

抗毒生血饮对辐射小鼠脾细胞产生白细胞介素-2 的影响

首都儿科研究所生化免疫室(北京 100020) 王正森 于 兵 鲁 杰
中国中医研究院广安门医院基础研究室 吴振宇 陆 军

我们以往的研究表明,养阴合剂具有抗辐射效应,它对 γ -线照射小鼠骨髓 DNA 有一定保护作用,并能提高正常和照射小鼠淋巴结中 T 淋巴细胞的免疫功能^①。在此基础上,选用临床常用的十几个方剂,按中医理论分为清热、滋阴、补气、养血、活血和助阳六大类,进行正交试验配伍,经二十余次初筛,最后选定以养阴为君、补气养血为臣的防治方剂——抗毒生血饮。本实验研究了该方对辐射小鼠脾细胞产生白细胞介素-2(IL-2)的影响。

材料和方法

一、动物 LACA 小鼠,雌雄各半,体重 20 ± 2 g。C57 BL/6 小鼠,2~3 月龄,供测定用。均由军事医学科学院动物场提供。

二、药物与试剂 抗毒生血饮由生地 20 g、黄芪 25 g、当归 10 g、川芎 10 g 等 7 味中药组成,广安门医院基础研究室提供,含量为 2 g 生药/ml。3-氯-丙胺基-乙基硫代磷酸(WR-2721)为选择性防护剂,由军事医学科学院放射医学研究所供应。 α -甲基甘露糖苷为 Fluka 公司出品,ConA 为 Sigma 公司产品。H-TdR 为中国科学院上海原子能研究所产品。

三、动物分组与给药方法 将 LACA 小鼠,雌雄各半,随机分为正常对照组 6 只,照射对照组与西药对照组各 30 只,中药组 50 只。后三组小鼠均作全身 6 Gy γ 射线照射(军事医学科学院放射医学研究所钴源,剂量率为 1.875 Gy/min)。中药组于照前 1 h,给抗毒生血饮灌胃,剂量 0.6 ml/只。西药组于照前 30 min 给 WR-2721,腹腔注射,剂量 400 mg/kg。照射对照组给蒸馏水灌胃,0.6 ml/只。

四、IL-2 的产生和测定^②

1. IL-2 的产生 于照射后第 18 天,将各组 LACA 小鼠,称体重后,摘除眼球放血致死,无菌取脾,在 Hanks-2% 小牛血清中用不锈钢网磨成细胞悬液,洗 3 次,用培养液制成细胞悬液。培养液为 RPMI 1640(GIBCO),补充青霉素 100 u/ml,链霉

素 100 μ g/ml,二巯基乙醇 5×10^{-5} mol/L,谷氨酰胺 2×10^{-3} mol/L 及 5% 小牛血清。用 24 孔板培养,每鼠脾细胞培养 4 孔,每孔 2 ml,细胞终浓度 5×10^6 /ml,Con A 取终浓度为 3 μ g/ml。37°C,5% CO₂ 培养 48 h,取上清,滤膜过滤除菌,分装小试管, -20°C 冷冻保存,待测定用。

2. Con A 激活的小鼠脾细胞的制备 C57 BL/6 小鼠,用上法制成脾细胞悬液,24 孔板培养,2 ml/孔,细胞终浓度为 1×10^6 /ml,Con A 为 5 μ g/ml。37°C,5% CO₂ 培养 48 h。离心后去上清,用含 10 mg/ml α -甲基甘露糖苷的 Hanks 液洗 3 次,配成 1×10^6 /ml 的母细胞悬液待用。

3. 测定 IL-2 采用 96 孔培养板,每孔加上述母细胞悬液 100 μ l,8 倍稀释待测,IL-2 样品 100 μ l,为封闭样品中 Con A 活性,每孔加 100 mg/ml α -甲基甘露糖苷 20 μ l。同时设有培养液对照及 Con A 对照。均有三个平行孔。37°C,5% CO₂ 培养 42 h,加 ³H-TdR, 3.7×10^4 Bq/孔,再培养 6 h,收集细胞,用 Beckman LS-5801 型液体闪烁计数器测定每分钟闪烁值(cpm),以此值代表 IL-2 活性。

五、统计学处理 求出各组平均数及标准误差,再按群组法作各组间 t 检验。

结 果

从小鼠一般情况来看,照射对照组辐射损伤最为明显,动物精神倦怠,毛发不荣,拱背倦卧,少动少食。中药组反应次之,西药对照组仅有较轻的反应。照射对照组及中药组 18 天死亡率分别为 40% (12/30 只) 及 10% (5/50 只),西药组无一例死亡。从照射后第 18 天处死动物的体重来看,正常对照组、照射对照组、西药对照组及中药组分别为 23.2 ± 1.2 g ($\bar{x} \pm S$), 21.4 ± 2.0 g, 21.4 ± 2.0 g, 21.4 ± 2.09 g, 22.1 ± 2.5 g。由附表可见,对照组脾细胞产生 IL-2 的能力明显低于正常组。西药组与中药组虽明显高于照射对照组 ($P < 0.01$),但仍然非常明显低于正常组 ($P < 0.001$)。

附表 抗毒生血饮对 $^{60}\text{Co}\gamma$ -线照射小鼠脾细胞产生 IL-2 的影响 (cpm, $\bar{x} \pm S\bar{x}$)

分组	动物数	^3H -TdR 掺入
正常	6	99376 $\pm$ 7109
对照	11	8830 $\pm$ 1348*
西药	25	41910 $\pm$ 8706* Δ
中药	24	44356 $\pm$ 6985* Δ

注: 与正常组比较, * $P < 0.001$; 与照射对照组比较, $\Delta P < 0.01$

讨 论

根据中医发病机理, 射线属于火毒, 因此辐射损伤以火毒伤阴为主, 故防治时当以滋阴为君。但辐射损伤必然引起气血两虚, 则须辅以补气养血之药物。抗毒生血饮的配伍正符合这一治则。从预试验结果来看, 该方剂在照前 1 h 灌胃, 对全身一次照射 8 Gy γ -射线小鼠, 有明显抗辐射效应, 30 天存活率最高可达 60%。日本学者筱田雅人^[3]对四物汤(地黄、当归、川芎、芍药)的辐射防护效果进行了较详细研究。在单味药比较时, 川芎作用最强, 当归、芍药较弱。在用四物汤与去掉一味药组合的方剂比较时, 可见四物汤最有效, 而除去川芎的防护效果明显减弱。

在预试验中, 我们也发现, 抗毒生血饮能使照后 4 h 淋巴细胞 ^3H -TdR 掺入量明显高于照射对照组。因此在进行该复方抗辐射机理研究时, 我们设想其机制之一可能是保护了淋巴细胞产生 IL-2 的能力。我

们的试验证明了这一点。脾细胞经 Con A 诱导产生 IL-2 的能力, 中药组虽然仍明显低于正常组, 但已非常显著地高于照射对照组。Neta 等首次发现 IL-1 可以作为辐射防护剂, Manori 等认为 IL-1 的辐射防护作用可能是通过 IL-2 实现的。张澜生等^[4]观察到 IL-2 对辐射损伤的淋巴细胞增殖抑制有逆转作用。Gerber 等^[5]用集落形成法估计 T 淋巴细胞对辐射的敏感性时发现, 加入 IL-2 后, 淋巴细胞辐射敏感性降低, 生存曲线由双相曲线变为指数曲线。这些资料均说明 IL-1 与 IL-2 在辐射防护上具有重要作用。而抗毒生血饮中有很多有效成份, 可能有生物反应调节剂的作用, 能在体内诱生多种细胞因子。如将该方剂与 WR-2721 伍用, 应能取得更好的辐射防护效应。

参 考 文 献

1. 王正森, 等. 养阴合剂抗辐射效应和对淋巴细胞转化影响的初步观察. 中药通报 1982; (1): 33.
2. 张 蒲, 等. IL-2 产生的条件和不同测定方法的比较. 中国免疫学杂志 1986; 2(6): 367.
3. 筱田雅人. 生药及其复方对辐射损伤的防护效应. 国外医学. 放射医学核医学分册 1987; 11(3): 161.
4. 张澜生, 等. IL-2 对辐射损伤淋巴细胞增殖抑制的逆转作用. 中国免疫学杂志 1989; 5(5): 318.
5. Gerber M, et al. The influence of interleukin-2, feeder cells, and timing of irradiation on radio sensitivity of human T lymphocytes assessed by the colony-forming assay. Radiat Res 1989; 120(1): 164.

消结响声汤治疗声带小结 32 例

江苏省启东市中医院(江苏 226200) 黄瑞彬

笔者自拟消结响声汤治疗声带小结 32 例, 疗效满意, 现报告如下。

临床资料 本组 32 例, 男 12 例, 女 20 例; 年龄最小 14 岁, 最大 50 岁; 病程最短 1 个月, 最长 17 年, 一般 3~4 个月。均符合下列诊断标准: (1) 症见声音嘶哑, 咽喉发痒, 似有物阻, 舌尖紫斑, 苔腻, 脉涩。(2) 两侧声带前中 1/3 交界处的游离缘有对称小结突起, 一般如粟米大小。

治疗方法 自拟消结响声汤: 桔梗 10 g 射干 10 g 僵蚕 10 g 玄参 12 g 象贝母 15 g 姜半夏 10 g 威灵仙 30 g 天花粉 30 g 生牡蛎 30 g (先煎) 熟大黄 10 g 赤芍 12 g 山慈菇 10 g 炮山甲 10 g (先煎) 生地榆 20 g 胖大海 10 g。水煎服, 每日 1 剂, 30 剂为一疗程。

结 果 (1) 疗效标准: 痊愈: 症状和声带小结均消失; 好转: 症状减轻, 小结缩小; 无效: 症状未减, 小结未缩小。(2) 结果: 本组 32 例, 治疗 1 疗程后痊愈 28 例, 占 87.5%; 好转 3 例, 占 9.4%; 无效 1 例, 占 3.1%。总有效率为 96.9%。

体 会 声带小结是由六淫外侵, 咽喉发炎, 或发音过度, 损伤声带, 痰瘀凝阻, 纤维组织增生所致。消结响声汤是由桔梗汤、消瘰丸、甘遂半夏汤、芍药甘草汤加减而成。方中桔梗、射干、僵蚕利咽畅喉, 宣通肺系; 象贝母、半夏、威灵仙、天花粉、山慈菇、牡蛎涤痰散结; 大黄、赤芍、穿山甲活血化瘀, 软坚消肿, 其中大黄并能泻表安里, 疏利咽喉; 玄参、地榆、胖大海生津润喉, 护带扬声。全方切中枢机, 结消声响, 故取佳效。