

凉血解毒汤合达那唑对热毒型再障骨髓 CD34⁺ 细胞增殖的影响

★ 王沁¹ 周红² 王寒³ (1. 广东省中医院珠海医院 珠海 519015; 2. 广东省中医院 广州 510015; 3. 广州中医药大学 2008 届硕士研究生 广州 510000)

摘要:目的:为了探讨凉血解毒汤对热毒型再障骨髓 CD34⁺ 细胞增殖作用。方法:通过临床随机对照研究,验证凉血解毒汤对热毒型再障治疗前后临床疗效、临床症状积分变化、骨髓 CD34⁺ 细胞数量和 CD34⁺ 细胞扩增倍率变化。结果:凉血解毒汤治疗热毒型再障的总有效率、症状平均积分、血象变化、骨髓增生度的变化与对照组比较有明显的统计学意义;对照组中有 1 患者出现转氨酶轻度升高,凉血解毒汤组未发现不良反应;骨髓 CD34⁺ 细胞相对计数、CD34⁺ 细胞扩增倍率变化比较凉血解毒汤组升高较对照组明显。结论:凉血解毒汤联合达那唑可影响骨髓造血功能。

关键词:凉血解毒汤;再障;CD34⁺ 细胞

中图分类号:R 246.5 **文献标识码:**A

再生障碍性贫血(简称再障)是一类由 T 淋巴细胞功能亢进介导的造血功能衰竭性的自身免疫性疾病,以全血细胞减少为主要表现的一组疾病。近年来,随着慢性再障基础和临床的研究进展,人们认识到慢性再障因造血干细胞衰竭、免疫介导的造血干细胞损伤及造血微环境的缺陷等因素引发的一类疾病,但多数学者认为造血干细胞数量减少系再障的发病基础。我们通过观察全国名老中医梁冰教授经验方凉血解毒汤治疗热毒型再障患者的临床疗效、临床症状积分、血象、骨髓增生程度、骨髓 CD34⁺ 细胞的相对计数变化,了解凉血解毒汤对热毒型再障造血能力的影响。现将研究结果报告如下。

1 临床资料

1.1 研究对象 研究对象选自广东省中医院和广东省中医院珠海医院血液科 2005 年 2 月~2008 年 6 月期间收治的住院及门诊再障患者,总计 30 例,按随机数字表法分为治疗组 20 例,对照组 10 例。

1.2 诊断标准^[1] 再障的诊断标准^[1]:参照张之南主编《血液病诊断及疗效标准》(第二版)。

1.3 纳入标准 (1)具备任何 2 个以上(包括 2 个)症状者:发热,出血,咽痛,口干多饮,大便干结,

小便黄短,舌红,苔黄,脉数。(2)年龄 13 周岁以上,且愿意配合进行本研究。(3)非病情危笃的晚期患者。(4)坚持治疗者。

1.4 排除标准 (1)具备任何 2 个以上(包括 2 个)症状者:畏寒,四肢不温,大便稀溏,小便清长,夜尿多,口淡乏味,舌淡,苔白,脉缓或沉迟。(2)同时合并其他疾病者,如阵发性睡眠性血红蛋白尿、急慢性白血病、骨髓增生异常综合征等。(3)治疗过程中转化为上述诸病症者。(4)已接受抗胸腺细胞球蛋白、抗淋巴细胞球蛋白等免疫抑制剂治疗者。(5)对试验药物有过敏史,或伴有严重心、肺、肝、肾疾病者。(6)妊娠或哺乳期妇女。(7)患者依从性差,未按规定用药,或疗程中加用治疗该病症的其它药物及方法。(8)中途退出或失访者,但必须详细记录原因。(9)治疗过程中发生严重不良事件,发生并发症或原发病加重不宜继续接受试验者。

2 研究方法

治疗组采用凉血解毒汤(羚羊角粉 3 g、牡丹皮 10 g、生地黄 20 g、赤芍 20 g、茜草 20 g、黄芩 10 g、板蓝根 15 g、贯众 15 g、天门冬 15 g、熟地黄 20 g、黄柏 10 g、苍耳子 10 g、辛夷 10 g、三七粉 3 g、生龙牡各 30 g 等)达那唑 0.2 g,每天 3 次。

对照组采用单用达那唑,0.2 g,每天3次。治疗组和对照组均接受常规支持疗法,均连续服药3个月以上评价临床疗效、临床症状积分、骨髓 CD34⁺ 细胞数量、CD34⁺ 细胞扩增倍率。

3 观察指标

3.1 临床疗效判断标准 治疗3个月以上并随访,按1987年中华血液学会第四届全国再生障碍性贫血学术会议制定的标准评定,分基本治愈、缓解、明显进步、无效^[1]。

3.2 临床症状积分 治疗3个月以上并随访,由临床医师在治疗前后对患者的症状记分。其标准如下:1分(无出血;登楼或体力劳动后出现心慌气短;易疲倦,可坚持轻体力劳动;偶有头晕;口唇泛白;偶见手足心热;食欲差,食量减少1/2以下)。2分(无出血;行路或一般体力劳动后出现心慌气短;倦怠较甚,勉强支持日常劳动;经常头晕,活动后明显;口唇泛白无华;手足心热,不欲衣被;食欲差,食量减少1/2~2/3)。3分(有出血;静息时出现心慌气短;四肢无力,不能坚持日常活动;频繁头晕,静息时也发作;口唇苍白;手欲握冷物则舒;无食欲,食量减少2/3以上)。

3.3 骨髓 CD34⁺ 细胞数量 治疗前和治疗3个月分别采集所有研究对象骨髓3~5 ml,用肝素抗凝,单核细胞分离液(相对密度1.077)梯度离心25 min,收集界面层单个核细胞(MNC),经PBS洗涤3次后,用免疫磁珠法从MNC悬液中进行分离和纯化阳性 CD34⁺ 细胞(抗 CD34⁺ 细胞单抗 HPCA-2 为北京基因公司产品,操作按说明书进行),经流式细胞仪检测,CD34⁺ 细胞计数台盼蓝拒染的细胞总数。

3.4 骨髓 CD34⁺ 细胞体外扩增倍率 经流式细胞仪检测,分离的 CD34⁺ 细胞,对 CD34⁺ 细胞体外增殖分别取培养24、48和72 h的骨髓 CD34⁺ 细胞计数台盼蓝拒染的细胞总数和用流式细胞仪测定 CD34⁺ 细胞百分比并据此计算 CD34⁺ 细胞的扩增倍率。

4 统计学分析

计数资料采用 χ^2 检验;计量资料采用单因素方差分析及 t 检验;等级资料比较采用 Ridit 分析。均以 $\bar{x} \pm s$ (均数 $\pm$ 标准差)表示。

5 治疗结果

5.1 总疗效比较 治疗组19例,基本治愈5例,缓解7例,明显进步3例,无效4例,总有效率79.00%;对照组11例,相应为2、2、2、4例,60.00%。经 Ridit 分析,两组间有差异,说明治疗组与对照组疗效比较有统计学意义。

5.2 症状平均积分比较 见表1。

表1 两组症状平均积分比较

组别	例数	治疗前	治疗后
治疗组	20	2.55 $\pm$ 0.55	1.68 $\pm$ 0.50
对照组	10	2.53 $\pm$ 0.50	1.77 $\pm$ 0.51

由表2可见,治疗前治疗组与对照组相比无显著性差异。治疗后,治疗组、对照组均较治疗前有非常显著性差异($P < 0.01$);治疗组与对照组相比有非常显著性差异($P < 0.01$)。

5.3 血象变化比较见表2。

表2 两组血象变化比较

组别	例数	WBC / $\times 10^9 \cdot L^{-1}$	Hb /g $\cdot L^{-1}$	PLT / $\times 10^9 \cdot L^{-1}$
治疗组	20	2.70 $\pm$ 0.72	59.65 $\pm$ 12.61	29.08 $\pm$ 5.24
治疗组	20	4.92 $\pm$ 1.05	97.81 $\pm$ 9.02	50.33 $\pm$ 10.02
对照组	10	2.63 $\pm$ 0.63	58.10 $\pm$ 11.68	27.73 $\pm$ 6.83
对照组	10	4.05 $\pm$ 0.88	85.67 $\pm$ 19.77	49.80 $\pm$ 8.16

由表2可见,两组患者外周血 WBC、Hb、PLT 治疗后明显升高,与治疗前比较有显著性差异($P < 0.01$)。

5.4 骨髓增生度的变化比较 见表3。

表3 两组骨髓增生度的变化比较

组别	例数	活跃或明显活跃 (%)	减低或极度减低 (%)
治疗组	20	5	15
治疗组	20	6	14
对照组	10	2	8
对照组	10	5	5

由表3可见,经 χ^2 检验,两组治疗后骨髓增生情况较治疗前改善,治疗组有非常显著性差异($P < 0.01$)。

5.5 骨髓 CD34⁺ 细胞相对计数变化 见表4。

表4 两组骨髓 CD34⁺ 细胞相对计数变化

组别	例数	CD34 ⁺ 细胞相对计数(%)
治疗组	20	0.24 $\pm$ 0.06
治疗组	20	0.61 $\pm$ 0.08
对照组	10	0.23 $\pm$ 0.03
对照组	10	0.51 $\pm$ 0.07

由表4可见,治疗后,治疗组、对照组均较治疗前有进步,但治疗组进步明显($P < 0.01$)。

5.6 骨髓 CD34⁺ 细胞体外扩增倍率比较 见表5。

表5 两组骨髓 CD34⁺ 细胞体外扩增倍率比较

分组	24小时	48小时	72小时
治疗组	0.66 $\pm$ 0.36**	0.88 $\pm$ 0.29**	0.92 $\pm$ 0.30**
对照组	0.14 $\pm$ 0.07	0.27 $\pm$ 0.12	0.55 $\pm$ 0.20*

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

由表5可见,培养24、48和72 h的骨髓 CD34⁺ 细胞体外扩增倍率均随作用时间延长而有升高,但

治疗组升高较明显($P < 0.01$)。

5.7 安全性指标结果分析 对两组的安全性指标进行统计学处理,结果对照组中有1位患者出现转氨酶轻度升高,加用保肝药后,肝功能恢复正常,基本没有影响再障的治疗。治疗组未发现不良反应。

6 讨论

再障是以骨髓造血功能衰竭为特征,以血细胞减少为主要表现的一组疾病。造血干细胞数量减少和功能异常系再障的发病基础。CD34⁺细胞主要表达于早期造血干细胞、祖细胞,可能在造血干细胞、祖细胞于骨髓的粘附和归巢过程中起作用^[2]。Scopes等^[3]报道再障患者骨髓CD34⁺细胞较正常显著减少。Manz等^[4]用流式细胞仪测定接受抗淋巴细胞球蛋白(ATG)治疗后造血仍持续异常的AA患者CD34⁺细胞,结果表明所有再障患者的CD34⁺CD38⁻早期造血细胞几乎完全消失。

中医对再障的诊治或从毒论治,或从虚论治。从毒论治者认为该病乃因热毒致虚、致病。系热毒内陷,灼血阻络,伤精耗髓,致精髓枯竭,血生乏源。如韩氏^[5]认为急性再障病因乃外感毒邪,毒邪入血伤髓,造成髓不生血。在治疗上提出以驱毒为主,毒邪驱除,髓无所害,才能恢复骨髓化生精血之功能。梁氏^[6]将急性再障贫血归属于“急性血劳”范畴,分别辨证分为两型:①毒热髓枯型,本型见于重症再障的感染,治宜清热解毒,凉血救阴,少佐益气养血,施以清瘟败毒饮加减,益气用西洋参或太子参;②阴亏髓枯、阴不敛阳、迫血外溢型,见于急性再障贫血严重,且以出血为主,治宜镇阴潜阳,清肝止血,施以苍玉潜龙汤加减。

梁冰为国家第二、三、四批名老中医,潜心钻研中医药治疗血液病近40载,独创凉血解毒法施于热毒型再障治疗,屡获佳效。对于再障之病因,梁老认为该病乃因外感温热邪毒,内陷营血,侵及骨髓所致,全身造血组织迅速而广泛地遭到破坏,呈现造血之源骨髓急性枯竭,即为急劳髓枯之证。以苍耳子散疏散风热邪毒、犀角地黄汤清热凉血、三才封髓丹加味补肾降火,三方加味施治以凉血止血、散风清热、滋阴补肾,组成了独具特色的凉血解毒汤,乃扶正祛邪、标本兼治的新法,与传统的一味温补肾阳、滋补肾阴之观念截然不同。

本研究采用随机对照的临床研究方法,在热毒型再障治疗中应用凉血解毒汤,客观评价该中药复方辨证治疗再障的临床疗效、临床症状积分、CD34⁺细胞数量和CD34⁺细胞扩增倍率的影响,有助于了解该中药复方是否有促进热毒型再障患者骨髓造血的作用,有助于系统整理梁冰教授中医治疗血液病的临床经验具有实际的指导价值。研究结果显示凉血解毒汤组治疗热毒型再障的总有效率、症状平均积分比较、血象变化比较、骨髓增生度的变化比较,与对照组比较有明显的统计学意义;两组患者的安全性指标进行统计学处理,结果对照组中有1位患者出现转氨酶轻度升高,加用保肝药后,肝功能恢复正常,基本没有影响再障的治疗,凉血解毒汤组患者未发现不良反应;两组骨髓CD34⁺细胞相对计数的比较,凉血解毒汤组与对照组均较治疗前有进步,但凉血解毒汤组进步明显($P < 0.01$);CD34⁺细胞扩增倍率变化比较治疗组升高较对照组明显。研究结果表明,凉血解毒汤联合达那唑或达那唑治疗再障患者均可影响骨髓造血功能,但综合分析,凉血解毒汤联合达那唑治疗热毒型再障疗效更佳,副作用相对较少。通过该课题的研究,客观地验证了凉血解毒汤对热毒型再障治疗效果,为临床广泛使用凉血解毒汤治疗热毒型再障提供了依据;为临床治疗热毒型再障提供新策略;为发掘和继承全国名老中医临床经验提供一个有效的尝试。

参考文献

- [1]张之南,沈悒.血液病诊断及疗效标准[M].第2版.北京:科学技术出版社,1998.33-38.4.
- [2]梁冰.血液病[M].北京:人民卫生出版社,2002,第二版:79.
- [3]Scopes J, Bagnara M, Gordon Smith EC, et al. Haemopoietic progenitor cells are reduced in aplastic anemia[J]. Br J Haematol, 2004, 86(2):427-430.
- [4]Manz CY, Nissen C, Wodnar Filipowicz AD. Efficiency of CD34⁺ C-kti and CD34⁺ 38⁻ hematopoietic precursors in aplastic anemia after immuno suppressive treatment[J]. Am J Hematol, 2006, 52(4):264-274.
- [5]韩冠先.升马生血汤治疗急性再生障碍性贫血[J].河南中医, 1999, 19(1):20.
- [6]梁冰,高国和,田洪波,等.中药为主治疗急性再生障碍性贫血的临床分析[J].中医杂志, 1986, 27(5):28-32.

(收稿日期:2008-06-25)

欢迎投稿! 欢迎订阅!