

自然流产的免疫性因素与中医药治疗

罗颂平 张玉珍 梁国珍 罗元恺

(广州中医药大学第一附属医院, 广东510407)

提要 本课题对135例自然流产患者(排除了遗传、感染、子宫异常等因素)进行了免疫学检测。揭示夫妇间HLA相容性增加,封闭抗体不足,可能是造成流产的原因。根据辨证,这些患者多表现为脾肾两虚。据此拟定了以健脾补肾为主的助孕3号丸。治疗后,再次妊娠21例,妊娠成功率95.24%,MLC封闭效应呈总体上升趋势。提示助孕3号丸能提高免疫功能,促进封闭抗体的形成,是治疗免疫性自然流产的有效方剂。

关键词 自然流产 中医治疗 T细胞亚群 混合淋巴细胞培养 封闭性抗体 HLA

自然流产是较常见的妊娠病。临床上以早期流产多见。据统计,约15-40%的妊娠发生自然流产,其中约60%发生在孕12周内(1)。自然流产有反复发作的倾向,既往流产的次数越多,下次妊娠发生流产的机率越高。反复自然流产(RSA)者,若以往每次妊娠均未超过20周,称为原发性RSA;若曾有过20周以上的妊娠,称为继发性RSA。

导致自然流产的原因有遗传、感染、子宫异常、内分泌失调或创伤等。近年来,免疫因素与自然流产的关系日益受到重视。如夫妇间HLA(人类淋巴细胞抗原)的相容性增加,封闭性抗体不足,或存在自身免疫性抗体等因素,都可导致母胎之间的免疫调节紊乱而发生自然流产。根据中医理论,反复流产属“滑胎”范畴。脾肾虚弱,胎元不固为其主要病机。安胎多取健脾补肾之法,疗效显著而安全。

本课题从生殖免疫学的角度,对自然流产进行了一系列的免疫学分析,并观察了中医治疗后免疫指标的变化和再次妊娠的结局。

自然流产的免疫学检测

临床资料

全部病例均来源于广州中医药大学第一附

属医院妇科。

1. 纳入标准 ①自然流产史。患者中既往流产次数为1-9次。其中7例在自然流产前有人工流产史。②夫妇双方染色体基本正常。③双方地中海贫血常规及G-6PD(6-磷酸葡萄糖脱氢酶)正常。④女方内分泌检查PRL(催乳激素)、E2(雌二醇)、Prog(孕酮素)、T3(三碘甲状腺原氨酸)、T4(甲状腺素)基本正常。⑤男方精液基本正常。

2. 排除标准 ①采用非配偶精液人工授精妊娠流产者。②子宫形态异常或宫颈机能不全。③子宫肌瘤、盆腔炎未愈。④黄体不健、甲状腺功能亢进或低下。

实验方法

1. HLA-A.B. C分型 采用NIH(美国国家卫生研究所)标准的微量淋巴毒试验进行血清学分型(2)。血清盘购自广州医学院神经科学研究所。有A位点17个, B位点35个, C位点5个。夫妇双方同时检测。

2. ASAb(抗精子抗体)测定 采用TSAT(试管玻片凝集试验)法检测夫妇双方血清。

3. 淋巴细胞亚群 采用卫生部武汉生物制品研究所的抗人体T细胞及其亚群单克隆抗体,红细胞花环法测定CD₃、CD₄、CD₈。

4. 混合淋巴细胞培养(单向MLC) 女方细胞为反应细胞,男方细胞经丝裂霉素处理作为刺激细胞,与女方血清或混合AB型血清在5%CO₂之37℃培养箱培养7天。终止培养前18小时加³H-TdR标记。培养结束后收集细胞,测定cpm(3)。

封闭效应(BE)按下列公式求得:

$$BE = (1 - \frac{\text{女方血清 MLC xcpm}}{\text{AB血清 MLC xcpm}}) \times 100\%$$

检测结果

1.HLA 分型 检测135 对夫妇, 其中RSA≥3 次者(习流组)63对夫妇, 自然流产1-2次者(流产组)54对夫妇。习流组, 原发性RSA 为54例, 继发性9例。流产组中原发性67例, 继发性5例。对照组为正常生育的40对夫妇。

HLA-A.B.C 分型发现, 夫妇间有2个以上位点相同者, 习流组、流产组分别与对照组比较, 均有显著性差异。只有1个位点相同者, 则组间无显著差异。而夫妇间无1个位点相同者, 习流组与对照组比较也有显著差异。比较夫妇间在HLA-A.B.C 不同位点的相容性, 发现夫妇间A 位点相同者, 组间差异不显著, 而B 位点相同及A、B 位点相同者, 则习流组与流产组均显著高于对照组, 提示自然流产夫妇存在HLA 相容性增大的倾向。

2.ASAb 检测 测定习流组、流产组患者及其配偶血清中的 ASAb, 女方阳性率略高于男方, 患者夫妇的 ASAb 阳性率也高于正常生育妇女, 但无显著性差异, 提示ASAb 可能与流产无关。

3. 淋巴细胞亚群 对 T 细胞的分析表明, 流产患者的CD₃ (总T) 大致正常, CD₈(Ts, 抑制性T 细胞)略高, 而CD₄(Th, 辅助性T 细胞)显著降低, 提示其免疫应答能力降低。

4. 单向MLC HLA 相容性增大(夫妇间≥2位点相同)的流产妇女, 单向MLC 显示其封闭效应呈低反应性, 提示封闭性抗体不足。

免疫性自然流产的中医治疗

自然流产夫妇经各项检查排除遗传、内分泌等因素, 而存在夫妇间HLA 相容性增大、封闭效应不足者, 应考虑为免疫因素所致。目前国内外多采用白细胞主动免疫治疗(4-7)。

中医药在防治自然流产方面有较好的疗效。我们在研制罗元恺教授的验方“滋肾育胎丸”的过程中, 已发现该药对内分泌系统的调节作用(8)。我院免疫研究室和脾胃研究所的多年研究, 也证实健脾、补肾方药对免疫系统的促进作用。因此, 我们尝试以中医药治疗免疫

因素所致的自然流产, 并观察治疗后免疫功能的变化。

诊断标准

参照《生殖免疫学》中的标准(6):①自然流产史。②经各项检查排除生殖道畸形、染色体异常、地中海贫血、甲状腺功能异常及男方精液异常。③夫妇双方具有2个或以上相同的HLA 抗原, 或MLC 呈低反应性(BE<5%)。④辨证属肾虚或脾肾两虚。

辨证标准

参照“中医虚证辨证参考标准”10),

疗效标准

有效: 再次妊娠达20周以上, B 超示子宫内活胎。无效: 再次妊娠流产。

治疗方法

1. 方药 助孕3号丸。由党参、黄芪、菟丝子、川断等中药提制成小丸, 功效是健脾益气, 补肾安胎。药剂由广州中医药大学第一附属医院制剂室制备。

2. 用法 口服。每次6g, 每日3次。

3. 疗程 第1疗程为3个月, 服药期间避孕(安全期或避孕套)。此疗程结束后, 嘱患者停止避孕, 仍继续服药。再次妊娠后为第2疗程, 用药至孕12—16周。

在治疗前、第1疗程结束及第2疗程结束时抽血做MLC。

治疗效果

符合本课题诊断标准的患者共46例。部分外地患者未能坚持治疗, 故未纳入观察。另一部分患者经第1疗程治疗后未获妊娠。治疗后再次妊娠进入第2疗程者共21例。本组患者年龄分布为23-34岁, 其中23-29岁9例, 30岁以上12例。自然流产史: 1次者2例, 2次者10例, ≥3次者9例(5次者2例, 6次者1例), 继发性RSA2 例。辨证属脾肾两虚14例, 肾虚7例。

第2疗程中, 仅1例出现阴道流血等先兆流产症状, 继续服药并予以对症处理后止血, 后足月分娩。其余20例均无阴道出血。疗程结束时, 全部经B 超证实为宫内妊娠, 活胎。但有1例继发性RSA 在孕24周时发现胎死。21例

中,足月分娩20例,生育男婴者13例,生育女婴者7例(其中1例为双胞胎)。21名婴儿均未见发育异常。失败1例。有效率95.24%。

治疗前单向 MLC 封闭效应 (BE%、 $X \pm SE$) 为 -21.07 ± 132.0 , 第1疗程后(孕前)为 40.78 ± 38.4 , 第2疗程后(孕后)为 44.30 ± 41.0 。

治疗后的封闭效应呈总体上升趋势,提示治疗后患者的免疫应答有所增强,封闭性抗体增加,可能是再次妊娠成功的一个重要因素。

讨 论

1. HLA 相容性与自然流产的关系 本课题所做的 HL A—ABC 分型表明,流产夫妇的相容性增加,尤以B位点和A、B位点为显著。其机制可能有两方面的因素:①从免疫遗传学的角度,妊娠是一种同种异体移植。胎儿的一半基因来自父体,妊娠时,母体对父体抗原的识别并引起免疫反应,产生封闭性抗体以保护胎儿不被排斥,是维持早期妊娠的重要因素。Faulk 等提出,滋养层细胞膜上表达滋养细胞一淋巴细胞交叉抗原(TLX),目前尚未清楚其生化性质,亦未能检测分型。由于TLX与淋巴细胞表面抗原的连锁和交叉反应,夫妇间HLA相容性较高,可能使母体的免疫系统对TLX抗原不能有效识别,并产生足够的封闭抗体,母体对胚胎的免疫保护作用不足,则可能易于流

产(11)。②从生物遗传学的角度,亲代HLA相容性增加,差异较小,胚胎HLA纯合性机会增加,纯合子妊娠可致母胎间免疫调节失去平衡而易于流产。

目前国内外学者对HLA相容性与自然流产的关系仍有歧见。由于HLA位点较多,其分布与种族、地区有一定关联,而血清学分型方法成本高,未能广泛应用于临床。有些报道样本数较少,相对误差较大,可作进一步的探讨。

2. 自然流产患者的免疫功能 在细胞免疫方面,本组流产患者 CD_4 细胞显著降低,而 CD_8 细胞相对高于正常生育妇女, CD_4/CD_8 比值 < 1 ,提示母体的Th细胞水平降低,免疫应答及

免疫保护作用被削弱,而Ts细胞水平升高,容易引致免疫损伤。

在体液免疫方面,流产妇女的封闭效应低下,显示封闭抗体不足。目前国内外的研究多采用单向MLC作为封闭抗体的观察指标。本研究与各家报道的结果一致(7,12,13)。本组患者经中药治疗后,封闭效应呈总体上升趋势,说明中药治疗能调整机体的免疫调节机能,提高免疫应答能力,促进抗体的产生,使再次妊娠后胚胎获得足够的免疫保护,因而取得较高的妊娠成功率。

3. 中医药治疗的机理探讨 根据临床观察,夫妇间HLA相容性增加、封闭抗体不足之RSA患者,证候表现以脾肾两虚为多,气虚证较为明显。我们在罗元恺教授指导下,拟定了以寿胎丸为基础的助孕3号丸。以黄芪、党参、菟丝子、川断等为主,加强健脾补气。本组患者治疗后MLC封闭效应多有明显提高,并在再次妊娠后仍保持较高的水平。说明助孕3号丸能改善免疫功能,促进封闭抗体形成;且治疗后脾虚及肾虚症状多有改善,再次妊娠后仅1例出现阴道出血,另有一些患者出现腰酸或小腹痛,症状轻微;失败的1例在孕24周发现胎死腹中,此例为继发性RSA,曾有两次早期流产、两次妊娠晚期死胎,再次流产的原因仍未清楚。

目前国内外对于HLA相容性增加或封闭性抗体不足的RSA多采用白细胞免疫治疗,再次妊娠成功率约75-87%。但不论采用配偶或供者的白细胞,均需作H BsAg、USR(未加热血清反应素)等血清学检测,且检测必须注意:①分离白细胞的过程需要无菌操作,若处理不当,则容易引致感染。②存在着传播乙型、丙型肝炎,甚至艾滋病的潜在危险。③远期的副作用和安全性尚难评价。④此检测目前还是作为一种临床试用的方法进行研究,未能广泛开展。相比之下,中医药治疗安全、方便,疗效显著。通过健脾补肾,同样能促进免疫功能,增强免疫效应。说明中医药在治疗免疫性自然流产方面具有一定的优势,值得进一步研究其机理,使之得到更广泛的应用。

扶正通宣理肺汤的药理研究

张 伟 梅 彤 刘 磊 于文生 姜云香 牟晓华 周盛年!

(山东中医学院附属医院, 山东250011; 山东医科大学附属医院, 山东250011)

慢性支气管炎属本虚标实、虚实夹杂之证, 据此我们在单纯祛邪的传统方剂通宣理肺汤的基础上加入扶正之品形成了扶正通宣理肺汤, 临床应用于迁延期慢性支气管炎取得了良好疗效。为进一步揭示其机理, 我们观察了该方对慢性支气管炎模型小鼠气管连肺组织cAMP、cGMP的影响, 并与单纯祛邪的通宣理肺汤、单纯扶正的扶正方进行了对照观察。

实验动物选取昆明种雌性小鼠, 体重18-22g。由山东医科大学动物室提供。实验试剂cAMP、cGMP 放免药盒由山东医学科学院提供。

通宣理肺汤由紫苏叶、陈皮、前胡、黄芩、桔梗、炙麻黄、枳壳、制半夏、杏仁、茯苓、甘草组成。扶正方由黄芪, 党参等组成。扶正通宣理肺汤即通宣理肺汤合扶正方。上药由本院药剂科提供; 分别水煎, 浓缩至200%浓度, 冰箱贮存备用。

将小鼠用SO₂ (二氧化硫) 刺激法造成慢性支气管炎模型, 随机分为4组: A 组喂生理盐水, B 组服通宣理肺汤, C 组服扶正汤, D 组服扶正通宣理肺汤。剂量0.2ml/ 10g 体重, 每天1次, 连续10天, 然后将小鼠处死。取气管连肺组织置于干冰中, 制成匀浆, 按照山

东医学科学院提供的方法加样, 用液闪仪测定。

结果: cAMP 含量以D 组最高, A 组与D 组比较 $p < 0.01$, 有高度显著性差别; B 组与D 组比较 $p > 0.05$, 有显著性差别; C 组与D 组比较 $p > 0.05$, 差别不显著。cGMP 含量以D 组最低, A 组与D 组比较 $p < 0.01$, B 组与D 组比较 $p < 0.01$ 差别显著, C 组与D 组比较 $p < 0.05$ 。cAMP/ cGMP 比值以D 组最高, A 组与D 组比较 $p < 0.001$, 有极显著性差别; B 组与D 组比较 $p < 0.01$, 有高度显著性差别; C 组与D 组比较 $p < 0.05$ 有显著性差别。说明①提高cAMP 的含量以扶正通宣理肺汤作用最强, 但与扶正组比较未见到差异; ②抑制cGMP 升高作用以扶正通宣理肺组最明显; ③提高cAMP/cGMP 比值的作用以扶正通宣理肺组最突出。

扶正通宣理肺汤是根据慢性支气管炎虚实夹杂的特点拟定的扶正与祛邪并举之剂, 与单纯祛邪的传统方剂一通宣理肺汤(丸)及单纯扶正的扶正方对照显示: 扶正祛邪法这一措施既优于单纯祛邪又优于单纯扶正, 从而在治疗学上印证了慢性支气管炎的基础病理为本虚标实这一理论的正确性。

(收稿日期 1996年2月12日)

参考文献

- (1) Pernoll ML et al. Current Obstetric and Gynecologic Diagnosis and Treatment. Norwalk: Appleton Lange. 1987:255
- (2) 赵桐茂等. HLA 分型原理和应用. 上海. 上海科技出版社, 1984:275
- (3) 郑武飞等. 实用临床免疫学技术. 天津. 天津科技出版社, 1991:166
- (4) Unander AM et al. Blood Transfusions Generate/increase Previously Absent/weak Blocking Antibody in Woman with Habitual Abortion. Fertil Steril 1985;44:766
- (5) Mowbray F et al. Controlled Trial Treatment of Recurrent Spontaneous Abortion by Immunization with Paternal Cells. Lancet. 1985;1:941
- (6) 陈延琴等. 原因不明习惯性流产行HLA 免疫疗法32例分析. 实用妇科与产科杂志 1991;7(4): 205

- (7) 林其德等. 原因不明习惯性流产的免疫学诊断与治疗. 中华妇产科杂志 1993;28(3) :143
- (8) 张玉珍等. 罗元恺教授经验方“滋肾育胎丸”临床总结, 新中医 1983;(3) :11
- (9) 王梦玖等. 生殖免疫学. 北京. 中国展望出版社, 1986:95
- (10) 沈自尹等. 中医虚证辨证参考标准. 中西医结合杂志 1986: (6):598
- (11) Faulk WP et al. Role of Anti-TLX Antibody in Human Pregnancy. In Clark DA et al: Reproductive Immunology 1986. Amsterdam: Elsevier Science Publications. 1987:106
- (12) Thomas ML et al. HLA Sharing and Spontaneous abortions in Humans. Am J Obstet Gynecol. 1985;151:1053
- (13) 刘孟渊等. HLA-D 抗原的相容性以及封闭因子与习惯性流产的关系的实验研究. 广州中医学院学报 1992;9(1) :31

(收稿日期 1996年3月30日)