DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.16.004


增高而增高($P<0.01$),至100 μg/ml浓度级达最高值。但在10 mg/ml的大剂量过敏原处理后哮喘T细胞IL-5的产生却较几个低浓度组显著降低($P<0.01$),甚至低于对照组IL-5的基础分泌水平,此结果与Derry等[7]所报道的基本一致。表明大剂量过敏原能抑制哮喘T细胞IL-5的产生,从而纠正$Th_1/Th_2$细胞因子的失衡。同时也提示,哮喘对过敏原的免疫耐受缺陷可能通过接触大剂量的过敏原进行纠正,使T细胞产生的IL-5的恢复到正常的水平。

IL-5是$Th_2$细胞产生的代表性细胞因子,具有刺激哮喘患者骨髓的IL-5生成增多,趋化Eos在气道内的聚集,并活化Eos,在哮喘气道炎症的发生发展中起重要作用[8]。因此,大剂量过敏原抑制T细胞IL-5产生是SIT治疗哮喘的机制之一。文献[9]报道,经SIT治疗的患者可出现抗原特异性$Th_2$淋巴细胞的凋亡现象。$Th_2$的凋亡使$Th_1/Th_2$细胞的失衡得到纠正,从而导致$Th_2$细胞因子(如IL-5)的产生减少。在本试验中,我们同时检测了T细胞的凋亡情况。结果显示,不同浓度过敏原处理后T细胞的凋亡率没有变化。其原因可能是过敏原与T细胞在体外培养的时间较短,T细胞尚未发生凋亡。而IL-5产生减少的原因可能是大剂量过敏原导致T淋巴细胞出现不反应性(Anergy)。在此情况下,抗原特异性T细胞虽未发生细胞凋亡,使细胞数量减少,但T细胞处于对变应原不反应的状态,$Th_2$细胞因子生成减少。我们的实验结果给SIT提供了有力的理论依据。但根据免疫学基础理论,大剂量过敏原可使肥大细胞脱颗粒而诱导型变态反应,且随着抗原剂量的增高,可逐步出现$Th_2$细胞应答。我们考虑大剂量过敏原诱导T细胞免疫耐受的途径可能不同与上述二者有所差异。总之,大剂量过敏原应用对哮喘患者免疫耐受机制缺陷的影响还有待更深入和全面的研究来阐明。

参考文献:

[1] 王 群,林江涛,孙洪涛,等. 哮喘患者TH亚群的失衡及与相关细胞因子、肺通气功能改变的相关性研究[J]. 中华结核和呼吸杂志,2000,(3):147-150.

[2] Moverare R, Elfman L, Stalenheim G, *et al*. Study of the $Th_1/Th_2$ balance, including IL-10 production, in cultures of peripheral blood mononuclear cells from birch-pollen-allergic patients[J]. Allergy, 2000, 55(2): 171-175.

[3] Gabrielsson S, Paulie S, Roquet A, *et al*. Increased allergen-specific $Th_2$ responses *in vitro* in atopic subjects receiving subclinical allergen challenge [J]. Allergy, 1997, 52(8): 860-865.

[4] Major M, Bertacco S, Piccoli M L, *et al*. Specific immunotherapy down-regulates peripheral blood CD4 and CD8 T-lymphocyte activation in grass pollen-sensitive asthma[J]. Eur Respir J, 1998, 11(6): 1263-1267.

[5] Just J, Houzel-Charavel A, Grimfeld A, *et al*. Specific immunotherapy [J]. Arch Pediatr, 1999, 6(1): 108S-113S.

[6] Janssen, Marca H, Eline H, *et al*. Opposite effects of immunotherapy with ovalbumin and the immunodominant T-cell epitope on airway eosinophilia and hyperresponsiveness in a murine of allergic asthma[J]. Am J Respir Cell Mole Biol, 1999, 21(1): 21-29.

[7] Derry C J, Harper N, Davies D H, *et al*. Important of dose of type Ⅱ collagen in suppression of collagen-induced arthritis by nasal tolerance[J]. Arthritis Rheum, 2001, 44(8): 1917-1927.

[8] Buttner C, Lun A, Splettstoesser T, *et al*. Monoclonal anti-interleukin-5 treatment suppresses eosinophil but not T-cell functions[J]. Eur Respir J, 2003, 21(5): 799-803.

[9] Guerra F, Carracedo J, Solana-Lara R, *et al*. $Th_2$ lymphocytes from atopic patients treated with immunotherapy undergo rapid apoptosis after culture with specific allergens[J]. J Allergen Clin Immunol, 2001, 107(4): 647-653.

(编辑 刘洪娥)

# 个案与短篇

文章编号:1000-5404(2003)16-1410-01

## 一次性塑料包埋盒在石蜡组织包埋中应用的体会

## Experience in using omnisette tissue cassettes as supports to embed tissue in ceresin

汤金梁,张哉根,王亚丽 (第三军医大学附属新桥医院病理科,重庆 400037)

一次性塑料包埋盒因其自身的特点在病理科已得到广泛的应用。但在使用中有时会出现组织脱落、蜡块断裂及蜡块与包埋盒分离等问题,给病理制片造成困难。现将我科室的应用体会报告如下。

### 1 材料与方法

材料:石蜡,病理组织,一次性塑料包埋盒,金属包埋模,镊子。

方法:①根据组织的大小选取大中小不同规格的包埋模。②包埋时的石蜡温度宜在70~72 ℃之间。③天冷时宜将包埋模放在一个加热平台上预热,温度高于石蜡的熔点1~2℃。

(下转1414页)

作者简介:汤金梁(1975-),男,河北省唐山市人,技师,主要从事病理技术方面的研究。电话:(023)68754000-73107

收稿日期:2003-01-27;修回日期:2003-05-05

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

包括 PKCδ、PKCε、PKCη 和 PKCθ；非标准型 PKC（Atypical）为 $Ca^{2+}$ 非依赖型，亦不受 PS、DAG 及 TPA 的调控选择性抑制，包括 PKCξ 及 PKCλ。三群 PKC 都含有一个假底物（Pseudo-substrate）或称之为自动抑制区（Auto-inhibitory domain），它能与 PKC 催化区的底物结合位点结合，从而在缺乏激活剂的情况下阻止 PKC 激活。PKC 激活受 3 个不同位点的磷酸化作用的控制。它们是Thy 500，位于活化环中，Thy 641 为自动磷酸化位点，以及位于 3′-C 末端的 Ser 600 亲水性位点。适量 Rottlerin 可以选择性抑制 T 细胞 PKCη 和 PKCθ 的激活，从而控制机体的免疫反应。

本研究策略是利用第 2 条途径来防治哮喘，目的是试图降低化学药物的毒副作用，尽可能只抑制 $Th_2$ 细胞的激活以抑制哮喘。从实验结果看，Rottlerin 有望在防治哮喘中起作用。

参考文献：


[1] Sandford A, Pare P. Homing in on the asthma gene[J]. Lancet, 2002, 360(9331): 422—423.

[2] Pernis A B, Rothman P B. JAK-STAT signaling in asthma[J]. J Clin Invest, 2002, 109(10): 1279—1283.

[3] Lee S Y, Lee Y H, Shin C, *et al*. Association of asthma severity and bronchial hyperresponsiveness with a polymorphism in the cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 gene[J]. Chest, 2002, 122 (1): 171—176.

[5] San-Antonio B, Iniguez M A, Fresno M. Protein kinase Czeta phosphorylates nuclear factor of activated T cells and regulates its transactivating activity[J]. J Biol Chem, 2002, 277(30): 27073—27080.

[6] Kayali A G, Austin D A, Webster N J. Rottlerin inhibits insulin-stimulated glucose transport in 3T3-L1 adipocytes by uncoupling mitochondrial oxidative phosphorylation[J]. Endocrinology, 2002, 143(10): 3884—3896.

[7] Chen J H, Huang C H, Lin L Y. Rottlerin stimulates metallothionein gene expression but inhibits metal transport in Chinese hamster ovary cells[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2001, 177(3): 256—263.

[8] Huang J, Lo P F, Zal T, *et al*. CD28 plays a critical role in the segregation of PKC theta within the immunologic synapse[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(14): 9369—9373.

[9] Jember A G, Zuberi R, Liu F T, *et al*. Development of allergic inflammation in a murine model of asthma is dependent on the costimulatory receptor OX40[J]. J Exp Med, 2001, 193(3): 387—392.

[10] Pahl A, Zhang M, Kuss H, *et al*. Regulation of IL-13 synthesis in human lymphocytes: implications for asthma therapy[J]. Br J Pharmacol, 2002, 135(8): 1915—1926.

[11] Arestides R S, He H, Westlake R M, *et al*. Costimulatory molecule OX40L is critical for both Th1 and $Th_2$ responses in allergic inflammation [J]. Eur J Immunol, 2002, 32(10): 2874—2880.

[12] Dong C, Temann U A, Flavell R A. Cutting edge: critical role of inducible costimulator in germinal center reactions[J]. J Immunol, 2001, 166(6): 3659—3662.

[13] Akbari O, Freeman G J, Meyer E H, *et al*. Antigen-specific regulatory T cells develop *via* the ICOS-ICOS-ligand pathway and inhibit allergen-induced airway hyperreactivity[J]. Nat Med, 2002, 8(9): 1024—1032.

[14] Krappmann D, Patke A, Heissmeyer V, *et al*. B-cell receptor and phorbol ester-induced NF-κB and c-Jun N-terminal kinase activation in B cells requires novel protein kinase C's[J]. Mol Cell Biol, 2001, 21(19): 6640—6650.

[15] Kontny E, Kurowska M, Szczepanska K, *et al*. Rottlerin, a PKC isozyme-selective inhibitor, affects signaling events and cytokine production in human monocytes[J]. J Leukoc Biol, 2000, 67(2): 249—258.


（编辑 薛国文）

（上接 1410 页）

④打开包埋盒盖时应注意是否有组织粘附在上面。如有应及时取下放入包埋模内，以防组织丢失。⑤包埋时要注意组织观察的内容选择包埋方向，不清楚的要问取材的医生[1]。⑥包埋整块大组织时宜先将组织放入包埋模，再放上包埋盒，最后倒入石蜡；包埋碎小组织则宜先将石蜡倒入包埋模且倒满，再用加热的镊子将组织放入包埋模内，最后放上包埋盒。此时应注意避免蜡块中存有气泡。⑦包埋时最好将包埋盒外底面朝下，石蜡的液面应适当高出包埋盒内底面少许。⑧包埋完成后立即将包埋模放在冰面上降温，不可放入水中降温。在蜡块未完全冷却前不可将蜡块放入冰箱。⑨包埋时应注意保护好写在包埋盒上的病理号。

## 2 讨论

包埋时的石蜡温度较高，有利于组织与石蜡的结合，在包埋碎小组织时包埋模底部不会立即凝固，保证了组织在同一平面上。整块较大组织先放入包埋模内能使组织充分暴露，切片时可减少修片时间。包埋模放在冰面上降温可减少高温石蜡对组界抗原性的影响；自下而上的冷却防止了包埋盒与石蜡间产生空心，从而使其结合更牢固，石蜡液面适当高出包埋盒的内底面，也是防止石蜡块与包埋盒分离而无法制片。包埋时宜将包埋盒的外底面放在下面，这样可节省 50％左右的石蜡。包埋盒上的病理号用 HB 铅笔写重些，且一定要规范。

一次性塑料包埋盒在包埋内窥镜等小组织及肝、肾穿刺组织时更显其优越性。由于包埋模被加热，石蜡温度相对较高，石蜡在包埋模内短时间不会凝固，这样将小组织放入时能使其在同一平面上，有利于将组织切全[2]。

另外一次性塑料包埋盒对取材有了更高的要求。它保证了组织间有了充分的间隔而利于脱水。由于在包埋盒上书写病理号，省去了包埋后贴标签这一步，节省了时间。但在归档时最好还是再将纸打的病理号码贴在蜡块上，以防以后出错。但塑料包埋盒也存在一定的不足，比如包埋盒的使用增加了成本；由于包埋盒占用了一定的空间，所以脱水筐所能容纳的组织块减少了，当有大量的标本时就有了一定的限制。

关键词：一次性塑料包埋盒；石蜡组织包埋
中图法分类号：R361.+2 文献标识码：B

参考文献：


[1] 周 导. 常规病理制片组织包埋的注意点[J]. 诊断病理学杂志, 1999, 6(2): 165.

[2] 苏 菁. 胃粘膜活检组织的简易包埋法[J]. 诊断病理学杂志, 1998, 5(3): 167.


（编辑 王 红）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net