

加味四物汤对再生障碍性贫血大鼠模型 IL-2 影响的实验研究^{*}

★ 冯晓燕^{**} (贵阳中医学院 贵阳 550002)

摘要:目的:观察加味四物汤对再生障碍性贫血模型大鼠的 IL-2 影响和作用。方法:建立再生障碍性贫血大鼠模型,通过用加味四物汤治疗,观察加味四物汤对其 IL-2 的影响。结果:加味四物汤能够明显降低模型大鼠 IL-2 的含量。结论:加味四物汤能够降低再生障碍性贫血模型大鼠 IL-2 的含量,对再生障碍性贫血具有一定的治疗作用,其机理可能是通过调节造血微环境中的造血调节因子。

关键词:加味四物汤,再生障碍性贫血,IL-2

中图分类号:R 285.6 **文献标识码:**A

Experimental Study on IL-2 influence of Jiawesiwutang on the model rats of Aplastic anemia

FENG Xiao-yan

Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002

Abstract: Objective: To study the IL-2 influence and effect of Jia wei Si wu Tang (JWSWT) on the model rats of Aplastic anemia (AA) by experiment. Methods: we establish AA animal model by chemical method, which was set up by intraperitoneal injection of 5-Fu and pour into busufan. every model rate was perfusion of liquid medicine one time per day and continue 20 days after 36 hours from the success of the AA model. After the experiment we measured the changes of IL-2. Result: The experiment was ended, Jia wei Si wu Tang can decrease the IL-2 of the AA rats, and it has some effects on the cure of AA. Its mechanism is to adjust the hematopoietic regulatory factors in the Microenvironment of the Hematopoietic.

Key words: Jia wei Si wu Tang; Aplastic anemia; IL-2

再生障碍性贫血(简称再障,英文缩写 AA)是一组多种因素导致的骨髓造血功能衰竭综合征。临床上以外周血细胞减少,部分病人伴感染、出血为特征。再障的发病机制非常复杂,至今仍未明确。目前认为主要与造血干细胞内在增殖缺陷、异常免疫反应损伤造血干细胞、造血微环境支持功能缺陷及遗传倾向有关。

随着分子生物学、免疫学、临床治疗学、细胞培养技术、及诊断技术的不断发展,人们对再障的认识也越来越深入。近年来,再障免疫病理研究的焦点集中在以下三方面:(1)T 细胞及其亚群数量和功能改变;(2)Fas/FasL 介导细胞凋亡和激活诱导细胞凋亡(AICD)的异常;(3)造血微环境中正性造血和负性调节因子的作用。IL-2 是一种主要由辅助性 T 细

胞分泌的淋巴因子,是免疫调节的中心环节,有研究表明 IL-2 可以促进 Fas 抗原的表达,可促进细胞凋亡,是一种负性造血调节因子。有研究表明,再障患者的 IL-2 水平较正常人明显升高,检测 IL-2 的水平对骨髓造血和再障的病情、判断预后及疗效观察有重要的参考价值^[1]。

本文通过观察加味四物汤对再障模型大鼠造血微环境中正性造血和负性调节因子 IL-2 的影响,从动物实验的角度证明传统中药方剂加味四物汤对再生障碍性贫血的治疗作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物与药物 Wistar 大鼠 45 只,体重 180~220 g,7 周龄,雌雄各半,清洁级,由贵阳医学院动物所提供,合格证号:SOXK(黔)2002-2001。马利兰

^{*} 基金项目:贵阳中医学院硕士启动基金课题。

^{**} 作者简介:冯晓燕,(1979-),女,土家族,研究方向:中西医结合临床专业血液方向,现从事教务工作和部分临床内科工作。Tel: 13511935702

由上海华联制药有限公司提供(市售品,国药准 H31021699),5-氟尿嘧啶由沈阳药大集琦药业有限责任公司提供(市售品,国药准字 H21021858),IL-2 试剂盒由上海培亚生物科技有限公司提供。

加味四物汤(当归,白芍,熟地黄,川芎,淫羊藿,西洋参,枸杞子,黄芪)(由贵阳中医学院第二附属医院药剂科提供),将上述药物按人和动物比例折算用量,用蒸馏水浸泡 30 min,煎煮 2 次(30 min/次)后,过滤、合并滤液并加热蒸发,制成 100% 水煎液(含生药量为 0.8 g/ml),于 4℃ 冰箱中保存备用,使用时充分摇匀。

1.2 仪器 FACS240 型流式细胞仪(美国 BD 公司生产),血球记数仪 Sysmex-F800(日本),显微镜 OLYMPUS-BHB211(日本),GC-1200 放射免疫计数器(科人创新股份有限公司中佳分公司产品),KDC-2044 低速冷冻离心机(中国科技人学科技实业总公司中佳光电仪器公司产品)。

1.3 模型制备与实验分组 取 Wistar 大鼠 45 只,随机分为 3 组,每组 15 只,分别为正常对照组、模型生理盐水组和模型中药组。参照文献^[2]采用联合用法:于两模型组大鼠腹腔注射 5-氟尿嘧啶 150 mg/kg 后第 5 天,灌胃马利兰提取液 15 mg/kg,每周一次,连续 3 周,建立 AAA 模型。对模型组大鼠从第三次马利兰给药 36 小时后,分别以 1 ml/100g 体重剂量灌胃生理盐水与事先制备好含生药量为 0.8 g/ml 的加味四物汤水煎液,每日 1 次,连续 20 天。

1.4 观察指标及检测方法 观察实验中大鼠的精神活动状况、出血情况、皮毛光泽、饮食饮水量、大小便、体重变化及死亡情况。实验结束后尾静脉取血,全自动血细胞记数分析仪检测外周血象,大鼠股静脉取血 2~3 ml,凝固后离心分离血清,采用双抗夹心 ELISA 法按试剂盒说明测定血清 IL-2 含量。

1.5 资料处理方法 用 SPSS 系统软件进行数据处理,实验结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间差采用 *t* 检验。

2 实验结果

2.1 动物一般情况 整个实验期间,正常对照组大鼠毛色光泽,精神良好,行动敏捷,对周围变化反应灵敏。从第二次灌服马利兰后,模型组大鼠逐渐出现精神萎靡、眯眼、扎堆、毛色枯槁、散乱竖起,耳尖及鼻部颜色变白,饮食饮水量减少,逐渐消瘦。在第三次灌服马利兰后模型组大鼠开始出现耳尖及鼻部、尾部的渗血,之后出现了明显的皮下紫癜,甚至有大鼠出现便血。整个实验过程中除正常对照组没有大鼠死亡外,模型生理组有 5 只大鼠死亡,中药组

死亡 3 只。

2.2 各组大鼠外周血象的变化 各模型组大鼠与正常对照组相比较,WBC、RBC、PLT 均显著低于正常对照组($P < 0.05$, $P < 0.01$)。经治疗后,模型中药组的 WBC、RBC、PLT 均显著上升($P < 0.05$),结果见表 1。

表 1 各组大鼠外周血象变化($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	WBC/ $10^9 \cdot L^{-1}$	PLT/ $10^9 \cdot L^{-1}$	RBC/ $10^{12} \cdot L^{-1}$
正常组	15	13.74 ± 6.19	113 ± 125	7.93 ± 0.67
生理盐水组	10	4.68 ± 0.11	95 ± 15	3.78 ± 0.22
中药组	12	7.54 ± 1.71	100 ± 60	4.61 ± 0.61

2.3 各组大鼠血清 IL-2 的变化 模型组大鼠与正常对照组相比较,血清 IL-2 较正常组增高($P < 0.05$)。经治疗后中药组 IL-2 的含量与模型生理盐水组相比明显降低($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠血清 IL-2 的变化

组别	<i>n</i>	IL-2 / $ng \cdot ml^{-1}$
正常组	15	8.36 ± 0.44
生理盐水组	10	12.54 ± 1.4
中药组	12	9.12 ± 0.34

3 讨论

再障属中医“虚劳”范畴,国内从中医角度对再障研究较多,传统观点认为再障以脾、肾两虚为主,治法从补脾、肾为主并逐渐认识瘀、毒在再障发病中的作用,中医药治疗再障可明显改善患者症状、稳定病情,且无明显毒副作用。四物汤出自《太平惠民和剂局方》,是经典的补血名方,临床上常用于血虚症治疗具有较好疗效。加味四物汤是在四物汤原方配伍基础上,佐以淫羊藿、西洋参、枸杞子、黄芪益气健脾补肾,从而达到提升外周血细胞、改善临床症状的目的。据现代药理研究表明^[3]上述单味药物及其提取物,能促进小鼠脾淋巴细胞产生 CSFs,有提高免疫、抗肿瘤、抗辐射,保护造血干细胞、改善骨髓基质细胞或微循环结构,解除骨髓抑制,从而促进多能造血干细胞及多种祖细胞增殖、分化。如:淫羊藿苷能激活免疫,增强 T 细胞功能、促进抗体生成和减弱小鼠产生 Ts 细胞。枸杞多糖(LBP)能促进正常小鼠骨髓脾集落形成单位(colony forming unit-spleen, CFU-S)增殖,明显增加粒单系祖细胞(Granulocyte-macrophage progenitor cell, CFU-GM)数量,促进 CFU-GM 向粒系分化,具有免疫增强和造血刺激双重作用^[4]。黄芪合剂对 5-氟尿嘧啶(5-FU)化疗损伤的小鼠白细胞及血小板的恢复有促进作用^[5]。黄芪注射液腹腔注射可防治 CTX 和 60Co γ 射线所致的小鼠骨髓造血功能障碍,能阻止骨髓有核细胞数、外周白细胞数明显减少;能促进骨髓粒系造血,使骨髓体外培养 CFU-GM 集落数明显增加,对正常

艾迪滴丸对 S180 荷瘤小鼠免疫调节作用的实验研究

★ 张晓双^{1*} 宋延平² 白黎明¹ (1. 陕西中医学院 咸阳 712046; 2. 陕西中医药研究院 西安 710003)

摘要:目的:观察艾迪滴丸对 S180 荷瘤小鼠免疫调节作用。方法:观察艾迪滴丸对 S180 荷瘤小鼠脾指数和胸腺指数、淋巴细胞转化、溶血素 HC₅₀ 值及碳粒廓清能力的影响。结果:艾迪滴丸能提高 S180 荷瘤小鼠的胸腺指数和脾指数、淋巴细胞转化率、血清溶血素含量、网状内皮系统吞噬功能。结论:艾迪滴丸能增强 S180 荷瘤小鼠免疫功能。

关键词:艾迪滴丸;荷瘤小鼠;免疫功能

中图分类号:R 285.6 文献标识码:A

Experimental study of the immunological function regulated by Aidi diwan in S180 tumor-bearing mice

ZHANG Xiao-shuang¹, SONG Yan-ping², BAI Li-ming¹

1. Shanxi College of TCM, Xianyang 712046;

2. Shanxi Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710003

Abstract: Objective: To study the immunological function regulated by Aidi diwan in S180 tumor-bearing mice. Methods: To observe thymus and spleen index, Lymphocyte transformation, serum hemolysin HC₅₀, carbon clearance capacity by Aidi diwan in S180 tumor-bearing mice. Results: Aidi diwan can increase thymus and spleen index, lymphocyte transformation rate, serum hemolysin, reticuloendothelial system phagocytic function by Aidi diwan in S180 tumor-bearing mice. Conclusion: Aidi diwan can improve the immunity function in S180 tumor-bearing mice.

Key words: Aidi diwan; S180 tumor-bearing mice; immunity function

艾迪滴丸是根据艾迪注射液的处方,改变工艺,将注射剂改变成的滴丸制剂。艾迪注射液由斑蝥、人参、黄芪、刺五加组成,具有清热解毒、消瘀散结的

功效,临床主要用于治疗原发性肝癌、肺癌等。但考虑到艾迪注射剂使用不便、注射疼痛、易产生过敏反应等不良反应,所以将艾迪注射液改成口服制剂中

小鼠粒系造血也有刺激作用^[6]。

本实验结果显示:加味四物汤能在一定程度上使 AA 模型大鼠外周血的白细胞、红细胞、血小板上升,与生理盐水组比较有显著差异。能使模型大鼠血清中可促进细胞凋亡的负性造血调节因子 IL-2 的含量明显降低($P < 0.05$)。提示加味四物汤可能是治疗 AA 的有效中药方剂。其机制可能是通过调节造血微环境中负性调节因子的作用。

参考文献

[1] 伏春明,周立石,薛志中,等.慢性再生障碍性贫血患者白介素-2 和白介素-3 检测的临床意义[J].上海医学检验杂志,1998,13(3).

[2] 赵均铭,褚建新,丁顺利,等.5-氟尿嘧啶与白消安合用诱导建立大鼠急性再生障碍性贫血模型[J].中华血液学杂志,2001,22(4):202-204.

[3] 罗志勇,谭孟群,蒋德昭.中草药及其有效成分促粒系造血的研究进展[J].中草药,1995,26(12):653-656.

[4] 周志文,周金黄,邢善田.枸杞多糖对小鼠骨髓造血干细胞、粒单系祖细胞增殖分化的影响[J].中国药理学与毒理学杂志,1991;5(1):44-45.

[5] 哈敏文,李振,何安光等.黄芪合剂防治化疗性骨髓抑制的实验研究[J].中国医科大学学报,1997,26(5):449-452.

[6] 李美芬,蒋德昭.黄芪促进小鼠粒系造血[J].湖南医科大学学报.1991,16(2):135-137.

(收稿日期:2008-12-17)

* 个人简介:张晓双(1978-),女,讲师,硕士,主要从事药理学教学科研工作。