步探讨。

本文结果显示: ITP中医辨证分型是有其客观物质基础的, 各型的免疫学改变既可作为ITP中医辨证分型客观指标的参考依据, 又可用于判定预后, 指导临床治疗。

参 考 文 献

1. 张之南, 等. 血液病诊断及疗效标准. 天津: 科学技术出版社, 1990:245.
2. Hanson CA, et al. Immunophenotyping of acute myeloid leukemia using monoclonal antibodies and the alkaline phosphatase-anti-alkaline phosphatase technique. Blood 1987; 70:83.
3. 宋理君, 等. 用 OKT 单克隆抗体检测慢性特发性血小板减少性紫癜患者外周血T细胞及其亚群. 中华内科学杂志 1989; 28(6):364.
4. 徐静山. PAIgG测定在血小板减少性疾病中临床意义. 中华血液学杂志 1985; 6(3):138.
5. Woods VL, et al. Autoantibodies against the platelet glycoprotein IIb/IIIa complex in patients with chronic ITP. Blood 1984; 63:368.
6. 赵金铎. 中医症候鉴别诊断学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 1987:47—171.
7. 杨锦媛. 原发性血小板减少性紫癜免疫学诊断的研究. 中华血液学杂志 1987; 8(5):260.
8. 胡昌军. 应用免疫沉淀法研究ITP抗体及相关抗原. 中华血液学杂志 1987; 8(5):257.
9. Myloaganam R, et al. Depressed functional and phenotypic properties of T but not B lymphocytes in ITP. Blood 1988; 71(5):1455.
10. 宋理君. T细胞亚群分布的测定及临床意义. 国外医学. 临床生化及检验分册 1989; 10(4):9.
11. 王兆敏. 血小板研究进展. 中华血液学杂志 1990; 11(4):216.
12. 黎得洁. 原发性血小板减少性紫癜中医研究近况. 中医药研究 1989; (2):42.

• 读者 • 作者 • 编者 •

新斯的明穴位注射治疗 术后顽固性尿潴留 1 例

空军福州医院理证科 王建梅

笔者采用俞氏法[中西医结合杂志 1984; 4(11):696]治疗胃大部切除术后顽固性尿潴留 1 例, 效果良好, 介绍如下。

任某, 女, 52岁, 1991年6月因胃癌在连续硬膜

外麻醉下行胃大部切除术, 术后8天不能自行排尿。查体: 膀胱极度充盈, 肌张力强, 少腹触痛剧烈, 留置导尿管, 寢食极差。曾先后行少腹按摩、热敷、新斯的明肌肉注射、艾条、针灸穴位治疗, 均因神经性膀胱麻痹效果不佳。术后第8天拆线, 伤口愈合良好, 但仍不能自行排尿。经用2ml(0.5mg)新斯的明注射液注入双侧足三里穴, 15min后出现尿意感, 排出尿液50ml; 30min后又排出120ml, 随后多次自行排尿而愈。

Abstracts of Original Articles

Analysis of the Correlations between Immunological Changes and Syndrome Groups of Patients with Immune Thrombocytopenic Purpura (ITP)

Yang Yu-fei (杨宇飞), et al

Dept. of Hematology, Xiyuan Hospital, China Academy of TCM, Beijing (100091)

To study the relationship between the immunological changes and syndrome (Zheng, 证) groups by TCM of ITP, the T-lymphocyte subsets, B-lymphocyte, NK cell, platelet-associated IgG (PAIgG, PAIgA, PAIgM) and antiplatelet-autoantibodies (GPIIb, GPIIIa, GPIb) of 66 patients with ITP were assayed using APAAP and ELISA method separately. It was found that the T-lymphocyte subsets, PAIg and syndrome groups of ITP were closely related. From the group of blood-heat (Xuerewangxing, 血热妄行) to the group of deficiency of both Qi and blood (气血两虚), the group of asthenia of both Spleen and Kidney (脾肾两虚), the group of deficiency of Liver-yin and Kidney-yin (肝肾阴虚), and the group of deficiency Yin and Yang (阴阳两虚) T lymphocyte successfully increased (from $29.0 \pm 8.0\%$ to $47.2 \pm 10.0\%$), Th/Ts ratio declined (from 1.35 ± 0.60 to 0.69 ± 0.10), PAIg increased gradually except for PAIgM, PAIgG of the group of deficiency Yin and Yang (阴阳两虚). Only the Th of the group of asthenia of both Spleen and Kidney among 5 syndrome groups was decreased significantly and contrary to the group of deficiency of Liver-Yin and Kidney-Yin. These results indicated that every syndrome group has specific characteristics, and immunological changes of ITP could have prognostic value.

Key Words immune thrombocytopenic purpura, Syndrome (Zheng, 证) group, T-subsets, PAIg, anti-GPAb, NK cell, B-lymphocytes

(Original article on page 263)

Study on Effects of Cordyceps Sinensis (CS) on in Vitro NK Cells

Liu Chao (刘超), Lu Shan (卢珊), Ji Mei-rong (姬美蓉), et al

*Research Unit of Haematology, Huashan Hospital,
Shanghai Medical University, Shanghai (200040)*

The effect of Cordyceps sinensis (CS) on peripheral NK cells from healthy persons and leukemia patients were studied. The results showed that CS could augment the NK cell activity, meanwhile, the dose-dependent effect was found within the range of dosage adopted ($r=0.984$, $P<0.01$; $r=0.988$, $P<0.01$). Furthermore, CS could also improve the CD16 marker expression on lymphocytes and the binding capacity to K562 cells. Cytotoxicity could not present when the PBNCs were co-incubated with CS. These results suggested that CS could be exploited and utilized as an approach of biological responsive modifier therapy (BRMT) in the treatment of leukemia.

Key Words acute leukemia, Cordyceps sinensis, NK cell

(original article on page 267)

The Preliminary Observation of Treatment for Diabetic Retinopathy Utilizing with Nourishing Yin, Tonifying Kidney and Blood Activating Herbs

Deng Ya-ping (邓亚平), Xie Xue-jun (谢学军)

Dept. of Ophthalmology, The Hospital of Chengdu TCM College, Chengdu (610072)

23 cases including 45 eyes of diabetic retinopathy treated with nourishing Yin, tonifying Kidney and blood-activating herbs were presented. The results showed that the serum viscosity and cholesterol were markedly decreased ($P<0.01$), and the implicit times of a-wave and b-wave in flash electroretinogram (F-ERG) were significantly advanced than those of themselves before treatment ($P<0.01$ and $P<0.05$ respectively). The visual acuity in most cases was improved and the effective rate was 64.44%. The therapeutical mechanism for diabetic retinopathy used by nourishing Yin, tonifying Kidney and blood-activating herbs were discussed. The authors suggested that the Chinese