DOI:10.16016/j.1000-5404.1994.02.013

良性血液病行自体脾移植术后淋巴细胞亚群变化

梁志清 马宏敏 蔡志民 (第三军医大学西南医院普通外科) 630038

提 要 本文应用免疫组化生物素抗生物素(ABC)法观察了17例良性血液病行脾切除自体脾块移植术后,外周血及脾组织内T淋巴细胞亚群的分布。结果显示,与正常组相比,血液病患者外周血内CD_3和CD_8明显减少($P<0.05$),CD_4无明显改变。而移植组术后3月时与术前相比,外周血内CD_3和CD_8显著增加($P<0.05$),CD_4无明显改变,但相对于正常组则明显减少($P<0.05$),脾组织内CD_8总数也明显增加($P<0.05$),CD_4总数减少非常显著($P<0.01$)。表明脾切除自体脾块移植术后,移植再生的脾组织对血液病患者的细胞免疫功能有明显影响,并改善其细胞免疫功能紊乱状态。

关键词 血液病;脾;移植,自体;T淋巴细胞

中图法分类号 R657.6

由于脾脏特有的免疫吞噬和免疫调节作用,已知脾脏与某些血液病的发病机制密切相关,因此脾切除仍是治疗某些血液病的有效手段。而脾切除后机体并发凶险性感染(Overwhelming Postsplenectomy Infection,OPSI)的机率较正常外伤脾切者高3～5倍[1],多数认为这与切除脾脏后机体的免疫功能紊乱低下有关,因此对某些血液病患者有保脾的必要性。我们采用脾切除网膜内自体脾块移植治疗血液病17例,临床疗效满意。并应用免疫组化ABC法检测了自体脾块移植患者外周血及脾组织内T淋巴细胞亚群分布,兹将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 临床病例

1.1.1 网膜内自体脾块移植组(下称移植组)17例,男7例,女10例;年龄15～40岁,平均30.5岁。原发病(均按张之南主编《常见血液病诊疗常规》标准诊断):原发性血小板减少性紫癜(ITP)10例,自身免疫性溶血性贫血(AIHA)4例,重型β－地中海贫血3例。

1.1.2 正常对照组(下称正常组)20例,男9例,女11例,年龄21～38岁,平均24.5岁,均为正常健康献血员。

1.2 手术方法

常规全脾切除后,取新鲜脾组织重约30g,立即浸入冷生理盐水中,洗净血迹,去包膜,切成1cm×1cm×0.5cm大小的脾块,共50余块备用。将大网膜沿网膜中动脉、右动脉间分成左右两片,左侧网膜内置脾块50块,包埋后置脾窝并固定。右侧网膜内置脾块3块,包埋后从切口拖出置皮下,以便3月后取活检。

1.3 试剂来源及方法步骤

1.3.1 试剂来源:ABC试剂盒购自Vector Lab Inc,CD系列单克隆抗体CD_3、CD_4、CD_8以及DAB显色剂均为Dako公司产品,淋巴细胞分离液由上海生化所提供。

1.3.2 方法步骤

1.3.2.1 淋巴细胞分离:采外周血,用淋巴细胞分离液梯度离心得淋巴细胞,涂片晾干,密封置－20℃冰箱保存。

术中取脾组织块及术后3月取移植脾组织块,液氮速冻保存,恒冷切片机在－20℃～－30℃下连续切片,厚度5μm,风干密封后于－20℃冰箱保存。

1.3.2.2 染色步骤:按Hsu[2]介绍的ABC法进行染色。

1.3.2.3 结果观察:淋巴细胞浆呈棕黄色环状染色者为阳性细胞。外周血涂片在100×放大下,连续计数200个淋巴细胞,算出阳性百分率。组织切片在1000×放大下,用目镜网格测试系统(由军事医学科学院提供),测定各区域单位面积($0.014\times10^6\ \mu m^2$)内阳性细胞数。

1.4 统计学处理

所得数据经Student's t 检验。所有数据用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。

2 结果

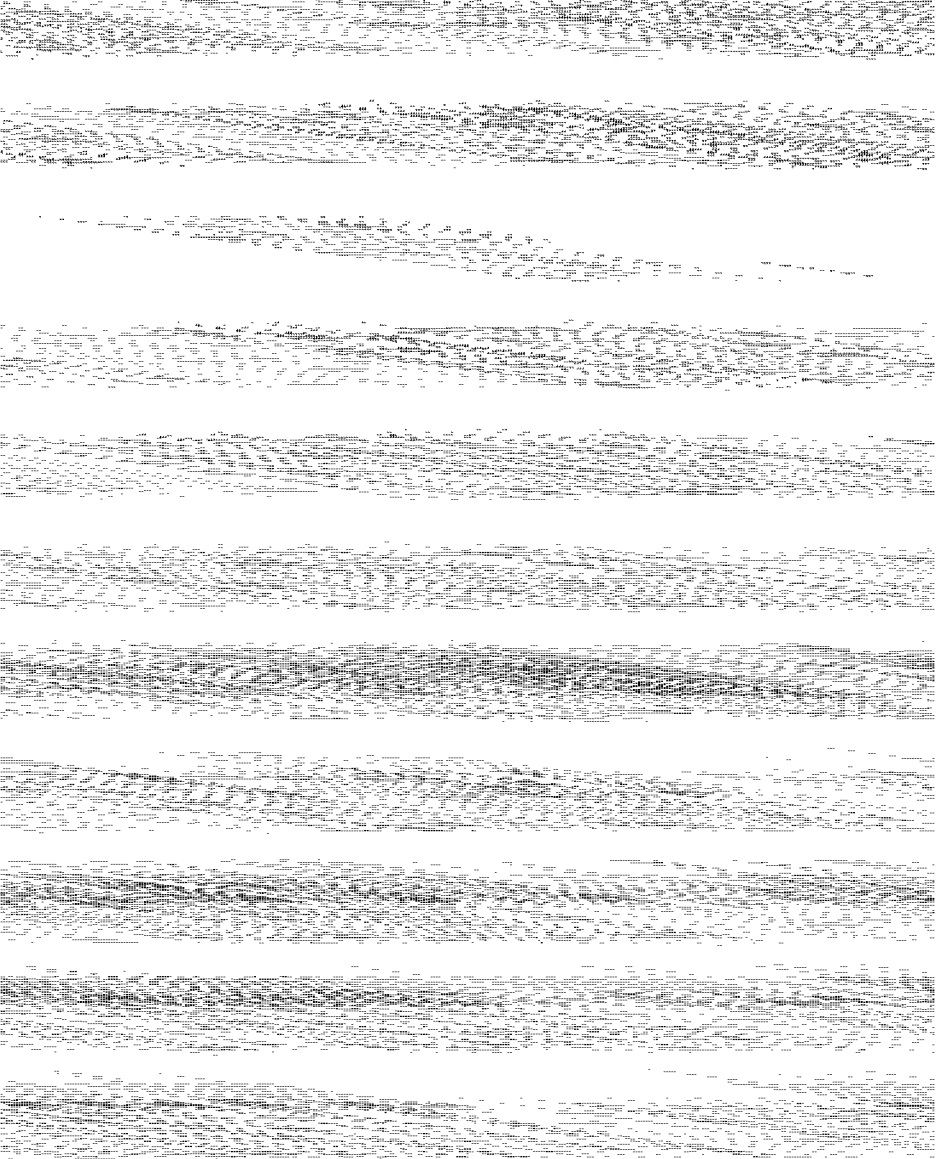
2.1 临床疗效

所有病例除1例ITP后经骨髓检查证实为慢性再障疗效差,1例AIHA伴脾血管瘤术后因停用强的松过早复发外,其余术后病情均缓解,有效率为88.2%,随访1～3年无复发。

2.2 外周血T淋巴细胞亚群改变

结果见表1,与正常组相比,血液病术前CD_3明显减少($P<0.05$),CD_8亦显著减少($P<0.05$);术后3月时,CD_4减少明显($P<0.05$),而CD_3和CD_8细胞无显著改变。但与术前相比CD_3和CD_8显著增加($P<0.05$)(图1),而CD_4无明显改变,结果CD_4/CD_8比例明显下降($P<0.05$)。

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



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

胞在外周血的分布异常以全T细胞和T_S细胞功能低下为主，这与多数文献报道的结果相符，但与宋理君等[7]的结果不一致，可能与本组血液病患者大都处于缓解期，且术前未用类固醇激素治疗有关。

正常脾切除后对机体的细胞免疫有何影响，文献报道结果不一，多数认为，切脾患者外周血T淋巴细胞增生，其中以T_S细胞增生为主，结果T_H/T_S比例下降，导致机体细胞免疫和体液免疫功能均下降[8]。对血液病患者来说，这种改变可能对调节血液病患者T_S细胞功能低下，T_H细胞功能亢进的免疫紊乱状态有助，但这种暂时性低水平的平衡却很易受其他因素的影响而破坏其稳定性，以致引起原发病复发。

自体脾组织移植后，机体循环池T细胞同样增生，但T细胞各亚群的数量比例基本维持正常[9]。本组血液病患者，行自体脾块移植术后3月时，外周血CD_3和CD_8较术后增加，与正常组相比无明显差异；但CD_4较正常低，结果CD_4/CD_8比例下降低于术前，与正常组无明显差异。表明自体脾组织移植后，调节并改善了全T细胞和T_S细胞减少所致的免疫紊乱状态，使机体的免疫调节网络在新的T淋巴细胞内稳态条件下获得相对平衡。

我们还发现，自体移植再生脾组织内各种淋巴细胞均成活，但与原脾相比各区域内T细胞亚群的分布发生了变化，其中CD_3和CD_4减少，而CD_8增生，尤以红髓为著。说明移植再生脾组织内T淋巴细胞出现了重分布，但各亚群数量比例趋正常，可能与自体脾组织移植再生时遵循胚胎脾的自身回忆规律[10]，对机体发生了适应性重建有关。另外还发现，脾组织内T细胞亚群分布变化与外周血相似，表明外周血T细胞亚群分布变化受脾组织内的T细胞亚群改变影响，这种改变是由于脾组织内淋巴细胞再循环的结果。因此移植再生脾对机体的免疫调节网络有影响，使之稳定在正常水平，以免机体的细胞免疫失衡，导致血液病的复发。

参考文献

1 Seufert RM. Surgery of the spleen. revised English edition. New York: Thieme Inc, 1985. 136

2 Hsu SM, Radine L, Fanger H. Use of Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) in immunoperoxidase: a comparision between ABC and unlabled antibody (PAP) procedures. J Histochem Cytochem, 1981, 29: 577

3 Lockwood CM. Immunological function of the spleen. Clin Haematol, 1983, 12: 449

4 Grogan TM, Jolley CS, Rangel CS. Immunoarchitecture of the human spleen. Lymphology, 1983, 16: 72

5 Shonnon KM, Buchanan GR, Fink CW, et al. Lymphocyte population in childhood idiopathic thrombocytopenic purpura. Am J Disd Child, 1984, 138: 64

6 Trent RJ, Clancy RL, Danis V, et al. Disordered immune homeostasis in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. Clin Exp Immunol, 1981, 45: 9

7 宋理君，虞积仁，谢光潞，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. 中华内科杂志, 1989, 26: 364

8 Airo P, Ferrari C, Franceschini F, et al. Lymphocyt subpopulation, immunoglobulin levels and delayed-type hypersensitivity reaction in healthy splenectomized patients. Haematologica, 1987, 72: 305

9 Bergman L, Botther W, Seufert RM, et al. Quantitative and function restorations and alteration of peripheral lymphocytes in pathents with autologous spleen implantation. Arch Orthop Trauma Surg, 1990, 109: 102

10 Tavassoli M, Ratzam RJ, Crosby WH. Studies on regeneration of heterotopic splenic autotransplantation. Blood, 1973, 41: 701

(收稿：1993-07-29；修回：1993-11-12)

Changes of T-lymphocyte subsets in patients with hematological diseases after spleen autotransplantation

Liang Zhiqing, Ma Hongmin, Cai Zhimin (Department of General Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract The distribution of T-lymphocyte subsets in the peripheral blood and in the splenic tissue in 17 patients with benign hematological diseases were observed with immunohistochemical ABC technique after they were splenectomized and implanted with a part of their own splenic tissue. It was found that CD_3 and CD_8 in the peripheral blood were significantly decreased while CD_4 showed no obvious changes in the patients

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

as compared with those of the normal. 3 months after autotransplantation, CD_3 and CD_8 in the peripheral blood of the patients increased markedly while CD_4 remained not changed. When compared with that of the normal, CD_4 was markedly fewer in number in the patients than in the norma. In the splenic tissue of the patients, the number of CD_8 also increased while that of CD_4 was significantly reduced as compared with the normal. These findings suggest that the autotransplanted splenic tissue exerts obvious influence on the cell immune function of the patients and helps to regulate the disturbed immune function.

Key words hematologic disease; spleen; transplantation, autologous; T-lymphocytes

肩手综合征的早期预防

周贤丽 （第三军医大学西南医院康复理疗科）630038

肩手综合征是急性脑血管病恢复期的主要并发症之一，通常发生在脑卒中后15～30 d[1]，如不及时治疗，可引起皮肤肌肉萎缩，肩营养障碍，肩手关节挛缩畸形等，且难以治愈，是急性脑血管病康复的重要对象之一。本文仅对脑血管意外后早期康复治疗与肩手综合征发生的关系作一初步探讨。

1 临床资料

本组病例70例，男48例，女22例，年龄最大者80岁，最小者23岁，平均60岁。其中脑出血24例，脑梗塞46例。70例病人分为两组：甲组30例，为发病后入康复医院并在急性期（发病后两周内）接受正规康复治疗。治疗内容包括：(1)正确体位的保持：采用垫软枕等方法使患侧肩关节处于向前、向上姿位，防止肩关节下降、退缩；同时使肘关节伸直、前臂旋后，腕关节轻度背屈、手指伸直并外展（即处于反射抑制性姿位）。(2)被动运动：全范围的关节活动，动作要轻柔。(3)辅助训练：患者取仰卧位，在治疗士辅助下做肩关节前伸、内收和外展运动，同时拍打患肢伸肌，促通伸肌。(4)自我辅助训练：让病人两手手指交叉握拳向前伸直两臂，然后做上举、屈伸肘关节、前臂旋前旋后等动作。乙组40例，为发病后入其它医院进行一般神经内科治疗，病情好转后（均在发病后2周以上）再转入康复科进一步康复治疗。

2 结果

甲组肩手综合征发生率为6.67%，乙组为22.50%，经统计学处理 $\chi^2=9.104$，$P<0.01$（见附表）。

附表 脑血管意外病人肩手综合征的发生

	例数（人）	发生例数（人）	发生率（%）
甲组	30	2	6.67
乙组	40	9	22.50
合计	70	11	15.70

3 讨论

肩手综合征发生率，缪鸿石等人统计为12%左右[2]，日本江藤则报告为21.8%[3]，本文病例的总体发生率为15.7%，介于两者之间。但甲乙组发生率相差较大，表明脑卒中后在一般神经内科治疗的同时尽早实施康复治疗对预防或减少肩手综合征的发生具有一定的作用。且脑血管意外急性期，为发病后14 d以内，运动功能相当于Brunnstrom Ⅰ、Ⅱ级，多数病人处于弛缓状态。患者上肢完全不能运动，此期内如果尽早对病人上肢进行促通训练，可望降低肩手综合征等发并症的发生，减少恢复期的致残率。

关键词 脑血管意外；肩手综合征
中图法分类号 R454

参考文献

1 李建章. 脑血管病治疗进展. 北京：学术期刊出版社，1990. 257
2 卓大宏，缪鸿厂，赵鸣之，等. 中国康复医学. 北京：华夏出版社，1990. 638
3 服部一郎，細川忠義，和才喜昭，等. 周天健，等译. 康复技术全书. 第2版，北京：北京出版社，1989. 802

（收稿：1993-11-13；修回：1994-02-22）

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