

蟾酥制剂对免疫功能作用的初步研究

上海第二医学院血液病研究室 瑞金医院内科血液病组

孙关林 王振义 陈淑容 陈 竺 钱六妹 吴 昊* 袁 勇**

上海第二医学院病理生理教研室 任文华 黄桂秋 孔润莲***

内容提要 本文报告动物实验表明：蟾酥制剂具有增高小鼠脾脏溶血空斑形成细胞(PFC)活性率、促进巨噬细胞吞噬功能以及增高血清溶酶菌浓度等作用。此种增强B细胞作用，很可能是蟾酥抗炎症、抗感染以及治疗白血病、肿瘤等有效的机制之一。

有关蟾酥抗炎症、抗感染以及治疗白血病有效的实验与临床研究，文献上已见报道⁽¹⁻³⁾。然而，对其作用机制尚不明。本文通过溶血空斑形成细胞(PFC)试验、E-花环形成细胞(E-RFC)试验、聚集IgG抑制E-RFC恢复试验以及单核-巨噬细胞吞噬功能试验，探讨蟾酥的这些作用是否是通过提高或调整机体免疫功能来实现的。

材料与方法

一、药品：蟾酥制剂由上海第三制药厂中心实验室及崇明县兽医站供给，均按上海第三制药厂中心实验室工艺制造，水溶液，10mg生药/ml。

二、方法：1. PFC试验，分三批进行实验。第一批，同窝昆明种小鼠8~9周龄60只，随机分为对照组21只，用药组39只。用药组给予蟾酥制剂0.1ml/10g体重/天，腹腔注射，用药13天，对照组，同法给予生理盐水0.1ml。第二批，C57BL系小鼠76只，雄性，体重16~22g（中国科学院上海分院动物中心供应），对照组40只，用药组36只，用药13天，用法同第一批。第三批，C57BL系小鼠55只，性别、体重、来源同上。对照组28只，用药组27只，用药4天，用法同上。用药完毕翌日作PFC试验，参照Jerne的方法^(4,5)进行，略予改进。以琼脂糖（中国科学院上海东风制药厂出品）代替琼脂。每只小鼠脾细胞悬液制作4份平皿。实验结果用肉眼观察，计数平皿上出现的空斑数，以空斑数/ 1×10^6 脾细胞为单位计算出PFC活性率。

2. 蟾酥制剂体外对正常人E-RFC作用。参照叶明

等介绍的方法⁽⁶⁾进行。正常人15例（男10、女5）年龄24~55岁，各取肝素抗凝静脉血制备淋巴细胞悬液（ 5×10^6 /ml）。取细胞悬液0.1ml/管，共3管，第1管为对照，第2管加入蟾酥制剂30 μ g/0.1ml，第3管加入50 μ g/ml，然后按E-RFC实验操作法，各管加入绵羊红细胞（ 2×10^8 /ml）0.2ml，置4°C下，4小时取出。另取同样细胞悬液3管，按上法操作，置4°C下18小时取出。各管取出后分别制成涂片，每管制两张，瑞氏染色，镜下计数500个淋巴细胞，计算E-RFC百分率。

3. 蟾酥制剂在体外对聚集IgG抑制E-RFC的影响。参照Decok的方法⁽⁷⁾略予改进。（1）制备正常人淋巴细胞悬液（ 2×10^6 /ml）。（2）制备绵羊红细胞悬液（ $2 \sim 2.3 \times 10^8$ /ml）。（3）制备聚集正常人IgG，取正常人混合IgG（上海市免疫研究所基础免疫研究室提供）溶于生理盐水，浓度200 μ g/ml，置67°C30分钟，取出备用。（4）取10例正常人淋巴细胞按Decok方法，测定聚集IgG与淋巴细胞孵育时间同聚集IgG抑制E-RFC强度的关系，结果以37°C孵育45分钟时抑制E-RFC作用最强。（5）实验共分两批进行，第一批12例正常人淋巴细胞悬液（年龄26~55岁）各例取细胞悬液5管，第1管为对照管，第2管为抑制管，第3~5管为加药管。在第2~5管中分别加入聚集IgG，第3~5管分别加入蟾酥制剂50 μ g/0.2ml、100 μ g/0.2ml或200 μ g/0.2ml。置37°C45分钟。然后按E-RFC实验操作制成涂片，每管两张，染色，计算各管的E-RFC百分率。第二批12例正常人淋巴细胞悬液（年龄26~55岁），各例取细胞悬液4管，第1管为对照，第2管为抑制管，第3管加入蟾酥制剂400 μ g/0.2ml，第4管加入800 μ g/0.2ml。实验操作方法同第一批。

4. 单核-巨噬细胞吞噬功能试验。C57BL系小鼠

* 上药三厂中心实验室

** 崇明县兽医站

*** 进修教师

80只(对照38只,用药42只),ICR 12只(对照,用药各半),体重20~25g,均由中国科学院动物中心供应。蟾酥制剂1~3mg/每只小鼠,共分5批实验。第一批采用Territo平皿法⁽⁸⁾,腹腔给药。其余四批均采用盖玻片法,由皮下给药。白色念珠菌为吞噬物。制片后染色,镜下计数小鼠腹腔巨噬细胞吞噬百分率与吞噬指数。第五批同时采用平板法测定小鼠血清溶菌酶浓度。

结 果

一、第一批与第二批PFC试验结果(表1)表明在使用本制剂13天后,无论昆明种或C57BL系小鼠用药组的小鼠脾脏PFC活性率均较对照组有显著的增高($P<0.05\sim0.02$)。第三批实验用药仅4天,用药组与对照组的结果无明显区别($P>0.05$)。

表1 蟾酥制剂对小鼠脾脏PFC的作用

实验批号	种系	用药天数	组别	鼠数	PFC活性率(M±SE)	P值
1	昆明	13	对照	21	97.22±23.27	<0.05
			用药	39	336.50±72.10	
2	C57BL	13	对照	40	503.62±53.84	<0.02
			用药	36	870.61±128.80	
3	C57BL	4	对照	28	460.17±82.75	>0.05
			用药	27	388.04±50.94	

表2 蟾酥制剂对小鼠腹腔巨噬细胞功能的影响

实验批号	组别	鼠数	吞噬百分率M±SD	P值	吞噬指数M±SD	P值
1	对照	5	19.6±4.04	<0.01	0.29±0.074	<0.01
	用药	5	38±7.94		0.616±0.153	
2	对照	7	12.43±5.77	<0.05	0.189±0.104	<0.05
	用药	8	22.38±7.60		0.363±0.144	
3	对照	6	29.67±7.63	<0.05	0.50±0.18	<0.01
	用药	6	43.83±10.21		0.78±0.18	
4	对照	7	19.28±5.25	<0.01	0.419±0.154	<0.01
	用药	10	30.70±4.66		0.863±0.302	
5	对照	19	8.68±3.11	<0.001	0.149±0.058	<0.001
	用药	19	15.89±5.28		0.251±0.09	

二、蟾酥制剂在体外4℃下,无论作用4小时或18小时对正常人E-RFC(45.42±3.63或47.51±3.83M±SE)均无影响。

三、蟾酥制剂对受聚集IgG抑制的E-RFC影响的实验结果表明在加聚集IgG后,E-RFC较正常明显降低(由正常对照组的59.10±1.61降至49.29±3.17,M±SE, $P<0.05$)。再加入蟾酥制剂50μg/0.2ml或100μg/0.2ml后,E-RFC值虽有回升分别为56.38±2.66与52.91±2.64,与正常对照组比较无明显差别($P>0.05$),然而与单加聚集IgG的抑制组E-RFC值比较,它们之间的差别无统计学意义($P>0.05$)。加入蟾酥制剂200μg、400μg/0.2ml后亦未见恢复受抑的E-RFC的作用。在加入800μg/0.2ml后,E-RFC值反而明显降低至33.38±4.33,与正常对照组及加聚集IgG抑制组相比较,均有显著差别(P 均<0.001)。

四、蟾酥制剂对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能作用的5批实验结果(表2)一致表明用药组的腹腔巨噬细胞吞噬百分率及指数均较对照组有显著升高($P<0.05\sim0.001$)。并且用药组小鼠的血清溶菌酶浓度亦有显著提高(表3)。

表3 两组小鼠血清溶菌酶之比较
(按溶菌圈直径cm计)

组别	鼠数	M±SD	P值
对 照	19	1.94±0.107	<0.001
用 药	19	2.152±0.158	

讨 论

据《本草纲目》记载,蟾酥,甘辛温有毒,主治疗疮恶肿,一切疮毒,乳蛾等。近年有报道局部感染金黄色葡萄球菌的家兔,肌肉注射蟾酥后效果良好,然而在体外并未发现其对金葡菌有抑制作用⁽¹⁾。这些现象提示蟾酥可能是通过提高机体某些方面的功能而发挥抗炎症、抗感染作用的。本文采用检测B与T淋巴细胞的常用免疫学方法——PFC、E-RFC等试验来检测蟾酥制剂对这方面免疫功能的作用,结果表明蟾酥制剂具有促进小鼠脾脏PFC活性的作用。小鼠注射蟾酥制剂后PFC活性率提高,反映了小鼠脾脏中B细胞增殖加快,抗体分泌功能增强。我们同时还观察了部分小鼠脾脏组织的病理切片,见到在用药组小鼠的脾脏滤泡中央,胞浆嗜碱性细胞的数量较对照组增多。以上结果表明蟾酥的这一增强B细胞的作用,很可能是蟾酥抗炎症、抗感染的重要机制之一。

有关蟾酥、蟾酥抗癌、抗白血病的研究已有不少报道^(2,3)。其抑瘤试验的结果尚不一致。在临床上观

察到有的白血病患者单独或合并使用蟾酥、蟾蜍可获得较为满意的疗效。最近, 我科随访一例急性粒细胞性白血病女性患者, 在完全缓解后长期服用蟾蜍与蟾皮, 不用化疗维持, 至今已存活 15 年; 另一例男性患者, 类似方法服用蟾皮, 完全缓解期已达 8 年。现已公认巨噬细胞在抗肿瘤机制中起了相当重要的作用。本文证明蟾酥制剂具有促进巨噬细胞吞噬功能以及增高血清溶菌酶的作用。因而在一些长期服用蟾蜍或蟾酥有效的白血病肿瘤患者, 很可能与其增强巨噬细胞吞噬功能有关。

尽管本文研究结果指出蟾酥制剂对正常或受抑的 E-玫瑰花结形成细胞无促进或恢复其功能的作用, 然而尚不能排除蟾酥制剂对 T 细胞是否有刺激作用。由于本文所测定的是总体 T 细胞活性, 目前已证实 T 细胞各种亚群的免疫功能平衡对机体免疫系统的调节与稳定具有重要意义, 因而进一步研究蟾酥对 T 细胞亚群的作用借以全面阐明蟾酥对免疫功能的作用仍有其一定的意义。

参 考 文 献

1. 南京药学院《中草药学》编写组:《中草药学》第 1 版, 第 1432 页, 江苏科学技术出版社, 1980
2. 瑞金医院内科: 蟾蜍复方合并化疗治疗成人急性粒细胞性白血病。医学情况交流 11:52, 1974
3. 薛开先: 蟾蜍抗癌作用的探讨。江苏医药 (中医分册) 4:47, 1979
4. Jerne NK: The agar plaque technique for recognizing antibody-producing cell. Cell-Bound Antibodies (ed by B Amos) P 109, Wistar Institute Press, 1963
5. Jerne NK: Plaque formation in agar by single antibody-producing cells. Science 140:405, 1963
6. 叶明等: 小牛胸腺素的体外生物活性测定。上海医学 2: 35, 1979
7. Decok W: Inhibition of the E-rosette formation of T-lymphocytes by aggregated human IgG and restoration by Levamisole. J Immunol 35:223, 1978
8. Territo M: Monocyte function in man. J Immunol 118:187, 1977

以细辛为主辨证论治病窦综合征 14 例观察

中国医学科学院阜外医院中医科

李介鸣 李 引 焦增绵 范爱萍 张瑞华 张淑云 曲家珍 朱宝沸 郭素芳

我科自 1982 年 2 月至 1983 年 5 月, 采用以细辛为主辨证论治病窦综合征 14 例, 取得一定疗效, 报告如下。

一般资料 14 例均为住院患者, 其中高血压、冠心病心绞痛、病窦综合征 2 例; 冠心病心绞痛、病窦综合征 2 例; 心肌病、病窦综合征 1 例; 病窦综合征, 原因不明 9 例。男性 6 例, 女性 8 例。年龄最大 62 岁, 最小 37 岁。病程最长 19 年, 最短 3 个月。14 例中 12 例为阳虚兼气虚血瘀和气阴两虚证, 1 例为气阴两虚, 1 例为胸中脉络闭阻。

治疗方药 本组应用中药基本方为: 细辛 10g 制附片 10g 炙甘草 9g 桂枝 9g 黄芪 18g 党参 12g 麻黄 9g。阳虚兼气虚血瘀者加檀香 10g 丹参 18g; 阳虚兼气阴两虚者加麦冬 10g 五味子 9g 仙灵脾 15g 枸杞子 12g, 去麻黄; 气阴两虚者用细辛 10g 党参 12g 南北沙参各 20g 玉竹 15g 麦冬 10g 五味子 9g; 脉络闭阻者用细辛 10g 制附片 10g 炙甘草 9g 丹参 18g 川芎 12g 桂枝 10g 黄芪 18g 檀香 10g 党参 12g。14 例中 6 例同时服用 20% 细辛酊, 一般每次 10 ml, 每日 3~4 次。疗程: 49 天~5 个月。

疗 效 本组病例治疗前 11 例心率 36~50 次/分; 3 例 52~55 次/分。治疗后心率增加 6~10 次/分者 11 例 (其中 3 例于短时间内可增加 20 次/分左右)。3 例无变化。

治疗前 14 例均有头晕、胸闷、心悸、乏力等症, 13 例并有肢冷、恶寒、胸闷痛, 治疗后减轻或消失。

体 会 1. 病窦综合征的临床表现主要是持久的心动过缓, 常见头晕、胸闷、乏力, 甚则晕厥, 有者形寒肢冷等, 属中医学心肾阳虚, 胸中阳气不能敷布之候。亦可兼见气虚、血瘀、阴虚、痰浊等证。因此, 以细辛为主重在温阳, 兼以益气、活血、养阴等法治之, 标本相兼, 方可提高疗效。我们体会: 细辛确可增快心率, 一般在用药一小时起效, 二至三小时达高峰, 并可由结区心律变为窦性心律。2. 中医传统有“细辛不可过钱”之诫。本组一例日服 31g, 无不良反应, 一例日服 21g 便出现烦热、口唇及手足麻木感。若服药即刻口舌发麻, 旋即消失者, 乃该药辛味刺激之故; 若服药 1~2 小时后出现口唇及手足发麻, 当是中毒反应。不同患者对细辛的耐受量不同, 须谨慎观察, 渐增用量。对病窦快慢综合征兼房颤者, 用大量细辛可诱发房颤。

Preliminary Observation on the Effect of Cholecystokinin on Biliary Tract Movement in Combined Stone-Expelling Methods

Yin Guangyao (尹光耀)

Clinical Medicine Research Laboratory, the Third People's Hospital, Wuxi

Effects of herbal decoction "Dandao Paishi Tang" (Biliary Lithagogue Decoction), fatty meal, morphine, electroacupuncture and cholecystokinin (CCK) on motor function of the gallbladder were observed in 51 patients undergoing oral cholangiography with iopanoic acid. The speed and intensity of gallbladder contraction were found significantly higher when treated with CCK than with fatty meal and herbal decoction, $P < 0.02-0.001$. Spasm of the Oddi's sphincter induced by morphine, which could only be weakly antagonized by electroacupuncture, could be antagonized by CCK, though transiently. A regimen of expelling stones was designed as a combination of herbal decoction "Dandao Paishi Tang", 33% magnesium sulfate solution, 0.5% hydrochloric acid solution and CCK. Satisfactory stone-expelling results were seen clinically in 15 cases. CCK was considered valuable in the treatment of cholelithiasis.

(Original article on page 293)

The Effect of Radix Ophiopogonis and Small Dose $MgSO_4$ on Hemodynamics, Arrhythmia and Extent of Myocardial Infarction in Coronary Occluded Dogs

Shu Naihua (舒乃华) and Zhang Jianguo (张建国)

Huashan Hospital, Shanghai First Medical College, Shanghai

The effect of Radix Ophiopogonis and small dose $MgSO_4$ on hemodynamics, arrhythmia, and extent of myocardial infarction were studied in 18 open-chest anesthetized dogs. The results showed no change of BP but slight increase of EF dp/dt and decrease of HR oxygen consumption. Arrhythmia was found significantly reduced in the treated group than in the control group 6 and 12 hours after infarction. The ultimate infarct extent after 24 hours was significantly reduced in the treated group.

It was shown that Radix Ophiopogonis combined with small dose of $MgSO_4$ could prevent arrhythmia after myocardial infarction, reduce oxygen consumption and limit the extent of myocardial infarction in experimental animals.

(Original article on page 295)

A Preliminary Study of the Effects of the Bufonin Preparation on Immunological Functions

Sun Guanlin (孙关林), et al

Laboratory of Hematology, Shanghai Second Medical College, Shanghai

It has been reported that bufonin has anti-inflammatory, anti-infectious and some anti-leukemic effects, but its mechanism remains to be elucidated.

Injection of aqueous bufonin preparation into Kunming, C57BL strain mice for 13 consecutive days has been found to increase the activity of plaque forming cells (PFC) in comparison with the control groups, indicating that it has a stimulating effect on B lymphocytes. It has no effect in vitro on E rosette forming activity for normal human lymphocytes, but an addition of 50 or 100 μg of the preparation to the medium can restore rosette forming capacity of the lymphocytes inhibited by aggregated IgG, although without statistical significance. Furthermore, the preparation can stimulate in vivo the phagocytic activity of peritoneal macrophages in C57BL and IRC strain mice, as well as increase their serum lysozymes activity.

These preliminary results suggest strongly that the bufonin preparation might have displayed the actions through certain immunological mechanism.

(Original article on page 297)