

doi:10.3969/j.issn.1674-4616.2022.01.003

• 实验研究 •

加味青蒿鳖甲汤对急性髓性白血病完全缓解患者 CD34⁺ 源树突细胞诱导过程中 IL-6 的影响^{*}

尹尚瑾¹ 黄礼明^{1△} 常宝珠² 姚宇红¹ 李秀军¹ 陈涛¹ 宋娟¹ 陈孟豪¹¹ 贵州中医药大学第二附属医院血液科, 贵阳 550003² 郑州工业应用技术学院, 河南新郑 451100

摘要 **目的** 探讨加味青蒿鳖甲汤对急性髓性白血病完全缓解患者 CD34⁺ 源树突细胞(dendritic cell, DC)诱导过程中 IL-6 的影响。**方法** 以高、中、低剂量的加味青蒿鳖甲汤煎剂灌胃新西兰大白兔制备不同浓度的含药兔血清备用。Ficoll 梯度离心法分离骨髓单个核细胞, 继予 CD34⁺ 免疫磁珠提纯得到 CD34⁺ 细胞。使用 Flt-3、IL-3、TPO、SCF 等细胞因子体外扩增后, 以 IFN- α 、GM-CSF、IL-4、TNF- α 等细胞因子配以不同浓度的含药兔血清进行体外诱导 DC。在 DC 诱导的第 0 天、第 6 天、第 9 天取上清采用 ELISA 法检测上清液中 IL-6 的含量, 并在第 9 天使用流式细胞术检测 DC 表面分子 CD80、CD83、CD86、CD1a、HLA-DR 的表达。**结果** 各含药血清+细胞因子组、正常血清+细胞因子组及单纯细胞因子组中 IL-6 的含量都随着 DC 诱导成熟天数的增加而逐渐升高($P < 0.05$); 在同一时间内各含药血清+细胞因子组 IL-6 浓度均较正常血清+细胞因子组、单纯细胞因子组升高($P < 0.05$)。CD80、CD83、CD86、CD1a、HLA-DR 表面分子在各组中均可表达。CD80 表面分子在各组中的表达差异均无统计学意义($P > 0.05$); CD83、CD86、HLA-DR 等的表达在各含药血清+细胞因子组中均较正常血清+细胞因子组、单纯细胞因子组高($P < 0.05$); 含药血清中剂量+细胞因子组与低剂量+细胞因子组中 CD1a 的表达较高剂量+细胞因子组、正常血清+细胞因子组、单纯细胞因子组高($P < 0.05$)。**结论** 加味青蒿鳖甲汤能促进急性髓性白血病完全缓解患者 CD34⁺ 源 DC 的成熟, 且在诱导 DC 成熟的过程中促进 DC 分泌 IL-6。

关键词 急性髓性白血病; 完全缓解; 加味青蒿鳖甲汤; 树突细胞; 白细胞介素-6**中图分类号** R285 **文献标志码** A

Effects of Modified Qinghao Biejia Decoction on IL-6 During CD34⁺ Cell-derived Dendritic Cell Induction in Acute Myelogenous Leukemia Complete Remission Patients

YIN Shangjin¹, HUANG Liming¹, CHANG Baozhu², YAO Yuhong¹,LI Xiujun¹, CHEN Tao¹, SONG Juan¹, CHEN Menghao¹¹Department of Hematology, the Second Affiliated

Hospital of Guiyang University of Chinese Medicine, Guiyang 550003, China

²Zhengzhou College of Industrial Application Technology, Xinzheng 451100, China

Abstract **Objective** To explore the effects of modified Qinghao Biejia decoction on IL-6 during the induction of CD34⁺ cell-derived DC in patients with acute myelogenous leukemia complete remission(AML-CR). **Methods** New Zealand white rabbits were given by gavage with modified Qinghao Biejia decoction of high, medium and low dose respectively and prepared for different concentrations of rabbit drug-containing serum. Bone marrow mononu-

^{*} 国家自然科学基金资助项目(No. 81060286); 贵州省中医药管理局资助项目(No. QZYY-2018-038)[△] 通信作者, Corresponding author, E-mail: huanglm1963@163.com

clear cells were isolated by Ficoll gradient centrifugation, and purified secondary to CD34⁺ immunomagnetic beads to generate CD34⁺ cells. After the amplification in vitro by Flt-3, IL-3, TPO and SCF cytokines, different concentrations of rabbit drug-containing serum were prepared for induction accompanied with IFN- α , GM-CSF, IL-4 and TNF- α to induce DC in vitro. On the 0, 6th and 9th days of the induction of DC, the content of IL-6 in the supernatants were measured by ELISA. And the expression of DC surface molecules CD80, CD83, CD86, CD1a, HLA-DR were detected by flow cytometry on day 9. **Results** The content of IL-6 in each drug-containing serum + cytokine group, normal serum + cytokine group, and cytokines alone group all gradually increased with the days of DC induced maturity ($P < 0.05$). And the content of IL-6 was increased in each drug-containing serum + cytokine group when compared with the normal serum + cytokine group and cytokine alone group in the same time ($P < 0.05$). The CD80, CD83, CD86, CD1a and HLA-DR surface molecules were expressed in all groups. The expression of CD80 surface molecule showed no difference in each group ($P > 0.05$). The expressions of CD83, CD86 and HLA-DR in each drug-containing serum + cytokine group were higher than those in normal serum + cytokine group and cytokine alone group ($P < 0.05$). The expression of CD1a in medium dose drug-containing serum + cytokine group and low dose drug-containing serum + cytokine group were higher than those in high dose drug-containing serum + cytokine group, normal serum + cytokine group and cytokine alone group ($P < 0.05$). **Conclusion** Modified Qinghao Biejia decoction could promote the maturity of CD34⁺ cell-derived DC in AML-CR patients, and meanwhile promote DC to secrete IL-6 during the induction of DC maturation.

Key words acute myelogenous leukemia; complete remission; modified Qinghao Biejia decoction; dendritic cell; IL-6

急性白血病 (acute leukemia, AL) 完全缓解后复发是困扰其治愈的一大难题, 其中微小残留白血病 (minimal residual disease in leukemia, MRD-L) 是复发的根源所在^[1]。树突细胞 (dendritic cells, DC) 可提呈白血病抗原, 使抗白血病的特异性 T 细胞启动应答。MRD-L 状态下各种细胞因子水平紊乱, 以及机体内环境发生改变对 DC 的转化及功能产生不利影响, 引起免疫功能下降、残留的白血病细胞逃逸机体免疫。因此, 彻底清除白血病患者体内的 MRD 是改善 AL 患者生活质量并延长无病生存期的重要措施。本研究在中医药理论指导下, 以扶正透毒、祛毒为治疗原则, 探讨加味青蒿鳖甲汤对急性髓性白血病完全缓解 (acute myelogenous leukemia complete remission, AML-CR) 患者 CD34⁺ 源 DC 诱导过程中 IL-6 水平的影响, 以期明确加味青蒿鳖甲汤治疗 MRD 的可能机制。

1 材料与方法

1.1 临床标本来源

选取贵州中医药大学第二附属医院血液科及贵州省人民医院血液科化疗后达到血液学完全缓解的 AML-CR 患者 8 例, 患者符合《血液病诊断及疗效标准》^[2] 中的诊断标准, 且经细胞学、免疫学、分子生物学和遗传学确诊为 AML, 年龄 18~65 岁, 性别不限,

患者知情并签署知情同意书。

1.2 主要试剂及设备

人淋巴细胞分离液 (天津灏洋公司), RPMI 1640 (美国 GBICO 公司), CD34⁺ 细胞免疫磁珠分选试剂盒 (瑞士 DYNAL 公司), FMS 样络氨酸激酶 3 (Flt-3)、白细胞介素-3 (IL-3)、血小板生成素 (TPO)、干细胞生长因子 (SCF)、重组粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 均来自美国 Prepro Tech 公司; 重组人 α -干扰素 (IFN- α)、白细胞介素-4 (IL-4)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 均来自上海 primefene 公司; CD80、CD83、CD86、CD1a、HLA-DR 抗体由美国 BioLegend 公司提供。IL-6 ELISA 检测试剂盒 (武汉华美公司); 水纯化装置 (SZ-97 自动三重纯水蒸馏器); 电热鼓风干燥箱 (101-1 AB 型, 天津伟泰斯特); 全自动高压灭菌锅 (MLS-3020, 日本三洋); 倒置显微镜 (奥林巴斯 IX71); 二氧化碳培养箱 (Thermo, 3111 型); 低温离心机 (TD24-WS, 新湘仪); 自动酶标检测仪 (ELX800, 美国通用); 流式细胞仪 (BD FacsCalibur); 3 D 摇床 (KB-7007, 海门其林贝尔公司); 15 mL、50 mL 离心管, 25 cm² 培养瓶以及 6 孔板等均来自美国 CORNING 公司。

1.3 加味青蒿鳖甲汤含药免血清制备

煎取加味青蒿鳖甲汤 (黄芪、黄精、青蒿、鳖甲、白花蛇舌草、半枝莲等) 原药并浓缩药液浓度至 2 g/mL,

室温冷却后置于 4℃ 冰箱备用。将 12 只新西兰兔(4 月龄、体质量约 2 kg、来自贵阳鹏程农业科技有限公司)随机分成 4 组:加味青蒿鳖甲汤高、中、低剂量组及空白组,每组 3 只,参照《药理实验方法学》^[3]人-兔体表面积等效剂量比换算后得出加味青蒿鳖甲汤灌胃高、中、低剂量分别为 10 g/kg、5 g/kg、2.5 g/kg;灌胃连续 3 天,每天 2 次(于每日早晚进食前),空白组正常饮食不予特殊处理。于最后 1 次灌胃 2 h 后在无菌条件下行心脏取血,将取得的血清用微孔滤过膜(0.45 μm)过滤除菌后,在超净台内分装,标记、冻存于-20℃ 冰箱。

1.4 CD34⁺ 细胞体外提取、扩增

用 PBS 将抽取的 AML-CR 患者骨髓以 1:1 稀释、混匀后,并按 2:1 的比例将骨髓贴壁匀缓慢地加入装有人淋巴分离液的 15 mL 离心管内,置于离心机中以 2000 r/min 离心 20 min 后,提取白膜层并移入新的 15 mL 离心管内,予 PBS 按 3:1 的比例稀释、混匀后于离心机内以 1500 r/min 离心 10 min 后取出,弃上清,再次予 PBS 按上述比例稀释、混匀后于离心机内以 1500 r/min 离心 10 min 后取出,弃上清,所得即为骨髓单个核细胞(BMNC),用 1 mL 10% FCS RPMI 1640 稀释后混匀备用。将 100 μL CD34⁺ 免疫磁珠用 2 mL EDTA 液在磁珠架上清洗干净后弃上清,将收集的 BMNC 与免疫磁珠充分混匀。于 4℃ 条件下放置于摇床上震荡孵育 30 min 后,静置于磁架上 1 min,弃上清。用 2 mL PBS 洗涤后置于磁珠架上,弃上清,此步骤重复 3 次后加入 100 μL 磁珠清洗液、1 mL 10% FCS RPMI 1640 培养基混匀后置于摇床上室温下震荡孵育 40 min,再加入 2 mL PBS 充分混匀加强洗磁珠,于磁珠架上静置 2 min,收集上清液于无菌离心管内。如此反复 3 次,将所收集的细胞悬液以 1000 r/min 离心 5 min 后弃上清,以 3 mL 10% FCS RPMI 1640 培养混匀细胞后移入新的 5 mL EP 管中,于磁架上静置 2 min,用新的 15 mL 离心管收集剩余液体,重悬得到 CD34⁺ 细胞。将提取获得的 CD34⁺ 细胞用移液器加入 25 cm² 培养瓶中,并在培养瓶中加入 Flt3、IL-3、TPO、SCF 等细胞因子,在培养瓶中进行 CD34⁺ 细胞扩增,扩增时间为 5~7 天,隔天需半量换液,换液同时需补充等量培养基及扩增因子。

1.5 DC 诱导

CD34⁺ 细胞扩增 5~7 天后,在显微镜下观察到其细胞数量呈对数生长后离心,并补充 5 mL 10% FCS RPMI 1640 培养基,将其等分加入 6 孔培养板中,用培养液调整每孔细胞数约 1×10^6 /mL,将 6 孔

培养板分为 5 组,分别加入含药兔血清及细胞因子以诱导 DC,具体分组如下:单纯细胞因子组(A 组)、正常兔血清+细胞因子(B 组)、加味青蒿鳖甲汤低剂量+细胞因子组(C 组)、加味青蒿鳖甲汤中剂量+细胞因子组(D 组)、加味青蒿鳖甲汤高剂量+细胞因子组(E 组);其中含药兔血清浓度为 200 μL/mL,细胞因子浓度分别为 IFN-α 100 ng/mL,GM-CSF 100 ng/mL,IL-4 50 ng/mL,TNF-α 100 ng/mL。诱导 9 天,诱导期间每 3~4 天进行半量换液,并补充等量的 10% FCS RPMI 1640 培养基、细胞因子及兔血清,各组在培养第 7 天半量换液后均加入 TNF-α 促进 DC 成熟。

1.6 IL-6 检测

在 DC 诱导过程中的第 0 天、第 6 天、第 9 天分别吸取上清液 1 mL 置于已标记好的 1.5 mL 无菌 EP 管中,于-20℃ 条件下保存备用,按照 ELISA 试剂盒说明书于酶标仪检测 IL-6 的光密度值并计算其水平。

1.7 DC 鉴定

在倒置显微镜下观察 DC 的大小、形态并记录;使用自动细胞计数仪将细胞数量调整至 $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ /mL,用 15 mL 试管分别收集 6 孔板中的细胞,再用 PBS 溶液洗涤 6 孔板 3 次并收集洗涤液,经 2000 r/min 离心 5 min 后,以 2 mL 10% FCS RPMI 1640 培养基重悬混匀细胞后取 1 mL 于小 EP 管中,开盖于培养箱中培养过夜后分别加入 CD83、CD86、CD80、CD1a、HLA-DR 抗体各 5 μL,再加入细胞 100 μL,充分混匀后放置 20 min,用流式细胞仪检测 DC 表面分子 CD83、CD86、CD80、CD1a 及 HLA-DR 的表达率。

1.8 统计学分析

采用 SPSS 20.0 统计软件进行统计学分析,计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

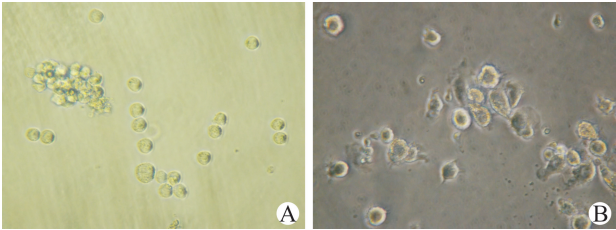
2.1 CD34⁺ 细胞数量及扩增情况

经免疫磁珠提取的 CD34⁺ 细胞数量以及经培养扩增后的 CD34⁺ 细胞数量分别为 $(4.13 \pm 1.76) \times 10^4$ 个/mL 和 $(5.23 \pm 1.67) \times 10^6$ 个/mL。

2.2 DC 形态观察

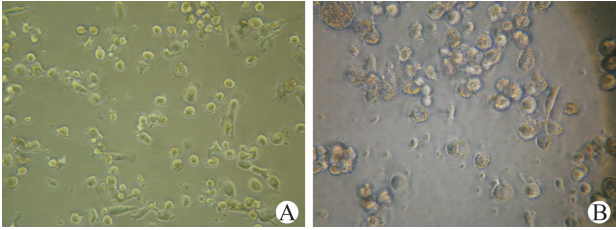
随着 DC 诱导天数的增加,在扩增培养第 3 天细胞表面变得不规则、毛糙,并相互成簇出现聚集现象;见图 1。培养第 6 天时,细胞胞体增大,聚集增多,细胞表面突起变粗、变长,犹如树杈状分枝;见图 2。在第 9 天时细胞胞体明显增大,突起增多,基本形成具

有典型成熟形态的 DC; 见图 3。



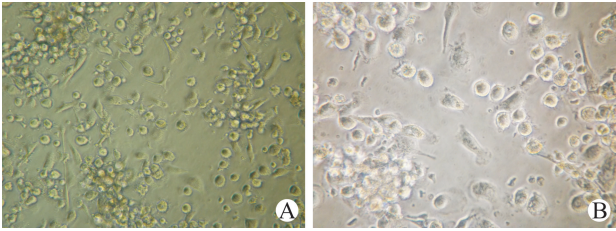
A(×200 倍);B(×400 倍)

图 1 扩增培养第 3 天 DC 形态



A(×200 倍);B(×400 倍)

图 2 扩增培养第 6 天 DC 形态



A(×200 倍);B(×400 倍)

图 3 扩增培养第 9 天 DC 形态

2.3 IL-6 含量比较

CD34⁺ 细胞诱导成 DC 的过程中随着时间的推移各含药血清+细胞因子组、正常血清+细胞因子组及单纯细胞因子组中 IL-6 的水平都随着 DC 诱导成熟天数的增加而逐渐升高 ($P<0.05$); 在同一时间内各含药血清+细胞因子组 IL-6 浓度均较正常血清+细胞因子组、单纯细胞因子组升高 ($P<0.05$)。在相同时间内各含药血清组中, 加味青蒿鳖甲汤高剂量+细

胞因子组与加味青蒿鳖甲汤中剂量+细胞因子组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$); 与加味青蒿鳖甲汤低剂量+细胞因子组相比, 加味青蒿鳖甲汤高剂量+细胞因子组、加味青蒿鳖甲汤中剂量+细胞因子组中 IL-6 浓度均明显升高 ($P<0.05$); 正常血清+细胞因子组、单纯细胞因子组之间比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1。

表 1 各组 IL-6 含量比较 ($n=8, \text{pg/mL}, \bar{x} \pm s$)

组别	IL-6 浓度		
	培养第 0 天	培养第 6 天	培养第 9 天
A 组	2.66±1.24	2.90±1.30 [▲]	4.10±2.23 ^{▲□}
B 组	3.48±1.11	4.38±2.30 [▲]	6.39±3.18 ^{▲□}
C 组	6.49±2.30 [*]	7.88±3.51 ^{*▲}	10.70±3.99 ^{*▲□}
D 组	9.94±2.74 ^{*△}	10.75±3.73 ^{*△▲}	15.29±6.76 ^{*△▲□}
E 组	11.47±3.82 ^{*△}	13.28±4.42 ^{*△▲}	19.89±9.03 ^{*△▲□}

与 A 组、B 组比较^{*} $P<0.05$; 与 C 组比较[△] $P<0.05$; 与第 0 天比较[▲] $P<0.05$; 与第 6 天比较[□] $P<0.05$

2.4 DC 表面分子表达比较

CD80、CD83、CD86、CD1a、HLA-DR 表面分子在各含药血清+细胞因子组、正常血清+细胞因子组及单纯细胞因子组中均可表达, 但 CD80 的表达差异无统计学意义 ($P>0.05$); CD83、CD86、HLA-DR 表达在各含药血清+细胞因子组中均较正常血清+细胞因子组、单纯细胞因子组高 ($P<0.05$), 而含药血清高、中、低剂量+细胞因子组之间比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 正常血清+细胞因子组、单纯细胞因子组之间比较, 差异亦无统计学意义 ($P>0.05$); 含药血清中剂量+细胞因子组与低剂量+细胞因子组中 CD1a 的表达较高剂量+细胞因子组、正常血清+细胞因子组、单纯细胞因子组高 ($P<0.05$), 而含药血清中剂量+细胞因子组与低剂量+细胞因子组之间比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 含药血清高剂量+细胞因子组与正常血清+细胞因子组、单纯细胞因子组之间比较, 差异亦无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 2。

表 2 各组 DC 表面分子表达比较 ($n=8, \%, \bar{x} \pm s$)

组别	CD80	CD83	CD86	CD1a	HLA-DR
A 组	18.4±0.55	30.78±0.66	31.65±2.39	43.29±1.31	45.84±4.33
B 组	18.38±0.66	29.88±0.98	29.92±1.18	41.75±1.01	43.58±1.88
C 组	18.72±0.85	77.03±3.14 ^{*△}	75.60±2.24 ^{*△}	73.38±2.80 ^{*△▲}	84.29±4.07 ^{*△}
D 组	18.61±0.79	77.04±1.68 ^{*△}	73.50±5.11 ^{*△}	74.68±3.13 ^{*△▲}	87.24±2.19 ^{*△}
E 组	18.49±0.26	77.83±1.61 ^{*△}	76.29±2.29 ^{*△}	41.44±1.56 ^{*△}	85.63±3.67 ^{*△}

与 A 组比较^{*} $P<0.05$; 与 B 组比较[△] $P<0.05$; 与 E 组比较[▲] $P<0.05$

3 讨论

中医认为,AL 的发生与机体正气虚弱、邪毒入血伤髓有关,正气虚弱是本病发生的内因;加之抗癌药物的攻伐使正气进一步受损,以致患者完全缓解后仍然正气不足。化疗是 AML 的主要治疗手段,但其对白血病细胞的杀灭呈对数级,并不可能彻底杀灭白血病细胞。而且由于血-脑、血-睾丸等屏障的存在,化疗药物难以到达脑、睾丸等部位,所以脑、睾丸等部位可能残留有白血病细胞;这些残留的白血病细胞是导致 AL 复发的主要原因。化疗药物在有效杀伤白血病细胞的同时也强烈抑制机体的免疫功能,因此 AL 患者存在着免疫功能紊乱。化疗后患者机体免疫功能进一步下降,使正常的免疫监视功能遭到破坏,残存在血液、骨髓、脑膜、睾丸等部位的少量白血病细胞容易引起 AL 复发;中医认为这些病位属于至阴之分,因此可以认为,AL 完全缓解后的基本病机特点是“正气虚弱,余毒伏阴”。针对这一病机特点,既要扶助正气,也需祛除余毒。同时,由于余毒深伏阴分,尚需将阴分余毒透出阳分以清解。因此,扶正透毒祛毒之法切合 AL 完全缓解后的病机特点。

本研究选用“入阴透邪”经典方青蒿鳖甲汤,将伏于阴分的毒邪透出阳分而祛除。《温病条辨》指出:“邪气深伏阴分,混处气血之中,不能纯用养阴,又非壮火,更不得任用苦燥。故以鳖甲蠕动之物,入肝经至阴之分,既能养阴,又能入络搜邪;以青蒿芳香透络,从少阳领邪外出”,该方以青蒿、鳖甲为君,生地、知母为臣并佐以丹皮而成。在透除毒邪的同时加用扶正祛毒药物,以恢复机体正气、抵御外邪,并将透出的毒邪祛除而达到“正足邪自祛、邪祛正自安”。扶正药物选用党参、黄芪、白术、茯苓、女贞子、旱莲草,具有益气健脾、滋补肝肾之功效,可使气血得补,正气存内而邪不可干,从而增强机体的抵抗力。祛毒药物选用祛毒解毒抗癌的半枝莲、大青叶、白花蛇舌草、重楼,主要针对缓解期残留的余毒及化疗药物攻伐之毒。青蒿鳖甲汤与扶正祛毒药物合用可使透邪与养阴并存,扶正与祛邪并进,能使脏腑功能得以调整、正气得以恢复、余毒得以清除,从而提高机体免疫力,恢复患者正常的免疫功能。

DC 作为特异性免疫应答的始动者,其可提呈大量抗原肽/MHC I 类分子复合物、抗原肽/MHC II 类分子复合物,并能高表达 CD80、CD86 等共刺激分子及某些黏附分子;DC 能在这些分子信号作用下使 T 细胞活化、增殖并发挥其功能。DC 在人体内分布广

泛,除脑以外的全身各个脏器均有分布,但其数量极少。AML-CR 患者因为白血病细胞的浸润以及化疗的损伤等多种因素导致免疫功能减弱,包括 DC 数量的减少、功能的减退。加之白血病细胞的肿瘤免疫原性减弱或抗原调变而出现免疫抑制,使得残留于患者体内的白血病细胞难以清除。因此如何增加并完善白血病患者体内的 DC 数量及功能,使其有效提呈肿瘤抗原,从而发挥免疫监视作用对于改善 AML-CR 的预后具有重要意义。

本研究结果显示,随着 DC 诱导时间的进展,在倒置显微镜下发现细胞表面逐渐变得毛糙、不规则,并聚集增多,第 9 天左右时可呈现成熟的 DC 形态,即细胞表面如树突状;为更好地了解 DC 的成熟情况,通过流式细胞术对 DC 的表面抗原 CD80、CD83、CD86、CD1a、HLA-DR 进行检测,结果显示:各组含药血清+细胞因子组均能高表达 CD83、CD86、HLA-DR,但 CD80 的表达差异无统计学意义;CD1a 在含药血清中剂量组与低剂量组中的表达明显高于高剂量组、正常血清+细胞因子组及单纯细胞因子组。高剂量组 CD1a 的表达明显低于中、低剂量组可能与 CD1a 对中药复方有较低的浓度依赖有关,抑或与样本量较少有一定的关系。含药血清组与正常血清+细胞因子组、单纯细胞因子组相比能更好地诱导 DC 成熟,考虑与含药血清的有效成分能调节机体内环境,从而改变 DC 所处微环境中的相关细胞因子含量有关。以上提示加味青蒿鳖甲汤能促进 AML-CR 患者 CD34⁺细胞向 DC 转化。

细胞因子具有广泛的生物学活性,在机体的自稳、防卫和免疫调控等方面扮演着重要角色。细胞因子网络失衡会使机体内环境发生紊乱,影响 DC 的分化成熟,从而不能有效地发挥抗原提呈功能,使得肿瘤细胞逃避免疫监视,并导致肿瘤的发生及发展。成熟的 DC 能分泌 IL-1、IL-6、IL-12、TNF- α 、IFN- α 等细胞因子及多种趋化因子。IL-6 作为众多细胞因子中的一员,能促进细胞增殖、分化。在诱导 DC 的第 0、6、9 天通过 ELISA 法对 IL-6 的含量进行检测发现,IL-6 的含量随着时间的递增而逐渐增多,各含药血清组均较对照组明显升高,表明加味青蒿鳖甲汤含药血清在诱导 CD34⁺源 DC 成熟过程中可能促进了 DC 分泌 IL-6。其机制可能是加味青蒿鳖甲汤能直接调节机体内环境,改善细胞因子网络失衡状态,从而促进 DC 分泌 IL-6。有研究^[4]发现 IL-6 能让单核细胞来源的 DC 上 MHC-II 类分子及 CD86 的表达明显提高。Saijo Y 等^[5]发现 IL-6 能刺激肿瘤细胞表达抗原,并

且能诱导 DC 分化,刺激细胞毒性 T 淋巴细胞增殖而杀伤肿瘤细胞。故推测加味青蒿鳖甲汤含药血清在诱导 CD34⁺ 源 DC 成熟过程中分泌 IL-6 的同时,IL-6 又能以正反馈的方式促进 DC 的分化成熟。研究证实 IL-6 有广泛的生物学作用,其能加强 B 细胞的增殖、分化,并可分泌抗体,参与炎症反应及抗瘤效应,并能增强细胞毒性 T 细胞及自然杀伤细胞的抗肿瘤活性。前期实验发现该方含药血清对 K562 细胞的杀伤作用较细胞因子组大,并能更好地促进 DC 提呈抗原,更明显地刺激细胞毒性 T 细胞活化、增殖,并高效、特异地杀伤靶细胞^[6]。加味青蒿鳖甲汤刺激细胞毒性 T 细胞活化、增殖及对靶细胞的特异性杀伤,是否通过增加 IL-6 的含量而发挥其作用是值得进一步思考的问题。

参 考 文 献

[1] 吴克复,郑国光,马小彤,等. 白血病复发的机制:老问题,

新视角[J]. 中国实验血液学杂志,2011,19(3):557-560.

[2] 张之南,沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京:科学出版社,2007:106-116.

[3] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2003:56.

[4] Hegde S, Pahne J, Smola-Hess S. Novel immunosuppressive properties of interleukin-6 in dendritic cells: inhibition of NF-kappaB binding activity and CCR7 expression [J]. *FASEB J*, 2004, 18(12):1439-1441.

[5] Saijo Y, Hong X, Tanaka M, et al. Autologous high-killing cytotoxic T lymphocytes against human lung cancer are induced using interleukin(IL)-1 beta, IL-2, IL-4, and IL-6: possible involvement of dendritic cells [J]. *Clin Cancer Res*, 1999, 5(5):1203-1209.

[6] 宋益青. 加味青蒿鳖甲汤对髓性 MRD-L 患者 CD34⁺ 细胞源 DC 影响的研究[D]. 贵阳:贵阳中医学院,2013.

(收稿日期:2021-08-17)

(上接第 9 页)

提供足够的营养支持,从而提高整个坏死区域的股骨头密度^[9]。

综上所述,密集型针刺联合常规西医治疗 II 期 ANFH 患者疗效显著,可以通过改善机体血液循环,促进血清学指标和髋关节功能的恢复,同时改善影像学指标。然而,本研究不足之处在于:选择的样本量较少,且未对患者进行长期随访;后期还需进一步研究加以证明。

参 考 文 献

[1] 李时斌,赖渝,周毅,等. 激素性股骨头坏死发病机制及相关信号通路的靶点效应[J]. 中国组织工程研究,2021,25(6):935-941.

[2] 屠建锋,王丽琼,石广霞,等. 针刺对膝骨关节炎患者膝关节损伤与骨关节炎评分的影响[J]. 中国针灸,2021,41(1):27-30.

[3] 中国医师协会骨科医师分会显微修复工作委员会,中国

修复重建外科专业委员会骨缺损及骨坏死学组,中华医学会骨科分会显微修复学组. 成人股骨头坏死临床诊疗指南(2016)[J]. 中华骨科杂志,2016,36(15):945-954.

[4] 张立安,贺静,王玉丽. 股骨头缺血坏死的分期与早期影像学诊断[J]. 中华放射学杂志,2000,34(11):734.

[5] 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准[M]. 南京:南京大学出版社,1994:168.

[6] 武永刚,段力军,王坤正. 血管内皮生长因子在激素性骨坏死过程中的变化特点[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2010,14(7):1204-1207.

[7] 刘颖,郑立运. 前列地尔骨科临床应用研究进展[J]. 中国药师,2013,16(7):1071-1073.

[8] 方自华. 密集型圆利针针刺治疗跟痛症 80 例疗效观察[J]. 浙江中医药大学学报,2018,42(6):487-490.

[9] 莫湘涛,肖永杰,李勇军,等. 密集型针刺配合药物治疗股骨头缺血性坏死的疗效观察[J]. 上海针灸杂志,2020,39(5):589-593.

(收稿日期:2021-07-29)