

• 实验研究 •

精氨酸对创伤大鼠免疫调节作用的研究¹

潘永成 张寿熙 丁显仲 李桦

(同济医科大学附属协和医院外科, 武汉 430022)

摘要 研究了腹部创伤大鼠免疫功能的变化及精氨酸对创伤大鼠的免疫调节作用。结果显示: 腹部创伤大鼠脾脏自发性抑制性T淋巴细胞活性明显增强, 脾脏淋巴细胞白细胞介素2生成能力明显下降; 应用精氨酸治疗能够明显地降低自发性抑制性T淋巴细胞活性, 促进脾脏淋巴细胞白细胞介素2的产生。结果表明: 创伤大鼠免疫功能明显下降, 应用精氨酸治疗能够明显改善创伤大鼠的免疫功能, 有助提高其抗感染力。

关键词 精氨酸 创伤 损伤 免疫抑制 免疫调节

近年来, 随着免疫学的迅速发展以及免疫理论在医学中的应用, 许多学者认为创伤后的免疫功能低下是导致术后外科感染及肿瘤扩散发生率高的原因之一。本文观察了精氨酸对创伤大鼠免疫功能的影响, 从而为临床上应用该药纠正免疫功能低下而降低创伤后感染率提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物及分组: 雄性 Sprague-Dawley 大鼠 30只, 体重180~220 g/只(同济医科大学实验动物中心提供), 随机分为3组: ①非手术对照组; ②腹部创伤组; ③腹部创伤+精氨酸治疗组, 即腹部创伤后开始饮用盐酸精氨酸(自由饮水中加1%盐酸精氨酸), 直至术后d 4处死动物, 检测免疫指标。

1.2 动物模型制作: 2.5%戊巴比妥钠腹腔内麻醉, 上腹正中切口打开腹腔, 探查肠管、肝、脾、肾等脏器后缝合腹腔。非手术对照组仅行腹腔内戊巴比妥钠麻醉而不进行剖腹探查。

1.3 免疫指标检测:

1.3.1 脾脏自发性抑制性T淋巴细胞的检测: 采用 Li 等^[1]的方法略加改良: 无菌取出大鼠脾脏, 平皿内研磨成单细胞悬液, 于 Hanks 液中洗涤细胞3次, 低渗法破碎红细胞, 以 RPMI 1640 完全营养液(RPMI 1640 10.4 g/L, 谷氨酰胺 2 mmol/L, Hepes 4.766 g/L, NaHCO₃ 1.2 g/L, 内含

10%胎牛血清)调细胞浓度至 $2 \times 10^6/\text{ml}$, 将细胞悬液分成2份: 一份为反应细胞, 另一份加丝裂霉素 C 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 37°C水浴30 min, 洗涤3次后重新调细胞浓度为 $2 \times 10^6/\text{ml}$, 即为自发性抑制性T淋巴细胞。然后将细胞悬液按以下方式加入96孔细胞培养板中, 实验孔加50 μl 自发性抑制性T细胞及100 μl 反应细胞, 对照孔加50 μl RPMI 1640及100 μl 反应细胞, 各孔加 ConA 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 同时设不加 ConA 的空白孔, 置37°C, 5% CO₂ 培养箱内孵育48 h, 然后加1 μCi ³H-TdR/孔, 继续培养8 h后用多头细胞收集仪收集细胞于玻璃纤维滤纸上, 置闪烁液内于双道液体闪烁仪上测定 CPM 值。自发性抑制性T细胞的抑制活性按下述公式计算:

$$\text{自发性抑制性T细胞抑制率(\%)} = \left(1 - \frac{\text{抑制孔CPM}}{\text{对照孔CPM}}\right) \times 100\%$$

1.3.2 脾脏淋巴细胞白细胞介素2生成能力的测定: 首先按前法制备 $2 \times 10^6/\text{ml}$ 的脾脏淋巴细胞悬液, 将细胞悬液置24孔细胞培养板中, 1 ml/孔, 同时加 ConA 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 于37°C 5% CO₂ 培养箱内孵育48 h, 离心收集上清液—20°C保存待检。

白细胞介素2活性的测定采用 CTLL 细胞增殖法: CTLL 细胞以 RPMI 1640 营养液调成 $4 \times 10^5/\text{ml}$, 置96孔细胞培养板中(100 μl /孔), 然后加入待测定白细胞介素2上清100 μl , 置37°C 5% CO₂

¹ 国家自然科学基金及卫生部青年基金资助课题

培养箱内培养24 h, 然后加入0.5u CT³H-TdR/孔, 继续培养4 h, 用多头细胞收集仪收集细胞于玻璃纤维滤纸上, 5%三氯醋酸固定, 60℃烘干后置二甲苯闪烁液于双道液体闪烁仪上测定CPM值, 实验以三复孔进行。

1.4 统计学处理: 各组用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各均数间用 t 检验。

2 结果

2.1 精氨酸对腹部创伤大鼠自发性抑制性T细胞活性的影响: 结果显示: 剖腹探查术后脾脏自发性抑制性T细胞活性明显增强, 与对照组相比有极显著性差异($P < 0.01$); 应用精氨酸治疗后腹部创伤大鼠脾脏自发性抑制性T细胞活性明显下降, 与单纯创伤组相比有显著性差异($P < 0.05$)。见表1。

表1 创伤大鼠抑制性T淋巴细胞活性的变化及精氨酸对其的影响(抑制率%, $\bar{x} \pm s$)

组 别	例 数	抑制性T淋巴细胞活性	
对 照 组	10	10.22 ± 1.63	A
创 伤 组	10	24.37 ± 2.19	B
创伤+精氨酸 治 疗 组	10	18.22 ± 7.09	C

A与B比较: $P < 0.01$ B与C比较 $P < 0.05$

2.2 精氨酸对腹部创伤大鼠脾脏淋巴细胞白细胞介素2生成能力的影响: 结果显示, 创伤后大鼠脾脏淋巴细胞白细胞介素2生成能力明显下降, 与对照组相比有极显著性差异($P < 0.01$), 应用精氨酸治疗后的创伤大鼠白细胞介素2生成能力明显增强, 与单纯创伤组相比有显著性差异($P < 0.05$)。见表2。

表2 创伤对大鼠脾脏淋巴细胞白细胞介素2的影响及精氨酸的调节作用(cpm, $\bar{x} \pm s$)

组 别	例 数	白细胞介素2活性	
对 照 组	10	11543 ± 756	A
创 伤 组	10	4963 ± 533	B
创伤+精氨酸 治 疗 组	10	7894 ± 962	C

A与B比较: $P < 0.01$ B与C比较 $P < 0.05$

3 讨论

3.1 外科创伤术后常引起机体的免疫功能下降, 许

多学者认为外科术后感染及脓毒血症的发生与术后免疫抑制有密切关系。但有关创伤后免疫抑制的机制及免疫机能受影响的范围目前尚不完全清楚。

Faist 等报道创伤后机体的迟发性超敏反应性明显下降, 脾脏淋巴细胞对丝裂原的反应性明显减弱, 人体外周单个核细胞对PHA的反应性明显减低, 自体淋巴细胞混合反应及同种淋巴细胞混合反应下降^[2]; Bjornson等研究显示损伤机体的中性粒细胞趋化性和吞噬细菌的功能明显减弱, 中性粒细胞表面的补体受体表达亢进, 提示有非特异性免疫功能紊乱^[3]。Hansbrough等报道胆囊切除术后患者外周血T淋巴细胞亚群发生明显异常, T辅助性淋巴细胞比例下降, T抑制性淋巴细胞亚群比例升高, T辅助性细胞与T抑制性细胞的比值下降^[4]。

本文研究测定了创伤后大鼠脾脏自发性T细胞功能变化, 结果发现创伤后自发性抑制性T细胞的功能明显增强, 抑制了自体淋巴细胞对有丝分裂原刺激的增殖能力。同时本研究进一步证明: 创伤后机体淋巴细胞白细胞介素2生成能力明显下降, 与国外报道一致。

3.2 精氨酸最初作为一种抗肝昏迷药物, 已知其通过鸟氨酸循环促进尿素生成而使血氨下降, 但其作为一种免疫调节剂, 通过增强T细胞介导的免疫来提高机体的抵抗能力, 却是近十年来才逐渐被认识并为人们所关注。Barbul等注意到精氨酸可减轻损伤大鼠的胸腺萎缩, 增加胸腺细胞数, 增强淋巴细胞对丝裂原的反应性^[5]。Saito等研究证明应用精氨酸可增强实验性烧伤动物的迟发性超敏反应^[6]。Reynolds认为精氨酸具有明显的免疫增强作用, 精氨酸的免疫调节是直接作用于免疫细胞的结果^[7]。

本研究结果表明: 精氨酸能够明显抑制创伤大鼠的自发性抑制性T淋巴细胞的活性, 增加脾脏淋巴细胞的白细胞介素2的生成能力, 这说明应用精氨酸治疗创伤宿主, 可改善其免疫功能, 提高其抵抗力, 因而有可能成为临床上调节创伤免疫, 降低感染率有价值的药物之一。

参 考 文 献

- 1 Li Z J, Luo D D, Dai J Z, et al. Changes in T cell subsets and T suppressor cell function and their relationship in human

- schistosomiasis japonica. J Tongji Med Univ, 1991, 11(3): 135
- 2 Faist E. Perioperative immunomodulation in patients with major surgical trauma. in Faist E, Ninnemann JL, Green D, eds. The immune consequences of trauma, shock and sepsis-mechanisms and therapeutic approaches. Berlin Springer-verleg, 1989; 531—549
- 3 Bjornson A B, Bjornson H S, Knippenberg R W, et al. Temporal relationships among immunologic alteration in a guinea model of thermal injury. J Infection Dis, 1986, 153:1098
- 4 Hansbrough J F, Bender E M, Zapata-sirvent R, et al. Altered helper and suppressor lymphocyte population in surgical patients. Am J Surg, 1984, 148:303
- 5 Barbul A, Wasserkrug H L, Seiter E, et al. Immunostimulatory effects of arginine in normal and injured rats. J Surg Res 1980 29:228
- 6 Saito H, Trocki O, Wang S L, et al. Metabolic and immune effects of dietary arginine supplementation after burn. Arch Surg, 1987, 122(7): 784—9
- 7 Reynolds J V, Daly J M, Zhang S, et al. Immunomodulatory mechanisms of arginine. Surgery, 1988, 104(2): 142—51

收稿日期: 1995—12—27

ABSTRACT IN BRIEF

Immunoregulatory Effects of Arginine on Rats with Trauma

Pan Rong-cheng, Zhang Shou-xi, Ding Xian-zhong, Li Hua

(Dept. of Surgery, Xiehe, Tongji Medical University, Wuhan 430022)

Abstract In this article, we investigated the changes of immune function and immunoregulatory effects of arginine on rats with trauma. The results showed that spontaneous suppressor T cell activity of spleen significantly increased and Interleukin 2 production markedly decreased in rats with trauma. Arginine could markedly improve immune function, decrease spontaneous suppressor T cell activity and increase Interleukin 2 production of splenocytes.

Key words arginine, trauma, immunosuppression, immunoregulation

(on page 1)