

地黄合剂对多发性硬化患者外周血及脑脊液中 T 淋巴细胞亚群的影响*

高 敏¹ 高 聪² 杨 宁²

多发性硬化(multiple sclerosis, MS)是中枢神经系统原发性脱髓鞘性疾病,病理特点为脑与脊髓的白质中散在的多发性脱髓鞘和继发性胶质增生所形成的硬化斑块。MS的发病机制目前尚未完全清楚,因此,在治疗上仍无特效疗法。1998 年 1 月~2001 年 6 月我们采用地黄合剂治疗 MS,取得较好疗效。本研究将着重探讨地黄合剂对 MS 患者外周血及脑脊液中 T 淋巴细胞亚群的影响。

临 床 资 料

1 诊断标准 诊断依据 Poser 等 1983 年修订的诊断标准^[1]。临床分型参考文献^[2]。

2 资料 所有观察对象分为两组,即治疗组 and 对照组。治疗组 45 例均为门诊及住院 MS 患者,其中男 13 例,女 32 例;年龄 16~59 岁,平均(35.8±11.7)岁;病程 6~36 个月,平均(20.3±6.7)个月;MS 临床分型:良性型 4 例,缓解复发型 34 例,慢性进展型 3 例,缓解进展型 4 例;全部病例均无家族史。对照组 30 例,为神经内科诊治的功能性疾病患者(如血管性头痛、癔病等),其中男 14 例,女 16 例;年龄 18~56 岁,平均(36.4±12.3)岁;30 例均无神经系统阳性体征,亦不伴有全身感染或免疫性疾病。对照组年龄、性别与治疗组比较差异无显著性。

方 法

1 治疗方法 治疗组均服用地黄合剂(由熟地 25g 山萸肉 10g 麦冬 15g 肉苁蓉 10g 白芍 10g 肉桂 3g 胆南星 8g 地龙 10g 郁金 15g 等药物组成,由广州中药一厂加工制作成片剂,每片含生药 1.5g)每次 6 片,每日 3 次口服,1.5 个月为 1 个疗程,连续服用 3 个疗程。其中 32 例患者服药初期仍口服甲基强的松龙 16~40mg/d(晨起顿服)。服用地黄合剂待病情稳定后,甲基强的松龙逐渐减量至停药(0.5~1.5 个月)。

2 检测指标及方法

2.1 T 淋巴细胞亚群检测 治疗组病例在用药前后于晨 8:00 抽取静脉血 1ml 放置有肝素的抗凝瓶中 4℃ 下存放。同时行腰穿取脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)10ml,立即加入 RPMI 1640 完全培养液,两种标本均在 4h 内检测。细胞制备:外周血(peripheral blood, PB):用 Ficoll-Hypaque 分离单个核细胞,用 PBS 将细胞调至 $5 \times 10^6/\text{ml}$,吸取 100 μl 细胞悬液至 4 个塑料试管中,测定管内分别加 20 μl 的抗 CD_3^+ 、 CD_4^+ 、 CD_8^+ 单抗,混匀后孵育 30min;用 2ml PBS/BSA 洗涤 3 次,加 100 μl GAM-Ig-FITC(由深圳晶美生物试剂公司提供)混匀,避光。CSF 处理步骤基本同 PB,不加 Ficoll 分离液,离心要求 200g,10min。流式细胞仪检测。对照组检测方法同治疗组。

2.2 神经功能障碍评分 按 Kurtzke 扩充致残量表(expanded disability status scale, EDSS)评分^[3]。在治疗前、治疗后第 2 周、第 4 周、3 个月各进行临床评估 1 次。分值越高则提示神经功能障碍越严重。

2.3 复发次数 对采用地黄合剂治疗后的 MS 患者进行 1~3 年随访,观察其复发情况。

3 统计学方法 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 统计软件进行 t 检验。

结 果

1 地黄合剂对 MS 患者 PB 中 T 淋巴细胞亚群的影响 见表 1。治疗组治疗前 PB 中 CD_8^+ 细胞显著低于对照组 ($P < 0.01$), $\text{CD}_4^+/\text{CD}_8^+$ 比值明显升高 ($P < 0.01$); CD_3^+ 细胞无显著变化, CD_4^+ 细胞虽有下降趋势,但无统计学意义。采用地黄合剂治疗后,与治疗前比较, PB 中 CD_8^+ 细胞明显升高 ($P < 0.01$),但仍低于对照组 ($P < 0.05$); $\text{CD}_4^+/\text{CD}_8^+$ 比值明显降低 ($P < 0.01$),但仍高于对照组 ($P < 0.05$)。

2 地黄合剂对 MS 患者 CSF 中 T 淋巴细胞亚群的影响 见表 2。治疗组治疗前 CSF 中 CD_3^+ 、 CD_4^+ 细胞明显高于对照组 ($P < 0.01$), CD_8^+ 细胞显著低于对照组 ($P < 0.01$), $\text{CD}_4^+/\text{CD}_8^+$ 比值明显高于对照组

* 广东省科技计划项目(No. 261)及广东省中医药管理局科研项目(No. 100030)部分研究内容

1. 广东省第二中医院神经内科(广州 510095); 2. 广州医学院第二附属医院神经内科

表 1 地黄合剂对 MS 患者 PB 中 T 淋巴细胞亚群的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CD ₃ ⁺	CD ₄ ⁺	CD ₈ ⁺	CD ₄ ⁺ /CD ₈ ⁺
对照	30	66.37 ± 4.30	45.63 ± 4.18	34.47 ± 1.91	1.58 ± 0.30
治疗	治前	65.52 ± 5.75	44.91 ± 3.93	23.50 ± 3.28 *	2.27 ± 0.32 *
	治后	65.78 ± 5.36	46.21 ± 3.85	30.26 ± 2.84 * △	1.76 ± 0.14 * △

注:与对照组比较, * $P < 0.01$; 与本组治疗前比较, △ $P < 0.05$

表 2 地黄合剂对 MS 患者 CSF 中 T 淋巴细胞亚群的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CD ₃ ⁺	CD ₄ ⁺	CD ₈ ⁺	CD ₄ ⁺ /CD ₈ ⁺
对照	30	73.63 ± 3.72	51.39 ± 4.18	33.11 ± 3.52	1.64 ± 0.23
治疗	治前	78.15 ± 6.41 *	58.56 ± 5.14 *	28.46 ± 3.53 *	2.21 ± 0.35 *
	治后	76.56 ± 6.23	54.73 ± 4.72 * △	30.89 ± 3.17 * △	1.89 ± 0.21 * △

注:与对照组比较, * $P < 0.01$; 与本组治疗前比较, △ $P < 0.05$

($P < 0.01$)。采用地黄合剂治疗后,与治疗前比较,CSF 中 CD₄⁺ 细胞明显降低 ($P < 0.05$),但仍高于对照组 ($P < 0.01$);CD₈⁺ 细胞明显升高 ($P < 0.05$),但仍低于对照组 ($P < 0.05$);CD₄⁺/CD₈⁺ 比值明显降低 ($P < 0.05$),但仍高于对照组 ($P < 0.05$)。CD₃⁺ 细胞变化不明显。

3 EDSS 评分情况 采用地黄合剂治疗后,治疗组患者 EDSS 评分从 4.67 ± 1.80 降至 3.21 ± 1.26 ,差异有显著性 ($P < 0.01$)。

4 复发次数 对 30 例采用地黄合剂治疗后的 MS 患者进行 1~3 年随访,观察其复发情况。治疗前复发次数为 (1.02 ± 0.67) 次/年,治疗后复发次数为 (0.16 ± 0.23) 次/年,治疗前后比较差异有显著性 ($P < 0.01$)。

此外,采用地黄合剂治疗期间未发现患者出现不良反应,而且大多数患者以往因服用激素所造成的一些副作用(如柯兴氏征、骨质疏松及白细胞减少等)都有所减轻。

讨 论

多数研究证实,细胞免疫在 MS 的发病机制中占有重要的地位。本研究发现,MS 患者外周血中 CD₈⁺ 细胞显著低于对照组,CD₄⁺/CD₈⁺ 比值明显升高;CSF 中 CD₃⁺、CD₄⁺ 细胞明显高于对照组,CD₈⁺ 细胞显著低于对照组,而 CD₄⁺/CD₈⁺ 比值明显高于对照组。说明(1)MS 患者免疫功能存在异常,T 辅助性细胞水平增高,T 抑制性细胞水平下降。(2)MS 患者 T 淋巴细胞亚群的变化在 CSF 中与自身外周血中差异有显著性,提示 MS 免疫功能的改变主要集中在中枢神经系统。这种外周血及 CSF 中 CD₄⁺、CD₈⁺ 细胞的异常增多或减少,引起 CD₄⁺/CD₈⁺ 比值的异常,可能是 MS 免疫学机制改变的基础。

万方数据

目前国内外对 MS 的治疗仍然主要采用激素或其他免疫疗法。MS 病机特点为本虚标实,证候表现出虚实夹杂。肾虚为本,且以阴虚为主;同时,由于 MS 反复发作及长期使用激素,可使患者机体代谢紊乱,出现高脂血症和高粘血症,进而导致微循环障碍,符合中医学“久病入络”的观点;此外,MS 患者出现的运动障碍,则与痰瘀阻滞经络,气血不荣经脉有关。我们以补肾益精,活血祛瘀通络立法,采用具有阴阳双补功效的地黄饮子进行化裁,加以活血化痰通络之品制成地黄合剂用于 MS 的治疗。研究初步表明,地黄合剂对 MS 患者外周血和中枢神经系统中的异常免疫应答有效,能有效地调节 MS 所致的免疫功能紊乱。

有关中医药防治 MS 的临床研究初步表明⁽⁴⁾;中医药治疗 MS 主要是发挥整体调节作用。中药复方可以产生激素样作用,但又不会引起激素所致的副作用⁽⁵⁾。本研究表明,地黄合剂能减轻 MS 患者神经功能障碍,减少激素的使用量,并能减轻激素所引起的副作用和降低 MS 的复发率,初步提示中药复方地黄合剂在防治 MS 方面具有良好的应用前景。

参 考 文 献

- Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, et al. New diagnostic criteria for multiple sclerosis. Guide lines for research protocols. Ann Neurol 1983;13(3):227—231.
- 孙 怡,杨任民.实用中西医结合神经病学.北京:人民卫生出版社,1999:328.
- Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). Neurology 1983;33:1444—1452.
- 孙 怡.中医药防治多发性硬化的研究.中医杂志 1997;38(2):113—115.
- 周金黄.中药免疫药理学.北京:人民军医出版社,1994:33.

(收稿 2001-08-24 修回 2002-03-15)