DOI:10.16016/j.1000-5404.1985.02.009

脾切除及不同类型的脾保留手术对大鼠免疫功能的影响

王彩英 吴廷璜 胡友梅

（药理教研室）

陈维佩 姚长乐 郭光金

（应用解剖教研室）

提 要

成年动物全脾切除对免疫功能有无影响尚有争议。本实验对成年大鼠人工造成脾门破裂后，在脾动脉结扎的基础上行全脾切除及不同类型的脾保留手术(脾缝合修补或脾部分切除或自体脾组织移植)。术后第4个月测各组溶血素抗体及迟发型过敏反应。结果表明：全脾切除或不同类型的脾保留组的溶血素抗体及迟发型过敏反应与正常对照组相比，无明显差别。

对外伤性脾破裂传统的处理方法是施行脾切除术，但近二十年来，不断出现关于脾切除后发生严重感染的报道。其机理是否由于脾切除后机体免疫功能下降，尚无一致看法。如1967年Eraklis报道：给切脾后的小鼠及兔静注抗原，抗体的产生明显减少。Rowley进一步观察到如由其它途径给抗原则无此现象。这似乎说明脾切除对抗体的产生确有影响，特别是对静脉注射抗原的刺激。但后来Saslaw在猴子中做同样实验，似又不支持此观点[1]。此外，近年来探索以脾保留手术治疗外伤性脾破裂的研究工作进行得十分活跃[2]。有人报道大鼠切脾后行自体脾移植可防止肺炎球菌性败血症[3]，但也有人报道自体脾移植不能防护肺炎球菌的攻击[4]。本实验的目的一是观察脾切除对机体免疫功能到底有无影响；二是观察若脾切除会降低免疫功能的话，采用不同类型的脾保留手术能否起到保护作用。

材料和方法

一、动物 大白鼠，体重152～210 g，平均186 g，雌雄均有，由本校动物所供给。

二、动物分组及手术方法 将大鼠随机分为6组，每组6只。(1)正常组(非手术)；(2)假手术组（剖腹后仅提起脾脏，松动脾动、静脉)；(3)全脾保留组(将脾横断后缝合修补)；(4)自体脾组织移植组（切脾后将约50%的脾剪成数小块植入大网膜，荷包缝合包埋）；(5)半脾保留＋自体脾移植组；(6)全脾切除组。以上4～6组均先由人工造成脾门破裂，在脾动脉结扎的基础上再行不同形式的脾处理手术。

三、免疫指标及方法

1. 溶血素抗体测定法：

0天给大鼠腹腔注入绵羊红血球(SRBC)生理盐水悬液1 ml（含SRBC 2×10^9）进行

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

免疫。免疫后第6天，从大鼠心脏穿刺取血0.7ml左右，离心，得血清。以下便参照小鼠溶血素测定法[5]进行。用生理盐水将血清稀释100倍，取其1 ml，加抗原（SRBC生理盐水悬液0.3ml，含SRBC 6×10^8），再加补体（10%新鲜豚鼠血清1ml），置37℃水浴中温育10分钟后离心，取其上清1ml加3ml都氏试剂（含碳酸氢钠、氰化钾、高铁氰化钾），在分光光度计（波长为540mμ）上比色。样品空白对照管是以1ml生理盐水代替稀释的大鼠血清，其余步骤同上。另取本试验中用的SRBC生理盐水悬液0.15ml，用都氏试剂稀释至4 ml，摇匀，放置10分钟，比色，其光密度值（O.D值）为试验中所用SRBC半数溶血时的O.D值。大鼠血清中溶血素抗体含量以半数溶血值（HC_{50}）表示。

$$\text{样品}HC_{50}=\frac{\text{样品O.D值}-\text{样品空白对照O.D值}}{\text{SRBC半数溶血时的O.D值}}\times\text{稀释倍数}$$

2. 迟发型过敏反应（delayed-type hypersensitivity,DTH反应）：参照小鼠DTH反应测定法[6]，0天给大鼠腹腔注入SRBC生理盐水悬液1ml（含SRBC 2×10^9）进行免疫，免疫后第5天给大鼠左后足底皮下注入SRBC生理盐水悬液0.2ml(含SRBC 4×10^8)进行“攻击”，在“攻击”前及“攻击”后24小时用游标卡尺测左后足底厚度，并计算足底厚度增加百分数以代表DTH反应的强弱。

以上两项指标是在同一动物上进行观察的。

结　果

一、正常大鼠用SRBC免疫后溶血素抗体产生的动态过程

我们用了10只正常大鼠于免疫前测其抗体作为自身对照，免疫后第3、6、9、12、16及20天再分别测其抗体。结果表明免疫后第6、9天为抗体反应高峰期（HC_{50}的平均数±标准误分别为84.7±0.80和82.6±1.3，$P>0.05$），第12天后开始下降（图1）。故下面试验采用免疫后第6天作为抗体测定时间。

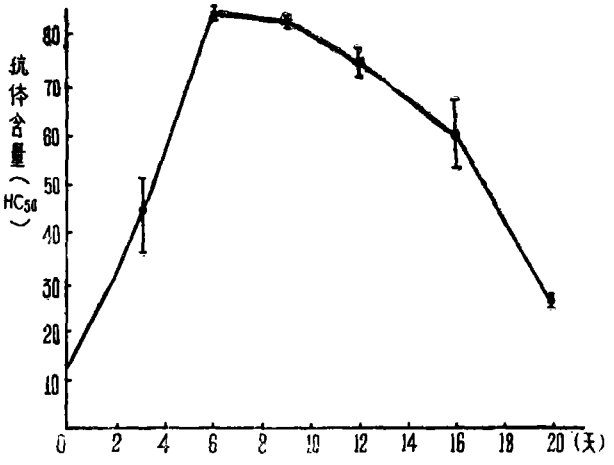


图1　大鼠用SRBC 2×10^9 i.p.注射进行免疫后溶血素抗体产生的动态过程
各点及点上、下之竖线代表5～10只大鼠HC_{50}的$\bar{X}\pm$S.E.

二、脾切除及不同类型脾保留对大鼠抗体反应及DTH反应的影响

因移植脾脏的新生及行使功能需有一定的过程，故选择了术后4月作以上两项免疫指标的测定。结果表明：全脾切除组的抗体反应及DTH反应与正常组或假手术组相比，无统计学意义的差别；不同类型的脾保留组（第3、4、5组）与正常组或假手术组相比，也无统计学意义的差别。（表1）

讨　论

一、我们所选用的两项免疫指标虽不能全面地反映机体的免疫功能，但可部分地反

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

表1 大鼠不同类型手术后4个月各组免疫反应的比较

组别	动物数	抗体反应（HC_{50}的$\bar{X}\pm S.E.$）	DTH反应（足底厚度增加百分率的$\bar{X}\pm S.E.$）
1. 正常	6	58.0±3.9	10.8±3.3
2. 假手术	6	64.8±6.1	6.7±3.0
3. 全脾保留	6	70.2±4.0	8.5±1.5
4. 自脾移植	5	65.2±8.5	10.5±2.2
5. 半脾保留+自脾移植	6	60.5±8.1	12.9±3.5
6. 全脾切除	6	56.4±4.4	8.9±3.5

映机体免疫功能。从我们实验条件下所得结果看，成年大鼠在人工造成脾门破裂后行脾动脉结扎术，而后切除脾脏，不会明显影响大鼠免疫功能；其他不同类型的脾保留术（全脾保留、半脾保留或自体脾移植）也未出现机体免疫功能的降低。脾切除不影响成年大鼠免疫功能的原因，我们推测可能由于：对成年大鼠来说，除脾脏外其它淋巴网状系统也已发育成熟，当脾切除后，其它淋巴网状组织便产生代偿功能。

遗憾的是，我们测定的免疫指标还不够多，如巨噬细胞的吞噬功能未作。但现有的结果似乎支持了早期主张外伤性脾破裂可行脾切除的人的观点：成年施行脾切除对其免疫功能不造成明显影响。

无脾者为什么易罹感染？目前还未能作出答复。有人提出仅少数无脾者发生严重感染，这可能与遗传学上的易感性有关。也有人认为与原发病本身有关[1]。

二、我们作“正常大鼠溶血素抗体产生的动态过程”时，免疫后第6天的HC_{50}为84.7±0.80；而作“不同类型手术对免疫功能影响”时，正常组于免疫后第6天的HC_{50}为58.0±3.9。同是正常动物，为什么测得的HC_{50}差别相当大呢？这可能与两批实验所用的大鼠及抗原和补体分别所涉及的绵羊及豚鼠存在着个体差异有关，对豚鼠血清也未作处理。故各批实验的组间进行比较较为准确，而不同批间尽管注意了各项操作力求一致，但仍可能存在较大差异。另外测DTH反应时，各组的标准误都较大，原因之一可能是用游标卡尺测软组织厚度时，其松紧较难掌握得一致。故此方法虽为测定T-淋巴细胞免疫功能的传统方法，但有待改进或用其它更准确的方法取代之。

参考文献

1. 胡纫华：有关切脾后严重感染的几个问题。广东医学 1980；1(4)：45

2. Donald R, et al: Comparative methods of splenic preservation. J Pediatric Surgery 1981; 16(3):327

3. Patel J: Protection against pneumococcal sepsis in splenectomized rats by implantation of splenic tissue into an omental pouch. Surgery 1983; 91:638

4. Fasching MC: Lack of protective effect of autotransplanted splenic tissue to pneumococcal challenge. J Surg Research 1980; 28:449

5. 徐学瑛等：一个改进的体液免疫测定方法—溶血素测定法。药学学报 1979；14(7)：443

6. Thong YH and Ferrante A: Immunopotentiation by pyrimethamine in the mouse. Clin Exp Immunol 1980; 39:190—194

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

Effect of Splenectomy & Different Splenic Preservation Operations on Immune Functions in Rats

Wang Caiying, Wu Tinghuang, Xu Youmei

(Department of Pharmacology, Third Military Medical College)

Chen Weipei, Yao Changle, Guo Guangjin

(Department of Applied Anatomy, Third Military Medical College)

It is still controversial whether total splenectomy on adult animals would affect their immune function. In this study, total splenectomy and different kinds of splenic preservation operations including splenorrhaphy, partial splenectomy and spleen autotransplantation were performed on adult rats after the porta of the spleen of the rats was artificially ruptured and the splenic artery ligated.

In the 4th month after the operations, the hemolysin antibody and the delayed-type hypersensitivity reaction were determined in the rats. It was found that no significant difference occurred in the hemolysin antibody and the delayed type hypersensitivity reaction among the rats of the control group, the group with total splenectomy, and the groups with different kinds of splenic preservation operations.

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