

• 实验研究 •

传统抗癌中成药抗急性白血病
(L7212) 的实验研究*

山东中医学院附属医院(济南 250011) 唐由君 陈 刚

山东省中医药研究所 张若英 赵东坡 李成韶

内容提要 本文应用 L7212 白血病模型对传统抗癌中成药(六神丸、紫金锭、犀黄丸)进行治疗性实验研究, 结果发现: 传统抗癌中成药有明显的抑制和杀伤实验白血病(L7212)小鼠白血病细胞的作用($P < 0.05 \sim 0.001$)。该药主要作用于细胞周期的S期($P < 0.01$); 具有减轻、缓解白血病细胞对肝脾浸润的作用($P < 0.001$), 从而具有显著延长白血病小鼠生存期的作用($P < 0.01 \sim 0.001$)。

关键词 急性白血病 L7212 白血病 中成药 实验研究

传统抗癌中成药(本文包括六神丸、紫金锭、犀黄丸, 下同)为临床行之有效的治疗实体瘤药物。本实验应用中国医科院血液病研究所建立的小鼠 L7212 淋巴细胞型白血病模型^①, 采用单纯中药治疗的方法, 观察了传统抗癌中成药抗实验性白血病的实际疗效, 并初步探讨了传统抗癌中成药的作用机理。

材料与方 法

一、材料

动物: 615近交系雄性小鼠, 体重18~25g, 购自中国医科院血液病研究所动物室。细胞株: 可移植性 L7212 白血病小鼠, 由中国医科院血液病研究所实验白血病区提供, 本实验室传代。

药物: 六神丸由苏州雷允上制药厂提供, 制成每0.1ml含生药2.2mg的水溶药液备用; 紫金锭由北京同仁堂药厂提供, 制成每0.1ml含生药6mg的水溶药液备用; 犀黄丸由山东济南中药厂提供, 制成每0.1ml含生药30mg的水溶药液备用。

二、方法

给药方法: 给药组: 每天给药1次, 每次每只小鼠给药0.3ml, 采用灌胃法。上午8点开始给药, 一般连用6天, 对照组每次灌胃给生理盐水0.3ml, 时间、次数同治疗组。

接种方法: 取 L7212 白血病小鼠, 脱颈椎处死。腹部用碘酊、酒精消毒。无菌条件下取脾放入组织研磨器中, 加无菌生理盐水6ml, 轻轻研磨, 用生理盐

水调整细胞浓度为2500~2800万/ml。于每只实验小鼠的右侧腋部皮下注射上述混匀的脾细胞悬液0.1ml(含有核细胞 $2.5 \sim 2.8 \times 10^6$)。

生存时间观察: 上午接种者, 从接种后第1天计算至死亡。上午死亡者为1整天, 下午死亡者加0.3天, 晚上死亡者加0.7天(有的则精确到小时)。应用公式 $\frac{T-C}{C} \times 100\%$ 求出生命延长率(其中T表示治疗组平均生存天数, C表示对照组平均生存天数)。

血常规检查: 由小鼠尾静脉取血, 按一般实验室常规检查: 白细胞计数及分类、血红蛋白、网织红细胞计数、血小板计数。

骨髓有核细胞计数及涂片分类: 取一侧的完整股骨, 用4ml生理盐水反复冲洗骨髓3~4次, 使细胞分散、混匀, 用血细胞计算板计数有核细胞数。取另一根股骨, 用注射器蘸小牛血清1滴, 将骨髓吹出, 涂片5张, 涂片晾干经姬氏染色法染色后, 于油镜下计数200~500个有核细胞(核浆完整者), 求出白血病细胞的百分比、绝对值。

肝脾指数的计算: 打开小鼠腹腔, 取出肝脾后立即称其重量。肝指数为: 肝重(g)/体重(g); 脾指数为: 脾重(g)/体重(g)。

骨髓细胞增殖动力学观察: 细胞DNA定量: 骨髓细胞涂片, 用常规孚而根染色, 显示细胞核内DNA。用西德Opton SMP-05型扫描显微分光光度计, 选用565nm波长单色光, 在Apple II微机的控制下, 进行单细胞光密度扫描测定。每只小鼠测100个细胞, 以每个细胞的总光密度值, 作为该细胞内DNA的相对含量。所收集的原始数据, 进一步用微机处理打印出每

*国家中医药管理局资助项目

表1 接种4、5天时各组血像比较 ($\bar{x} \pm S$)

	组别	白细胞计数	白血病细胞数	血小板	白血病细胞
			($10^9/L$)		(%)
接种4天	对 照	18.75 $\pm$ 2.35	0.38 $\pm$ 0.13	400 $\pm$ 30	4.00 $\pm$ 0.03
	六 神 丸	7.55 $\pm$ 0.05*	0*	500 $\pm$ 20	0***
	紫 金 锭	8.15 $\pm$ 0.95*	0*	505 $\pm$ 15	0***
	犀 黄 丸	8.35 $\pm$ 0.65*	0*	505 $\pm$ 15	0***
接种5天	对 照	26.75 $\pm$ 5.75	0.28 $\pm$ 0.17	370 $\pm$ 20	1.50 $\pm$ 0.02
	六 神 丸	13.10 $\pm$ 0.40	0.13 $\pm$ 0.04	500 $\pm$ 10*	1.00 $\pm$ 0**
	紫 金 锭	9.25 $\pm$ 0.55	0.49 $\pm$ 0.49	495 $\pm$ 15*	0.50 $\pm$ 0.50
	犀 黄 丸	8.25 $\pm$ 1.45*	0	375 $\pm$ 5	0**

注: 各组动物数均为2; 与相应天数对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, 下表同

个细胞核DNA含量的分布图及有关参数, 将每只动物所测得细胞的DNA含量, 列出频数分配表, 确定细胞周期中各期细胞所占比率, 然后进行统计。

统计学处理: 均采用t检验。

结 果

一、外观表现: 接种后5天内, 小鼠活泼, 毛有光泽。自第6天起, 对照组萎靡, 少动, 毛少华, 松毛等, 治疗各组均无上述现象。第8、9天开始, 治疗各组亦出现上述现象。六神丸组灌胃后20~40分钟内, 小鼠少动, 有的闭眼, 1小时后恢复常态; 紫金锭组灌胃后30~60分钟内, 小鼠特别精神, 更加活泼(不是多动), 1小时后恢复常态; 犀黄丸组灌胃后无明显变化。

二、脾脏的变化: 接种后第5天, 对照组可触及肿大的脾脏, 接种局部可触及0.2 $\times$ 0.3cm或0.3 $\times$ 0.4cm大小的瘤结节或腋下肿大的淋巴结。治疗各组第7、8天开始可见到上述征象。

三、血像的动态观察

接种后第4天, 治疗各组无论白血病细胞百分比或绝对值, 均较对照组明显降低, $P < 0.05 \sim 0.001$ 。接种后第5天治疗组白血病细胞百分比及血小板计数与对照组相比, 差异有显著性意义, $P < 0.05 \sim 0.01$ 。见表2。

接种后第6天, 治疗组白细胞计数、白血病细胞百分比、血红蛋白、网织红细胞与对照组相比, 差异均有显著性意义, $P < 0.05 \sim 0.001$, 见表2。

四、用药6天白血病小鼠病理检查

用药第6天, 各组取小鼠10只, 断头处死, 分别观察肝、脾、骨髓病理变化, 结果如下。

1. 肝脏的变化: 六神丸、紫金锭组的肝指数较对

表2 接种第6天各组血像比较 ($\bar{x} \pm S$)

组别	白细胞计数 ($10^9/L$)	白血病细胞 (%)	血红蛋白 (g/L)	网织红细胞 (%)
对 照	48.60 $\pm$ 1.00	29.50 $\pm$ 0.04	112.5 $\pm$ 2.5	0.75 $\pm$ 0.25
六神丸	30.05 $\pm$ 1.95**	1.50 $\pm$ 0.50***	145.0 $\pm$ 5.0*	3.90 $\pm$ 0.80*
紫金锭	15.50 $\pm$ 1.20**	1.50 $\pm$ 0.50***	147.5 $\pm$ 2.5**	4.00 $\pm$ 0.20**
犀黄丸	11.95 $\pm$ 2.25**	1.00 $\pm$ 1.00***	125.0 $\pm$ 5.0	3.25 $\pm$ 0.45*

注: 动物各组均为10只

照组小, 犀黄丸组的肝指数较对照组大, 但 P 值均 > 0.05 。

2. 肝脏浸润的形态学观察: 取小鼠肝脏, 于10%福尔马林液中固定, 梯级丙酮脱水, 浸腊包埋。常规切片, HE染色。根据白血病细胞在肝内的浸润程度, 分别标记: - : 无白血病细胞浸润; + : 仅在血管周围有浸润; 2+ : 除血管周围浸润外, 肝索内有少量浸润; 3+ : 肝窦内有大量浸润; 4+ : 除肝窦内有大量浸润外, 肝内瘤细胞弥漫分布, 肝结构有不同程度的破坏。坏死: 分轻度坏死及重度坏死。光镜观察表明: 对照组10只白血病小鼠的肝脏均有重度广泛性坏死: 浸润程度均为4+, 白血病细胞主要分布于肝门静脉分支周围及肝窦内, 血管周围的白血病细胞排列密集, 呈“套袖状”, 肝细胞窦内的白血病细胞呈局灶性或弥漫性分布, 白血病细胞灶周围的肝细胞有的被挤压变形, 以至消失。犀黄丸组10只白血病小鼠的肝脏均未见明显的重度坏死: 浸润程度: 3+7只, 2+3只; 与对照组相比, $P < 0.001$ 。六神丸组、紫金锭组的坏死、浸润程度亦较对照组明显减轻, 但 P 值均 > 0.05 。

3. 脾脏的变化: 治疗各组的脾指数均较对照组

小,其中犀黄丸组的脾指数与对照组相比,有明显的统计学意义($P<0.05$)。

4.骨髓的变化:骨髓有核细胞计数、骨髓有核红细胞计数,治疗各组与对照组相比,均无明显的统计学意义。白血病细胞百分比、白血病细胞绝对值、骨髓巨核细胞数,治疗组与对照组相比, $P<0.05\sim 0.001$,见表3。

表3 各组小鼠骨髓变化比较 ($\bar{x}\pm S$)

组 别	白血病细胞	白血病细胞	有核红细胞	巨核细胞
	(%)	10 ⁶ /支股骨		个/张
对 照	16.60± 4.34	1.14± 0.37	0.50± 0.19	19.60± 12.26
六神丸	5.40± 2.68***	0.35± 0.23***	0.35± 0.19	7.70± 6.91*
紫金锭	12.75± 12.22	0.64± 0.43***	0.37± 0.25	24.30± 46.50
犀黄丸	5.44± 3.18***	0.36± 0.23***	0.27± 0.12	4.33± 3.37

注:各组动物均为10只

5.骨髓细胞增殖动力学的研究:紫金锭组、犀黄丸组和对照组相比,S期细胞比率分别增加86.5%和97.9%,差异有非常显著性意义($P<0.01$),但与正常骨髓比较,无明显差异;六神丸组与对照组相比,亦无明显的统计学意义。见表4。提示:紫金锭、犀黄丸主要影响细胞周期S期的细胞,治疗后的骨髓细胞增殖动力学指标接近正常。

表4 各组骨髓各期细胞比率 (% , $\bar{x}\pm S$)

组别	G ₁ +G ₀	S	G ₂ +M	超4C
正常	71.00±10.01	21.00±5.35	7.00±4.97	1.00
对照	70.57±10.94	12.43±5.16	16.43±6.45	0.57
紫金锭	60.67±7.68	23.56±4.82***	13.89±5.66	1.78
犀黄丸	63.80±8.64	24.60±8.08**	10.80±1.92	0.80

注:超4C即超4倍体细胞,各组动物数均为10只

(上接743页)

死脱落。此外,鸦胆子油可使消癌灵呈脂质乳剂型,脂质能减慢抗癌药物向组织渗透的速度,从而提高癌变部位的药物浓度。明矾可从细胞中吸收水分,使细胞脱水收缩;还能使血液凝固,可使癌肿体积缩小,解除或减轻管腔狭窄,并有局部止血作用。本组治疗过程中无1例出现上消化道出血。这是否因明矾的止血作用,尚待进一步观察研究。

四、整体与局部兼治:晚期食管、胃癌患者,大

五、存活时间:六神丸、紫金锭、犀黄丸组的生存期均较对照组明显延长,生命延长率分别为23.3%、30.30%、34.21%;其中六神丸组(8.81±0.47,天, $\bar{x}\pm S$,下同)、紫金锭组(9.33±1.00)与对照组(7.16±0.90)相比,差异均有极显著性意义($P<0.001$);犀黄丸组(9.61±1.88)与对照组相比, $P<0.01$ 。

讨 论

急性白血病属于中医的“温病”、“热劳”、“急劳”、“血证”、“癥积”、“虚劳”等范畴。疾病主因为:毒、热、痰、瘀、虚所致;高热,出血,贫血,肝、脾、淋巴结肿大为其临床特征;与中医的瘰疬、痰核、横痃、癥积有诸多相似之处,和传统抗癌中成药的某些适应症亦颇相吻合。该类药物已开始应用于急性白血病的治疗,且效果较好,副作用较少,毒性较低(急性毒性实验结果表明,六神丸的半致死量为成人一次用量的213倍,犀黄丸为75倍,紫金锭因药液已达最高浓度、容量也已达最大,故其半致死量未能得出)。传统抗癌中成药具有明显的抑制和杀伤实验白血病小鼠(L7212)白血病细胞的作用,该类药物主要作用于细胞周期的S期,具有减轻、缓解白血病细胞对肝脾浸润的作用(尤其肝脏),从而具有显著延长白血病小鼠生存期的作用。设想倘若改变剂型,制成注射液(静脉或肌肉注射),疗效可望更好,故认为传统抗癌中成药治疗白血病的临床应用值得进一步研究。

(本文承山东省中医药研究所王淑哲、杜以兰、隋在云、张勇、张素芹等同志大力帮助,谨谢)

参 考 文 献

- 褚建新,等.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; 3(4):287.
- 天津市中医医院血液组.六神丸治疗白血病10例临床疗效观察.天津医药 1976; 3:135.

都体质虚弱,故在治疗中如一般情况尚可,可以用5-氟脲嘧啶、喜树碱等化学药物治疗;体质虚弱,气血俱虚者,则据中医辨证加扶正中药为主,待整体情况好转再适当加用化疗;若体质虚弱,不宜用化疗,则单纯以中药扶正抗癌治疗。在辨证分型基础上,每一例我们都用党参、生黄芪及白术等,增强补气健脾,提高机体免疫功能,增强抗癌能力,收效甚好。经上述治疗亦未见有其他合并症,近期疗效较好,远期疗效尚待继续随访观察。

Experimental Study on Anti-Acute Leukemia with Chinese Traditional Drugs

Tang You-jun(唐由君), Chen Gang(陈刚), et al

Affiliated Hospital of Shandong College of TCM, Jinan (250011)

This paper deals with the experimental study on L7212 leukemic model of mice with Chinese medicine Liushenwan(六神丸), Zhijinding(紫金锭) and Xihuangwan(犀黄丸) for the treatment. This study proved that these drugs possessed the effect of inhibiting and killing L7212 leukemic cells of the experimental leukemic mice ($P < 0.05 \sim 0.001$). They affected the S stage of the cell multiplication cycle time mainly ($P < 0.01$). They could relieve the infiltration of leukemic cells in the liver and spleen of L7212 mice ($P < 0.001$) and obviously prolong the survival time of the mice ($P < 0.01 \sim 0.001$).

(Original article on page 734)

**Effect of *Salvia miltiorrhiza* on the Left Ventricular Diastolic Function
in Coronary Artery Stenosis**

Xu Hong-tao(徐洪涛), Chen Shi-liang(陈士良), Li Lan-sun(李兰蓀), et al

Cardiological Department of the Naval Hospital, Beijing (100037)

In 24 open-chest mongrel dogs, coronary artery critical stenosis were produced by a micrometer constriction on left circumflex coronary artery. It was reduction about 87% in lumen area. CBF, -Vce, -dp/dt max were decreased, T was increased ($P < 0.01$). 15 minutes after stenosis, the *Salvia miltiorrhiza* injection was injected into left atrium. CBF, -dp/dt max, -Vce were increased and T was decreased after the injection of *Salvia miltiorrhiza*. Moreover, the change of CBF was the earliest. The results proved that the *Salvia miltiorrhiza* could improve the left ventricular diastolic function in coronary artery stenosis.

(Original article on page 737)

**Experimental Study on Effect of Lipid-Lowering and Treating Coronary Atherosclerosis
with Chinese Herbal Prescription**

Fu Guo-qiang(傅国强), et al

No. 214 Hospital of PLA, Dalian (116013)

The Chinese herbal prescription was used in lipid-lowering, preventing and treating coronary atherosclerosis in this experiment. Through over 200 Leghorn chickens mould experiment and pathological sections were observed. The authors found that the effective rate of cholesterol-lowering was 88.23%, $P < 0.01$. The authors also took 52 chickens with coronary atherosclerosis for medical treatment, after 40 days, 65.38% of chicken's artery pathological changes went down from higher than degree II to lower than degree II and 4 chickens' artery wall became normal. Before collagen pathologic changes occurred, fatty deposits on artery wall were changeable. After effective treatment it can take a turn for the better.

(Original article on page 740)