

## · 临床论著 ·

# 中西医结合治疗对慢性再生障碍性贫血患者红细胞寿命及膜蛋白的影响\*

王树庆<sup>1</sup> 张圣明<sup>2</sup> 李建华<sup>1</sup> 鲁崎喆<sup>3</sup>

**内容提要** 目的:探讨中西医结合治疗慢性再生障碍性贫血(CAA)作用机理。方法:应用<sup>51</sup>Cr标记技术和冷冻蚀刻电镜技术对30例CAA患者经中西医结合治疗前后的红细胞(RBC)寿命进行了测定,对其膜蛋白形态和分布进行了观察,并与健康人(30名)作对照。结果:CAA患者RBC寿命缩短,与健康对照组比较,有显著性差异( $P < 0.01$ ),治疗后RBC寿命延长并接近健康人;治疗前RBC质膜内片劈裂面和外片劈裂面均见蛋白微粒形态异常、数量减少和分布不均,治疗后膜蛋白微粒好转,并接近健康人。结论:RBC寿命与膜蛋白的形态、数量、质量及分布密切相关。中西医结合治疗CAA的疗效明显优于单纯西药疗效,且有稳定膜蛋白、延长RBC寿命的作用。

**关键词** 中西医结合治疗 愈障汤 慢性再生障碍性贫血 红细胞寿命 膜蛋白

**Effect on Life Span and Membrane Protein in Red Blood Cells by Integrated Medicine Therapy on Chronic Aplastic Anemia** Wang Shuqing, Zhang Shengming, Li Jianhua, et al *Affiliated Hospital of Weifang Medical College, Shandong (261031)*

**Objective:** To explore the mechanism of integrated traditional Chinese and Western medicine (TCM-WM) therapy on chronic aplastic anemia (CAA). **Methods:** The RBC life span of 30 normal human subjects and 30 patients with CAA were measured by <sup>51</sup>Cr labelled technique before and after TCM-WM therapy. The morphology and distribution of RBC membrane protein granules were observed by freeze fracture etching and transmission electron microscope. **Results:** The half life of erythrocytes (RBC T<sub>1/2</sub>) was shortened in CAA cases and there was a significant difference compared to healthy control ( $P < 0.01$ ). After therapy, the RBC life span prolonged and approached the normal level. Before treatment, there existed abnormal in morphology, decrease in amount and uneven in distribution of protein granules in protoplasmic face (PF) and extracellular face (EF) of RBC membrane. After treatment, the protein granules of RBC membrane was improved and approached to control. **Conclusions:** The morphology, amount, quality and distribution of RBC membrane protein granule were closely related to its life span. The therapeutic effect of TCM-WM was better than that of WM alone and it had a function both in stabilizing membrane protein and extending the RBC life span.

**Key words** integrated traditional Chinese and Western medicine, Yuzhang Decoction, chronic aplastic anemia, membrane protein, life span of erythrocyte

为进一步探讨中西医结合治疗慢性再生障碍性贫血(CAA)作用机制,1993年10月~1996年10月,我

们对30例CAA患者用自拟方愈障汤配合西药治疗,并分别于治疗前后进行了红细胞(RBC)寿命测定和RBC膜蛋白的分子形态学观察,旨在阐明中西医结合疗法对稳定RBC膜和促进造血功能恢复重建的作用。

\*山东省教委1992~1993年度资助课题;获山东省教委1996年应用科学技术成果三等奖(No.9601237)

1. 潍坊医学院附属医院(山东 261031);2. 潍坊医学院;  
3. 中国科学院生物物理研究所

## 资料和方法

1 临床资料 按全国统一标准<sup>[1]</sup>确诊的60例

CAA 患者,随机分为两组:治疗组 30 例,男 16 例,女 14 例;年龄 16~62 岁,平均 29.3 岁;病程 3~156 个月,平均 34.7 个月;Hb 25~75g/L,平均 40.5g/L;WBC $(0.8\sim3.8)\times 10^9/L$ ,平均  $2.48\times 10^9/L$ ;PLT $(14\sim80)\times 10^9/L$ ,平均  $44.6\times 10^9/L$ ;网织红细胞百分比为 0.002~0.007,平均 0.004;骨髓增生重度减低 12 例,增生减低 14 例,增生活跃 4 例;中医辨证分型按文献<sup>[2]</sup>,阳虚型 13 例,阴虚型 12 例,阴阳两虚型 5 例。对照组 30 例,男 15 例,女 15 例;年龄 13~56 岁,平均 27.8 岁;病程 4~160 个月,平均 33.6 个月;Hb 30~80g/L,平均 46.3g/L;WBC $(1.1\sim3.5)\times 10^9/L$ ,平均  $2.67\times 10^9/L$ ;PLT $(18\sim79)\times 10^9/L$ ,平均  $45.2\times 10^9/L$ ;网织红细胞百分比为 0.0015~0.013,平均 0.0047;骨髓增生重度减低 11 例,增生减低 15 例,增生活跃 4 例。两组资料无显著性差异,具有可比性。另设健康人 30 名为健康对照组,均系健康的患者家属或志愿者,其中男 24 名,女 6 名;年龄 19~58 岁,平均 27.8 岁。

2 治疗方法 对照组单用西药治疗:康力龙(广州侨光制药厂生产,批号:931201)每次 2~4mg,每日 3 次;辅酶 Q<sub>10</sub>(沈阳卫材制药有限公司生产,批号:930701)每次 10mg,每日 3 次。治疗组在上述西药治疗的基础上加服补肾生髓为主的愈障汤(自拟方):生地 40g 熟地 40g 何首乌 20g 菟丝子 20g 枸杞子 20g 补骨脂 15g 淫羊藿 15g 女贞子 15g 旱莲草 15g 龟板胶 10g 鹿角胶 10g 阿胶 10g 当归 12g。常规煎法,每日 1 剂,每剂分 2 次服,每周服 5 剂,休息两天。服汤剂 67~480 剂,平均 126.3 剂。两组均以 3 个月为 1 个疗程,2 个疗程后判定疗效。

3 RBC 寿命测定 用 30ml 无菌注射器,内加 1 号抗凝液(天津市医用高分子制品厂生产)3ml,取肘静脉血 20ml,用微量注射器抽取<sup>51</sup>Cr-Na<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>注射液(中国原子能研究院同位素研究所生产)100 $\mu$ Ci 注入含抗凝血的注射器内,标记 RBC(<sup>51</sup>Cr-RBC),维生素 C 终止标记后全血静脉回输。从第 1、24h 及 4、6、8、10 天各取血 1 次,样品制备及 RBC T 1/2 计算参考邓家栋等介绍的方法<sup>[3]</sup>。所获样品置 4℃ 贮存,第 10 天一次性在井型  $\gamma$ -闪烁计数仪上测放射强度(cpm),并计算<sup>51</sup>Cr-RBC 标记率。

4 RBC 冷冻蚀刻样品制备和观察 参照文献<sup>[4]</sup>,取静脉血 3ml,以 10u/ml 肝素抗凝,离心(1000r/min)10min,弃上清液及白细胞层,用 0.2mol/L 磷酸缓冲液(pH7.2~7.4)洗涤数次,吸取沉积的红细胞置于 2.5% 戊二醛固定液中,冰箱中固定。样品滴在样品杯

上,投入液氮中冷冻,用 BAF-400D 型冷冻蚀刻仪(列支敦士登公国 BALZERS 公司)按常规制成冷冻复型。真空度高于  $10^{-4}$  Pa ( $1\times 10^{-6}$  mbar),断裂温度 -110℃。取出样品杯,入双蒸馏水中,在体视显微镜下将样品和样品杯分离后吸出双蒸馏水,加 0.5mol/L (5%)次氯酸钠腐蚀,15min 后换双蒸馏水冲洗,最后剥制的白金碳复型膜捞在 400 目铜网上,吸干水后,置于 JEM-100CX 型透射电镜下观察拍照,加速电压为 75KV。

5 统计学处理 采用治疗前后配对  $t$  检验和 Ridit 分析法。

## 结 果

1 疗效标准 参照全国统一标准<sup>[1]</sup>,基本治愈:贫血和出血症状消失,Hb 上升(男  $>120g/L$ ,女  $>100g/L$ ),WBC $>4.0\times 10^9/L$ ,PLT $>80\times 10^9/L$ ,随访 1 年以上无复发者;缓解:贫血和出血症状消失,Hb 上升(男  $>120g/L$ ,女  $>100g/L$ ),WBC $(3.5\sim4.0)\times 10^9/L$ ,PLT 也有一定程度增长,随访 3 个月病情稳定或继续进步者;明显进步:贫血和出血症状明显好转,不输血,Hb 较治疗前 1 个月内常见值增长 30g/L 以上,并能维持 3 个月以上者;无效:症状、血象未达明显进步者。判定以上疗效时,均应 3 个月内不输血。

2 RBC 寿命 <sup>51</sup>Cr-RBC 标记率为 85.46%~99.34%。其寿命 $<20$  天为缩短, $<17$  天为明显缩短。

3 疗效结果 治疗组 30 例,基本治愈 12 例(40.0%),缓解 7 例(23.3%),明显进步 5 例(16.7%),无效 6 例(20.0%),总有效率 80.0%。对照组 30 例中,基本治愈 7 例(23.3%),缓解 9 例(30.0%),明显进步 3 例(10.0%),无效 11 例(36.7%),总有效率 63.3%。治疗组疗效明显优于对照组( $P<0.01$ )。

中医辨证分型与疗效的关系:阳虚型 13 例中,基本治愈 7 例,缓解 4 例,明显进步 1 例,无效 1 例;阴虚型 12 例,基本治愈 5 例,缓解 2 例,明显进步 3 例,无效 2 例;阴阳两虚型 5 例,缓解 1 例,明显进步 1 例,无效 3 例。经 Ridit 分析法统计,各证型组间疗效无显著性差异( $P>0.05$ )。

4 RBC 寿命测定 健康人 RBC T 1/2 测定范围为 22.29~34.58 天,平均 27.11 天。对照组治疗前为 13.26~27.32 天,平均 17.40 天,其中 5 例在正常范围,16 例缩短,9 例明显缩短;治疗后为 15.44~29.31 天,平均 19.76 天。治疗组治疗前为 13.48~26.57 天,平均 17.65 天,其中 4 例在正常范围,14 例缩短,

12 例明显缩短;治疗后为 18.32 ~ 33.46 天,平均 25.98 天。两组患者治疗前与健康人比较及治疗后两组间比较皆有显著性差异( $P < 0.01$ )。治疗前后自身比较,对照组差异无显著性( $P > 0.05$ ),而治疗组差异显著( $P < 0.05$ )。表明在影响 RBC 寿命方面治疗组优于对照组。

5 RBC 冷冻蚀刻电镜观察 电镜下观察 RBC 质膜被劈裂为外片劈裂面(EF 面)和内片劈裂面(PF 面)。健康人 EF 面比较平滑,可见少量散在的膜蛋白微粒;PF 面有密集的膜蛋白微粒并富有立体感,其膜蛋白微粒大小均匀,单个、成对或多个聚集在一起,多呈圆型、椭圆型,其间隙大小均等。CAA 治疗前 PF 面膜蛋白微粒减少,多为圆形、椭圆形、不规则形,大小不一,分布不均,呈丛簇状和缙钱状排列,其中 3 例见涡旋状分布;EF 面膜蛋白微粒大小不等,数量显著少于健康人,且常见丛簇状分布。经治疗缓解后,治疗组 PF 面和 EF 面的膜蛋白微粒数量、形态和分布均接近健康人,而对照组与健康人比较仍有一定差距。

## 讨 论

CAA 患者 RBC 寿命缩短及膜蛋白的异常改变已被许多研究所证实<sup>(4~6)</sup>。有学者<sup>(5)</sup>对 30 例再生障碍性贫血患者脾切除前的 RBC 寿命进行测定,结果有 96.7% 的患者 RBC 寿命缩短(平均 11.8 天),认为 RBC 寿命缩短的原因与脾功能亢进、RBC 在脾脏内破坏增加有关。本研究检测了 60 例 CAA 患者的 RBC T1/2 较健康人缩短,与储榆林等<sup>(6)</sup>报道结果相符。根据同期冷冻蚀刻电镜观察表明,RBC 寿命的缩短不仅是脾功能亢进所致,而与 RBC 膜结构的内在质量、膜蛋白含量及分布异常密切相关。其机理可能为某些致病因子进入敏感个体后,作用于红系造血祖细胞,使原位造血发生障碍,从红系祖细胞到 RBC 成熟过程发生异常,RBC 膜蛋白微粒失去了正常排列顺序和运动规律,导致能量转换、离子通透性等功能失常,进而使 RBC 膜的稳定性、变形性以及形态发生改变,最终致 RBC 寿命缩短<sup>(4)</sup>。

中医治疗 CAA 主要以“补肾为主”,其理论依据为“肾主骨髓、藏精”、“血为精所化”、“精足则血旺,精亏则血亏”。在辨证分型上多以肾阴虚、肾阳虚和肾阴阳

两虚而论。愈障汤即综上述理论组方,方中重用生地、熟地、枸杞子、何首乌、女贞子、旱莲草等以滋补肝肾;菟丝子、补骨脂、淫羊藿等以温肾填精,取其“阴阳互根”和“善补阴者,必于阳中求阴”;“善补阳者,必于阴中求阳”之意。更配用阿胶、鹿角胶、龟版胶等血肉有情之品以补血益髓。诸药合用,共奏补肾填精、养血生新之效。实验证明,补肾阴和补肾阳都可改善全身体质状态,调整机体的免疫功能,解除致病因子对骨髓造血的抑制,促进造血干细胞的增殖与分化<sup>(7)</sup>。本研究结果提示:愈障汤配用康力龙、辅酶 Q<sub>10</sub> 可有相得益彰之功,不但可大大提高疗效,减少毒副作用,还可使 RBC 膜蛋白的形态、数量、质量及分布发生改变,并能延长 RBC 寿命。推测作用机制为:(1)通过调节抑制性 T 细胞和辅助性 T 细胞平衡,抑制 RBC 抗体的形成,使 RBC 膜稳定性增强;(2)作用于体内生物氧化酶系列,使 RBC 内 ATP 含量增加,腺苷酸水平(ATP + ADP + AMP)提高,能量转换、离子通透性增强,进而使膜蛋白微粒恢复正常,RBC 寿命延长,造血功能得以逐渐恢复重建。临床疗效观察亦与实验结果相吻合。本研究从分子形态学角度进一步为中西医结合治疗 CAA 提供了较客观的理论依据。

## 参 考 文 献

1. 张之南主编. 血液病诊断及疗效标准. 第 1 版. 天津: 天津科学技术出版社, 1991: 31—32, 42.
2. 沈自尹, 王文健. 中医虚证辨证参考标准. 中西医结合杂志 1986; 6(10): 598.
3. 邓家栋, 杨崇礼, 杨天楹. 血液病实验诊断. 第 1 版. 天津: 天津科学技术出版社, 1985: 420.
4. 张圣明, 李建华, 鲁崎唔, 等. 慢性再生障碍性贫血红细胞冷冻蚀刻电子显微镜观察. 中华血液学杂志 1993; 14(4): 199—200.
5. Rakhmatullaev AR, Karitskaia GK. Erythrocyte longevity in hypoplastic anemia patients undergoing splenectomy as part of combined treatment. Ter Arkh 1987; 59(9): 98.
6. 储榆林, 刘访杰, 杨天楹, 等. 再生障碍性贫血患者红细胞生存期及其破坏部位测定的初步探讨. 天津医药 1984; (1): 12.
7. 周永明, 黄振翘, 薛志忠, 等. 健脾补肾活血法治疗再生障碍性贫血的临床研究. 上海中医药杂志 1995; (7): 12—14.

(收稿: 1997-07-26 修回: 1997-12-20)