

2.4 养正合剂对大鼠脾细胞产生 IL-II 的影响:
Wistar大鼠,雄性,制备脾细胞悬液,以 RPMI 1640
洗涤 3次后,配成 5×10^6 cfu/mL悬液,加入 Con A
 $5 \mu\text{g/mL}$,将含 ConA的细胞悬液分为 5份,分别为
空白对照和养正合剂 2.5, 50, 100, 200 $\mu\text{g/mL}$,置
37℃ 含 5% CO₂的培养箱中培养 72 h,吸取上清
液,置 - 20℃保存备用。采用 MTT比色法检测 IL-
II 活性,将 CTIL细胞洗涤后配成 2.5×10^5 cfu/mL
悬液,在微孔培养板中每孔加入 50 μg ,将待测样品
及 IL-II 标准品作 2倍连续稀释,稀释标本再加于
微孔培养板中,每孔 100 μL ,每一稀释度均为复孔,
培养 36 h后,每孔加 MTT($5 \mu\text{g/mL}$) 10 μg ,再培
养 4 h,加酸化异丙醇溶解甲微结晶,然后将微孔板
放入酶标仪作比色分析,测定波长为 570 nm,参比
波长为 630 nm,每孔两个波长处的吸光度 (*A*)-之差
即为该孔的实测 *A* 值。将待测样品与参比标准品同
时作倍比稀释,分别测出二者使检测细胞达到最大
增殖 50% 的稀释度,按下式计算 IL-II 活性单位,结
果见表 6

样品 IL-II 活性单位 (U/mL)= (样品使检测细
胞达最大增殖 50%时的稀释倍数 / 标准品使检测细
胞达最大增殖 50%时的稀释倍数) × 标准品 IL-II
活性单位

3 讨论

实验发现养正合剂对调节机体免疫功能及肿瘤
所致的免疫功能降低具有明显恢复作用,使正常小

表 6 养正合剂对大鼠脾细胞产生 IL-II 的影响
($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	质量浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	IL-II 活性 (U/mL)
对照组	-	1.30±0.23
养正合剂	200	2.95±0.81 *
	100	1.58±0.06
	50	1.36±0.23
	25	1.55±0.44

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

鼠 *K* *X* 值明显升高;可明显对抗环磷酰胺所致小
鼠碳粒廓清速率低下,使 *K* *X* 值恢复至正常水平。
大剂量养正合剂可明显增加荷瘤小鼠低下的 DTH
养正合剂还显著增强接种 S₁₈₀瘤株小鼠低下的血清
溶血素含量,并明显促进大鼠脾细胞的 IL-II 生物
活性。综上所述,养正合剂可提高机体的体液免疫和
细胞免疫功能,对临床用于癌症患者的辅助治疗有
一定的实际意义。

参考文献:

[1] 王柏昆,邢善田,周金黄,等. 枸杞子多糖对 S₁₈₀荷瘤小鼠细胞
免疫功能的影响及其抑瘤作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂
志, 1988, 2(2): 127-130.
[2] 吕苏成,曹巧利,洗显秀. 茯苓多糖对正常及荷瘤小鼠免疫功
能的影响 [J]. 第一军医大学学报, 1990, 10(3): 267-268.
[3] 杨德安,石炳毅,李炎唐,等. 猪苓、土茯苓和硒对膀胱化学致
癌抑制作用的实验研究 [J]. 中华医学杂志, 1987, 67: 622-
625.
[4] 毛小娟,王军志,王凤莲. 红芪多糖和黄芪多糖的免疫调节作
用 [J]. 中国药理学通报, 1989, 5(6): 367-372.
[5] 徐叔云,卞如谦,陈修. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫
生出版社, 1991.

墓头回诱导脐血基质细胞形成及分泌 GM-CSF的实验研究

赵 丽,李兴玉,马海珍

(兰州医学院血液病研究所,甘肃 兰州 730000)

摘 要: 目的 应用细胞培养技术检测了墓头回水提物对人脐血基质细胞生成及其分泌粒造血刺激因子的实验
研究。方法 将不同浓度的墓头回水提物与脐血共同培养 14 d,检测基质细胞上清液中的 GM-CSF活性。结果
墓头回水提物对人脐血基质细胞具有促进形成的作用,最高峰为 0.01 $\mu\text{g/mL}$,为了检测基质细胞上清液中的 GM-
CSF活性,进行了 GM-CFU实验,结果表明,实验各组数据与对照组比较,具有非常显著性差异 ($P < 0.01$)。结论
墓头回水提物不仅是一种强烈的抗癌药物,也是一种造血祖细胞促进剂。

关键词: 墓头回;基质细胞; GM-CSF

中图分类号: R285 文献标识码: A 文章编号: 0253- 2670(2001) 01- 0056- 03

(20) 收稿日期: 2000-08-18
作者简介: 赵 丽 (1963-),女,云南省巍山县人,硕士学位,现任兰州医学院第一附属医院血液科副主任医师,副教授。1984年至今从事血
液病的临床、教学及科研工作。研究白血病细胞耐药逆转及外周造血干细胞移植治疗恶性肿瘤的基础与临床。
Tel (0931) 8625200转 6251 E-mail lily jin shan@ sina.com

Experimental studies on the formation of cord blood stromal cell and secretion of GM-CSF induced by *Patrinia scabra*

ZHAO Li, LI Xing-yu, MA Hai-zhen

(Hemopathic Institute of Lanzhou Medical College, Lanzhou Gansu 730000, China)

Key words *Patrinia scabra* Bge.; stromal cell; GM-CSF

墓头回俗称脚汗草,为败酱科植物,有糙叶败酱及异叶败酱之分。有镇静、镇痛和增强免疫力作用^[1],还有治疗血小板减少性紫癜^[2,3]和抗白血病^[4,5]的作用。近来我们发现墓头回可促进脐血基质细胞的形成及诱导其产生粒系祖细胞集落刺激因子生成的作用。

1 材料与方法

1.1 药物:甘肃庆阳产墓头回原植物,经本院药系中草药教研室鉴定为败酱科败酱属植物糙叶败酱 *Patrinia scabra* Bge. 实验用墓头回为水提物。

1.2 脐带血单个核细胞的制备:将肝素抗凝的脐带血加在淋巴细胞分离液上层,2 000 r/min离心 30 min,取出富含单个核细胞的液面层,用 RPMI 1640 液洗涤 2次,计细胞数,待用。

1.3 墓头回水提物对脐血基质细胞层形成实验:将 $\times 10^6$ /mL 单个核细胞,20% 小牛血清和不同质量浓度 (0.1, 0.01, 0.001 μ g/mL) 的墓头回水提物混合并接种于 35 mm 培养皿中,置 37℃、饱和湿度和 5% CO₂ 培养箱中培养 14 d,视基质细胞层形成时终止培养。然后用 0.25% 的胰蛋白酶消化基质层细胞,直接计基质细胞数。

1.4 墓头回基质细胞上清液 (MTH-Placenta Stroma cell supernatant, MTH-PSCS) 的制备:按 1.3 方法将培养体系加入 35 mL 的组织培养瓶中,置 37℃、饱和湿度和 5% CO₂ 培养箱中培养 14 d,收集基质细胞上清液, - 20℃ 冰箱保存待用。

1.5 粒系集落刺激因子生物活性检测:将 $\times 10^5$ /mL 单个核细胞、20% 的新生小牛血清、40 ng/mL GM-CSF (Schering-Plough)、1640 培养液、终浓度为 0.3% 琼脂和不同浓度 MTH-PSCS 混匀后接种于 35 mm 培养皿中,置 37℃、饱和湿度和 5% CO₂ 培养箱中培养 7 d,倒置光显微镜下计 ≥ 50 个粒单祖细胞组成的集落数。

1.6 统计学处理:采用 *t* 检验,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 墓头回水提物对人脐血基质细胞层形成的影响:见表 1。

结果可知,墓头回水提物对人脐血基质细胞具

有促进生成的作用,其峰值为 0.01 μ g/mL,该细胞数与对照组比较,具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

表 1 墓头回水提物对脐血基质层细胞层形成的影响

药物质量浓度 (μ g/mL)	基质细胞数 ($\times 10^4$)
对照	7.28 $\pm$ 0.80
0.1	6.70 $\pm$ 0.69
0.01	13.80 $\pm$ 0.39
0.001	9.20 $\pm$ 0.68

与对照组比较: * $P < 0.05$

2.2 MTH-PSCS 对粒单祖细胞生成作用的影响:见表 2。

表 2 MTH-PSCS 对脐血粒系祖细胞集落的影响

MTH-PSCS	集落数
对照	13.67 $\pm$ 5.51
5%	151.67 $\pm$ 7.57
10%	278.00 $\pm$ 7.00
20%	179.33 $\pm$ 3.06
30%	74.00 $\pm$ 5.29

与对照组比较: * $P < 0.01$

结果提示,脐血基质细胞具有分泌 GM-CSF 的作用,对照组为 13.67 $\pm$ 5.51,而在 10% 的实验组 GM-CSF 高达 278.00 $\pm$ 7.00,与对照组相比具有显著性差异 ($P < 0.01$)。

3 讨论

墓头回抗肿瘤的研究已有 20 多年历史。为了进一步研究其药理作用,我们应用墓头回与人脐带血共同培养,观察到了在剂量较低时墓头回可诱导基质细胞的形成,当剂量加至 0.01 μ g/mL 时,基质细胞形成达高峰。实验中我们还发现当墓头回剂量大于 0.1 μ g/mL,其基质细胞形成减少,提示墓头回对脐血基质细胞形成有剂量依赖关系。同时我们还观察到在 7~10 d 时基质层细胞呈椭圆形,15~17 d 时则各种细胞交织成片,形成了基质细胞层,其中大部分细胞为巨噬样细胞,为造血实质细胞提供了造血诱导微环境。文献报道,基质细胞可产生 M-CSF、GM-CSF、G-CSF、IL-1、IL-4、IL-6、IL-7、IL-11、SCF、血小板衍生长因子和 bFGF 等各种细胞因子,它们对于维持造血具有重要作用^[6,7]。为此我们检测了基质层细胞上清对粒系祖细胞刺激生成的作用,研究结果表明,脐血基质细胞确有分泌 GM-CSF 的作用,对照组 GM-CFU 为 13.67 $\pm$ 5.51,而

在 10%的实验组 GM-CFU 高达 278.00 ± 7.00 ,与对照组比较具有显著性差异 ($P < 0.01$)

墓头回与其他许多中草药一样,具有“双向”调节作用,当剂量大时具有杀伤肿瘤细胞的效果;而剂量小时却能诱导基质细胞的形成,通过分泌造血刺激因子促进造血

以上结果提示,墓头回水提物不仅是一种强烈的抗癌药物,也是一种造血祖细胞促进剂,这对于临床治疗白血病和血小板减少性紫癜提供了依据,同时也为墓头回治疗再生障碍性贫血奠定了基础。

参考文献:

[1] 江苏医学院编. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海人民出版社, 1986.

- [2] 宋奇英,王军仑. 脚汗草治疗小儿特发性血小板减少性紫癜 2 例 [J]. 中医杂志, 1983, 24(12): 9.
- [3] 陈客观. 墓头回治疗特发性血小板减少性紫癜的疗效与机理研究 [D]. 兰州: 兰州医学院研究生论文, 1988.
- [4] 李兴玉,马兰芳. 墓头回对 L1210 细胞株集落形成的影响 [J]. 中西医结合杂志, 1990, 基础理论特集: 107-108.
- [5] 孙万里,姚小健,马兰芳,等. MTT 法检测墓头回对白血病细胞毒作用的实验研究 [J]. 甘肃中医学院学报, 1990, 7(3): 34-36.
- [6] Koller M R, Emerson S G, Palsson B O. Large-scale expansion of human stem and progenitor cells from bone marrow mononuclear cells in continuous perfusion cultures [J]. Blood, 1993, 82(2): 378-384.
- [7] Koller M R, Palsson M A, Mancllana. Long-term culture-initiating cell expansion is dependent on frequent medium exchange combine with stromal and other accessory cell effects [J]. Blood, 1995, 86(5): 1784-1793.

速效救心丸治疗顽固性头痛

李 伯,毛效军

(北京军区总医院 中医科,北京 100700)

中图分类号: R285.6

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2001)01-0058-01

速效救心丸是治疗冠心病的常用药物,已经应用多年,深受广大冠心病和心绞痛病人的欢迎。我们在一次偶然的机会发现其有较好的缓解头痛的作用,尤其对那些顽固性头痛效果更佳,是其他镇痛药物所不能比拟的。1997年6月~2000年6月将其用于治疗顽固性头痛47例,取得了较好疗效。

1 临床资料

47例中男性18例,女性29例;年龄22~63岁;病程1~21年;头痛性质:烧灼样痛9例,搏动性痛17例,刀割样痛10例,头顶沉重样痛11例。辨证分型:痰浊上扰13例,瘀阻脑络12例,气血亏虚11例,肝肾阴虚7例,肝阳上亢4例。所有病人治疗前均作CT或核磁共振检查,排除了脑部肿瘤引起的头痛。高血压病人则在控制平稳后方可入组治疗。舒张压大于13.3 kPa(100 mmHg),收缩压大于20.0 kPa(150 mmHg)时,同时配合服用降压药。

2 治疗方法

速效救心丸(天津第六中药制药有限公司出品),每日3次,每次服5粒,治疗期间不用任何止痛药物。7d为1个疗程,应用2个疗程后统计治疗效

果。治疗期间禁止吸烟和饮酒。

3 疗效标准

参照1994年国家中医药管理局颁布的《中医病证诊断疗效标准——头风》的标准。治愈:头痛消失,各项实验室检查正常;好转:头痛减轻,发作时间缩短或周期延长,实验室检查有改善;未愈:头痛症状及血压等无变化。

4 结果

观察治疗47例,其中治愈35例,占74%;好转9例,占20%;无效3例,占6%。

5 讨论

头痛是临床常见的症状,可以由多种疾病引起,也可以是一个独立存在的症状,而病因不清,现代医学认为病因与神经血管因素相关。头痛属于中医的头风范畴,是由于肝阳上亢和痰瘀互结而致清阳不升,或浊邪上犯及清窍失养所致。在临床上辨证治疗效果并不明显,往往还需配合一些镇痛药物。速效救心丸是临床上用于治疗冠心病及心绞痛的药物,其说明书并无治疗头痛的内容。但其主要成分是川芎

(下转第62页)

② 收稿日期: 2000-08-25

作者简介: 李 伯(1949-),男,天津武清人,副主任医师,1977年毕业于上海中医学院,从事心脑血管疾病的治疗研究工作。

Tel (010) 64076840