

梅花点舌丹对白血病作用机理的研究

高 月* 戴锡孟** 杨学爽** 贾治杰** 肖振霞**

内容提要 本实验结果表明:梅花点舌丹对 L7212 白血病小鼠有治疗作用,能延长 L7212 白血病小鼠生存期,提高 L7212 白血病小鼠抑制率,提高 L7212 白血病小鼠和昆明种小鼠正常 GM-CFUC 的生长;脾细胞移植生物学试验表明,梅花点舌丹能明显抑制白血病细胞;细胞遗传学试验表明,其对含有 41 条标记染色体的白血病细胞也有抑制作用。

关键词 梅花点舌丹 L7212 白血病小鼠 脾细胞移植生物学试验 细胞遗传学

梅花点舌丹的药理研究前人已做了大量工作^[1,2]。梅花点舌丹治疗慢性粒细胞型白血病我们也已作过报道^[3]。为了进一步探讨其作用机理,我们又进行了本实验研究,现报告如下。

材料与方法

一、实验对象及药物

L7212 白血病小鼠模型系按中国医学科学院血液病研究所提供的方法,在 615 小鼠中传代^[4]。梅花点舌丹为山西新绛中药厂产品,六神丸为上海中药厂产品。GM-CFUC 培养用马血清。染色体实验用秋水仙素,甲醇、冰醋酸、氯化钾等。RPMI1640、小鼠肌条培养液、琼脂均为自配。

二、分组及方法

实验分二批进行,每次均将造模成功后的 L7212 白血病小鼠模型随机分为梅花点舌丹 I 组(梅 I)、梅花点舌丹 II 组(梅 II)、六神丸组和生理盐水(对照组)四组。梅花点舌丹 I 组将药 9 粒研磨后溶于 6ml 生理盐水中,灌胃,每日 1 次,每只每次 0.2ml(约含药 33mg);梅花点舌丹 II 组将药 15 粒研磨后溶于 9ml 生理盐水中,灌胃,每日 1 次,每只每次 0.3ml(约含药 55mg);六神丸组将其 90 粒药研磨后溶于 6ml 生理盐水中,灌胃,每日 1 次,每只每次 0.2ml(约含药 9mg);对照组每只每次给生理盐水 0.2ml 灌胃,每日 1 次。

三、观察指标

1. 自 615 小鼠接种 L7212 白血病小鼠脾脏悬液后,即给小鼠灌药,共 7 天。逐只观察小鼠存活时间,统计梅花点舌丹和六神丸对 L7212 白血病小鼠的抑制率。

2. 自接种之日起,给药 7 天后取其股骨髓细胞,在直径 30mm 玻璃培养皿中,采用体外琼脂半固体培养法观察 GM-CFUC。每个体系 1ml,含细胞 10^5 、

RPMI1640、马血清、CSF、琼脂,在 CO₂ 培养箱中培养 7 天,计算其集落数。

3. 正常昆明种小鼠给药 7 天后,取股骨髓细胞进行 GM-CFUC 培养,方法同上,计算其集落数。

4. 自接种之日起,给药第 7 天后,每组随机抽取 3 只小鼠处死,取脾脏分别制成脾细胞悬液,每只再接种 3 只,每大组共 9 只,从接种之日起不给药,观察其生存时间长短。

5. 染色体观察,于给药 7 天后,腹腔注射秋水仙素,2h 后处死小鼠取脾脏,用氯化钾低渗液处理,细胞常规制片染色,照相放大观察,每组观察 100 个左右完好分裂中期染色体分裂相。

结 果

一、梅花点舌丹对 L7212 白血病小鼠抑制率的观察表明:梅 II 和六神丸均能提高 L7212 白血病小鼠的抑制率,两者经统计学处理无明显差别。而梅 I 组平均生存时间虽高于对照组,但抑制率低于 125%,无显著差别($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 梅花点舌丹对 L7212 白血病小鼠抑制率

组别	动物数*	平均生存时间 ($\bar{x} \pm S$, 天)	抑制率 (%)	P 值
梅 I	80	8.8 $\pm$ 1.09	120.0	>0.05
梅 II	80	9.4 $\pm$ 1.14	127.8	<0.05
六神丸	80	9.1 $\pm$ 1.12	125.2	<0.05
对照组	80	7.3 $\pm$ 1.18	—	

*系八批实验的总数

二、梅花点舌丹对 L7212 白血病小鼠 GM-CFUC 作用:梅花点舌丹和六神丸均能提高正常 GM-CFUC 的生长,与对照组相比较差别有显著意义($P < 0.01$),而用药三组之间比较无显著差别。见表 2。

三、梅花点舌丹对正常昆明种小鼠 GM-CFUC 的作用:梅花点舌丹和六神丸均能提高对正常昆明种小

*中国人民解放军军事医学科学院

**天津中医学院

表2 梅花点舌丹对 L7212 小鼠
GM-CFUC 的作用

组别	动物数*	集落数 ($\bar{x} \pm s$)	P 值
梅 I	40	44.6 $\pm$ 25.4	<0.01
梅 II	40	39.6 $\pm$ 14.3	<0.01
六神丸	40	39.1 $\pm$ 12.4	<0.01
对照组	40	17.4 $\pm$ 7.1	

* 系四批实验总数

鼠 GM-CFUC 的生长, 与对照组比较, $P < 0.01$, 用药三组之间无显著差别。见表 3。

表3 梅花点舌丹对正常昆明种小鼠
GM-CFUC 的作用

组别	动物数*	集落数 ($\bar{x} \pm s$)	P 值
梅 I	20	25.8 $\pm$ 7.9	<0.01
梅 II	20	29.5 $\pm$ 5.7	<0.01
六神丸	20	24.2 $\pm$ 6.3	<0.01
对照组	20	9.6 $\pm$ 4.4	

* 系二批实验总数

四、脾细胞移植生物学试验是用动物生存时间来判定接种白血病细胞的数量, 为目前检测白血病最敏感的方法。实验结果表明: 梅花点舌丹对白血病细胞有抑制作用; 梅 II 组和六神丸组其生存期均高于对照组, 且以梅 II 组更为显著 ($P < 0.05$)。结果见表 4。

表4 各治疗组小鼠第 7 天脾细胞
移植生物学试验

组别	动物数	移植细胞数	$\bar{x} \pm s$	P 值
梅 I	9	10^5	8.38 $\pm$ 1.2	>0.05
梅 II	9	10^5	10.50 $\pm$ 1.5	<0.05
六神丸	9	10^5	9.38 $\pm$ 1.7	>0.05
对照组	9	10^5	8.63 $\pm$ 1.1	

五、梅花点舌丹对 L7212 白血病小鼠染色体的作用: 作为该白血病小鼠的特征, 核型众数 41 的染色体细胞数目明显减少, 其中梅 I 组与对照组比较 $P < 0.05$, 而六神丸组、梅 II 组与对照组比较 $P < 0.01$, 结果见表 5。

讨 论

一、L7212 白血病小鼠为急性淋巴细胞白血病模型, 接种 L7212 小鼠脾悬液后, 平均约 7.3 天内死亡, 经灌胃给梅花点舌丹、六神丸后, 生存期均延长, 其中梅 II 和六神丸抑制率均高于 125%, 与对照组比较

表5 梅花点舌丹对 L7212 白血病
小鼠染色体的作用

组别	分析核型数	非整倍体数 (众数 41)	P 值
梅 I	116	61	<0.05
梅 II	124	58	<0.01
六神丸	121	55	<0.01
对照组	111	74	

$P < 0.01$, 但两者间差别不明显。而梅 I 生存期虽高于对照组, 但抑制率低于 125%, 无统计学意义 ($P > 0.05$)。说明梅花点舌丹、六神丸对白血病均有治疗作用, 且与剂量有极密切关系。

二、干细胞技术在血液病领域的应用, 对诊断、治疗、预后估价均有一定意义。本实验对 L7212 白血病小鼠进行了 GM-CFUC 培养, 表明梅花点舌丹能抑制白血病细胞, 而使正常 GM-CFUC 升高, 且对正常 GM-CFUC 也有作用。这可能与梅花点舌丹除有清热解毒之功外, 还有化痰之功, 可能与本剂含有行气活血化痰药, 能刺激造血组织微循环环境, 促进造血组织微循环有关。其作用机理尚有待进一步深入研究。

三、剂量生物学试验是用生存时间来判定接种白血病细胞的数量, 为目前检测白血病最敏感的方法。本实验发现, 梅 II 组和六神丸组其生存期均高于对照组 ($P < 0.01$), 而梅 I 组则没有效果。说明梅花点舌丹、六神丸均有抑制白血病细胞作用, 且与剂量有关。

四、细胞遗传学研究表明: L7212 小鼠具有特殊众数 41 的非整倍体作为标记染色体。未经治疗的 L7212 小鼠众数 41 者为 74/111; 经梅花点舌丹和六神丸治疗后, 这种标记染色体分别为 58/124、61/116、55/121, 有明显减少 L7212 小鼠白血病标记染色体作用。这对中药治疗白血病的机理探讨有重要意义。

(该实验承蒙中国医学科学院血液病研究所褚建新研究员, 天津第二医学院周剑石教授及本院何永生、赵文吉、孙平旺医师的帮助, 谨此致谢)

参 考 文 献

1. 李先荣, 等。梅花点舌丹免疫药理作用的研究。山西中医 1986; 2(4): 27。
2. 高月, 等。梅花点舌丹治疗慢性粒细胞白血病。天津中医学院学报 1988; 3: 50。
3. 戴锡孟, 等。梅花点舌丹治疗慢性粒细胞白血病的临床研究。东北、华北六省一市血液病讨论会学术论文集。1987: 23。
4. 褚建新。可移植性小鼠白血病模型(L7212)的建立及其生物学特性。中华肿瘤杂志 1981; 4: 287。