

生脉散加黄芪对 LAK 细胞抗肿瘤活性的正向调节作用*

承德医学院(河北 067000) 赵铁华 栗锦迁

内容提要 本文用³H 释放方法检测了生脉散加黄芪对 LAK 细胞活性的影响。43 例 LAK 细胞分别对 8 例不同型别患者的新鲜急性白血病细胞表现了明显的杀伤活性。以最适浓度(100 μg/ml)生脉散加黄芪制剂协同 IL-2 诱生 LAK 细胞,其活性明显增强。最适浓度(10 μg/ml)的人参总皂甙制剂作用稍强于生脉散加黄芪制剂。

关键词 生脉散 黄芪 LAK 细胞 细胞毒

淋巴因子激活性杀伤细胞(LAK 细胞)的过继输入已经被证明是一种有效的抗肿瘤免疫治疗措施,但此疗法的临床应用却受到 LAK 细胞活性较低等问题的困扰^(1,2)。提高 LAK 细胞的抗肿瘤活性是目前肿瘤临床亟待解决的问题之一。较多资料表明,人参、黄芪等中药具有较强的免疫调节作用。本研究探讨了生脉散加黄芪,水煎醇沉液对体外诱生 LAK 细胞活性的作用,并与人参提取物人参总皂甙进行了比较,以筛选对 LAK 细胞过继输入治疗恶性肿瘤有辅助作用的中药免疫调节剂。

资料和方法

一、药物组成及制备 人参、黄芪、五味子、麦冬按 10:5:12:24 组成处方。将上述生药水煎并经浓缩,加 95%乙醇沉淀,回收乙醇;过滤,调 pH 为 6.5,稀释药液为 100%,100℃ 30 min 灭菌,4℃ 保存。人参总皂甙用 20%乙醇加热助溶,回收乙醇后用注射用水稀释药液为 1%,灭菌后 4℃ 保存。

二、主要试剂 白细胞介素 2(IL-2)为日本盐野义制药株式会社生产的人基因重组的纯品,批号 CP 1013。

三、细胞来源 健康人外周血淋巴细胞(PBL)取自 43 名,20~45 岁健康献血员(平均年龄 31.4 岁);其中男性 29 人,女性 14 人。新

鲜急性白血病细胞取自经临床和血细胞学检查确诊,外周血幼稚细胞在 80%以上的初诊未治急性白血病患者的骨髓或外周血;8 例患者病程为 1~2 个月;其中 3 例急性淋巴细胞性白血病(ALL)患者年龄为 2~4 岁;3 例急性粒细胞性白血病(AML)患者,男性 2 例,女性 1 例,平均年龄 36.3 岁;2 例急性单核细胞性白血病(AMMoL)患者,男女各 1 例,年龄分别为 18 和 64 岁。

四、LAK 细胞诱生和活性测定 按本室常规方法⁽³⁾,调整健康人 PBL 为 2×10^6 /ml,在含 500 u/ml IL-2 的 RPMI 1640 培养液中,置 CO₂培养箱 37℃ 培养 3 天诱生 LAK 细胞。实验组在以上培养体系中分别加入不同浓度生脉散加黄芪液或人参总皂甙液,相同条件诱生 LAK 细胞。以新鲜急性白血病细胞为靶细胞,在效/靶比例为 20:1 的基本条件下,采用³H 释放方法⁽³⁾测定 LAK 细胞杀伤新鲜急性白血病细胞活性(简称 LAK 细胞活性)。

LAK 细胞活性(%)

$$= \left(1 - \frac{\text{实验组 cpm}}{\text{对照组 cpm}}\right) \times 100\%$$

五、统计学处理 全部数据用平方根反正弦函数转换后,用 t 检验进行统计学处理。

结 果

一、LAK 细胞对新鲜急性白血细胞病的

*国家自然科学基金和河北省卫生厅资助项目

杀伤活性 经上述条件诱生和测定的 43 名健康人 PBL 来源的 LAK 细胞, 对 8 例不同型别、患者的新鲜急性白血病细胞全部表现了明显的杀伤活性。见附表。

附表 LAK 细胞对新鲜急性白血病细胞的杀伤活性 (% , $\bar{x} \pm S$)

靶细胞	杀 伤 活 性		
序 号	ALL 细胞	AML 细胞	AMMoL 细胞
1	28.05 (1)	26.35 $\pm$ 6.10 (8)	24.50 $\pm$ 8.20 (3)
2	28.80 $\pm$ 5.59 (5)	37.10 $\pm$ 8.07 (4)	43.16 $\pm$ 12.06 (6)
3	37.74 $\pm$ 9.88 (8)	26.95 $\pm$ 4.11 (8)	——
合计	33.53 $\pm$ 9.13 (14)	28.73 $\pm$ 6.98 (20)	36.14 $\pm$ 14.27 (9)

注: () 内为 LAK 细胞例数

二、生脉散加黄芪对 LAK 细胞抗肿瘤活性的影响 在 LAK 细胞培养体系中加入较低浓度 (50 μ g/ml、100 μ g/ml) 的生脉散加黄芪液可增强 LAK 细胞活性。尤其以 100 μ g/ml 的生脉散和黄芪液作用明显, 经各 11 例 LAK 细胞配对比较, 其活性 (42.86 $\pm$ 10.24%) 较未加生脉散加黄芪液的对照组活性 (30.10 $\pm$ 16.50) 差异有极显著性意义, $P < 0.01$ 。

而较高浓度 (200 μ g/ml、1000 μ g/ml) 生脉散加黄芪液反而抑制 LAK 细胞活性。

三、生脉散加黄芪与人参总皂甙对 LAK 细胞抗肿瘤活性影响的比较 在 3 种 (5 μ g/ml、10 μ g/ml、50 μ g/ml) 能够增强 LAK 细胞活性的人参总皂甙液浓度中, 以 10 μ g/ml 作用最强。经各 7 例 LAK 细胞配对比较, 其活性 (45.76 $\pm$ 8.33%) 较人参总皂甙组 (32.03 $\pm$ 13.76%) 提高, 差异有显著性意义 ($P < 0.05$)。

各取最适浓度的生脉散加黄芪液 100 μ g/ml 和人参总皂甙液 (10 μ g/ml) 分别协同 IL-2 诱生 LAK 细胞。经各 10 例 LAK 细胞配对比较, 生脉散加黄芪液协同的 LAK 细胞活性 (37.11 $\pm$ 8.84%) 较人参总皂甙液协同的 LAK 细胞 (活性为 40.05 $\pm$ 11.09%) 稍低, 但二者比较差异无显著性意义, $P > 0.05$ 。

讨 论

目前已经注意到, LAK 细胞在临床应用

中对 60% 左右的肿瘤患者无明显疗效^(1,2), 其重要原因之一就是 LAK 细胞活性尚低。在对此采取的相应对策中, 尤其以应用多种细胞因子增强 LAK 细胞活性的研究较为突出⁽³⁾。但从另一角度探讨, 细胞因子的联合应用一方面可能会进一步增加原有的因应用昂贵的 IL-2 所致的 LAK 细胞疗法的较高造价; 另一方面, 某些细胞因子 (如肿瘤坏死因子) 还有引起机体非特异性损伤的潜在毒、副作用。

本文结果表明, 生脉散加黄芪能够显著增强 LAK 细胞的抗肿瘤活性。有资料提示⁽⁴⁾, 生脉散加黄芪增强 LAK 细胞活性的机制, 与制剂中某些成分占据了淋巴细胞上的糖皮质激素受体, 直接作用于 LAK 细胞有关。此项研究的应用前景是: (1) 在 LAK 细胞诱生体系中直接加入生脉散加黄芪或其它经筛选的中药制剂增强 LAK 细胞活性。(2) 在 LAK 细胞过继输入的同时, 给受者应用如上中药制剂, 使 LAK 细胞在体内增强活性。

本文实验结果显示, 适宜的中药提取物在体外对 LAK 细胞活性的作用可能比复方稍强。但中药成分的提取较为困难, 并且也不能替代复方在体内药物之间协同作用的优势。

较之多种细胞因子, 本文所选用的中药制剂造价低廉, 且无明显的毒、副作用, 是理想的替代细胞因子、辅助 LAK 细胞治疗恶性肿瘤的免疫调节剂。

参 考 文 献

1. Rosenberg SA, et al. A progress report on the treatment of 157 patients with advanced cancer using lymphokine activated killer cells and interleukin 2 or high dose interleukin 2 alone. New Eng J Med 1987; 316: 889.
2. 曹雪涛. LAK 细胞抗肿瘤活性调节因素的研究进展. 国外医学·免疫学分册 1990; 4: 176.
3. 赵铁华, 等. LAK 细胞对新鲜急性白血病细胞的杀伤活性. 中华肿瘤杂志 1991; 13(2): 117.
4. 于永利, 等. 吉林人参花总皂甙对 NK-IFN-IL-2 调节网的作用及其抑瘤机制. 中国免疫学杂志 1987; 3(1): 41.

medicated-bath was observed. It showed a higher level of the rheumatoid factor (RF) titre, immunoglobulin (Ig) G, M, A and CD4 cells, but the CD8 cells was obviously lower before the treatment. Clinical data indicated that the medicated-bath had significant effective rate. In order to elucidate the mechanism of the medicated-bath upon rheumatoid arthritis the RF titre, Ig level, complement C₃, 3H-TdR incorporated with lymphocytes transformation and CD3, CD4, CD8 cell level were assayed. Results showed that RF titre decreased after the bath and the negative transforming rate reached 70.6%, Ig level obviously dropped as well as the number of CD4 cells while CD8 cell level increased. The transforming stimulation index of lymphocyte cells obviously decreased. All of the above mentioned showed that there was a higher concentration of the enhancing factor of interleukin-2 (IL2-EF) involved in lymphocyte culture of rheumatoid arthritis patients. They suggested that the Tibetan medicated-bath had an immunomodulating effect on rheumatoid arthritis patients through increasing the level of CD8 cells and reducing CD4 cells.

Key words rheumatoid arthritis, Tibetan medicated-bath, immunomodulating effect

(original article on page 467)

Positive Modulating Action of Shengmaisan (生脉散) with *Astragalus Membranaceus* on Anti-Tumor Activity of LAK Cells

Zhao Tie-hua (赵铁华), et al

Chengde Medical College, Chengde (067000)

Enhancing the anti-tumor activity of LAK cells is one of problems which are expected to be solved in tumor clinic at present. The effects of Shengmaisan with *Astragalus membranaceus* (SMAM) on anti-tumor activity of LAK cells with the ³H release assay were studied. The LAK cells taken from 43 persons showed obvious killing activity to acute leukemia cells from 8 patients in different types. The results showed that the activity of LAK cells could be enhanced markedly by the synergic action of SMAM in proper concentration (100 µg/ml) with IL-2. The effect of ginsenoside with appropriate concentration (10 µg/ml) was slightly better than that of SMAM. The treatment for malignant tumor using SMAM assisting LAK cells could replace the application of some cell factors which were expensive and toxic at present.

Key words Shengmaisan, *Astragalus membranaceus*, LAK cells, cytotoxicity

(original article on page 471)

Clinical Study on Cinobufotalin in Treating Chronic Hepatitis B Virus Carriers

Xu Xiang-tian (徐向田), et al

Linyi Medical School, Linyi (276002)

In a preliminary study, carriers of hepatitis B virus were treated with Cinobufotalin, a preparation from toad, for 1–3 course of treatment. Results indicated that negative conversion rate was markedly higher in the treated groups (21.09%, 38.89%, 63.64% and 50%) than that of control groups (2.1%, 10.87%, 33.33% and 7.7% $P < 0.001$). By the end of treatment, positive conversion rate of anti-HBs and anti-HBe were also markedly higher in the former (19.29% and 23.45%) than that in the latter (4.26% and 7.14% $P < 0.001$). During the follow-up of 3–6 months, the positive rate of HBeAg in treated group (50%) raised as compared with the control group (20% $P = 0.08$). The results