

针灸经络

预处理激光照射足三里穴对白细胞减少症的免疫调节影响

舒天丽 杨华元

(上海中医药大学,上海市浦东新区蔡伦路 1200 号,201203)

关键词 白细胞减少症/激光穴位照射;足三里穴;

中医针灸学是中华民族几千年来防病治病经验的结晶,它在治未病方面有着绝对的优势,早在《黄帝内经》中就已经提到“上工治未病”。免疫机能正常与否是决定机体的健康或疾病的关键,如果免疫机能正常就可以“防未病”“调欲病”“治已病”。影响机体免疫功能下降具有多种因素,如环境卫生、药物影响、社会和工作压力,以及个人的衣食住行、生活方式等。穴位激光照射法对免疫功能低下疾病的治疗,具有无痛、无菌、安全、易于临床施治、对于年老体弱和惧针者更为适宜的优势。预处理的治疗方式在改善和提高免疫功能低下的同时,在其他方面也有诸多优势,如减少医疗费用和药物对机体的毒副作用等,并可提高治疗后的康复速度,所以探索有效的提高免疫功能的预处理治疗方法,是当今重要的医学研究课题,也是中医治病救人的预防医学精神的体现。

1 实验材料

新西兰种雄性大白兔 20 只,体重 (2.8 ± 0.2) kg,由上海中医药大学实验动物中心提供,动物生产许可证编号:SCXK(沪)2009-0018,于上海宝牧实验动物养殖场购买;上海中医药大学实验设施使用许可证编号:SYXK(沪)2009-0069。所有动物在同等标准环境下饲养,给以自然饮水和饮食,适应实验环境 1 周。根据体重将兔编号,按照 SAS9.0 产生的随机数字表将 20 只兔随机分为 2 组,穴位照射预处理组(预处理组)和假照射对照组(对照组),每组 10 只。

2 实验方法

2.1 试剂和仪器 环磷酰胺(Cyclophosphamide, CTX)(0.2g),购自德国 Baxter Oncology GmbH 公司。自行研制一台 2 路 810nm 低强度 10mW 激光照射治疗仪。810nm 低强度、持续波激光通过光纤输出聚合照射于穴位。激光输出端与动物皮肤之间距离始终保持实验过程中干预的一致性。2 路激光照射治疗仪保持双侧足三里穴同时照射 45s 的一致性。

2.2 造模 穴位照射预处理组实验共 15d,包括造模
万方数据

前预处理治疗、造模、造模后假照射 3 个阶段:第 1~5d 进行造模前干预,提高机体免疫功能,干预方法为激光(波长 810nm,功率 10mW,持续波)同时照射双侧足三里穴^[1]2 次/d,45s/次($4\text{J}/\text{cm}^2$),2 次照射间隔时间 3h;第 6~10d 进行动物造模,造模方法参照文献^[2],2 组通过兔耳缘静脉注射环磷酰胺复制白细胞(WBC)减少症模型。每 0.2g 环磷酰胺加 10mL 生理盐水。75%乙醇棉球消毒兔耳缘皮肤,将环磷酰胺溶液($2.5\text{mL}/\text{kg}$ 体重)缓慢推入兔耳缘静脉,隔天注射,共 3 次,让兔体重减轻,身体虚弱,WBC 计数正常范围为 $7 \times 10^9 \sim 13 \times 10^9/\text{L}$,直至 WBC 数量下降至低于注射前的 60%,并能保持 5~6d 白细胞减少症的现象,作为造模成功的标志。第 11~15d 进行造模后假激光照射,将激光置于双侧足三里穴,但不进行照射(2 次/d,45s/次,2 次间隔时间 3h)。对照组实验共 10d,包括造模、造模后假照射 2 个阶段:第 1~5d 动物造模,方法同预处理组;6~10d 进行假激光照射。2 组照射前及随后 3h 测量动物白细胞计数,进行当天的第 2 次穴位照射或假照射。各组在假照射期间的第 5d,测完第 2 次白细胞计数后,加测 T、B 淋巴细胞比值。

2.3 测外周血 WBC 计数方法 安静环境中,室温 22°C ,将兔固定于兔架上,耳廓背面剪去毛发以备采血,用手术灯照射耳部,使血管扩张便于取血。75%乙醇棉球耳缘静脉区消毒后,用一次性静脉输液针耳缘静脉放血,一次性微量吸管采血 $20\mu\text{L}$,放入量杯摇匀后,滴入溶血素 4 滴再摇匀,用血球计数仪测 WBC 计数。预处理组 WBC 计数检测为:1)实验开始前,检测动物正常 WBC 计数,测后造模;2)造模期间(共 5d)的第 3、5d 注射环磷酰胺之前再测;3)造模后期(即造模后,共 5 天),每天假照射前后采血检测(包括当天首次治疗前和 3h 后再次治疗前)。对照组 WBC 计数测定时间为:1)实验开始前,检测动物正常 WBC 计数,测后造模;2)造模期的第 3、5d 注射环磷酰胺之前测定;3)造模后期,每天假照射前后采血检测(包括当天首次治疗前和 3h 后再次治疗前)。

2.4 测外周 T 和 B 淋巴细胞方法 测完第 2 次 WBC

表1 预处理组与对照组在不同时间点的 WBC 计数比较 ($\bar{x} \pm s, G/L$)

组别	时间	正常	1d	2d	3d	4d	5d
预处理组 (n=8)	前		4.73 ± 0.81 **	5.79 ± 1.05 **	7.21 ± 0.78 **	7.73 ± 0.95 **	8.30 ± 0.99 **
	后	9.18 ± 1.46	5.11 ± 0.90 **	6.49 ± 0.89 **	7.49 ± 1.03 **	8.11 ± 1.070 **	8.65 ± 0.96 **
对照组 (n=7)	前		3.46 ± 1.011	3.77 ± 0.80	4.41 ± 0.78	5.21 ± 0.71	5.94 ± 1.06
	后	8.97 ± 1.80	3.46 ± 0.66	4.23 ± 0.63	4.66 ± 0.61	5.40 ± 0.65	6.49 ± 1.11

注:与同一时间点上的对照组比较, ** $P < 0.01$ 。

表2 同组家兔不同时间点的 WBC 比较 ($\bar{x} \pm s, G/L$)

组别	例数	时间	正常	1d	2d	3d	4d	5d
预处理组	8	前		4.73 ± 0.81 **	5.79 ± 1.05 **△△	7.21 ± 0.78 **△△	7.73 ± 0.95 **△△	8.30 ± 0.99 **△△
		后	9.18 ± 1.46	5.11 ± 0.90 **△△	6.49 ± 0.89 **△△	7.49 ± 1.03 **△△	8.11 ± 1.070 **△△	8.65 ± 0.96 **△△
对照组	7	前		3.46 ± 1.01 **	3.77 ± 0.80 **	4.41 ± 0.78 **△	5.21 ± 0.71 **△△	5.94 ± 1.06 **△△
		后	8.97 ± 1.80	3.46 ± 0.66 **	4.23 ± 0.63 **	4.66 ± 0.61 **△△	5.40 ± 0.65 **△△	6.49 ± 1.11 **△△

注:与各组造模前 WBC 计数相比, ** $P < 0.01$ 。与各组造模后 1d 首测 WBC 计数相比, △ $P < 0.05$; △△ $P < 0.01$ 。

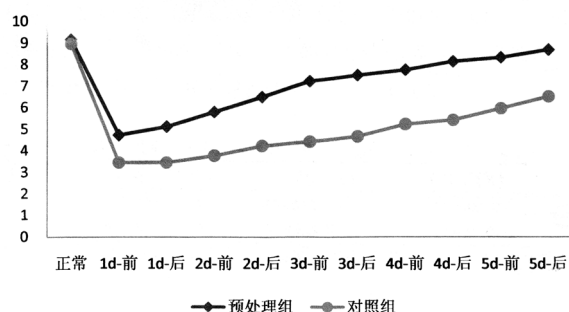
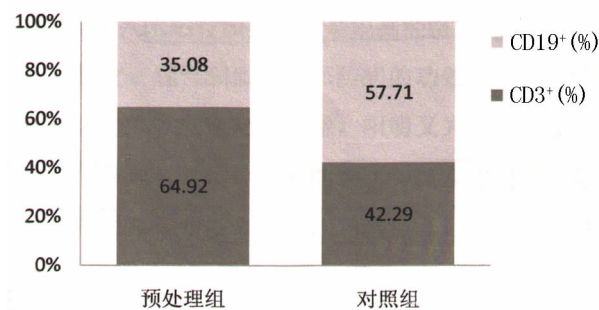


图1 预处理组与对照组间 WBC 计数的比较

图2 2组之间 CD_3^+ T 淋巴细胞与 CD_{19}^+ B 淋巴细胞构成比较

计数后,测 T、B 淋巴细胞比值。安静环境中,室温 22℃,75% 乙醇棉球耳缘静脉区消毒后,从耳缘静脉用一次性注射器抽取 0.8mL 血置于含有抗凝剂的离心管中,用流式细胞仪测 T、B 淋巴细胞。

2.5 统计学方法 使用 SPSS17.0 统计软件包,若数据服从正态分布,则采用 $\bar{x} \pm s$ 表示;若数据不服从正态分布,则采用中位数、最小值、最大值 (M, min, max) 表示。统计推断: 1) WBC 计数结果采用重复测量 (Repeated Measures) 数据资料的方差分析; 2) T、B 淋巴细胞的结果采用单因素方差分析 (One-way Anova)。

va), 组间多重比较用 LSD (方差齐时) 或 Dunnett T3 (方差不齐时)。

3 结果

3.1 排除标准 建立 WBC 低下模型过程中,动物因为 WBC 低下,模型动物免疫功能衰弱易生病,感冒,泄泻。故预处理组中,2 只动物因拒食和感冒均被排除实验。对照组中 3 只动物也因感冒,泄泻和不明原因死亡均被排除实验。

3.2 穴位照射预处理对 WBC 计数的影响 采用重复测量数据资料的方差分析,统计结果显示,预处理组 WBC 计数与对照组有统计学差异 ($F = 11.786, P < 0.001$),各时间点之间差异有统计学意义 ($F = 181.977, P < 0.001$),进一步多重比较结果见图 1 和表 1。由图 1 和表 1 可知,预处理组与对照组第 1~5 天在不同时间点上的 WBC 计数比差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

3.3 穴位照射预处理对不同时间点的外周血 WBC 计数的影响 同组不同时间点的 WBC 计数比较见表 2。由表 2 可看出,2 组造模后 5d 时间内的 WBC 计数与造模前 WBC 计数相比有显著差异 ($P < 0.01$),其对照组在 5d 时间内未恢复正常 WBC 水平范围 ($7 \times 10^9 \sim 13 \times 10^9/L$),提示造模成功。预处理组 1~5d WBC 计数与造模后首测相比,WBC 计数连续的增多,保持极显著性差异 ($P < 0.01$),说明有减少免疫损伤的作用,显示免疫系统功能从造模后开始而连续 5d 继续向康复水平改善的过程。预处理组在 3d 假照射前 WBC 计数就已恢复到正常范围 ($7 \times 10^9 \sim 13 \times 10^9/L$)。对照组与造模后首测自相对比,1d、2d WBC 计数无统计学意义,在第 3d 才有统计学意义 ($P < 0.05$),提示动物受到环磷酰胺的毒害损伤,使免疫功能恢复相对缓慢,而未恢复到正常 WBC 水平范围 ($7 \times 10^9 \sim 13 \times$

$10^9/L$)。说明,穴位照射预处理有减少免疫损伤,缩短康复时间的功效。

3.4 穴位照射预处理对外周 T、B 淋巴细胞百分比含量比较的影响 由表 3、图 2 可知,造模后 5d,预处理组与对照组相比 CD_3^+ T 细胞显著增多,差异具有极显著性($P < 0.01$); CD_{19}^+ B 细胞显著降低,差异有显著性意义($P < 0.05$)。预处理组与对照组相比 T/B 细胞的比值向正常范围回升。

表 3 外周血 CD_3^+ T、 CD_{19}^+ B 淋巴细胞百分比含量 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CD_3^+ (%)	CD_{19}^+ (%)
预处理组	8	$49.66 \pm 2.93^{**}$	$26.83 \pm 2.83^*$
对照组	7	35.49 ± 4.38	48.43 ± 13.03

注:与对照组相比, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

4 讨论

本实验采用环磷酰胺减低 WBC 指标作为免疫功能低下动物模型。环磷酰胺造模方法简单易行,用量及时间可灵活掌握,故是常用的经典性制造免疫功能低下实验模型的方法。本研究观察外周 WBC 计数在穴位预处理照射中的免疫作用,发现预处理组照射足三里穴在造模后阶段有使 WBC 计数增多的显著作用,并缩短了康复时间,WBC 数目在第 3 天已恢复到正常范围($7 \times 10^9 \sim 13 \times 10^9/L$)。同时,对照组 WBC 计数也天然增多,但并未恢复到正常范围之内,也未恢复到该组造模前的 WBC 计数水平。预处理组与对照组相比,T 细胞显著增多($P < 0.01$),B 细胞显著降低($P < 0.05$),T/B 细胞的比值回升。在造模后第 5d,预处理组的 T/B 细胞的比值已回升到正常范围,表明预处理“足三里”能刺激 T 细胞的生长、B 细胞的减少、调节 T/B 细胞的比值。

足三里穴是胃之合穴,有益脾胃、助运化、理气和血、祛邪防病的功效。中医理论认为,脾胃为后天之本,气血化生之源,阳明又为多气多血之经,所以刺激胃经合穴足三里可调气补血,是治疗疾病的关键穴位。现代研究反复证明,足三里穴有促进和调节免疫功能的作用^[2-6]。所以本实验采用能双补气血的“足三里”穴,也是根据对该穴的相对特异性、以及现代免疫机制而决定的。

近年针灸界提出了“针灸预处理”一词,所谓针灸预处理,是预先对机体的某些穴位进行刺激,以提高机体的抗病与应变能力,使未来可能产生的疾病对机体组织器官和功能的损伤有减轻的作用。针灸从本质上讲,是一种物理刺激方法^[7],采用不同方法来刺激穴位都可达到激发经络之气,协调阴阳、调节机体功能的目的。预处理组的减少免疫损伤和缩短康复时间的疗

效,表明足三里穴在激光预处理时,对“神经-内分泌-免疫网络”功能的调节作用,具有一定时间的延续性。从而推断,调节“神经-内分泌-免疫网络”功能的预处理,是针灸预防治疗所强调的“治未病”的治疗手段和治疗方案。有鉴于激光照射足三里穴有提高 WBC 计数的作用,故能对 WBC 低下而引起的许多症状有重要的良性调节作用,有利于疾病的痊愈,故穴位预处理有其“治未病”的作用。

当今世界医学的发展趋势提倡和发展预防医学。而中医针灸医学本质上是实用的临床预防医学,但到目前为止,在国际上并未得到足够的重视和广泛的应用。本实验只是对足三里穴激光预处理治疗的初步探讨,采用穴位预处理来调节机体“神经-内分泌-免疫网络”的治疗方法,应该是中医“治未病”的预防医学的重要组成部分,今后有必要进一步对针灸预处理作更深入广泛的临床研究,加以提倡。

参考文献

- [1] 郭义. 实验针灸学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2008, 403.
- [2] Sun PL, Zhou YB, Mao HJ, Wu HH, Bu LL, Sun J, Guo HY. Relationship between electroacupuncture and spleen function on leukocyte. Journal of Acupuncture and Tuina Science, 2007, 5(6): 336-340.
- [3] Trinchieri G. Biology of natural killer cells. Adv Immunol, 1989, 47: 187-376.
- [4] 骆永珍. 针灸与免疫[M]. 北京:人民卫生出版社, 2002: 239.
- [5] Xie L, Zhao L, Li M. Zusanli Point Injection for Treating Leukopenia Induced by Radio-Chemotherapy. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2003, 23(1): 59-61.
- [6] Liu P, Liu Y, Tang Q. Acupoint injection plus moxibustion on post-chemotherapy leucopenia. Journal of Acupuncture and Tuina Science, 2006, 4(2): 87-89.
- [7] 赵立岩. 经络学说在中药透皮治疗中的作用. 中国针灸, 1998, 6: 336.

(2011-03-21 收稿)◎

敬告作者

根据国家中医药管理局“国中医药发[2006]63号”《中医药继续教育规定》《中医药继续教育登记办法》的通知附件:“三、中医药继续教育学计算方法”第(二)项第5条“在学术期刊上发表论文,按刊物级别授予学分”之规定,《世界中医药》在国内外公开发行,具有国际刊号 ISSN 1673-7202 和国内统一刊号 CN 11-5529/R。凡在《世界中医药》刊登文章第一至第三作者分别授予 6、5、4 学分(余类推)。如需学分,请与《世界中医药》编辑部联系。

《世界中医药》编辑部