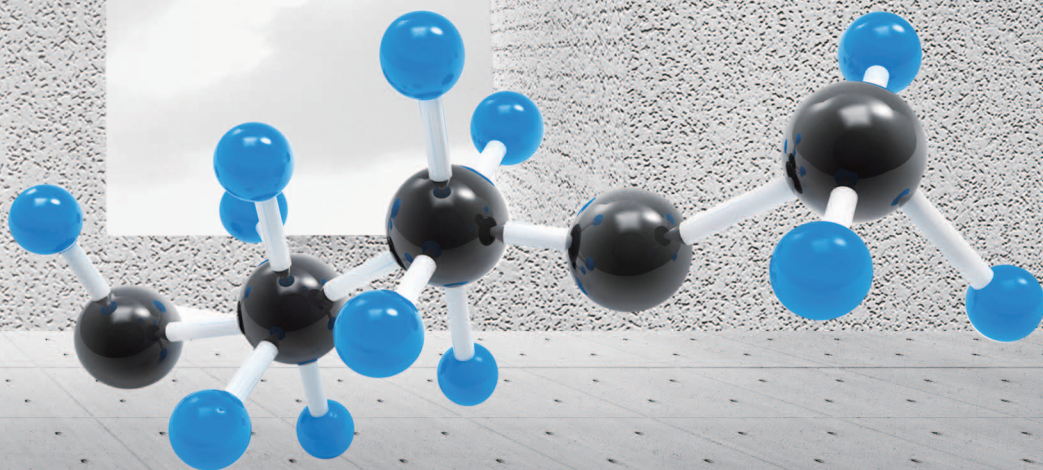


张且且 编

裴正学 系列方药的研究

PEIZHENGXUE
XILIE FANGYAO DE
YANJIU



甘肃科学技术出版社



张丑丑，女，裴正学教授的硕士研究生，现任甘肃省肿瘤医院中西医结合科主治医师。参与了《中西医结合实用内科学（第二版）》的修订及《裴正学临床荟萃》的编写。有“裴正学教授治疗过敏性紫癜的经验”、“裴正学教授治疗慢性肾炎”、“裴正学教授治疗浆细胞乳腺炎的经验”、“裴正学教授应用麻黄杏仁甘草石膏汤之经验”等学术论文发表于《甘肃医药》。即将完成科研项目“裴氏升血颗粒在弥漫大B淋巴瘤治疗中细胞因子基因多态性的研究”。擅长各种肿瘤、常见病、多发病及疑难杂症的中西医结合诊疗。

张且且 编

裴正学 系列方药的研究

PEIZHENGXUE
XILIE FANGYAO DE
YANJIU



甘肃科学技术出版社

图书在版编目 (C I P) 数据

裴正学系列方药的研究 / 张丑丑编. — 兰州: 甘肃科学技术出版社, 2014. 10
ISBN 978-7-5424-2040-4

I. ①裴… II. ①张… III. ①中风—验方—汇编
IV. ①R289.5

中国版本图书馆CIP数据核字(2014)第234185号

出 版 人 吉西平
责任编辑 左文绚
封面设计 黄 伟
出版发行 甘肃科学技术出版社(兰州市读者大道 568 号 0931-8773237)
印 刷 兰州新华印刷厂
开 本 787mm× 1092mm 1/16
印 张 24.5
字 数 538 千
插 页 1
版 次 2014 年 10 月第 1 版 2014 年 10 月第 1 次印刷
印 数 1~500
书 号 ISBN 978- 7- 5424- 2040- 4
定 价 48.00 元

序

《裴正学系列方药的研究》一书,行将付梓发行,全书40余万字,汇集了共18篇论文,这些论文都是我的硕士研究生在攻读硕士期间的实验研究和研究报告。他们研究的题目都针对我在临床中的常用方药。我在50余年的临床生涯中,共有数十种临床用药所配制的中成药,这些中成药全是我在临床中数十年的有效方药配制,是我50余年的临床心血结晶,由于临床疗效突出,在广大患者中享有好评,服药的患者覆盖了全国各地,远至京、津、沪、粤,近至陕、甘、宁、青,还有一些港、澳、台及国外患者,也对这些中成药给予了很高的评价。我想通过研究生们的研究课题,将这些药品的治病机理和微观改变,进行系统的研究,从而为研发新药打下基础。由此,也可把传统中医药的研究从宏观推向微观,使其登上现代科学技术的快车,与时俱进。我的学生张丑丑硕士将这些论文收集起来,进行了校对,拿给我看,我翻阅了全书,认为这是一部丰富的裴氏临床药物研究资料。它应该流传后世,供人参考,成为发展裴氏系列药物的宝贵资料之一。陈学忠院长在百忙中翻检了全书,作为该书的主审是当之无愧的。谨此为序。



裴正学于甘肃省医学科学研究院

2013年12月18日

目 录

裴氏升血颗粒对再障小鼠血液系统影响的实验研究	白丽君(1)
裴氏升血颗粒对再障小鼠免疫系统影响的实验研究	王晓丽(21)
裴氏升血颗粒对荷 H ₂₂ 瘤小鼠脾淋巴细胞增殖活性及细胞因子的影响	张桂琼(45)
裴氏升血颗粒对荷 H ₂₂ 瘤小鼠免疫系统影响的实验研究	黄邦荣(64)
裴氏升血颗粒对 H ₂₂ 肿瘤细胞凋亡及 p53、Caspase-3 蛋白表达的影响	王 宁(79)
裴氏升血颗粒对 H ₂₂ 瘤细胞凋亡及 NF- κ B 表达的影响	王 卓(98)
裴氏升血颗粒联合 5-Fu 对荷瘤小鼠骨髓 DNA 及血清 TNF- α 、IFN- γ 的影响	张丑丑(117)
裴氏升血颗粒合用 5-Fu 对小鼠移植性肿瘤 H ₂₂ 细胞凋亡及 P27 蛋白表达的 影响	丁洁霞(135)
裴氏升血颗粒联合 5-Fu 对荷 H ₂₂ 瘤小鼠 T 细胞亚群及 IL-2 的影响	彭艳艳(153)
裴氏升血颗粒对小鼠 H ₂₂ 瘤组织 VEGF 表达及血清 IL-12 含量的影响	梁 曦(176)
裴氏升血颗粒对荷 H ₂₂ 瘤小鼠血清 EGF 和 IL-1 的影响	王 芳(193)

裴氏软肝消痞丸对荷 H ₂₂ 瘤小鼠血清 TNF- α 和 IFN- γ 的影响	单金姝 (208)
裴氏软肝消痞丸对小鼠移植性肝癌 H ₂₂ 瘤组织中 VEGF 和 p53 表达的影响	张红梅 (227)
裴氏软肝消痞丸对小鼠移植性肝癌 H ₂₂ 瘤组织中 P27 及 Bcl-2 蛋白表达的 影响	刘 媛 (257)
裴氏“兰州方”治疗慢性粒细胞白血病的临床观察及疗效分析	冯永笑 (290)
裴氏软肝消痞丸配合西医治疗原发性肝癌的临床研究	董琴琴 (305)
裴氏软肝消痞丸对肿瘤小鼠 (H ₂₂) 瘤组织中 Ang-2 蛋白表达及血清 IL-12 含量的影响	齐雪婷 (326)
裴氏消风 II 号胶囊治疗类风湿性关节炎的实验研究	万 强 (360)

裴氏升血颗粒对再障小鼠 血液系统影响的实验研究

白丽君

中文摘要

目的:本实验通过观察裴氏升血颗粒(PeiShiShengXue grain PSSX)对免疫介导的障碍模型小鼠外周血象、骨髓组织形态学及股骨有核细胞数的影响,以此证实确切疗效探讨其机理。

方法:采用 90 只健康 BALB/C 小鼠,随机分为 6 组:正常组、模型组、PSSX 大剂量组、PSSX 中剂量组、PSSX 小剂量组、贞芪扶正组(ZhenQiFuZheng ZQFZ)。将除正常组小鼠外的 BALB/C 小鼠经 3.0GY 直线加速器 γ 射线全身照射,4h 内由尾静脉输入取自 DBA/2 小鼠胸腺淋巴细胞混悬液,输细胞量为每只 0.2ml。7d 后测外周血象及各组均处死 5 只取材来判断造模是否成功。模型复制成功后每天按浓度为 PSSX 大剂量(0.02g/g·d)、PSSX 中剂量(0.01g/g·d)、PSSX 小剂量(0.005g/g·d)、ZQFZ 组(0.01g/g·d),剂量 1ml 分别给各组小鼠灌胃,模型组予等量蒸馏水灌胃,连续灌胃 40d。分别于用药 20d 和 40d 后测血象;40d 后将小鼠脱颈处死后取双侧股骨进行有核细胞计数和病理学切片观察,并对所测结果进行统计学处理。

结果:给药组与模型组比较:HGB、WBC、PLT 数值显著升高($p<0.05$),WBC 数值升高不明显;裴氏升血颗粒中剂量优于贞芪组,小剂量组与贞芪组比较无显著差异,大剂量组先升高后降低;股骨有核细胞数示:给药组与模型组比较有显著差异($p<0.05$),且裴氏升血颗粒中剂量、小剂量优于大剂量组和贞芪组,但无显著性差异($p>0.05$);骨髓组织形态学观察示:给药组与模型组比较对造血组织容量升高有显著差异($p<0.05$),裴氏升血颗粒中剂量优于其他给药组。

结论:裴氏升血颗粒具有改善骨髓微环境、促进骨髓造血细胞的增殖分化,提高造血祖/干细胞数量,抑制非造血组织细胞增生分化的作用,并通过以上环节使骨髓造血功能恢复,外周血象升高。

关键词:裴氏升血颗粒;再生障碍性贫血;免疫介导;外周血象

ABSTRACT

Objective: To explore the effects of PeiShiShengXue granule (PSSX) solution on bone marrow proliferation of immune mediated aplastic anemia mice .

Methods: 90 mice were divided into 6 groups randomly :normal group ,high dose of PSSX group ,middle dose of PSSX group , low dose of PSSX group and ZhenQiFuZheng(ZQFZ) group. AA mice models were made according to reformed Yaojun method: Except the normal mice , the BALB/c mice were irradiated by 3.0 GY γ ray from beenline accelerator for whole body and were given mixed cells from thymus and lymph nodes of DBA/2 mice through tail vein to establish the immune-mediated aplastic anemia mice models After one week , hemogram and bone matopoiesis tissue volulme of model mice obviously increased , it is a remarkable imparity compared with AA group ; The results indicats that mice models were made successfully. After 20 days and 40 days the changes in hemogram were tested. After the experiment were finished , those mice were kill to take femoral bone to figure out the BMNC and the bone marrow hematopoiesis tissue volume.

Result: In the peripheral blood , it reveals that pssx granule can obviously increase the level of Hb , wight blood cell and platelet ($p < 0.05$) of aplastic anemia , but it can not improve the level of red blood cell significantly. Middle dose of PSSX group are better than other gjoup And pssx gianule also can increase the level of karyocyte cell count in the femoral bone remarkably compared with AA group ($p < 0.05$). As far as the pathohistology fact , pssx gianule can significantly improve the sigp of myelopathy pathology ($p < 0.05$).

Conclusion: pssx granule can improve the level of peripheral blood and karyocyte cell count in the femoral bone. And it can improve the content of hematopoietic tissue notably. That means pssx granule has the function of improving marrow microenvironment , enhancing the generation and differentiahon of hemopoietic stem cellin the marrow , improving the number of haemopoietic sLem ceU , and suppressing the generation and differentiation in the non-hematopoietic tissue. Through the above processes , we think that pssx granule can retrieve haematogenesis function of marrow and enhance the the level in peripheral blood.

Key words: peishishengxue granule ; aplastic anemia ; hemogam ; immune mediated

前 言

再生障碍性贫血(aplastic anemia, AA)简称再障,是由化学、物理、生物等因素引起的骨髓造血干细胞、造血微环境损伤以及免疫机制改变,导致骨髓造血功能衰竭,以全血细胞减少为主要临床表现的疾病^[1]。病理变化为造血细胞的减少和红髓的脂肪化。根据起病缓急,病情

轻重、骨髓损伤程度和转归,国内分为急性和慢性两型,国外分为轻、重两型。虽然各年龄组均可发病,但以青壮年多见,男性多于女性,北方多于南方。据国内 21 个省、市、自治区调查,再障发病率为 $7.4/10^6$,慢性再障为 $6.0/10^6$,急性再障为 $1.4/10^6$ 。

再障属于虚劳、虚损、血虚、血证范畴。《金匱要略》“男子面色薄,主渴及亡血,脉浮者,里虚也”。“面色白,时瞑兼衄,少腹痛,此为劳使之然”,“男子脉大为劳,极虚亦为劳。”这些描述与再障相似^[2]。

裴氏升血颗粒为我国著名中西医结合专家裴正学教授自行研制的具有抗肿瘤、提升机体免疫力的验方制剂,早在 20 世纪 70 年代初,该药因治愈白血病多例被全国血液病会议命名为“兰州方”,在国内各地使用,反映良好。1997 年作为甘肃省医学科学院院内制剂命名为“裴氏升血颗粒”,2002 年作为甘肃省医科院临床科研课题通过科技成果鉴定,并于 2003 年被评为甘肃省中医药皇甫谧科技成果一等奖。

由于该制剂在基础研究方面尚缺乏系统资料,为了对这一临床具特效的中草药进行系统研究,全面开发,在导师裴正学教授的指导下对本课题立题实施实验研究。

立论研究背景及依据

1 再障的国内外研究现状

1.1 现代医学对再障的认识

1.1.1 再障的病因病机

对于再生障碍性贫血的发病机理,医学科学家经过多年研究探索,提出种子学说、土壤学说,虫子学说以及体质或遗传因素等相关学说^[3]。

1.1.1.1 种子学说(造血干细胞缺乏或有缺陷)

研究发现,再障患者的骨髓增生低下,全血细胞减少,红细胞、粒细胞、血小板均减少。因为这三系血细胞均由同一造血干细胞分化而来,所以可以推测再障是由造血干细胞缺乏或异常引起的。实验证明^[3],患者骨髓祖细胞的体外培养显示粒-巨噬细胞系祖细胞(CFU-GM 及 CFU-C)、红细胞系祖细胞(BFU-E 及 CFU-E)均显著减少,而骨髓移植成功后,很快恢复正常造血功能。用药物马利兰注射小鼠导致再障^[4],观察该小鼠骨髓发现,其多能干细胞减少,由此可以作为佐证。而导致造血干细胞数量减少的原因是再障患者的周围血和骨髓中存在着抑制细胞,抑制细胞主要是淋巴细胞和巨噬细胞。近年来,重点研究了抑制性 T 细胞致使干细胞分化障碍,从而引起骨髓增生低下,造成再生障碍性贫血。学者将造血干细胞形象地比喻为“种子”,称这一理论为“种子学说”。

1.1.1.2 土壤学说(骨髓微环境改变)

造血干细胞的生长、发育、分化,要有良好的骨髓中的造血微环境作为基础。它的构成有神经、血管和基质,它的功能是向造血组织输送营养物质,排走代谢产物,以利于造血干细胞的更新。有些再障的致病因子,并不直接损伤造血干细胞,而是先影响造血微环境,使其中的

微血管痉挛或使微血管壁上的内皮细胞发生损害,进而导致血流灌注障碍,最后引起多能干细胞坏死。此外,骨髓微环境中基质成分的缺陷^[5],也有一定的影响。学者将骨髓中的造血微环境形象地比喻成“土壤”,称这一理论为“土壤学说”。

1.1.1.3 虫子学说(免疫缺陷)

再障的免疫缺陷有两种机制:即体液免疫机制和细胞免疫机制,但二者是相互联系、相互影响的。部分再障患者血清中存在抑制因子,它能抑制 GM-CFU 集落形成,而且最常见于原发性再障。实验发现^[6]这种“再障血清抑制因子”在体外能抑制造血,并具有抗体的某些特征。有的研究表明^[7],再障患者中淋巴细胞能抑制骨髓造血,使正常人红系细胞显著增生减低,少数可出现巨幼细胞改变。T 淋巴细胞是细胞免疫中的主要效应细胞^[7],是极不均一的群体,也是再障免疫异常网络中的重要细胞, Th 与 Ts 细胞的失衡可导致骨髓造血功能抑制。再障患者 Th 细胞亚群失衡、Th1 细胞数量增多及功能亢进可能是导致再障骨髓衰竭的重要环节,迄今发现参与造血调控的细胞因子有数十种,分为正性及负性造血调控因子两类,造血正负细胞因子分泌紊乱在再障发病中亦起重要的作用。有学者认为^[8],再障患者发生造血衰竭是正性因子活性减弱,负性因子异常激活所致。各种造血调控因子能使 CD34⁺ 细胞上表达 Fas 抗原,从而通过 Fas L 使 CD34⁺ 细胞发生凋亡。IL-2 主要由 Th1 细胞分泌, IL-2 活性及 IL-2 受体 (IL-2R)表达的细胞(Ts 细胞, NK 细胞及单核/巨噬细胞)增加,可导致 T 细胞的增殖和激活,促进干扰素的增加,增强了对造血干细胞的抑制。IL-2 作为一种造血负调控因子在再障发生发展中起重要作用^[9], IL-2 还能促进 NK 细胞的活力, NK 细胞也具有抑制造血细胞活性的作用。红细胞膜表面的 C_{3b} 受体具有黏附 CIC,并使其被清除的功能, CIC80%黏附于红细胞上,由红细胞携带至脾脏等巨噬细胞系统内溶解,从而避免激活补体所致的病理性损害。再障患者红细胞清除功能下降,导致血中 CIC 增多^[10],其可沉积于骨髓的血窦壁上,损害造血微环境,以致影响造血细胞的分化与成熟。有学者对慢性再障患者治疗前后的红细胞免疫功能进行检测发现:红细胞免疫复合物花环率(RICR)、补体 C_{3b} 均比治疗前显著提高, CIC 比治前明显降低。故免疫缺陷也是引发再障的机制之一,这一理论为“虫子学说”。

1.1.2 分型及临床表现

再障的临床分型有先天性再生障碍性贫血和获得性再生障碍性贫血^[1]。其临床表现为贫血、出血及感染。我国学者把再障分为急性和慢性。

1.1.2.1 急性型:特点为发病急,病情重,进展迅速。贫血:患者有苍白、乏力、头昏、心悸和气短等症状,且多呈进行性加重;感染:多数患者有发热,体温在 38℃以上,个别患者自发病到死亡均处于难以控制的高温之中,以呼吸道感染最为常见,其他有消化道、泌尿生殖道及皮肤感染,感染的菌种以革兰氏阴性杆菌、金黄色葡萄球菌和真菌为主,常合并败血症;出血:均有程度不同的皮肤黏膜及内脏出血,鼻衄、龈血、眼结膜出血,口腔黏膜有小血泡,皮肤可见瘀点或瘀斑。所有脏器都可有出血,但只有开口于外部的脏器出血才能为临床所查知。如呕血、便血、尿血,女性的阴道出血、眼底出血和颅内出血,后者常危及患者生命。出血部位由少

增多,由浅表转为内脏,常预兆会有更严重的出血。

1.1.2.2 慢性型:特点为起病和进展较缓慢,病情较急性型轻。贫血:慢性过程,常见苍白、乏力、头昏、心悸、活动后气短等,经输血症状改善,但维持时间不长;感染:高热比急性型少见,感染相对容易控制;出血:出血倾向较轻,以皮肤出血为主,内脏出血少见,久治无效的晚期病人有发生脑出血者,表现为剧烈的头痛和呕吐。

1.1.3 诊断标准

1.1.3.1 国内诊断标准:1987年第四届再生障碍性贫血学术会议的最后修改意见如下^[11]:①全血红细胞减少,网织红细胞绝对值减少。②一般无肝脾肿大。③骨髓象中至少1个部位增生减低或重度减低(如增生活跃,须有巨核细胞明显减少),骨髓小粒非造血细胞增多(有条件者做骨髓活检等检查,显示造血组织减少,脂肪组织增加)。④能除外引起全血细胞减少的其他疾病,PNA、MDS中的难治性贫血(MDS-RA)、急性造血功能停滞、骨髓纤维化、急性白血病、恶性组织细胞病等。⑤一般抗贫血药物治疗无效。

1.1.3.2 国内急性再障(亦称SAA-I型)^[12]的诊断标准:①临床表现:发病急,贫血呈进行性加重,常伴严重感染,内脏出血。②血象:除血红蛋白下降较快外,须具备以下任意两项:网织红细胞百分比小于1%,绝对值小于 $15 \times 10^9/L$;白细胞明显减少、中性粒细胞绝对值小于 $0.5 \times 10^9/L$,血小板小于 $20 \times 10^9/L$ 。③骨髓象:多部位增生减低,三系造血细胞明显减少,非造血细胞增多,如增生活跃须有淋巴细胞增多,骨髓小粒中非造血细胞及脂肪细胞增多。

1.1.3.3 国内慢性再障的诊断标准:①临床表现:发病缓慢,贫血、感染、出血均较轻。②血象:血红蛋白下降速度较慢,网织红细胞、白细胞、中性粒细胞及血小板值常较急性再障为高。③骨髓象:三系或两系减少,至少1个部位增生不良,巨核细胞明显减少,骨髓小粒中非造血细胞及脂肪细胞增加。④病程中如病情恶化,临床、血象及骨髓象与急性再障相同,称SAA-II型。

1.1.3.4 国外诊断标准^[13]:国外常用的是1979年Camitta所提出的标准,一直沿用至今,Camitta将再障分为重型与轻型。①重型再障诊断标准:骨髓细胞增生程度<正常的25%;如<正常的50%,则造血细胞应<30%;血象须具备下列三项中的两项:粒细胞 $<0.5 \times 10^9/L$;网织红细胞<1%或绝对值 $<4 \times 10^9/L$;血小板 $<20 \times 10^9/L$;若中性粒细胞 $<0.2 \times 10^9/L$ 为极重型。②轻型再障诊断标准:骨髓增生减低;全血细胞减少。

1.1.4 鉴别诊断

再障当与以下几种疾病鉴别:一是阵发性睡眠性血红蛋白尿(PNH):部分PNH病人虽有全血细胞减少,有时在某一时期亦可发生骨髓增生低下,容易与再障相混淆,但PNH常有轻度黄疸,网织红细胞常有轻度增多,酸化血清溶血试验(Ham试验)、糖水试验、尿含铁血黄素实验均阳性,而再障则为阴性,红细胞的胆碱酯酶活性明显减低,中性粒细胞的碱性磷酸酶活性大多明显减低,这些特点可与再障相鉴别。再障与阵发性睡眠性血红蛋白尿有时可同时存在或互相转化。二是骨髓纤维化症:此症作骨髓穿刺时常抽不到骨髓组织,仅抽到少量血水,涂片中细胞很少,容易被误诊为再障。但在血片中常可见到较多形态各异的红细胞,如泪滴形细

胞、椭圆形细胞、破碎细胞,并出现有核细胞、幼稚粒细胞;白细胞计数常增高;肝脾明显增大;骨髓活检显示骨髓中纤维组织大量增生,这些都是再障所没有的。三是急性白血病:常有贫血、出血和发热,肝脾肿大常见;血象有全血细胞减少,骨髓象示增生减低,易与再障相混,但低增生低百分比白血病血中可出现幼稚细胞,骨髓中充满原始或幼稚细胞,而再障病例骨髓中原始细胞并不增多。四是白血病前期:亦有全血细胞减少,血细胞常有较多形态异常,如红细胞大小不等,出现椭圆形的大红细胞和有核红细胞,常见有少数幼稚粒细胞和形态典型的粒细胞,单核细胞增多,血小板形态不正常;查骨髓象:白血病前期患者的骨髓增生活跃,白血病原始细胞不增多,但中幼粒细胞轻至中度增多,成熟和未成熟的单核细胞增多,幼红细胞可有类巨幼红变,巨核细胞大多不减少,这些可与再障作鉴别。五是恶性组织细胞病:全血细胞减少,但往往有高热,不能用感染解释,出血严重,有肝脾淋巴结肿大,骨髓检查有异常的组织细胞,可与再障区别。六是骨髓增生异常综合征(MDS):全血细胞减少,表现为慢性贫血症状,容易与再障混淆。粒细胞、红细胞、巨核细胞三系中均可见到病态造血,粒细胞系,核分叶过多、核异常,双核的未成熟粒细胞,巨大晚幼粒细胞,异常的原始粒细胞和早幼粒细胞,颗粒分布异常、减少或消失,过氧化酶染色阴性,碱性磷酸酶活性减低;红细胞系,核浆成熟分离,有核异常,多核,核破裂,环形铁粒幼细胞占幼红细胞的 20%以上;巨核细胞系,有小巨核细胞,分叶过多巨核细胞和巨大血小板。MDS 患者骨髓增生活跃或明显活跃,有的病例骨髓中原始、早幼细胞增多,红细胞系统增生,粒红比例倒置,巨核细胞多不减少,末梢血中有时血小板较多,单核细胞比例增高,易见有核红细。

此外,引起全血细胞减少的疾病尚有:骨髓转移瘤、骨髓硬化症、大理石病、多发性骨髓瘤、恶性淋巴瘤、全身性真菌病、重症败血症、营养缺乏症等。诸病均各有特征性改变,不难与再障鉴别。

1.1.5 再障的主要治疗

1.1.5.1 药物治疗

1.1.5.1.1 雄性激素治疗:如康力龙、康复龙(羟甲雄酮 oxymetholone)、庚酸睾丸酮、复方长效睾丸酮注射剂(巧理宝, triolandren)、17- 去氢甲基睾丸酮(methandienonum, 商品名 dianabol),其目的在于增加促红细胞生成素的产生,加强促红细胞生成素对造血干细胞的作用,能激发处于休止期的多能干细胞(CFU-S)进入细胞增殖周期,而产生红系定向干细胞,可促进 CFU-E、CFU-C 向成熟分化。

1.1.5.1.2 血管扩张剂作用机理:如 654-2,莨菪浸膏片,其作用在于解除微环境的血管痉挛,调整其血流灌注,从而改善造血微环境,使造血组织有丰富的血液供给,恢复其造血功能。此外,再障病人血中环核苷酸(cAMP)降低、环鸟苷酸(cGMP)升高,而 654-2 为 M 型受体阻滞剂,可增加 cAMP 而抑制 cGMP,使 cAMP/cGMP 比值升高,有利于造血干细胞的增殖和分化。

1.1.5.1.3 骨髓神经兴奋剂:如硝酸士的宁、一叶萩碱,此类药物可能通过兴奋神经、扩

张骨髓血管,调节骨髓血流,改善骨髓微环境而发挥作用,常用于治疗慢性再障。

1.1.5.1.4 免疫抑制剂:一是淋巴细胞球蛋白(ALG)和抗胸腺细胞球蛋白(ATG):具有杀伤抑制性T细胞(Ts)、CD8⁺细胞和使CD4⁺/CD8⁺比值恢复正常的的作用,同时又有丝裂原的促增值作用,从而改善和恢复重型再障的造血功能。二是环孢菌素A(cyclosporin)有抑制T细胞,减少IL-2活力等免疫抑制作用,用于治疗重型再障(SAA)疗效较为肯定,对于ALG/ATG治疗无效的患者亦可获得疗效,并作为治疗SAA的第一线药物。三是环磷酰胺(CTX)为一种强力免疫抑制剂,常规用于重型再障患者异基因骨髓移植allo-BMT的预处理,有报道少数重型再障患者经大剂量环磷酰胺预处理后未接受allo-BMT治疗而恢复了自身造血功能。

1.1.5.1.5 生长因子:可促进血细胞生成,这是基因工程发展的产物,如重组粒-巨噬细胞集落刺激因子(rGM-CSF)及重组人体粒细胞集落刺激因子(rhG-CSF)可使白细胞迅速上升。还有研究表明;G-CSF、GM-CSF及EPO均是作用于分化后期的祖细胞生长因子,G-CSF、GM-CSF能增加粒、巨噬系等的细胞数,从而减少了感染机会,EPO可增加血红蛋白,减轻患者的贫血。IL-3,SCF,bFGF是作用于较早期祖细胞、干细胞,是作用较广泛的造血生长因子,能增强G-CSF、GM-CSF及EPO的作用。所以造血因子在临床上对再障治疗有广阔的应用前景。

1.1.5.1.6 碳酸锂:体外实验证明,锂盐对人体粒细胞的集落有刺激生长的作用,故推论可能治疗再障有效。

1.1.5.2 移植治疗

1.1.5.2.1 骨髓移植(BMT):再生障碍性贫血(AA)的主要发病机理是原发和继发性造血干细胞数量和(或)质的缺陷。采用异基因骨髓移植(allo-BMT)是使重型再障(SAA)造血功能重建而且消除造血干细胞质缺陷的最好方法,对接受HLA匹配同胞供体的SAA患者,不宜应用含照射的预处理方案,而用CTX+ATG方案更为适宜,植活后的长期生存率可达70%左右。

1.1.5.2.2 外周血干细胞移植:从外周血中分离到足量的造血干细胞供自体移植之用。90年代造血刺激因子(G-CSF、GM-CSF)广泛用于临床,发现他们有很强的动员作用,且副作用较少,异基因造血干细胞移植才成为可能。

1.1.5.2.3 脐血移植:脐血中早期干细胞较骨髓中丰富,是造血干细胞移植的另一个理想来源。脐血中高增值潜能的集落形成单位(HPP-CSF)的含量和CD34⁺CD38⁻细胞形成集落比骨髓多,对脐血中淋巴细胞研究的结果则提示脐血淋巴细胞不够成熟。T淋巴细胞受异体抗原刺激后,相应的细胞活毒性比成人T细胞活性低,连续刺激对异体抗原能产生耐受性。一些T辅助细胞还表达CD45RA和CD38,这类T细胞没有辅助功能,主要起免疫抑制作用。

1.2 中医对再障的认识

再障中医属于“血虚”、“血枯”、“虚劳”、“虚损”等范畴。祖国医学对再障的认识源远流长,与现代医学有许多相似之处。中医认为“肾主骨,骨藏髓”,“髓血同源”,可见肾与骨髓造血有密切关系。此外,中医还认为“血者水谷之精也,生化于脾”,“中焦受气取汁,变化而赤是为血”^[14],可见脾与造血也有一定关系。因此,辨证论治应以肾、脾为核心,尤其以肾的关系最为密切。在临

床方面,自 20 世纪 50 年代以来,中医治疗再生障碍性贫血大体分为三个阶段:20 世纪 60 年代以前,以补益心脾或益气养血为主;20 世纪 70 年代在前法的基础上,出现了健脾补肾法;80 年代以来,几乎均以补肾为主,兼以益气养血等。此后,国内出现了不少以补肾为主的经验方,虽然处方药物组成不同,但组方原则均不出上述范围。关于再障的辨证分型,中国中西医结合血液专业委员会于 1979 年在苏州召开学术会议时^[15],将再障分为急劳髓枯型(相当于急性再障)、阴虚型、阳虚型及阴阳两虚型,后三者相当于慢性再障,经过实践,认为将急劳髓枯作为疾病命名,未反映出气血、阴阳、脏腑之相互联系,难以指导临床立法和用药;对于后三型,只有阴阳,没有脏腑定位,亦不能明确指导临床立法和用药,乃于 1989 年在大连召开的全国中西医结合血液病学术会议重新讨论了急、慢性再障分型问题,认为再障的发病机制与肾的关系最为密切,故以肾为中心将再障分为肾阴虚、肾阳虚和肾阴阳两虚三型,有利于指导辨证和治疗。

1.2.1 分型及治疗

1.2.1.1 肾生髓法^[16]

1.2.1.1.1 滋阴补肾法:再障患者出现肾阴虚证候,除前述气血两虚证候外,尚有低热、手脚心热、盗汗、皮肤黏膜出血、甚至眼底、内脏出血。本法多与益气补血药如当归补血汤合用。代表方:滋阴补肾方;归芍地黄汤;左归饮;炙甘草汤。

1.2.1.1.2 温阳补肾法:再障患者出现肾阳虚证候。除前述气血两虚证候外,尚有怕冷、肢凉、腰酸、尿频、夜尿多,阳痿等阳虚证。代表方:补肾助阳方;右归饮。

1.2.1.1.3 肾阴阳两补法:再障患者有低热,手脚心热,口干,盗汗等阴虚证,又有腰酸,腿软、尿频、怕冷,夜尿多,浮肿等阳虚证。代表方:阴阳双补方;桂附地黄汤。

1.2.1.2 温补脾肾法:患者有腹胀、便溏、怕冷、腰酸、腿软、阳痿等脾肾阳虚证。代表方:十四味建中汤;温补脾肾方。

1.2.1.3 补益心脾法:适用于各型再障有心脾两虚证候者,如心悸、气短、乏力、失眠、便溏、纳差等。单独使用,多用于轻型病例,多数再障与补肾法合用。代表方:归脾汤;人参养荣汤;参芪四物汤。

1.2.1.4 活血化瘀法:再障患者见面色晦暗无华、身痛等血瘀证,代表方桃红四物汤和活血化瘀方。活血化瘀在治疗再障中很少单独使用,多与补肾法合用,名补肾活血法或补肾化瘀法。多数用丹参、鸡血藤、当归、赤芍、川芎,较少用桃仁、红花。

1.2.1.5 清热解毒法:急性再障患者常有感染发热,或肝炎相关性再障,或再障并发黄疸型肝炎者,可用此法,待发热、黄疸退净后,转入补肾法治疗。代表方:清热解毒方;茵陈栀子柏皮汤。

90 年代以来,在辨证分型的基础上,根据病情轻重又提出分期论治,进一步丰富了再障辨证论治的内容。一是进展期(或称危重期):病情呈进行性加重,血象三系下降,输血频繁,常伴发热与出血,多见于急性再障,或慢性再障初发病例及前述阴虚型。治疗强调中西医结合,

多种药物配合输血综合治疗。中医治法:滋阴补肾,凉血解毒,标本兼治,发热、出血重者也可以治标为主。处方:可在前述滋阴补肾方基础上,加用或重用清热解毒凉血止血药,如银花、连翘、栀子、蒲公英、板蓝根、羚羊角、生地、丹皮、白茅根、生地榆、藕节等。二是好转期(或称稳定期):病情趋于稳定,无明显出血与发热,血象稳定或略有回升,输血间隔明显延长,或已脱离输血。此期以治本为主,多按前述肾阴阳两虚治疗。三是恢复期(或称缓解期):血象明显上升,血红蛋白及红细胞已达到或接近正常值,白细胞及血小板也有一定上升,完全脱离输血三个月以上,已无出血或发热。此期阴虚、阳虚证候已不明显,治疗仍以补肾为主,多阴阳双补,用前述阴阳双补方治疗。老年患者多用补肾助阳方,或两方定期交换使用。此期治疗时间较长,至少一年以上,用药逐渐减少及减量,维持较长时期。

随症加药:贫血重者,选加血肉有情之药,如阿胶、龟板胶、鹿角胶、鹿茸粉、紫河车等,或单独使用人参;出血重者,选加紫草、黄柏、生地榆、茜草、白茅根、土大黄、大蓟;脾虚或便溏重者:选加党参、白术、茯苓、淮山药;虚胖或浮肿者,还可加泽泻、车前子、怀牛膝等;易感冒者:选加或重用生黄芪、防风、白术、板蓝根、灵芝;阴虚低热者:选加青蒿、鳖甲、地骨皮、银柴胡、白薇等;盗汗者:加浮小麦、煅龙牡,阳虚重者:可加制附片,尽量少用或不用肉桂,以防动血,引起出血。有痤疮、毛囊化脓或有其他轻度感染者:选加银花、连翘、板蓝根、蒲公英、紫花地丁等清热解毒之品。久治无效者:除调整用药,增加剂量外,如无出血倾向者,在补肾基础上,加活血药,如丹参、鸡血藤、川芎、三七之类,并强化中西医结合,多种药物综合治疗。当再障有严重感染、出血,应急则治标,待感染、出血控制后,仍回到治再障方案。

1.2.2 中药研究

近 20 年来不少实验研究,也证明许多补肾药物可以促进造血干细胞的生长,为再障的治疗提供了实验依据。麻氏^[17]用体内扩散盒方法检测补肾中药对粒系祖细胞的作用,结果发现首乌、熟地、桑葚、麦冬;菟丝子、枸杞子;黄芪、党参;补骨脂、巴戟天;锁阳,大云等六对中药使 CFU-D 产率明显增加。彭氏^[18]据微循环血管舒张、渗出、出血、结构破坏四项指标综合分析比较,发现大菟丝子饮有效地减轻了再障小鼠骨髓微循环血管的舒张、渗出、出血、结构破坏,对耳郭微血管损伤亦有相似的作用,说明补肾中药对再障的治疗效果是减轻或消除骨髓微循环的障碍,从而改善了造血。周氏^[19]用体内扩散盒培养方法观察保元汤对造血细胞的影响,发现保元汤对小鼠扩散盒集落形成细胞 CFU-D 产率明显提高。俞氏^[19]用体外琼脂培养法观察二仙温肾汤对造血细胞的影响,结果显示其对 CFU-S、GM-CFVD 的产率均显著提高。说明二仙温、肾汤对小鼠造血功能在受到环磷酸胺损伤而低下的情况下,能促进骨髓中多向性造血干细胞和粒系祖细胞的增生,并且能促进正常小鼠骨髓中粒系祖细胞和红系祖细胞的生长。骨髓严重低氧血症的病理现象多属“气滞血瘀证”,施以养血、活血、行气、化淤法后往往使其临床症候改善。肖氏^[20]发现川芎嗪等活血药,虽然不能作用于造血细胞本身,但可在体内影响造血微环境,从而有制造血细胞增殖,为临床应用活血化瘀药治疗造血系统疾病提供确切依据;当归多糖可通过直接或间接途径促进淋巴细胞和造血微环境中的基质细胞合成和分泌 GM-CSF 或 CM-CSF 样物

质,进而可以促进粒单系血细胞的生成,地黄可促进血虚动物 RBC、Hb 的修复,加快骨髓造血细胞 CFU-S 等的增殖、分化,具有显著“生血”作用。地黄多糖对环磷酰胺作用的小鼠骨髓粒系祖细胞有促进恢复作用,并对放射损伤有一定保护作用。采用造血祖细胞体外培养和脾集落形成法等技术研究发现,人参皂甙能明显促进腹腔注射苯肼、 ^{60}Co 照射小鼠的血细胞生成,主要表现在促进红系细胞生成。人参皂甙 Rg1 能够促进人外周血液中淋巴细胞的有丝分裂,使细胞直径增大,数目增多,DNA 合成升高。三七总皂甙对小鼠多能造血干细胞(CFU-S)有明显促进作用,脾结节中粒、红二细胞有丝分裂活跃,脾脏重量增加,提示三七补血途径之一是通过作用于多能造血干细胞而发挥作用。黄芪对环磷酰胺引起的小鼠骨髓有核细胞数减少、骨髓增生受抑制情况具有明显作用,对 ^{60}Co 照射大鼠的 WBC、Hb、骨髓有核细胞数及分裂指数、CM-CSF 均有明显改善作用。

2 本课题立题依据

2.1 导师学术思想

导师裴正学教授在深入研究祖国传统医学,总结多年的临床经验,并结合现代医学对再障的认识,将再障的治疗归纳为健脾益肾、益气养血、活血化瘀、凉血止血^[14]。

2.1.1 健脾补肾、益气养血

《素问评热论》“邪之所凑,其气必虚”,《素问逆篇刺法论》“正气存内,邪不可干”。正气由肾气和中气组成,肾气又称为原气,为先天之本;中气又称为水谷之气,为后天之本。二者所形成之正气代表着现代医学所谓之免疫、代谢、内分泌、植物神经、遗传基因等。裴氏升血颗粒是由导师所创拟之“兰州方”演化而成,四参大补中气堪称扶正固本之主药,补气药中首选太子参,裴老谓“此物味淡气雄,可入血分”,其次吉林参,北沙参,党参,黄芪等亦属常用之品,但吉林参价昂,可以人参须代之,裴老谓:“须者形尖气锐,径入血分”。“气为阳之根”,气虚既久,必致阳虚,故在补气药中,酌加淫羊藿、破故纸、菟丝子等壮阳之品,每能相得益彰。肾为先天之本,元气之根,而肾中精气的重要功能是促进机体的生长、发育和生殖。肾主骨、生髓、其华在发,肾精不足,精不生髓,髓不养骨,精血同源,髓虚则精血不能复生,而生地、山萸、山药、丹皮,六味地黄汤也,取补肾益血之寓意,况大剂量山萸肉有改善骨髓造血功能之报告,此“肾主骨,骨藏髓,髓血同源”之证明。脾为后天之本,生化之源,《难经·八十一难》说:“中焦受气,取汁变化而赤,是为血。”《难经·八四十二难》说:“脾主裹血,温五脏。”饮食入胃须经过脾的运化,取水谷的精气而化生气血。如饮食失调、劳倦内伤等因素,可促使脾气亏损,其运化功能减退,水谷化生精、气、血、津液障碍,则脏腑、经络、四肢百骸得不到充分的营养而失去正常的生理活动,出现头昏、眼花、心悸、气短、乏力等气血不足症,这些论述说明血液之生成和输布又与脾的关系至为密切。裴老常以归脾、四君子、保元汤等作为健脾益气首选方。另外,脾虚统摄无权,又极易产生出血,严重时临床可见呕血、便血、尿血、子宫出血、眼底出血及颅内出血,脾胃虚弱,升降失常,运化无力,还会导致痰、瘀等病理产物蓄积体内,见皮肤晦暗或有瘀斑,衄血不止,出血紫暗,舌质暗紫有瘀点瘀斑,脉沉细或涩等瘀血征象,以上说明脾虚是再障的重