

中 药 · 研 究

气血阴阳大补汤对 虚证小鼠细胞免疫和骨髓造血功能的影响

陈玉春¹ 高依卿²

摘要 气血阴阳大补汤能显著促进阴虚和阳虚小鼠脾淋巴细胞³H-TdR 掺入;显著促进阴虚和脾虚小鼠脾淋巴细胞分泌白细胞介素-2(IL-2);显著促进阳虚、明显促进脾虚小鼠脾条件培养液(SCM)中集落刺激因子(CSFs)产生,及显著促进脾虚小鼠肺条件培养液(LCM)中CSFs生成;对阴虚小鼠SCM和LCM中CSFs产生则显著抑制之。结果提示气血阴阳兼补时,能增强阴虚、阳虚、脾虚小鼠的细胞免疫功能和阳虚、脾虚小鼠骨髓造血功能。

主题词 补益药[剂]/药理学 虚证/免疫学 造血干细胞/药物作用

虚证有气、血、阴、阳之分,补益药有气、血、阴、阳之异。鉴于白细胞介素-2(IL-2)和集落刺激因子(CSFs)是体内重要的免疫增强和骨髓造血刺激因子,故本文用药物造阴虚、阳虚和脾虚小鼠模型,观察气血阴阳大补汤对其脾淋巴细胞³H-TdR 掺入、脾条件培养液(SCM)中IL-2、CSFs和肺条件培养液(LCM)中CSFs生成的影响,以探讨中医在气血阴阳兼补时,对虚证机体细胞免疫和骨髓造血功能的影响。

1 材料与方法

1.1 动物及给药方法:ICR小鼠,体重20~25g,雌雄兼用。由上海计划生育科学研究所提供,属清洁级动物。小鼠随机分为对照组与实验组,每组6只或8只。

自拟气血阴阳大补汤由黄芪15g,当归10g,赤芍10g,熟地15g,何首乌10g,枸杞10g,人参10g,菟丝子10g,淫羊藿15g,女贞子10g,山楂15g,茯苓10g,沙参10g,麦冬10g,陈皮10g,蒲黄10g组成。上述药先后加蒸馏水1000ml和500ml煮沸2和1.5小时,合并两次药液,过滤,水浴蒸发至100ml。

小鼠灌胃给药,对照组给水,每次0.6ml,每日2

次,连续7天。

1.2 虚证动物造模方法:参考有关文献^[1]造模。

阳虚模型:采用大剂量氢化考的松致动物出现阳虚症状。每只小鼠每日灌服氢化考的松0.5mg/0.1ml,连续5天。

阴虚模型:采用短程大剂量氢化考的松致动物出现阴虚症状。每只小鼠每日灌服氢化考的松1mg/0.2ml,连续3天。

脾虚模型:采用注射利血平致动物出现脾虚症状。每只小鼠每天注射利血平4μg/0.1ml,连续10天。

1.3 实验方法:

1.3.1 小鼠脾淋巴细胞³H-TdR 掺入测定:按唐波等^[2]方法,但在小鼠脾淋巴细胞以0.83%Tris-NH₄Cl破坏RBC,RPMI 1640补充10%人AB混合血清,5mM Hepar's、50μM2-ME、300mg谷氨酰胺和细胞数(5×10⁵/孔)等方面稍作改进。

1.3.2 IL-2水平测定:脾条件培养液(SCM)制备按文献进行^[3]。

ConA活化的小鼠脾淋巴细胞制备方法如下。取11只小鼠的脾脏,按SCM制备方法^[3]制成5×10⁶ml混合脾细胞悬液,加ConA10μg/ml,置25ml培养瓶中孵育96小时。细胞用10mg/mlα-甲基甘露糖甙(α-mm)的Hank's液洗2次,及含10%人AB混合血清的RPMI 1640液洗1次,调节细胞浓度为1×10⁶/ml,作为测定IL-2的反应细胞。

取-20℃保存的各虚证动物制备的SCM,均作1/8或1/1~1/128稀释。用ConA活化的小鼠脾淋巴细胞测定其IL-2水平。即在96孔平底细胞培养液板(Falcon3072)中,每孔加反应细胞1×10⁵/0.1ml和1/8或1/1~1/128稀释的SCM,对照孔加0.1ml培养液,均1份3孔。每孔加α-mm20μl。置含5%CO₂的潮湿大气中37℃温育72小时。终止培养前16小时加³H-TdR(上海原子核研究所,放射比活性28Ci/mM)0.5μCi/孔。细胞用2T(II)型系列多头细胞样品收集器收获于4P型玻璃纤维滤纸上。用LS-7800型

1 福建省中医药研究院,福州五四北路282号(350003)

2 福州市传染病医院

收稿日期:1994-03-29

Beckman 公司产液体闪烁计数器测 cpm, 结果以 cpm 或生长指数(GI)表示。GI=实验孔 cpm÷对照孔 cpm。
1.3.3 CSFs 水平测定:先制备 LCM、骨髓细胞悬液,再测定 CSFs 水平。

LCM 制备^[3]:小鼠颈椎脱臼处死,无菌取双侧肺,用 Hank's 液洗去血液,每组 6 只小鼠肺混合剪碎,按每只小鼠肺加 2ml 培养液计算,加入含 10% 马血清的 RPMI1640 培养液,制成肺组织悬液,分装于 25ml 方型螺口培养瓶,置含 5%CO₂的潮湿大气中 37℃ 温育 7 天。离心收获上清液即为 LCM。小瓶分装,-20℃ 保存。

骨髓细胞悬液制备:无菌取 14 只小鼠的双侧股骨,冲洗骨髓腔,取出骨髓细胞。以含 10% 马血清的 RPMI 1640 培养液,制成 3×10⁶/ml 有核骨髓细胞悬液,作为测定 CSFs 活性的反应细胞。

取-20℃ 保存的 LCM(均作 1/1~1/128 稀释)和 SCM(均作 1/4 稀释),分别用骨髓细胞测定其 CSFs 水平。测定方法参照 IL-2 活性测定。测定 SCM 中 CSFs 水平时,每孔加骨髓细胞悬液 3×10⁵/0.1ml 和等量的 SCM 稀释液;测定 LCM 中 CSFs 水平时,每孔加骨髓细胞悬液 2×10⁵/0.1ml 和等量的 LCM 系列稀释液。均温育 5 天后,再分别按上述方法加³H-TdR,测定 cpm。

2 结果

2.1 对虚证小鼠脾淋巴细胞³H-TdR 掺入的影响

从表 1 示,在未加促有丝分裂原 ConA 时,阴虚和阳虚小鼠实验组 cpm 均高于对照组水平(P 分别<0.1、<0.2);在加 ConA 刺激的条件下,阴虚小鼠实验组 cpm 高于各自的对照组水平(P<0.2>0.05)。提示气血阴阳大补汤有明显促进阴虚和阳虚小鼠脾淋巴细胞自发性³H-TdR 掺入的作用,能显著促进阴虚小鼠和明显促进阳虚小鼠 ConA 刺激的脾淋巴细胞³H-TdR 掺入。

表 1 对虚证小鼠脾淋巴细胞³H-TdR 掺入的影响

分 组	鼠数	未加 ConA (cpm)	加 ConA (cpm)
阴虚			
对照组	8	3846±2869	23862±13271
实验组	8	8268±5800	49585±16206
阳虚			
对照组	5	3925±1344	39377±4131
实验组	6	6078±2465	46332±8723

注:表中数据为均值±标准差,以下表同

2.2 对虚证小鼠 SCM 中 IL-2 产生的影响:

表 2 示,无论 cpm 或 GI,阴虚和脾虚小鼠实验组均显著高于各自对照组(P 均<0.001)。提示气血阴阳大补汤有显著提升阴虚和脾虚小鼠脾淋巴细胞分泌 IL-2 的作用。

为了进一步证实气血阴阳大补汤促进阴虚小鼠产生 IL-2 的作用,特以其 8 只小鼠混合脾淋巴细胞制备 SCM。IL-2 活性的测定结果表明,在 SCM 作 1/1~1/128 系列稀释时,阴虚小鼠实验组 cpm 显著高于对照组(P<0.001);实验组 GI(2.87±0.65)亦显著高于对照组(1.99±0.50)与上述结果相符。

表 2 对虚证小鼠 SCM 中 IL-2 产生的影响

分 组	鼠数	cpm	GI
阴虚			
对照组	8	769±257	1.46±0.49
实验组	8	1709±318	3.24±0.72
阳虚			
对照组	8	1032±213	1.96±0.40
实验组	8	2212±482	4.20±0.92

注:SCM 均作 1/8 稀释

2.3 对虚证小鼠 SCM 中 CSFs 产生的影响:从表 3 可见,阳虚小鼠实验组 cpm 显著高于对照组(P<0.005),脾虚小鼠实验组 cpm 高于对照组(P<0.2>0.05),而阴虚小鼠实验组 cpm 显著低于对照组(P<0.005)。提示气血阴阳大补汤能显著促进阳虚小鼠、明显促进脾虚小鼠脾淋巴细胞分泌 CSFs,而对阴虚小鼠则显著抑制之。

表 3 对虚证小鼠 SCM 中 CSFs 产生的影响

分 组	鼠数	阴虚 (cpm)	阳虚 (cpm)	脾虚 (cpm)
对照组	8	7855±1854	4237±1166	3400±1026
实验组	8	4411±1668	7265±2174	4112±1021

注:SCM 均作 1/4 稀释

表 4 对虚证小鼠 LCM 中 CSFs 产生的影响

分 组	鼠数	阴虚 (cpm)	脾虚 (cpm)
对照组	8	22632±15014	12036±9679
实验组	8	1858±570	27592±16321

注:LCM 均作 1/1~1/128 稀释

2.4 对虚证小鼠 LCM 中 CSFs 产生的影响:表 4 结果表明,脾虚小鼠实验组 cpm 显著高于对照组(P<0.

05),而阴虚小鼠实验组 cpm 则显著低于对照组($P<0.005$)。提示气血阴阳大补汤能显著促进脾虚小鼠肺组织细胞分泌 CSFs,对阴虚小鼠则显著抑制之。

3 讨论

本文观察气血阴阳大补汤对阴虚、阳虚和脾虚动物细胞免疫和骨髓造血功能的影响。结果表明气血阴阳兼补时,能明显促进阳虚、阴虚小鼠脾淋巴细胞 ^3H -TdR 掺入;显著促进阴虚和脾虚小鼠脾淋巴细胞分泌 IL-2;显著促进阳虚、脾虚小鼠脾淋巴细胞分泌 CSFs;显著促进脾虚小鼠肺组织细胞分泌 CSFs;对阴虚小鼠脾淋巴细胞和肺组织细胞分泌 CSFs 却显著抑制之。

^3H -TdR 掺入的多寡是淋巴细胞活化的指针之一。活化的淋巴细胞合成 DNA 增多,利用 ^3H -TdR 增加。DNA 是一种决定 RNA、蛋白质等合成,且与遗传免疫有关的物质。阴虚或阳虚动物 DNA 合成减少,脾虚动物蛋白质、能量代谢障碍。气血阴阳大补汤可能通过促进阴虚、阳虚或脾虚小鼠 DNA 合成,改善 RNA、蛋白质等能量代谢而提升其细胞免疫功能。

活化的淋巴细胞会分泌包括 IL-2、CSFs 在内的多种细胞因子。IL-2 及其受体系统调控一系列的细胞免疫反应和 B 细胞反应,对效应 T 细胞的增殖与分化,自然杀伤细胞(NK 细胞)、淋巴因子激活性杀伤细胞(LAK 细胞)的活性,单核细胞释放 γ -干扰素和 α 、 β 肿瘤坏死因子等有十分重要作用。气血阴阳大补汤可能通过促进 IL-2 分泌,进而通过 IL-2 广泛的免疫增强作用,参与免疫应答的调控,提高机体免疫功能、纠正阴虚、脾虚症状。

目前,已知小鼠造血细胞增殖与分化至少受多集落刺激因子(multi-CSF,又称 IL-3)、粒/巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、粒细胞集落刺激因子(G-

CSF)和巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)等4种CSFs相互作用的调节。在小鼠SCM中已分离出IL-3、GM-CSF,及从LCM中已提纯出GM、G-CSF、M-CSF^[4,5]。IL-3的生物学功能十分广泛,能促进造血多能干细胞定向分化与增殖;对嗜中性、嗜酸性粒细胞、巨噬细胞、巨核细胞、肥大细胞等的分化、成熟有调节作用。GM-CSF能促进某些多能干细胞、红系细胞及巨噬细胞前体增殖。G-CSF、M-CSF则只分别刺激粒细胞或巨噬细胞产生。气血阴阳大补汤能刺激阳虚小鼠SCM中及脾虚小鼠SCM、LCM产生CSFs。由于CSFs刺激造血有高效、快速的特点,表明其能增强阳虚和脾虚小鼠的骨髓造血功能、改善贫血症状。

气血阴阳大补汤对阴虚小鼠SCM与LCM中CSFs生成无促进、甚至有显著抑制作用,原因尚不清楚。有人报道在细胞培养上清液中,会产生一种无须外界刺激、自发分泌的免疫抑制因子^[6],阴虚小鼠SCM与LCM中是否存在抑制CSFs生成及CSFs活性的因子,尚待深入探讨。

本文试验结果表明,本方在气血阴阳兼补时,除了能补益阳虚、阴虚,增强阳虚小鼠细胞免疫和骨髓造血功能、提升阴虚小鼠细胞免疫水平外,还能补益脾虚,促进脾虚小鼠细胞免疫和骨髓造血功能。结果与中医“生阳气、血自旺”,“阳旺生阴血”,“脾统血、脾生血”的理论相符。

4 参考文献

- 1 陈奇. 中药药理实验. 贵阳. 贵州人民出版社, 1988: 196~210.
- 2 唐波, 等. 中国免疫学杂志 1985;1(5): 46.
- 3 江飞子, 等. 实验生物学报 1986;19(2): 203.
- 4 Nicola NA, et al; Immunol Today 1984;5(3): 76.
- 5 Burgess AW et al; J Bio Chem 1985;260(29): 16004.
- 6 夏海滨. 国外医学免疫学分册 1991;14(6): 311.

北京奥雷技贸公司医疗器械部经销下列商品

多功能神经肌肉治疗仪 6800 元/台
WT-1 无创分镜仪 3980 元/台
子午流注治疗仪 3950 元/台
激光电针治疗仪 5800 元/台
HY369-B2 型激光针灸仪 3050 元/台
周林频谱仪 390 元/台
周林频谱仪(带架) 1580 元/台
ST-1 宽幅治疗仪 460 元/台
WP-1 宽幅治疗仪 460 元/台
ZY220G1 高性能针灸治疗仪 1280 元/台
糖尿病治疗仪 398 元/台
肥胖症治疗仪 280 元/台
温经治疗仪 A 型 280 元/台
温经治疗仪 B 型 240 元/台
梦神睡眠器 270 元/台
中国经絡诊疗仪
JJ-101 型 229 元/台
JJ-203D 型 498 元/台
JJ-205 型 450 元/台
JJ-305D 型 258 元/台
JJ-306D 型 360 元/台
G6805-I 型 175 元/台
G6805-II 型 265 元/台
场效应治疗仪(T01) 81.10 元/台
场效应治疗仪(T01A) 123 元/台
场效应治疗仪(T01B) 138 元/台
韩氏治疗仪 WQ1002 型 230 元/台
磁极针 25 元/套
单头火针 4.5 元/支
多头火针 15 元/支
五星磁极针 120 元/套
小针刀(仅章) 120 元/套
小针刀(志远) 70 元/套
大针灸器械包 57 元/套
两用磁极针 48 元/只
可调磁极针 28 元/只
梅花针 7 元/只
医用耳穴磁棒 30 元/包
耳穴板 10 元/片
中国温灸器 78 元/套

温灸盒(双孔) 26 元/只
温灸盒(单孔) 16 元/只
灸架 10 元/只
艾柱模具 26.5 元/套(安徽)
艾条:
壮阳神灸艾条 80 元/盒
同仁堂 9.0 元/盒
扁鹊 4.5 元/盒 安徽 3.8 元/盒
艾柱 2.3 元/盒 时珍 0.5 元/支
戒烟灸器 14 元/套
人体男性穴位模型
(26cm) 28 元/个 (46cm) 51 元/个
足针模型(塑料) 21 元/个
耳针模型(22cm 塑料) 35 元/个
耳针模型(1.1 塑料) 9 元/对
女性人体穴位挂图 24 元/套
耳穴挂图 12 元/套
医用磁针拔真空火罐 58 元/套
枪式拔罐 52 元/套
橡胶火罐 12.5 元/套

玻璃火罐 15.2 元/套(5 只)
月球车磁疗按摩器(保健型) 58.8 元/个
月球车磁疗按摩器(治疗型) 73.8 元/个
远红外药物针灸按摩器 88 元/个
无创针: 华佗牌 24 元/盒(100 支)
传统针: 华佗牌 34 元/盒(200 支)

好消息

我部最新推出“太极平衡刮痧”系列产品,是您治病、健身、美容的最好选择。
本系列包括:刮痧教材 1 册,单价 3.00 元;太极平衡刮痧剂 1 瓶,单价 17.00 元;特制牛角刮痧板 1 块,单价 18.00 元。欢迎各界人士购买,邮费另加 15% 邮资。
以上商品 50 元以上办理邮费,另加 10% 邮费。写清收款人姓名、地址在汇款单附页内写清所购商品名称和数量。地址:北京市东直门内南小街 16 号 联系人:李惟明 电话:4033987 邮编:100007

ABSTRACTS OF ORIGINAL ARTICLES

Studies on Late Primary Adenocarcinoma of Lung Treated by Methods of Nourishing Yin to Replenish Fluid and Warming Yang to Benefit Qi

LiuJiaxiang, Shi Zhiming, Xu Zhenye, Han Mingquan, Zhu Yanwei, Gao Hong, Chen Shanxiang, Zhao Lihong, et. al

304 cases of adenocarcinoma of the lung receiving no radiotherapy or surgery were selected and hospitalized and randomly divided into 2 groups for TCM treatment and chemotherapy respectively for prospective observation. 171 cases in the TCM group were treated mainly by methods of nourishing Yin, benefitting Qi, and warming Yang. The survival rates for 1, 2, 3, 5 years after treatment were 60.94%, 36.27%, 31.86% and 24.22% respectively, the median survival period being 417 days. for the 133 cases treated with MOF project, the survival rates for 1, 2, 3 years after therapy were 36.67%, 26.79%, 24.56% respectively, with no survivor after 5 years, while the median survival period being 265 days. The difference between the 2 groups was significant. The rates of stability of the 2 groups were 67.83% and 48.12% respectively. The median stable period were 6 months and 3 months respectively. For improvement of symptoms, body weight gaining and general health condition after treatment, the TCM group was also better. The immunological indices in TCM group after treatment were all better than pre-treatment for several exams, while that for the chemotherapeutic group revealed no marked difference. Serum sialic acid and contents of serum inhibiting factor were all decreased, suggesting that the TCM therapy improved the immune function of such cases.

Authors' Address: Department of Oncology, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of TCM, Shanghai, 200032

Key Words: Lung tumor/TCM therapy adenocarcinoma/TCM therapy @ nourishing Yin, replenishing fluid, benefitting Qi, Warming Yang

(Original article on page 155)

Analysis on Relationship Between TCM Diagnosis on Acute Apoplexy and CT Scanning

Fan Gangqi

By analysing the relationship between the types of diseases, syndromes diagnosis in apoplexy and CT scanning, it is claimed that the types of hitting channel and hitting collateral are mostly of ischemic type with minor lesion and clear surroundings or only mild blurring, and without definite or only mild occupying lesions, while for the types of hitting the hollow or solid viscera, the lesions are rather big, with edematous or blurring surrounding, definite occupying lesions. The difference between the 2 types are significant ($P < 0.01$). No obvious relations can be ruled out between the results of CT scanning and types and locations of lesions, side and number of lesions and syndrome types.

Author's Address: Affiliated Hospital of Changchun College of TCM, Changchun, Jilin 130021

Key Words: Apoplexy (TCM)/Roentgenography, tomograph, X-ray computerized

(Original article on page 164)

Influence of Drastic Benefitting Qixue (Qi — blood) and Yin — Yang Decoction on Cellular Immunity and Hemopoietic Function of Bone — Marrow

Chen Yuchun, Gao Yiqing

DBQYD remarkably improved the involvement of lymphocytic $H-TdR$ in mice of Yin deficiency and Yang — deficiency, remarkably stimulated the secretion of interleukin-2 (IL-2) from lymphocytes of mice with Yin and Spleen deficiencies; remarkably stimulated the production of colony stimulating factors (CSFs) in splenic culture medium (SCM) in deficient spleen mice, but markedly inhibited the formation of CSFs in lung culture medium of deficient spleen mice. The results demonstrated that, when benefitting methods were applied to both Qi — blood and Yin — Yang, the cellular immunity of mice with Yin — deficiency, Yang — deficiency and spleen deficiency, and the marrow hemopoietic function in mice with Yang and spleen deficiencies can be strengthened.

Authors' Address: Fujian Academy of TCM, Fuzhou, Fujian, 350003

Key Words: Tonic remedy/pharmacology Yin syndrome/immunology hemopoietic stem cell drug action

(Original article on page 171)