

中药对体内扩散盒小鼠造血干细胞作用观察

中医研究院西苑医院 谢仁敷 麻 柔 廖军鲜 郑金福 彭登慧

我们曾观察到本院治疗再生障碍性贫血（以下简称再障）有效的两个方剂——大菟丝子饮与十四味建中汤对小鼠造血干细胞有一定作用⁽¹⁾。为明确其疗效机制是否与通过体液因子影响造血干细胞有关，我们应用体内扩散盒方法对上述方药进行了研究。为便于观察，我们将此两方按中药性味分为养阴、温阳、补血三组药物，另以化痰中药及生理盐水作为对照。现将研究结果报道如下。

一、材料和方法

上海种小鼠，鼠龄6~8周，体重20~25克。单面扩散盒，容积0.20毫升/盒，微孔薄膜孔径0.46微米。培养体系：含20%小牛血清M₁₉₉培养液，5%琼脂和青、链霉素。

中药分四组：(1)养阴药组：制首乌、熟地、桑椹、麦冬各30克；(2)温阳药组：肉桂、附片各15克，肉苁蓉30克；(3)补血药组：熟地、当归各30克，川芎、白芍各15克；(4)化痰药组：法半夏、陈皮、茯苓各15克，甘草10克。上药分别制成浓缩煎剂，每毫升含生药1克。

供体小鼠的骨髓细胞：为模拟造血损伤，供体小鼠腹腔注射环磷酰胺(0.15毫克/克体重)3天，每天1次，于末次注射后24小时，从3只小鼠中取出3根股骨，用M₁₉₉培养液10毫升冲出全部骨髓细胞并计数。我们曾连续观察小鼠注射环磷酰胺后股骨有核细胞数和扩散盒集落形成细胞CFU-D(Colony Forming Unit-Diffusion Chamber)数，发现给药后二者均迅速下降，24小时降至最低点，以后又逐渐恢复至正常。

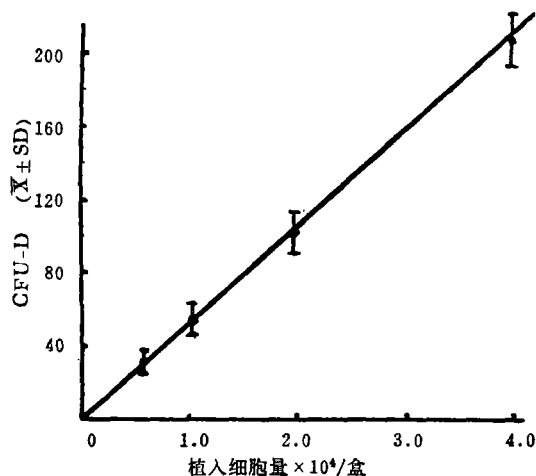
受体小鼠分组：随机分为五组。前四组分别皮下注射不同中药，每日2次，每次0.2毫升，连续注射3天；后一组给生理盐水作对照。第4天埋扩散盒。所有受体均在埋扩散盒前一天，腹腔注射环磷酰胺(0.3毫克/克体重)一次。另有一批实验，受体小鼠仅

给中药，不给环磷酰胺。

CFU-D试验：每只扩散盒植入含供体小鼠 $1.0 \sim 1.5 \times 10^4$ 骨髓有核细胞的培养体系0.2毫升(琼脂最终浓度为0.5%)，尽快埋入受体小鼠的腹腔，埋盒5天后，将受体小鼠脱颈白处死，取出扩散盒，计数CFU-D(>50个细胞)。

二、结 果

1. 受体小鼠扩散盒内植入的骨髓细胞与生成的CFU-D数的关系：我们曾观察到在我们实验室条件下正常供体小鼠(指未经环磷酰胺处理的小鼠)骨髓细胞，按不同浓度植入扩散盒内，其植入的骨髓有核细胞数与生成的CFU-D数呈良好的线性关系。在本项实验中，将经环磷酰胺处理过的供体小鼠骨髓细胞，按不同浓度植入扩散盒，其CFU-D生成数亦与植入的供体小鼠骨髓细胞数呈良好线性关系(附图)。



附图 供体小鼠经环磷酰胺处理后植入细胞数与CFU-D生成数的关系

2. 受体小鼠经不同中药及环磷酰胺处理后CFU-D的生长情况：以注射养阴药、温阳药、补血药者为

实验组,并以注射化痰药、生理盐水者为对照,植入含相同数量($\times 10^4$)的供体小鼠骨髓有核细胞扩散盒,结果如表1。

表1 受体小鼠经环磷酸胺处理各组
CFU-D生长情况

组别	标本数	CFU-D含量* / 10^4 骨髓细胞 均值 $\pm$ 标准差	CFU-D含量** /股骨 均值 $\pm$ 标准差
1. 养阴药组	30	86.7 $\pm$ 13.4	14611 $\pm$ 2777
2. 温阳药组	35	80.7 $\pm$ 6.5	13667 $\pm$ 3542
3. 补血药组	35	63.6 $\pm$ 14.7	11448 $\pm$ 2371
4. 生理盐水组	38	51.6 $\pm$ 17.8	8895 $\pm$ 2856
5. 化痰药组	11	49.6 $\pm$ 17.0	8258 $\pm$ 2713

* 1、2、3组与4组比较, P值分别为 <0.001 、 <0.001 、 <0.01 ; 1、2、3组与5组比较, P值分别为 <0.001 、 <0.001 、 <0.05 ; 1、2组与3组比较, P值均为 <0.001 。

** 1、2、3组与4组比较, P值均为 <0.001 ; 1、2、3组与5组比较, P值均为 <0.001 ; 1、2组与3组比较, P值分别为 <0.001 、 <0.01 。

表1表明,经环磷酸胺处理的受体小鼠,应用了温阳药、养阴药和补血药后,其CFU-D平均生成数及每根股骨内CFU-D的平均含量,与生理盐水和化痰中药对照组相比较均有显著差异,尤以养阴药和温阳药两组为著;此外,养阴药、温阳药组与补血药组相比较也有显著差异。

3. 受体小鼠仅用中药及生理盐水时CFU-D的生长情况:本实验组受体小鼠均不加用环磷酸胺,结果如表2。

表2 受体小鼠未经环磷酸胺处理各组
CFU-D生长情况

组别	标本数	CFU-D/含量* / 10^4 骨髓细胞 均值 $\pm$ 标准差	CFU-D含量** /股骨 均值 $\pm$ 标准差
1. 养阴药组	11	29.2 $\pm$ 7.8	4864 $\pm$ 1235
2. 温阳药组	14	28.8 $\pm$ 9.2	4798 $\pm$ 1484
3. 补血药组	13	28.0 $\pm$ 10.5	4667 $\pm$ 1667
4. 生理盐水组	13	18.3 $\pm$ 4.7	3083 $\pm$ 1156
5. 化痰药组	12	20.1 $\pm$ 7.6	3339 $\pm$ 852

* 1、2、3组与4组比较, P值分别为 <0.001 、 <0.01 、 <0.01 ; 1、2、3组与5组比较, P值分别为 <0.01 、 <0.05 、 <0.05 。

** 1、2、3组与4组比较, P值均为 <0.01 ; 1、2、3组与5组比较, P值分别为 <0.01 、 <0.01 、 <0.05 。

表2显示,养阴药、温阳药和补血药三组受体小鼠,其CFU-D的平均生成数及每条股骨的CFU-D平均含量,与化痰药和生理盐水对照组相比较均有显著

差异,其结果与表1者相一致,但CFU-D生成数不如加用环磷酸胺处理者多,而且本批实验未能显示出养阴药、温阳药与补血药组的差异。

三、讨 论

扩散盒技术首由Algire (1954)介绍。Berman及Kaplan (1959)将其应用于小鼠骨髓细胞培养,以后方法日渐改进,除小鼠外已应用于大鼠、兔、羊、犬及人骨髓和/或外周血细胞的培养,成为研究造血干细胞的一种重要手段⁽⁸⁻¹⁰⁾。由于扩散盒系植于动物腹腔内,较接近于生理条件,多能干细胞CFU-S (Colony Forming Unit-Spleen)亦能生长^(8,10),并经研究脾结节法与扩散盒法所测定的造血干细胞性质相似,CFU-D与体外琼脂培养集落形成细胞CFU-C (Colony Forming Unit-Culture)相比较,其集落细胞形态、 ^3H -胸腺嘧啶核苷(^3H -TdR)自杀率很相近,故扩散盒所生长的CFU-D为较早期的粒系定向干细胞⁽¹⁰⁻¹²⁾。

由于体内环境有利于造血干细胞的生长,故正常骨髓细胞亦能在植入正常动物腹腔的扩散盒内生长。如受体小鼠先经放射线照射或环磷酸胺等药物处理,CFU-D数更形增加^(7,8,12),这主要系通过体液因子起作用。后者可能包括体液中集落刺激因子CSF (Colony Stimulating Factor)的增加;体液中抑制因子减少;由放射线或环磷酸胺等杀死的细胞在其死亡过程中释放出非特异性刺激因子;破坏了机体的免疫反应,细胞毒抗体减少⁽¹⁴⁾等。

由于体液因子对扩散盒内细胞的增殖有重要影响,故可利用它来研究药物与体液因子的关系。我们在实验中曾观察到经中药处理后的受体小鼠,对植入含正常骨髓细胞的扩散盒有促进造血干细胞增殖的作用。为模拟造血损伤,供体小鼠注射环磷酸胺3天后,骨髓有核细胞明显减少($0.16\sim 0.18 \times 10^7$ /股骨,正常为 $1.3\sim 2.0 \times 10^7$ /股骨)。给环磷酸胺24小时后的骨髓细胞与正常骨髓细胞的CFU-D生成数相近,此时养阴药、温阳药和补血药通过体液因子对CFU-D的影响更显著,尤以养阴药和温阳药更为明显;化痰药则未见有促进作用。

中医认为再障属虚劳范畴,病损累及心、肝、脾、肾等多个脏腑,尤以肾为重要。肾为先天之本,为元阳所系,真阴所藏,主骨生髓,与精血的化生关系密切。中医辨证所见再障多属肾虚^(15,16),故治疗亦多从补肾入手,疗效一般可达90%,缓解率可达50%以上。再障患者常有血虚证候,给予补血药物也有一定功效。至于痰湿多为兼证。实验证明,养阴、温阳和

补血三组小型复方均能促进造血干细胞增殖, 其中养阴和温阳二组中药较之补血药组作用更大($P<0.001$), 而化痰药即中医常用的治痰湿方二陈汤则未见对CFU-D有何影响, 这与中医治疗再障的临床情况是互相印证的。

中药是如何影响造血干细胞在扩散盒内的生长呢? 如前所述, 受体小鼠经环磷酸胺处理主要是通过体液因子起作用。本实验的结果表明, 养阴、温阳和补血的中药似乎与环磷酸胺的效应有协同作用。但受体动物仅用中药, 不加环磷酸胺处理亦有类似结果, 表明中药似能直接影响体液因子, 但效应不如加用环磷酸胺者显著, 而且不论加用环磷酸胺与否, 化痰药均未见对CFU-D有何影响, 可见养阴、温阳和补血药物具有一定的特异性。由此推论, 临床上以补肾为主治疗再障至少是部分地通过体液因子起作用。

再障的体液因子变化比较复杂, 如再障患者血清中促红细胞生成素EP (Erythropoietin) 及集落刺激因子CSF是增高的⁽¹⁷⁾; 尽管再障患者血中单核细胞绝对值减少⁽¹⁸⁾, 但在体外琼脂培养中作为饲养层刺激集落形成的能力却无异常; 且有人⁽¹⁹⁾认为某些药物所致再障患者, 有某种血清因子与其病情有关, 因此推测中药影响体液因子的机制亦是比较复杂的。

四、小 结

本文介绍了养阴药、温阳药和补血药对造血干细

胞在扩散盒内增殖有促进作用, 而化痰中药则未见此作用; 推论临床中医补肾为主治疗再障可能部分地受到体液因子的影响, 但作用机制尚待深入探讨。

参 考 文 献

- (1) 谢仁敷等: 中华血液学杂志 1(2):92, 1980。
- (2) 吴祖泽: 造血细胞动力学概论, 228页, 科学出版社, 北京, 1978。
- (3) Berman I, et al: Blood 14:1040, 1959.
- (4) Steinberg HN, et al: Blood 47:1041, 1976.
- (5) Takashash H, et al: Acta Haemat Jap 41:1369, 1979.
- (6) Willenze R, et al: Blood 51:21, 1978.
- (7) Laissue JA, et al: Blood 45:417, 1975.
- (8) Macvittie TJ, et al: Exp Haemat 6:613, 1978.
- (9) Gordon MY, et al: Brit J Haemat 31:103, 1975.
- (10) Nishanen E, et al: Cell Tissue Kinet 12:59, 1979.
- (11) Gordon MY: Brit J Cancer 30:421, 1974.
- (12) Jacobsen N, et al: Cell Tissue Kinet 12:213, 1979.
- (13) Squires DTP: Brit J Haemat 29:89, 1975.
- (14) Macvittie TJ, et al: Radiation Res 59:291, 1974.
- (15) 中医研究院西苑医院内科血液病组: 中华医学杂志 10:708, 1975。
- (16) 中医研究院西苑医院血液病研究室: 中华血液学杂志 1:19, 1980。
- (17) 柴田昭ほか: 日本临床 36:2634, 1978。
- (18) Singer JW, et al: Clinics in Haematology 7(3):487, 1978.
- (19) Karp JE, et al: Blood 51:397, 1978.

活血化痰法治愈遗尿症 1 例

江苏太县张甸中心卫生院中医科 谢兆丰

病例介绍: 朱××, 女, 21岁, 未婚, 农民。1978年12月18日来诊。

其母代诉: 女儿自幼遗尿至今不愈, 每夜遗尿2~3次, 冬天尤甚, 劳累后则夜间遗尿增多, 经针灸、中药治疗无效。患者精神淡漠, 食少神倦, 至今月经尚未来潮, 平日常诉头昏, 腰痠, 诊脉沉细而迟, 面色无华, 精神不振, 舌苔白、舌质稍紫。辨证为肾气虚弱, 膀胱失约, 加之久病情志不遂, 肝气郁滞, 耗伤心脾, 气血不足, 导致瘀血内阻, 地道不通。治拟益气补肾, 活血通经。

处方: 桑螵蛸 15克, 益智仁 15克, 党参 10克, 黄芪 9克, 复盆子 9克, 杜仲 9克, 当归 12克, 川芎 9克, 赤芍 9克, 红花 9克, 牛膝 9克, 菟丝子 9克,

制香附 9克。3剂。水煎, 日服2次。

自服药后, 每夜遗尿一次, 量减少, 原方续进3剂, 服后遗尿已止。又守原方服2剂, 巩固疗效。共服药8剂, 遗尿痊愈。后嘱患者服猪腰子10天, 调理善后。于12月27日, 月经初次来潮。1年后随访, 遗尿未发, 月事按时来潮。

体会: 笔者根据前人“久病必有瘀”的论述, 和天癸未至以及舌质发紫等症征诊为肾气虚弱, 膀胱失约, 瘀血内阻。用桑螵蛸散合血府逐瘀汤加减, 共服药8剂, 使遗尿痼疾, 竟获痊愈, 且月事亦以时下, 这再次证明祖国医药学确是一个伟大宝库, 应当继承和发掘。通过此例进一步说明, 临证时, 必须以中医理论为指导, 进行辨证论治, 才能收到佳效。