

· 临床研究 ·

酵母多糖血凝实验检测单疱病毒性角膜炎患者红细胞免疫功能的临床应用

程凯灵¹, 茅苏萍^{2△}

(重庆医科大学:1. 附属第一医院检验科 400016;2. 应用技术学院附属医院眼科 400050)

摘要:目的 探讨酵母多糖血凝实验在检测单疱病毒性角膜炎(HSK)患者红细胞免疫功能方面的临床应用价值。方法 应用酵母多糖血凝实验检测 43 例 HSK 患者(其中活动期 15 例,非活动期 28 例)的红细胞免疫功能。并以 45 例健康献血者为正常对照组。结果 HSK 患者红细胞免疫黏附血凝阳性滴度显著低于健康者,差异有统计学意义($P < 0.05$);而两组补体稀释滴度比较差异无统计学意义。结论 酵母多糖血凝实验可以检测 HSK 患者红细胞免疫功能,HSK 患者红细胞免疫功能较健康者明显降低,该实验对 HSK 患者的疗效判断及愈后评估具有一定的参考价值。

关键词:单纯疱疹病毒属;酵母多糖;红细胞免疫功能

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.12.034

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)12-1219-02

Clinical application of the zymosan hemagglutination test assay in the detection of the immunological function of the erythrocytes from patients with herpes simplex keratitis

Cheng Kailing¹, Mao Suping^{2△}

(1. Department of Medical Laboratory, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 2. Department of Ophthalmology, College of Applied Science and Technology, Chongqing Medical University, Chongqing 400050, China)

Abstract: Objective To evaluate the clinical application of the zymosan hemagglutination test assay in the detection of the immunological function of the erythrocytes from patients with herpes simplex keratitis(HSK). **Methods** The immunological function of the erythrocytes from 43 HSK patients(including 15 cases of active keratitis and 28 of inactive keratitis)were detected by the zymosan hemagglutination test, and 45 healthy blood donors were included as normal controls. **Results** The positive hemagglutination titers of the immune adherence in HSK patients were significantly lower as compared with those of the healthy controls($P < 0.05$). However, the difference between the complement dilution titers of the two groups were found to be not significant. **Conclusion** The immunological function of the erythrocytes of the HSK patients can be detected by the zymosan hemagglutination test, which show significantly lower erythrocytic immune function in HSK patients. The zymosan hemagglutination test may provide referential value for the evaluation of the therapeutic effect and prognosis of the patients with HSK.

Key words: simplexvirus; zymosan; immunological function of erythrocyte

单疱病毒性角膜炎(herpes simplex keratitis, HSK)是主要致盲眼病之一,其临床表现复杂,发病机制不明确^[1]。有研究证实,HSK 的发生与患者自身的免疫功能改变及免疫调控功能紊乱等原因有关^[2-3]。长期以来,人们一直认为机体中发挥免疫功能的仅仅是白细胞,而对红细胞在人体疾病发生、发展中起到的免疫作用研究甚少。1981 年 Siegel 等^[4]提出红细胞免疫系统(red cell immune system, RCIS)的新概念,认为人类红细胞除了具有运输 O₂ 和 CO₂ 等功能外,还参与机体的免疫功能。近年来,国内外大量研究证实,红细胞不仅具有识别、储存、提呈抗原,清除免疫复合物,促进吞噬细胞功能等作用外,自身还存在完整的调节控制系统,是机体免疫系统的重要组成部分^[5-6]。红细胞表面 I 型补体受体(complement receptor type 1, CR1)等是红细胞免疫功能的分子学基础,通过红细胞可与血液循环中含有补体 C3b 受体的免疫复合物相结合^[7],进而将其运送至肝脏、脾脏以及内皮系统予以清除^[8]。此外,红细胞可通过 CR1 免疫黏附作用传递信息,激活吞噬细胞功能,促进 T、B 淋巴细胞的免疫功能^[9]。红细胞免疫黏附功能

的降低会引起整个机体免疫功能下降^[10]。本研究应用酵母多糖血凝实验检测 43 例 HSK 患者红细胞免疫功能,对患者红细胞免疫功能及患病机体综合免疫能力作初步评估,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 43 例 HSK 患者均为重庆医科大学附属第一医院收治的患者,其中 HSK 活动期患者 15 例,HSK 非活动期患者 28 例;男 26 例,女 17 例;发病年龄 19~68 岁,平均 43.5 岁。上述患者临床诊断及分型、分期标准参照参考文献^[11]。正常对照组为 45 例体检合格的健康献血者;男 31 例,女 14 例;年龄 27~45 岁,平均 36 岁。

1.2 实验原理 在一定的实验条件下,补体致敏酵母多糖上的 C3b 分子可与多个红细胞表面 CR1 结合而发生凝集,红细胞凝集强度与红细胞表面 CR1 活性呈正相关。

1.3 试剂 用 5×10^8 /mL 酵母多糖悬液加等体积豚鼠血清,37 °C 水浴 30 min,洗涤 1 次(1 000 r/min 离心 5 min),配成 2×10^7 /mL 补体致敏酵母多糖使用液。

△ 通讯作者, Tel:13368167232; E-mail:2cqcm@sina.com。

1.4 操作方法 将待测红细胞标本(肝素抗凝血)用生理盐水洗涤 3 次(1 000 r/min 离心 5 min),配成 1×10^8 /mL 应用液待用。在 4 支玻璃试管内用生理盐水稀释补体致敏酵母菌悬液,分别为原浓度的 1/2、1/4、1/8、1/16,用微量移液管将不同稀释度的补体致敏酵母菌悬液移入相应孔中,每孔 75 μ L,然后每孔加 25 μ L 待测红细胞应用液,用振荡器混匀 5 min,放入 37 $^{\circ}$ C 孵育箱,1 h 后观察结果。以生理盐水为阴性对照,操作同前。

1.5 判定标准 全沉淀一点为阴性(-);红细胞凝集度 25% 为阳性(+); $>25\% \sim 50\%$ 为阳性(++); $>50\% \sim 75\%$ 为阳性(+++); $>75\%$ 为阳性(++++)。当红细胞阳性(+++)补体致敏酵母多糖悬液稀释为凝集滴度。

1.6 统计学处理 将所得资料用四格表资料 χ^2 计算 P 值,部分资料用四格表校正 χ^2 计算 P 值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HSK 患者与健康者红细胞免疫功能比较 不同稀释度的补体致敏酵母菌悬液中,HSK 患者红细胞免疫黏附血凝阳性滴度均低于健康者,差异有统计学意义,见表 1。

表 1 HSK 患者与健康者红细胞免疫功能比较[n(%)]

组别(n)	血凝阳性滴度			
	1:2	1:4	1:8	1:16
HSK 组(43)	35(81.4)	19(44.2)	4(9.3)	1(2.3)
正常对照组(45)	43(95.6)	33(73.3)	15(33.3)	11(24.4)
χ^2	4.38	7.73	6.15	7.35
P	<0.05	<0.01	<0.05	<0.01

2.2 HSK 活动期患者与非活动期患者红细胞免疫功能比较 HSK 活动期与非活动期患者红细胞免疫黏附血凝阳性率,在 1:2、1:4 滴度时,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2 HSK 活动期患者与非活动期患者红细胞免疫功能比较[n(%)]

组别(n)	血凝阳性滴度		
	1:2	1:4	1:8
活动期患者组(15)	9(60.0)	3(20.0)	0(0)
非活动期患者组(28)	26(92.9)	16(57.1)	4(14.3)
χ^2	4.96	4.29	
P	<0.05	<0.05	

2.3 HSK 患者不同性别、不同年龄组红细胞免疫黏附血凝阳性比较 HSK 患者不同性别、不同年龄组红细胞免疫黏附血凝阳性比较差异无统计学意义。

3 讨论

HSK 是由单疱病毒 1 型(herpes simplex virus type 1, HSV-1)引起的一种与患者自身的免疫功能改变及免疫调控功能紊乱等原因有关的常见致盲性眼病。本研究结果表明,在不同稀释度的补体致敏酵母菌悬液中,HSK 患者的红细胞免疫黏附血凝阳性滴度明显低于健康者;在滴度相同时,HSK 患者与健康者阳性率比较,差异均有统计学意义。

本研究结果提示,当病原体入侵或从体内潜伏部位大量复制增殖,导致疾病发生或加重时,患者体内循环免疫复合物

(circle immune complex, CIC)含量增多,红细胞 CR1 黏附大量免疫复合物(HSV-抗体-补体),红细胞 CR1 空位减少或被封闭。并且,由于病情的发展以及诸多因素的影响(如机体全面的免疫调控功能紊乱等原因),使患者红细胞 CR1 活性进一步降低,血清中红细胞免疫抑制因子增加,红细胞免疫黏附受到抑制,从而使红细胞清除免疫复合物的能力受到影响,导致红细胞免疫功能下降^[11-13]。通过对本研究结果分析可以初步设想,HSK 患者的红细胞免疫功能的改变,可能对该疾病的发生、发展、病损程度以及病程迁延不愈有密切关系,这对全面了解 HSK 患者病理生理的改变,以及全面解释 HSK 发病机制,并对治疗理念的修正有一定的参考价值^[14-15]。

本研究结果显示活动期与非活动期 HSK 患者红细胞免疫黏附血凝阳性率比较差异有统计学意义。因此,作者认为酵母多糖血凝实验对 HSK 患者临床分期、疗效观察以及病情发展有一定的参考意义。

此外,与国内检测红细胞免疫功能的“花环实验”比较,酵母多糖血凝实验具有操作简单、工作量降低、检测效率高等优点,且实验结果更加客观、准确、灵敏,可作为 HSK 患者辅助诊断的参考依据。

参考文献:

- [1] 茅苏萍,程凯灵,周韵芬.单疱病毒性角膜炎患者外周血几种细胞因子水平的改变及临床意义[J].中国实用眼科杂志,2001,19(3):175-177.
- [2] 茅苏萍,程凯灵.黄芪对单疱病毒性角膜炎患者 TH1/TH2 细胞因子的调节作用[J].中国中西医结合杂志,2004,24(2):121-123.
- [3] 程凯灵,茅苏萍.应用硝酸还原酶法检测 HSK 患者血清一氧化氮水平[J].国外医学临床生物化学与检验分册,2005,26(10):675-677.
- [4] Seigel I, Lin TL, Geischer N. The red cell immune system [J]. Lancet, 1981, 2(4):556-558.
- [5] 丁芳林,刘丛.大肠癌患者红细胞免疫功能研究[J].海南医学,2007,18(1):121-123.
- [6] 王海滨,张继万,郭静霞,等.红细胞天然免疫黏附功能在肝病不同病期的变化及意义[J].中华医学杂志,2003,83(6):455-457.
- [7] Hament J, Dijk H, Fleer A, et al. Pneumococcal immune adherence to human erythrocytes [J]. Eur J Clin Invest, 2003, 33(2):169-171.
- [8] Craig ML, Bankovich AJ, Taylor RP. Visualization of the transfer reaction; tracking immune complexes from erythrocyte complement receptor 1 to macrophages [J]. Clin Immunol, 2002, 105(1):36-38.
- [9] Arosa FA, Pereira CF, Fonseca AM. Red blood cells as modulators of T cell growth and survival [J]. Curr Pharm Des, 2004, 10(2):191-193.
- [10] 程凯灵,吴凯南,汪斌.癌症患者外周血红细胞 C3b 受体与 CD4/CD8 相关性探讨[J].中国肿瘤临床,1997,24(4):269-271.
- [11] 李凤鸣.眼科全书[M].北京:人民卫生出版社,1996:1379-1383.

纳米银抗菌水凝胶的治疗效果优于其他药物治疗。

3 讨 论

前列腺炎的定义:急性前列腺炎是一种定位于前列腺的急性感染性疾病,有明显的下尿路感染症状及畏寒、发热和肌痛等全身症状,尿液、前列腺液中白细胞数量升高甚至出现脓细胞;而慢性前列腺炎是指前列腺在病原体或(和)某些非感染因素作用下,患者出现以骨盆区域疼痛或不适、排尿异常等症状为特征的一组疾病。

前列腺炎的分类:I型起病急,可表现为突发的发热性疾病,伴有持续和明显的下尿路感染症状,尿液中白细胞数量升高,血液或(和)尿液中细菌培养阳性;II型有反复发作的下尿路感染症状,持续时间超过3个月,前列腺液(EPS)、精液、按摩后尿液(VB3)中白细胞数量升高,细菌培养阳性;III型主要表现为长期、反复的骨盆区域疼痛或不适,持续时间超过3个月,可伴有不同程度的排尿症状和性功能障碍,严重影响患者的生活质量;IV型无主观症状,仅在有关前列腺方面的检查时发现炎症证据^[2]。

慢性前列腺炎病理特征主要为腺体充血,腺液及炎性分泌物滞留,腺小管梗塞,腺管、腺泡及间质炎性浸润,或有脓肿形成,或瘢痕组织包围,或病灶周围纤维化等,从而影响局部血液循环^[3]。

影响药物进入前列腺泡主要有下面几个因素:(1)被膜屏障,前列腺是由腺组织和间质构成,并由结缔组织和平滑肌构成的被膜包裹,被膜、腺组织和间质等结构形成了一道药物难以进入的解剖屏障,且血管分布在被膜外面,所以,前列腺发生慢性炎症时大部分药物不能向病灶内扩散;(2)血-前列腺屏障,水溶性、酸性、低离解常数及与蛋白质结合多的药物不易透过前列腺上皮脂质膜,多种药物难以在前列腺组织内达到有效浓度;(3)前列腺液的pH值,慢性前列腺炎患者前列腺液pH值升高,破坏了血浆和前列腺之间的pH值梯度,此时进入腺体内的药物反弥散到血浆内,使前列腺内的药物浓度降低^[4]。

凡能引起前列腺充血的因素,如频繁性冲动、性交过多、尤其忍精不泄、过度手淫、过量饮酒、喜食刺激性食物、过度劳累、会阴部长久受压等均可诱发或加重其症状^[5]。慢性前列腺炎发病系综合病因所致,多种药物联合应用可作用于不同的环节,在临床上有一定的合理性^[6]。由于诊断慢性前列腺炎的客观指标相对缺乏并存在诸多争议,因此,推荐应用前列腺症状评分^[7]。而慢性前列腺炎的治疗目标主要是缓解疼痛、改善排尿症状和提高生活质量,疗效评价应以症状改善为主。

前列腺炎的治疗原则应采取综合治疗方法。包括健康教育、心理和行为辅导、药物治疗、其他治疗等。慢性前列腺炎患者应戒酒,忌辛辣刺激性食物,加强体育锻炼,避免憋尿、久坐,注意保暖,热水坐浴有助于症状的缓解。药物治疗的给药途径主

要包括口服、静脉、外敷、经尿道前列腺灌注、经直肠给药、前列腺穿刺注射等。

由于前列腺泡上皮类脂质膜屏障可使多种抗生素不能透入前列腺泡内,影响治疗效果;而且在前列腺内常有感染之小结石,所以,治疗效果往往不理想。前列腺和直肠周围有丰富的静脉丛,经直肠用药可在前列腺组织内形成药物高浓度^[8]。直肠静脉与膀胱前列腺静脉丛之间有2~6条小的痔生殖静脉,将直肠静脉的血液单向输送到泌尿生殖静脉丛,没有反向运输^[9]。

Ag⁺可使细胞膜上蛋白失去活性而杀灭细菌,是重金属离子,与细菌蛋白质作用使其变性,具有广谱杀菌及不易耐药的特点。利用纳米技术制备的纳米银具有比银离子更稳定的物理化学特性。纳米银抗菌水凝胶充分利用了透皮吸收技术,吸收更迅速、完全。在常规治疗中联合应用邦列安纳米银抗菌水凝胶可提高前列腺炎的疗效。

参考文献:

- [1] Krieger JN, Riley DE, Cheah PY, et al. Epidemiology of prostatitis: new evidence for a world-wide problem[J]. *World J Urol*, 2003, 2(1): 70-74.
- [2] 那彦群. 中国泌尿外科疾病诊断治疗指南[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 207-232.
- [3] 常德贵, 王同庆, 魏永进, 等. 八正散加减方治疗湿热下注型慢性前列腺炎排尿症状的临床研究[J]. *中华男科学杂志*, 2010, 16(7): 667-669.
- [4] 徐建春, 卢启明, 付立杰, 等. 前列解毒胶囊联合芦氟沙星治疗慢性前列腺炎的随机双盲对照临床观察[J]. *中华男科学杂志*, 2010, 16(2): 183-185.
- [5] 陈德宁, 陈慰填, 马庆辉, 等. 前痛定方治疗III B型前列腺炎的临床研究[J]. *中华男科学杂志*, 2009, 15(1): 90-91.
- [6] 王新明. 特拉唑嗪联合氯美扎酮治疗慢性前列腺炎/慢性骨盆疼痛综合征的回顾性分析[J]. *中华男科学杂志*, 2009, 15(8): 720-722.
- [7] Litwin MS. A review of the development and validation of the national institutes of health chronic prostatitis symptom index[J]. *Urology*, 2002, 60(1): 14-18.
- [8] 郭应禄, 胡礼泉. 男科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 1483-1490.
- [9] 谢建兴, 胡海棠, 肖冬妮, 等. 前列安栓治疗慢性前列腺炎(湿热淤血壅阻证)的安全性和有效性的III期临床试验[J]. *中华男科学杂志*, 2009, 15(11): 1052-1054.

(收稿日期: 2010-10-03 修回日期: 2011-01-23)

(上接第 1220 页)

- [12] Stoute JA, Odindo AO, Owuor BO, et al. Loss of red cell complement regulatory proteins and increased levels of circulating immune complexes are associated with severe malarial anemia[J]. *J Infect Dis*, 2003, 187(5): 314-316.
- [13] Teixeira JE, Martinez R, Camara LM, et al. Expression of complement receptor type 1 (CR1) on erythrocytes of paracoccidiomycosis patients[J]. *Mycopathologia*, 2001,

152(3): 125-127.

- [14] 郭峰. 红细胞免疫的研究和意义[J]. *自然杂志*, 2002, 24(5): 268-270.
- [15] 郭峰. 现代红细胞免疫学[M]. 上海: 第二军医大学出版社, 2002: 256-268.

(收稿日期: 2010-11-25 修回日期: 2011-01-25)