

传统急救中成药对 L₇₂₁₂小鼠脑膜白血病防治作用的病理观察*

陈泽涛 李 芮 陈 刚 张 勇 王春海 张 宏
(山东中医学院附属医院 济南250011)

摘要 采用颅内接种白血病细胞造成 L₇₂₁₂小鼠脑膜白血病模型,对用药组及对照组脑膜白血病细胞浸润程度进行了病理观察,发现用药各组浸润的程度均较对照组轻,尤以安宫牛黄丸组及清开灵组差异显著,提示该药可试用于临床脑膜白血病的防治。

关键词 脑膜白血病 紫雪散 安宫牛黄丸 清开灵注射液 病理

Pathological Study on Preventive and Therapeutic Effects of Chinese Patent Drugs on Meningeal Leukemia in L₇₂₁₂ Mice

Chen Zetao, Li Rui, Chen Gang, Zhang Yong, Wang Chunhai, Zhang Hong
(Internal Medicine Department, Affiliated Hospital of Shandong TCM College, Jinan, 250011)

Abstract: By intracranial implantation of leukemic cells, an experimental model with meningeal leukemia was set up. Severity of infiltration of the leukemic cells in the meninges was evaluated in the control group and the groups treated with chinese patent drugs. The infiltration in the drug-treated groups was found to be milder than that in the control group, and there was significant difference between the group treated with Angong Niu Huang Pill or Qingkailing Injection and the control group, suggesting that these drugs might be used to prevent and treat meningeal leukemia as a clinical trial.

Key words: Meningeal Leukemia, Zixue Powder, Angong Niu Huang Pill, Qingkailing Injection, Pathology

利用 Thomas^[1]和 Ficbig^[2]等方法,研究了紫雪散,安宫牛黄丸和清开灵注射液对 L₇₂₁₂小鼠脑膜白血病的防治作用,通过病理观察对其作用机理进行了初步探讨。

1 材料和方法

1.1 动物及脑膜白血病模型的建立 动物 615小鼠,近交系,雄性,体重18~25g。细胞株,可移植性白血病小鼠 L₇₂₁₂。以上两种小鼠均购自中国医学科学院血液病研究所。将白血病小鼠 L₇₂₁₂脾脏制成细胞悬液(每 ml

* 注:本课题为山东省卫生科技发展基金资助

含 1×10^4 个细胞),固定615小鼠四肢,用微升注射器吸取上述悬液 $10 \mu\text{l}$ (含100个细胞),经枕骨大孔注入小鼠颅内即制成 L_{7212} 小鼠脑膜白血病模型。

1.2 药物及分组给药法 安宫牛黄丸:北京同仁堂制药厂生产,规格3g/丸。紫雪散:广东

潮州宏远制药厂生产,规格1.5g/瓶。以上两种药物均制成50mg/ml的混悬液备用。清开灵注射液:北京中医学院实验药厂生产,规格2ml/支。取615小鼠40只,随机分为4组,各小鼠于造模后次日开始用药,第11天脱颈椎处死送检,见表1。

表1 实验分组及给药情况

组别	鼠数(只)	给药剂量(次/d)	含生药量(mg)	给药方式
对照组	10	0.3ml(蒸馏水)	0	灌胃
紫雪散组	10	0.3ml	15	灌胃
安宫牛黄丸组	10	0.3ml	15	灌胃
清开灵组	10	0.1ml		腹腔注射

注:清开灵实验用量按成人60ml/60kg/日的4倍量(小鼠25g)计算。

1.3 脑标本的取材及方法 脑标本处理参照张惠铭^[3]法略有改进。将小鼠脱臼处死后,切断颈椎,剥去头皮,暴露颅骨,沿椎孔两侧中线向前眼眶部位剪开颅骨,完整剥离全部大脑,然后将完整大脑放入10%福尔马林液中固定24~72h。每个大脑标本取三个冠状切面,第一切面在双眼球上方向后约0.1~0.2cm处,切面可观察到软脑膜以及前脑实质区。第二切面在距第一切面约0.4~0.6cm处,切面可观察到软脑膜、穹窿下脑实质以及侧脑室的脉络丛。第三切面在颅骨后约0.2cm处,切面可观察到软脑膜、小脑和中脑的实质区。三个切面即可全面观察到前、中、后脑区的软脑膜及大部分脑实质的概况。全部标本做常规石蜡切片,H·E染色。

1.4 脑膜病变判定分级标准 以软脑膜出现白血病细胞浸润做为判定标准,将病变分为5级。“-”,软脑膜无白血病细胞浸润;“+”,软细胞有少量白血病细胞浸润,但仅局限于某一局部;“++”,软脑膜有较多白血病细胞浸润,病变出现两处以上;“+++”,软脑膜有大量白血病细胞浸润,病变出现两处以上;“#”,软脑膜有大量白血病细胞浸润,病变较弥漫分布,部分累及脑实质。

1.5 其它脏器的处理及病变判定标准 将

小鼠处死后,取肝、脾、颌下腺、睾丸,用10%福尔马林液固定24~72h,分别做常规石蜡切片,H·E染色。参照褚建新法^[4],将病变分为“-”~“#”5级。

1.6 骨髓涂片方法 取小鼠一根股骨,用注射器沾一滴小牛血清将其骨髓吹出,涂片,常规染色,计数200个有核细胞内白血病细胞的百分比。

2 结果

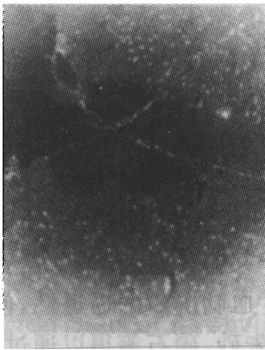
表2显示4组小鼠均有不同程度的软脑膜白血病细胞浸润,前、中、后脑区软脑膜的发病率相差不大,软脑膜静脉腔内可见白血病细胞淤滞、附壁以及管壁周围有白血病细胞堆积,而白血病细胞浸润脑实质的现象仅在++或#者可见。经统计学处理发现,用药各小鼠脑膜白血病细胞浸润的程度均较对照组轻,以安宫牛黄丸组和清开灵组较好,差异显著(均 $P < 0.05$)。参见照片1~4。

照片1为正常小鼠前脑区,病理分级“-”。软脑膜清晰可见,血管腔内及管周无白血病细胞浸润。

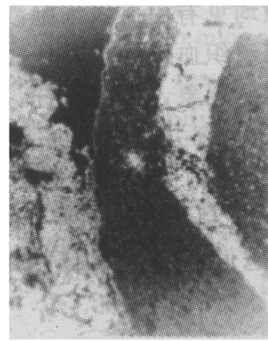
照片2为对照组小鼠中脑区,病理分级“#”。白血病细胞极多,呈弥漫性分布,形成瘤细胞巢。脑实质皮质层受到广泛浸润,中脑皮质及颗粒层结构不清晰。

表2 各组小鼠脑膜浸润程度比较

组别	鼠数(只)	—	+	++	+++	#	χ^2 检验
对照组	10	0	1	2	5	2	
紫雪散组	10	0	3	4	2	1	$P>0.05$
安宫牛黄丸组	10	0	5	4	1	0	$P<0.05$
清开灵组	10	0	5	5	0	0	$P<0.05$



照片1. 低倍10×10



照片2 高倍40×10

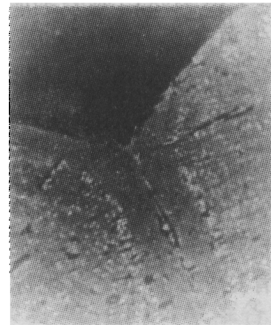
照片3为安宫牛黄丸组小鼠中脑区,病理分级“+”。软脑膜表面仅见极少的白血病细胞浸润。

“+”。软脑膜内可见极少量白血病细胞浸润,仅限于局部,脑实质分子层和颗粒层细胞清晰可见。

照片4为清开灵组小鼠中脑区。病理分级



照片3 高倍40×10



照片4 低倍10×10

表3 各组小鼠部分组织浸润程度比较($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数(只)	肝重(g)	脾重(mg)	严重浸润例数		骨髓瘤细胞(%)
				肝	脾	
对照组	10	1.67±0.29	302±78	5	6	24.2±10.81
紫雪散组	10	1.59±0.21	293±87	4	6	19.2±10.40
安宫牛黄丸组	10	1.46±0.39	284±81	3	4	17.2±6.47
清开灵组	10	1.40±0.16*	267±58	2	2	13.7±9.74*

注:与对照组比较,* $P<0.05$ 。

表3显示四组小鼠部分组织白血病细胞浸润的情况。病理观察发现4组小鼠的肝、脾

皆有白血病细胞的浸润,肝脏中白血病细胞呈弥漫分布,肝细胞索间、汇管区均可见白血

病细胞,但浸润程度各组间也有差异。脾脏中白血病细胞的浸润程度也不相同,轻者仅在红髓中见到少量白血病细胞;重者脾小体结构消失,红白髓界限不清,白血病细胞弥漫分布。肝、脾浸润的程度以安宫牛黄丸组和清开灵组较轻,肝、脾的重量也支持病理的结果。各组小鼠颌下腺均见有白血病细胞浸润,但多见于周边结缔组织血管周围,呈浸润浆液性和粘液性腺泡的现象,各给药组间差异不明显。四组中均未见睾丸白血病细胞浸润的现象。骨髓检查发现,白血病细胞百分比用药组均较对照组小,尤以清开灵组差异显著($P < 0.05$),也表明它们可减轻白血病细胞的浸润。

3 讨论

检索文献发现国内尚无有关传统急救中成药治疗脑膜白血病的研究报道。因此我们对传统中成药紫雪散、安宫牛黄丸以及清开灵注射液在这方面的作用进行了病理观察。结果显示用药各组小鼠脑膜白血病细胞浸润较轻,尤其是安宫牛黄丸组及清开灵组,与对照组比较差异显著($P < 0.05$)。从肝脾的重量及其病理,以及骨髓白血病细胞百分比,也表明用药各组小鼠的病变较对照组轻,以安宫牛黄丸和清开灵的作用较好。有关这些中药如何通过血脑屏障并发挥杀伤白血病细胞的作用机理还不清楚。王宁生^[5]发现冰片能

提高、增强血脑屏障的通透性,增加某些水溶性大分子物质向脑内转运。唐由君^[6]发现六神丸、犀黄丸等(含麝香、牛黄、雄黄、冰片等)有明显的抑、杀白血病细胞的作用。安宫牛黄丸、紫雪散均有清热解毒、醒脑开窍的功能,均含犀角、麝香、朱砂,前者尚含牛黄、冰片、雄黄、珍珠等,后者尚含羚羊角、朴硝、硝石等,主治高热痉厥、神昏谵语等,过去多用于治疗流脑、乙脑等。清开灵注射液系安宫牛黄丸的改型制剂,作用比较广泛,目前主要用于治疗出血性或缺血性脑中风,具有双向调节作用,主要含清热解毒开窍药物。我们推测可能由于某些开窍药物,如麝香、犀角、冰片等,改善了血脑屏障的通透性,使解毒类药物,如雄黄、朱砂、硝石等得以通过该屏障而发挥抑制、杀伤白血病细胞的作用,有关这方面的作用机理尚需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Thomas LB: Nat Cancer Inst 1962;28:1355
- [2] Fiebig HH, et al: Int J cancer 1976;18:710
- [3] 张惠铭,付天顺,刑德利等. 中华血液学杂志 1983;4(6):335
- [4] 褚建新,应红光. 中华血液学杂志 1986;7(5):281
- [5] 王宁生 医学信息论坛 1993;19(18):7
- [6] 唐由君,陈刚,张若英等. 中西医结合杂志1990;10(12):734