

人参总皂甙对正常人和再生障碍性贫血患者造血祖细胞的刺激增殖作用

浙江中医学院附属医院(杭州 310006) 高瑞兰 徐从连 金锦梅 王文涛 马逢顺

杭州第二中药厂研究室 林振常 梁怀山

内容提要 为了解人参对造血祖细胞的作用,应用红系祖细胞(BFU-E、CFU-E)和粒单系祖细胞(CFU-GM)体外培养技术,观察人参总皂甙(TSPG)对正常人和29例再生障碍性贫血(再障)患者的祖细胞刺激增殖作用,并与甲基率丸素(甲率)相比较。TSPG在 $20\mu\text{g/ml}$ 浓度时,可使正常BFU-E、CFU-E和CFU-GM产率分别提高 $37.8\pm 2.9\%$ 、 $31.4\pm 2.9\%$ 和 $33.4\pm 4.0\%$ 。去除红细胞生成素, TSPG亦具有直接刺激红系祖细胞增殖作用,而甲率对CFU-GM无作用。29例再障中雄激素反应型14例(48.1%),均同时呈现对人参的敏感性(集落数增加30%以上)。而免疫介导型及干细胞缺少型中人参的作用均不能表达。提示TSPG的作用机制可能是通过增强红细胞生成素等造血生长因子的活性间接地促进骨髓造血。

关键词 人参总皂甙 造血祖细胞 再生障碍性贫血

人参为中国传统补气药物。有关人参的研究很多,但涉及到造血细胞的报道很少,且多为小鼠动物实验^[1,2]。人参用于治疗血液病亦为多种方药中的一种。为了解人参对造血祖细胞的作用,本文用红系祖细胞(BFU-E、CFU-E)和粒单系祖细胞(CFU-GM)体外培养技术,分别测定人参总皂甙(TSPG)促进正常人和再障患者祖细胞增殖的作用,并与甲率的活性相比较,以探索人参补血的物质基础。

资料与方法

一、祖细胞培养法: (1)红系祖细胞培养与文献^[3]相同, IMDM混合培养体系含 10^{-3}mol/L 2-巯基乙醇、L-谷氨酰胺、红细胞生成素(Epo, 美国重组品) 1u/ml 、35%马血清、5%PHA-LCM、0.3%琼脂(Sigma)和每孔 0.5×10^5 细胞/ 0.25ml 。培养7天计数BFU-E(≥ 50 个细胞)和CFU-E(≥ 8 个细胞)。(2)粒单系祖细胞采用葛忠良的胎肌浸液(HM-CM)单层琼脂培养法^[4],培养体系每皿含 2×10^5 细胞/ ml 。

二、TSPG溶液配制: TSPG粉剂由杭州第二中药厂研究所提供,从参芦中提取。其中

皂甙含量为67%,用培养基配制成工作液,分别含TSPG 8mg、40mg、200mg、1000mg和5000mg/L,正压过滤除菌,4℃保存。

三、人参刺激试验: 将TSPG工作液加入正常骨髓培养,终浓度为 $0.8\mu\text{g}$ 、 $4\mu\text{g}$ 、 $20\mu\text{g}$ 、 $100\mu\text{g}$ 和 $500\mu\text{g/ml}$ 。实验分为两大组: (1)粒单系祖细胞培养分单加TSPG组、HM-CM加TSPG组、甲率组、甲率加HM-CM组和HM-CM对照组5组。(2)红系祖细胞培养分单加TSPG组、Epo加TSPG组、甲率组、甲率加Epo组及Epo对照组5组。TSPG以 $20\mu\text{g/ml}$ 的终浓度为体外培养的恰当浓度,故以此浓度培养再障患者的骨髓,设不加TSPG的对照组。

四、甲率刺激试验: 同文献^[5]。

五、研究病例: 29例再障为我院1989~1991年间住院和门诊患者,男20例,女9例,年龄7~52岁(平均 28.7 ± 2.1 岁)。诊断按1987年全国再障讨论会标准^[6],分急性再障(AAA)4例、慢性再障(CAA)25例。又按祖细胞集落数、患者外周血单个核细胞(PBMNC)对正常CFU-GM的抑制试验及红祖细胞对甲率的敏感性分为雄激素反应、免疫介导和干细胞缺少三种类型,分型方法详见文献报道^[6]。正常骨髓

标本取自手术切除的肋骨。

六、统计学处理方法：方差分析（多组均数间的两两比较）。

结 果

一、TSPG刺激正常祖细胞增殖的作用：见表1。将TSPG倍数稀释后，分别与Epo同时加入正常骨髓培养BFU-E、CFU-E，结果显示4 μ g、20 μ g和100 μ g 3个组的BFU-E、CFU-E集落产率均显著高于不加TSPG的对照组（ P 均 <0.01 ），但3组之间无显著差异。0.8 μ g/ml组的BFU-E、CFU-E与对照组无显著差异，而500 μ g/ml组则显著低于对照组（ P 均 <0.01 ）。将TSPG与HM-CM共同加入人骨髓培养CFU-GM，结果与红系相似，4 μ g、20 μ g和100 μ g/ml组的集落数明显高于不加TSPG的对照组（ P 均 <0.01 ），0.8 μ g/ml组的CFU-GM与对照组无差异，而500 μ g/ml组则显著低于对照组（ P 均 <0.01 ）。提示20 μ g/ml的TSPG为人骨髓培养的较适浓度。

表1 不同浓度的TSPG对人红系与粒系祖细胞的作用 ($\bar{x} \pm S$)

TSPG (μ g/ml)	祖 细 胞 集 落 数		
	BFU-E (n=9)	CFU-E (n=9)	CFU-GM (n=8)
0.8	24.1 $\pm$ 2.4	106.2 $\pm$ 6.0	116.9 $\pm$ 14.8
4	35.0 $\pm$ 2.9*	140.4 $\pm$ 7.1*	154.2 $\pm$ 20.0*
20	35.6 $\pm$ 2.9*	140.3 $\pm$ 7.7*	157.4 $\pm$ 20.2*
100	36.5 $\pm$ 3.2*	140.2 $\pm$ 7.0*	155.2 $\pm$ 19.0*
500	23.1 $\pm$ 2.4	97.9 $\pm$ 5.9	109.9 $\pm$ 14.0
对照	25.9 $\pm$ 2.2	107.2 $\pm$ 6.1	118.1 $\pm$ 15.2

注：与无TSPG对照组比较，* P 均 <0.01

二、TSPG与雄激素（甲睾）在体外刺激造血祖细胞增殖作用比较：见表2。TSPG（20 μ g/ml）与甲睾（ 10^{-6} mol/L）在存在Epo的情况下均能提高BFU-E和CFU-E产率，两者作用相似。在无Epo时，TSPG仍能生长少数BFU-E，甲睾组却无生长。当存在HM-CM时，TSPG能提高CFU-GM产率33.3%，而甲睾对粒系无作用，以上结果均提示TSPG对造血

祖细胞的作用优于甲睾。

表2 TSPG与甲睾在体外对人红祖细胞的作用比较 ($\bar{x} \pm S$)

分 组	BFU-E	CFU-E
TSPG	4.6 $\pm$ 1.9	31.9 $\pm$ 3.9*
TSPG+Epo	35.6 $\pm$ 2.9*	140.3 $\pm$ 7.7
甲 睾	无 生 长	25.1 $\pm$ 3.2
甲睾+Epo	32.6 $\pm$ 2.4*	32.1 $\pm$ 3.7*
Epo对照	25.9 $\pm$ 2.2	107.2 $\pm$ 6.1

注：与Epo对照组比较，* P 均 <0.01

三、再障患者的祖细胞对TSPG刺激的反应性：29例轻重不同的再障患者标本培养后，按祖细胞集落数、PBMNC抑制率和雄激素敏感性分为三种实验类型，对TSPG的反应性各不相同。（1）雄激素反应型（即BFU-E、CFU-E其中的一项甲睾提高率 $>30\%$ ）14例（48.3%），该组患者是再障中较轻的一种，祖细胞集落生长较好，BFU-E、CFU-E和CFU-GM产率（ $\bar{x} \pm S$ ）分别为5.3 $\pm$ 1.5、31.6 $\pm$ 6.0/ 0.5×10^5 细胞和40.3 $\pm$ 7.9/ 2×10^5 细胞。加TSPG后，三种祖细胞集落形成率（ $\bar{x} \pm S$ ）分别为7.2 $\pm$ 1.6、43.6 $\pm$ 6.2和57.7 $\pm$ 8.0，均明显高于不加TSPG的对照组（ P 均 <0.01 ）。若以集落数增加30%以上者为体外对人参敏感的标准，则14例雄激素反应型患者有7例的BFU-E、9例的CFU-E和12例的CFU-GM在体外呈现对TSPG的敏感性。（2）免疫介导型（即患者的PBMNC对正常CFU-GM的抑制率 $>30\%$ ）9例（31.0%），祖细胞集落生长不良，对TSPG的敏感性不明显，提高率均 $<30\%$ ，平均BFU-E、CFU-E和CFU-GM的TSPG提高率（ $\bar{x} \pm S$ ）为2.0 $\pm$ 1.8%、7.5 $\pm$ 2.4%和5.8 $\pm$ 2.6%。（3）干细胞缺少型（极少有祖细胞集落生长）6例（20.7%），病情最为严重，病死率高。所有病例的BFU-E均为0，加TSPG后培养亦是如此。CFU-E、CFU-GM的TSPG提高率（ $\bar{x} \pm S$ ）仅为2.4 $\pm$ 1.4%和4.0 $\pm$ 2.1%。

随着患者病情好转，祖细胞数相对增加，

对 TSPG 的敏感性也相应出现。

讨 论

经提纯的人参总皂甙在体外与人骨髓作早期红祖细胞(BFU-E)和晚期红祖细胞(CFU-E)培养,在存在 Epo 时, TSPG 能够提高 BFU-E 和 CFU-E 产率 $37.8 \pm 2.9\%$ 和 $31.4 \pm 2.9\%$, 与文献报道的小鼠骨髓培养相类似⁽⁷⁾。提示 TSPG 的作用机制可能是通过增强 Epo 等造血生长因子的活性间接地促进红系造血,或与造血生长因子具有协同作用。这是因为:(1)在培养中如无 Epo 时, TSPG 亦能直接地刺激少数 BFU-E、CFU-E 集落形成,而甲睾对 BFU-E 的生长没有这种直接的作用。(2)在 GM-CSF 存在的情况下, TSPG 亦能使 CFU-GM 产率提高 $33.3 \pm 4.0\%$, 而甲睾对 CFU-GM 无作用。但这种作用和红祖细胞生长规律不同, TSPG 对 CFU-GM 无直接作用。

在病理情况下,如骨髓再生不良(再障)者,若体外祖细胞对甲睾敏感,对 TSPG 亦同样敏感。有些病例对 TSPG 的敏感性超过甲睾。而免疫介导型因存在抑制系统,干细胞缺少型则因祖细胞数太少,均使 TSPG 的作用不能表

达。当其病情好转时, TSPG 体外实验亦趋向敏感,人参治疗再障是有前途的。

TSPG 在体外对 BFU-E、CFU-E 和 CFU-GM 均有促进其增殖的作用。这和雄激素不同,后者仅作用于红祖细胞,对粒系无效。由于人参亦能刺激及调节免疫系统(淋巴系统),因此推测人参的作用点可能在全能干细胞一级。

参 考 文 献

1. Miyanomae T, et al. Radioprotection of hemopoiesis conferred by acanthopanax senticosus harms (shigok) administered before or after irradiation. Eep Hemat 1988; 16(9):801.
2. 周岐新,等。人参总皂甙对小鼠骨髓造血干细胞的影响。中草药 1983; 14(1):27.
3. 高瑞兰,等。造血祖细胞培养对再生障碍性贫血病因和治疗的探讨。中华血液学杂志 1991; 12(5):254.
4. 葛忠良,等。肌浸液对人骨髓细胞培养的成团作用。中华血液学杂志 1981; 2(3):138.
5. 中华血液学会第四届全国再生障碍性贫血学术会议纪要。再生障碍性贫血诊断与疗效标准。中华血液学杂志 1987; 8(8):封四和463.
6. 高瑞兰,等。骨髓体外培养 BFU-E、CFU-E 和 CFU-GM 对 63 例再生障碍性贫血的临床研究。中华内科杂志 1991; 30(5):268.
7. 黄干,等。人参总皂甙对小鼠血细胞生成的影响。中华血液学杂志 1990; 11(2):66.

中医心血管疾病期刊文献分布调查 (摘要)

解放军第 401 医院(青岛 266071) 李成建 柯银花 王丽霞 孙铁军 孙咸茂

根据 1988~1990 年中国医学科学院医学情报研究所编辑《中文科技资料目录(医药卫生)》中有关中医心血管疾病方面的文献,我们采用文献计量学方法对这方面的期刊文献分布作了初步统计。逐一统计、归纳、整理,从中找出重要期刊,供专业人员学习参考。调查结果表明,3 年中共有 149 种期刊登载有关中医心血管疾病方面的文献,其中中医药杂志 62 种(中医学院学报 14 种,中央及省、市中医药期刊 26 种,针灸学期刊 3 种,其他 19 种);中华医学和中国医学系列杂志 13 种;医学院学报 29 种;药学杂志 12 种;省、市医药期刊 21 种;其他 12 种。这 149 种期刊登载中医心血管疾病文献共计 765 篇。主要有:中西医结合杂志(93 篇);天津中医(33 篇);浙江中医杂志(32 篇);辽宁中医杂志(32 篇);上海中医药杂志

(30 篇);中医杂志(26 篇);陕西中医(25 篇);四川中医(23 篇);中成药(22 篇);中草药(21 篇);实用中西医结合杂志(19 篇);中国中药杂志(18 篇);中国医药学报(16 篇);北京中医学院学报(15 篇);山东中医学院学报(15)。这 15 种期刊合计载文量 420 篇,占 54.90%;其中前 13 种,合计 390 篇,能满足 1/2 的信息量,已构成中医心血管疾病方面的核心期刊;其中前 7 种,合计 271 篇,占 35.43%,能提供 1/3 的信息量,是获取我国中医心血管病情报信息的重要来源,也是从事科研、临床、教学必不可少的参考工具。因此,建议广大医学工作者学会掌握和利用该信息,各级图书情报部门也应注意动态,增加这些核心期刊的收藏比例,以满足专业人员的需求。

as a whole, and adjustment effect of human body zinc and copper by TCM treatment. Results showed that the average value of serum zinc of 75 cases of RAU was on lower level within normal range, serum copper was normal, the rate of copper to zinc was higher than normal value. Analysis using the TCM theory showed serum zinc of patients of deficiency symptom-complex was lower than excessiveness symptom-complex, the rate of copper to zinc of patients of deficiency symptom-complex was higher than normal range. The zinc content of serum and the rate of copper to zinc were different in patients of various symptom-complexes of RAU. The zinc and copper contents of serum were adjusted, the rate of copper to zinc was normalized and the immune function of T-cell increased distinctly by TCM treatment according to an overall differentiation of symptoms and signs. Thus the therapeutic effect of TCM was better than zinc preparation.

Key Words recurrent aphthous ulcer, zinc, copper, rate of copper to zinc.(Cu/Zn) , traditional Chinese medicine treatment according to an overall differentiation of symptoms and signs

(Original article on page 280)

The Research of the Relationship between the Type of Asthenia of both Spleen and Kidney and PAIg and T Lymphocyte Subsets of Idiopathic Thrombocytopenic Purpura

Zhan Wen-yan (詹文彦), Huang Zhen-qiao (黄振翘)*, Xue Zhi-zhong (薛志忠)*, et al
Handan TCM Hospital, Handan (056001)

* *Yueyang Hospital, Shanghai College of TCM, Shanghai*

Idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) is a kind of disease associated with immunity. At present a great quantity of study on ITP has been made on humoral and cellular immunity. But there are few reports about the relationship between the types based on the differential diagnosis of TCM and immune rationale of ITP. In order to deeply explore the relationship between the types based on differential diagnosis of TCM and immune rationale of ITP, the authors measured PAIg and T lymphocyte subsets of 34 ITP patients of asthenia of both Spleen and Kidney. The value of PAIgG increased in both types of Spleen failing to control blood (SFCB) and deficiency of Spleen-yin and Kidney -yin (DSYKY), and the value of PAIgG of the type of DSYKY was significantly higher than that of SFCB ($P < 0.01$). OKT_3 , OKT_4/OKT_8 of the type of SFCB remarkably decreased ($P < 0.05$), OKT_4 , OKT_4/OKT_8 of DSYKY also remarkably decreased ($P < 0.001$), while OKT_8 significantly increased ($P < 0.001$). The above results suggested that the type of DSYKY has more serious immune dysfunction than the type of SFCB, and the types of SFCB and DSYKY has close relationship with PAIg T lymphocyte subsets.

Key Words idiopathic thrombocytopenic purpura, asthenia of both Spleen and Kidney, PAIg, T lymphocyte subsets

(Original article on page 283)

Effect of Total Saponins of Panax Ginseng on Hematopoietic Progenitor Cells in Normal Human and Aplastic Anemia Patients

Gao Rui-lan (高瑞兰), Xu Cong-lian (徐从连), Jin jing-mei (金锦梅) et al
Affiliated Hospital, Zhejiang College of TCM, Hanzhou (310006)

Ginseng was said to be benefit for anemia in TCM. Proliferation effects of total saponins of panax ginseng (TSPG) on hematopoietic progenitor cell in normal individuals and 29 patients with aplastic anemia (AA) were observed by bone marrow culture of BFU-E, CFU-E, CFU-GM in vitro compared with methyltestosterone (MT). The results showed that TSPG might prompt proliferation of normal progenitor cells at the concentration of 20 $\mu\text{g/ml}$. The number of BFU-E, CFU-E and CFU-GM had increased by $37.8 \pm 2.9\%$, $31.4 \pm 2.9\%$ and $33.3 \pm 4.0\%$ over the controls respectively; furthermore TSPG was still useful to BFU-E, CFU-E growth without Epo in vitro, although the colony numbers were very lower. Otherwise MT was useless to CFU-GM. 14 of the 29 patients with AA who responded to MT showed sensitivity to TSPG in marrow culture (the rising rate of colony