

# 调肾祛斑颗粒含药血清对 UVA 辐照后人皮 MC 增殖的影响

张凤娥<sup>1</sup>, 李悦嘉<sup>1</sup>, 杨志波<sup>2</sup>, 欧阳恒<sup>2</sup>, 罗文辉<sup>3</sup>

1. 湖南医药学院, 湖南 怀化 418000

2. 湖南中医药大学第二附属医院外科, 湖南 长沙 410007

3. 株洲市第一医院皮肤科, 湖南 株洲 412000

**[摘要]** 目的: 研究调肾祛斑颗粒 (TSQBG) 含药人血清对长波紫外线 (UVA) 辐照后人皮人皮黑素细胞 (MC) 增殖的影响。方法: 含药黄褐斑患者血清分 8 组: 空白组、无药组、低浓度 TSQBG 组、中浓度 TSQBG 组、高浓度 TSQBG 组、低浓度沙棘冲剂 (SJG) 组、中浓度 SJG 组、高浓度 SJG 组。采用细胞学和血清药理学方法, 观察 TSQBG 含药人血清对长波紫外线 (UVA) 照射后的体外原代培养的人皮黑素细胞 (MC) 的细胞增殖的影响。结果: 0.2 J/cm<sup>2</sup> 剂量 UVA 照射的增殖效果优于各剂量组 ( $P < 0.01$ )。各浓度 TSQBG 组间比较, 中、高浓度 TSQBG 组含药血清对 MC 增殖的抑制作用均较低浓度组强 ( $P < 0.01$ ), 高浓度 TSQBG 组含药血清对 MC 增殖的抑制作用又较中浓度组强 ( $P < 0.01$ )。各浓度 SJG 组间比较, 中、高浓度 SJG 组含药血清对 MC 增殖的抑制作用均较低浓度组强 ( $P < 0.01$ ), 高浓度 SJG 组含药血清对 MC 增殖的抑制作用又较中浓度组强 ( $P < 0.01$ ); 表明不同浓度 TSQBG 含药人血清对 UVA 诱导的人皮 MC 的增殖均有抑制作用, 且浓度越高抑制作用越强, 并随作用时间的延长细胞增殖率不断降低, 呈量效和时效关系。结论: 调肾祛斑颗粒能下调 UVA 诱导的人皮 MC 的细胞增殖率的上调, 这可能是调肾祛斑颗粒治疗黄褐斑的重要作用机理之一。

**[关键词]** 调肾祛斑颗粒; 含药血清; 黄褐斑; 黑素细胞; 长波紫外线

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2014) 12-0205-04

**DOI:** 10.13457/j.cnki.jncm.2014.12.096

## Effect of *Tiaoshen Quban* Granule Medicated Serum on Cell Proliferation of Human Skin Melanocytes After Ultraviolet A Radiation

ZHANG Feng'e, LI Yuejia, YANG Zhibo, et al

**Abstract:** Objective: To explore the effect of *Tiaoshen Quban* granule (TQG) medicated serum on the cell proliferation of human skin Melanocytes after ultraviolet A (UVA) radiation. Methods: Eight groups were set up, and they were blank group, medication-free group, high-, medium-, low-dose TQG medicated serum groups, and high-, medium-, low-dose *Shaji* granule (SG) medicated serum groups. The cytological and seropharmacological methods were used to observe the intervention of TQG medicated serum on the cell proliferation of primary cultured human skin melanocytes after UVA radiation in vitro. Results: The proliferation induced by 0.2 J/cm<sup>2</sup> UVA was the most obvious than that in other groups ( $P < 0.01$ ). The high- and medium-dose TQG and SG medicated serum groups had remarkable effect on decreasing the cell proliferation in vitro ( $P < 0.01$  compared with the low-dose group), and the high-dose groups had more obvious effect than the medium-dose group ( $P < 0.01$ ). All of the three concentrations of TQG and SG had potential effect on inhibiting the UVA-induced proliferation of the primary cultured human skin melanocytes in vitro, and the inhibition as well as the decrease of proliferation rate was in dose- and time-dependent manner. Conclusion: TQG can down-regulate the cell proliferation, which may be one of the therapeutic possible mechanisms of TQG for chloasma.

**Keywords:** *Tiaoshen Quban* granule; Medicated serum; Chloasma; Melanocytes; Ultraviolet A (UVA)

**[收稿日期]** 2014-07-16

**[基金项目]** 湖南省科技厅科研资助项目 (编号: 03SSY3113); 湖南省教育厅科研基金项目 (编号: 04C752)

**[作者简介]** 张凤娥 (1967-), 女, 医学博士, 教授, 研究方向: 损容性皮肤病的防治。

近年来,笔者采用调肾祛斑颗粒(TSQBG)(原名为清色灵冲剂)治疗黄褐斑取得满意疗效<sup>[1-3]</sup>,为探讨其作用机理,为临床应用提供科学依据,本研究与沙棘冲剂(SJG)<sup>[4-5]</sup>进行对照,观察调肾祛斑颗粒含药黄褐斑患者血清对长波紫外线(UVA)照射后的体外原代培养的人皮黑素细胞(MC)的细胞增殖的影响,现报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 细胞标本 取自无病变的健康青年因包皮过长而行包皮环切术后切除的包皮。

1.1.2 主要试剂 噻唑蓝(MTT,美国 Sigma 公司产品),二甲基亚砜(DMSO),0.5%脱氧胆酸钠(上海华美生物工程公司产品),1:1乙醇乙醚,含 10%二甲基亚砜的 1N NaOH 溶液,氨基甲酸乙酯(广州化学试剂厂产品),MCDB153 培养液等。MCDB153 培养液的配制:基础培养液,成分主要为 MCDB153 培养基 17.6 g/L,其中添加成分的终浓度分别是 CT 0.2 μg/mL, IBM × 10<sup>-4</sup> mol/L, TPA 8 nmol/L, 氢化可的松 0.5 μg/mL, 胰岛素 5 μg/mL, 青霉素 100 U/mL, 链霉素 100 μg/mL, 含 FCS 的终浓度为 0.5%。0.22 μm 滤膜的不锈钢过滤器过滤除菌,分装至 100 mL 无菌玻璃瓶中, -20℃保存。生长培养液,基础培养液加胎牛血清至终浓度为 10%, 4℃保存。

1.1.3 实验器材 6 cm 塑料培养皿, 96 孔培养板等不同规格一次性细胞培养用品(美国 Corning 公司)。YXQ-LS-505II 立式压力灭菌器(上海博讯实业有限公司)。0.22 μm 孔径的微孔滤器。AP250D-0 电子天平(瑞典 Ohaus corporation)。恒温水浴箱(北京长风仪器仪表厂)。-20℃低温冰箱(海尔公司)。UVA 光源:紫外线灯管由四根并排的 TLK40w/10R 灯管组成(Philips 产品),产生 UVA 功率为 40 W,波长 365 nm(范围 340-400nm)。PMA2100 紫外线辐照计,连接 PMA2110UVA 辐照探测头(北京师范大学光电研究所)。SM-3 自动化酶免分析仪(北京天石医疗用品制作所)。

1.1.4 调肾祛斑颗粒 药物制备:按处方比例取生地黄、柴胡、薏苡仁、益母草、当归、川芎、牡丹皮、丹参、白芷、甘草等中药,依次用 8 倍 70%乙醇和 8 倍量水提取,合并滤液,浓缩,混匀,干燥后,收集干燥粉,再与适量花粉、紫河车粉混合,制成颗粒剂,分袋包装。规格:每袋 15 g,含生药量 10 g。

1.1.5 沙棘颗粒 内蒙古佳合药业有限公司生产。规格:每袋 15 g,含生药量 5 g。批准文号:国药准字 Z15020710。

1.1.6 含药人血清的制备 用黄褐斑病人作血清供体,制备低、中、高不同浓度的 TSQBG、SJG 含药血清。采用改良血清药理学方法,即采用黄褐斑患者进行药物实验,再提取药物血清。参照文献<sup>[6]</sup>并进行改进。按自愿原则,从治疗黄褐斑的临床研究入选病例<sup>[3]</sup>中随机抽取 30 例并签定知情同意书,将

其分为调肾祛斑颗粒组与沙棘颗粒组,每组 15 例。每例研究对象于服药治疗前抽取静脉血 5 mL 制作无药血清;于治疗第 7 天的早晨 7 时将当天早、中 2 次药一次服下(服药前禁食 12 h),2 h 后各抽取静脉血 5 mL 制作含药血清。静脉血抽取时间均为上午 9 时(空腹),后常温静置 3 h, 4℃离心, 3 000 rpm, 20 min, 分离血清,其中有溶血者弃之不用。同组血清收集齐后,合并混匀,分装, 56℃ × 30 min 水浴进行补体灭活,用 0.22 μm 孔径的不锈钢过滤器过滤除菌, -20℃冰箱保存备用。临用时用基础培养液稀释,调至设定终浓度。

### 1.2 方法

1.2.1 正常人表皮 MC 的体外原代培养与鉴定 参照 Hsu MY<sup>[7]</sup>和赵辨等<sup>[8-9]</sup>的培养方法进行 MC 体外原代培养,并经多巴染色<sup>[10]</sup>进行 MC 的鉴定。

1.2.2 实验分组 含药黄褐斑病人血清分 8 组。分别为:空白组:无 UVA 照射 +10%无药血清; 无药组:UVA 照射 +10%无药血清; 低浓度 TSQBG 组:UVA 照射 +5% TSQBG 含药血清; 中浓度 TSQBG 组:UVA 照射 +10% TSQBG 含药血清; 高浓度 TSQBG 组:UVA 照射 +20% TSQBG 含药血清; 低浓度 SJG 组:UVA 照射 +5% SJG 含药血清; 中浓度 SJG 组:UVA 照射 +10% SJG 含药血清; 高浓度 SJG 组:UVA 照射 +20% SJG 含药血清。空白组作为实验空白对照用,无药组作为实验阴性对照用, SJG 组作阳性对照用。

1.2.3 各浓度含药血清的调配 采用倍比稀释法。10%无药血清:100 μL(10 μL 无药血清 +90 μL 基础培养液); 5%调肾祛斑颗粒含药血清:100 μL(5 μL 调肾祛斑颗粒含药血清 +95 μL 基础培养液); 10%调肾祛斑颗粒含药血清:100 μL(10 μL 调肾祛斑颗粒含药血清 +90 μL 基础培养液); 20%调肾祛斑颗粒含药血清:100 μL(20 μL 调肾祛斑颗粒含药血清 +80 μL 基础培养液); 5%沙棘颗粒含药血清:100 μL(5 μL 沙棘颗粒含药血清 +95 μL 基础培养液); 10%沙棘颗粒含药血清:100 μL(10 μL 沙棘颗粒含药血清 +90 μL 基础培养液); 20%沙棘颗粒含药血清:100 μL(20 μL 沙棘颗粒含药血清 +80 μL 基础培养液)。

### 1.2.4 实验指标及检测方法

1.2.4.1 UVA 致人皮 MC 增殖剂量的选择 参照文献<sup>[11]</sup>,设置 0、0.05、0.1、0.2、0.4、0.8 J/cm<sup>2</sup> 共 6 组不同剂量 UVA 对人皮 MC 进行不同时间的照射,每组设立 6 个平行样品。

1.2.4.2 MTT 法测定 MC 的增殖活性 参考文献<sup>[6-12]</sup>,采用噻唑蓝比色法(MTT 法)观察含药血清作用于 MC 不同时间后对细胞增殖的影响,同时初步观察时效和量效关系。MC 增殖率以每个处理组 A<sub>490</sub> 值占空白对照组 A<sub>490</sub> 值的百分率(处理组 A<sub>490</sub>/空白对照组 A<sub>490</sub> × 100%)来表示。每组设立 6 个平行样品,并重复实验 3 次,取平均值。

1.3 统计学方法 采用 SPSS11.0 软件完成所有数据录入和

统计分析,以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,  $t$  检验。

## 2 结果

2.1 不同剂量 UVA 照射对人皮 MC 增殖率的比较 见表 1。各剂量 24 h 的照射增殖效果均高于 12 h(0.8 J/cm<sup>2</sup> 剂量组除外); 0.2 J/cm<sup>2</sup> 剂量 UVA 照射的增殖效果优于各剂量组( $P < 0.01$ ), 表明 0.2 J/cm<sup>2</sup> 的剂量 UVA 照射能明显促进 MC 的增殖。

UVA(J/cm <sup>2</sup> )	n	12 h	24 h
0.00	6	100.000 ± 0.000	100.000 ± 0.000
0.05	6	98.439 ± 2.123	103.573 ± 1.801
0.10	6	101.668 ± 3.269	109.782 ± 2.604
0.20	6	94.341 ± 4.517	117.983 ± 3.603
0.40	6	93.188 ± 5.022	102.536 ± 3.825
0.80	6	94.687 ± 3.618	94.014 ± 4.304

与本剂量 12 h 比较, ① $P < 0.01$ ; 与各组比较, ② $P < 0.01$

2.2 各组合药血清作用 24 h、48 h、72 h 对 UVA 辐照后人皮 MC 增殖率的比较 见表 2。UVA 照射 MC 后, 各组给予黄褐斑病人含药血清孵育 24 h、48 h 和 72 h, 各组间 MC 增殖率均有差异( $P < 0.01$ )。与空白组比较, 无药组 MC 均显著增殖( $P < 0.01$ ); 与无药组比较, 各含药血清组均能明显抑制 MC 增殖率( $P < 0.01$ ); 各浓度 TSQBG 组间比较, 中、高浓度 TSQBG 组合药血清对 MC 增殖的抑制作用均较低浓度组强( $P < 0.01$ ), 高浓度 TSQBG 组合药血清对 MC 增殖的抑制作用又较中浓度组强( $P < 0.01$ )。各浓度 SJG 组间比较, 中、高浓度 SJG 组合药血清对 MC 增殖的抑制作用均较低浓度组强( $P < 0.01$ ), 高浓度 SJG 组合药血清对 MC 增殖的抑制作用又较中浓度组强( $P < 0.01$ ); 与 SJG 组比较, 低、中浓度 TSQBG 组合药血清对 MC 增殖的抑制作用均较各相应浓度 SJG 组合药血清弱( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ); 高浓度 TSQBG 组合药血清对 MC 增殖的抑制作用不如中、高浓度 SJG 组( $P < 0.01$ ), 但作用 24 h 时与低浓度 SJG 组合药血清相当( $P > 0.05$ ), 作用 48 h 或作用 72 h 时比低浓度 SJG 组合药血清强( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

2.3 TSQBG 含药病人血清干预 UVA 辐照后人皮 MC 增殖作用的时效与量效关系 研究结果显示: 用黄褐斑病人作血清供体制备的低、中、高不同浓度 TSQBG、SJG 含药血清, 作用于 UVA 辐照后人皮 MC 24 h、48 h、72 h 3 个不同时间点, 对 MC 的细胞增殖均表现出抑制作用, 并均随着浓度的增高其抑制作用也增强, 随着作用于 MC 时间的延长其抑制作用也增强。说明在本实验范围内, TSQBG 含药血清干预 UVA 辐照人皮 MC 作用的强弱与其浓度高低和作用时长有关, 抑制作用随着浓度的增高和作用时间的延长而增强, 浓度越高、作用时间越长, 其抑制效应越好, 呈现量效与时效关系。TSQBG

表2 各组合药血清作用 24 h、48 h、72 h 对 UVA 辐照后人皮 MC 增殖率的比较 $(n=6, \bar{x} \pm s)$  %

组别	24 h	48 h	72 h
空白组	100.000 ± 0.000	100.000 ± 0.000	100.000 ± 0.000
无药组	112.513 ± 0.917	114.741 ± 1.123	117.573 ± 0.801
低浓度 TSQBG 组	98.546 ± 0.386	92.668 ± 1.269	88.780 ± 1.604
中浓度 TSQBG 组	92.334 ± 0.491	85.341 ± 0.519	81.983 ± 0.603
高浓度 TSQBG 组	87.611 ± 1.043	81.188 ± 0.021	77.535 ± 0.824
低浓度 SJG 组	86.972 ± 0.351	83.826 ± 0.617	79.931 ± 0.209
中浓度 SJG 组	78.243 ± 0.421	73.533 ± 0.573	70.645 ± 0.412
高浓度 SJG 组	71.443 ± 1.079	65.087 ± 0.608	60.687 ± 1.074

与空白组比较, ① $P < 0.01$ ; 与无药组比较, ② $P < 0.01$ ; 与低浓度 TSQBG 组比较, ③ $P < 0.01$ ; 与中浓度 TSQBG 组比较, ④ $P < 0.01$ ; 与低浓度 SJG 比较, ⑤ $P < 0.01$ ; 与中浓度 TSJG 组比较, ⑥ $P < 0.01$ ; 与各浓度 TSJG 组比较, ⑦ $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ; 与中高浓度 SJG 比较, ⑧ $P < 0.01$ ; 与低浓度 SJG 比较, ⑨ $P > 0.05$ ; 与低浓度 SJG 比较, ⑩ $P < 0.05$

对体外 MC 的抑增效应可能需要时间较长、药量较大, 以中、高浓度的抑增效应为佳。

## 3 讨论

调肾祛斑颗粒(原名为清色灵冲剂)是本院运用整体调控的辨病论治独特方法<sup>[13-14]</sup>, 开创“以色治色、以白反黑”的直观论治特色疗法<sup>[15]</sup>而拟定的治疗黄褐斑专方。本研究采用的血清药理学方法, 用黄褐斑病人作血清供体制备含药血清。实验结果表明: UVA 辐照正常人表皮 MC 后能促进 MC 增殖、诱导 MC 增殖上调, 提示黄褐斑发病与 UVA 照射有关; 各含药血清均能抑制 MC 增殖, 下调 UVA 辐照诱导的人皮 MC 增殖上调, 并在本实验范围内呈现量效和时效关系, 各含药血清抑制 UVA 辐照诱导的人皮 MC 增殖上调的作用随其浓度的增高而增强、随其作用时间的延长而增强, 提示调肾祛斑颗粒和沙棘颗粒的临床疗效与其抑制 MC 增殖有关, 临床治疗黄褐斑服药时间越长、疗效越明显, 临床治疗应坚持服药以维持恒定的血药浓度和完成足够的疗程来获得满意疗效。

然而, 实验结果也表明: 相对于沙棘颗粒含药血清对 UVA 辐照诱导的人皮 MC 增殖上调的抑制作用来说, 调肾祛斑颗粒含药血清对 UVA 辐照诱导的人皮 MC 增殖上调的抑制作用明显不如沙棘颗粒强, 而调肾祛斑颗粒治疗黄褐斑的临床疗效又显著优于沙棘颗粒( $P < 0.05$ )<sup>⑩</sup>, 说明调肾祛斑颗粒含药血清抑制 MC 的增殖作用比较温和, 调肾祛斑颗粒对人体细胞的毒性小, 临床用药安全。并提示调肾祛斑颗粒抑制 MC 增殖, 下调 UVA 诱导的人皮 MC 的细胞增殖率的上调, 这可能是调肾祛斑颗粒治疗黄褐斑的重要作用机理之一, 而非主要、唯一疗效机制, 调肾祛斑颗粒治疗黄褐斑良好的临床疗效



一定还有其它作用机理存在, 比如对 MC 的酪氨酸酶活性以及黑素合成的影响等值得探索, 以便为其临床应用提供可靠科学依据。

### [参考文献]

- [1] 张凤娥, 余建平, 罗玉清. 清色灵冲剂治疗黄褐斑 40 例临床疗效初步观察[J]. 湖南中医药导报, 2003, 9(4): 35-36.
- [2] 张凤娥, 李树平, 马晓健, 等. 清色灵冲剂治疗黄褐斑的临床及实验研究[J]. 岳阳职业技术学院学报, 2010, 25(3): 77-83.
- [3] 张凤娥, 杨志波, 贺菊乔. “调肾祛斑颗粒”治疗黄褐斑 33 例临床观察[J]. 江苏中医药, 2009, 41(4): 38-39.
- [4] 晏洪波, 刘辉, 吴宁. 沙棘冲剂治疗黄褐斑的疗效观察[J]. 中国美容医学, 2000, 9(4): 260-261.
- [5] 晏洪波, 吴宁, 刘辉. 沙棘冲剂治疗 30 例黄褐斑的疗效观察[J]. 临床皮肤科杂志, 2000, 29(4): 251.
- [6] Im SJ, Kim KN, Yun YG, et al. Effect of Radix Ginseng and Radix Trichosanthis on the Melanogenesis[J]. Biol Pharm Bull, 2003, 26(6): 849-853.
- [7] Hsu MY, Herlyn M. Cultivation of normal human epidermal melanocytes. Methods in molecular medicine: human cell culture protocols [J]. Totowa, Humana

Press Inc, 1992, 9-20.

- [8] 赵辨, 黄秋玲, 毕志刚, 等. 人正常黑素细胞体外纯培养及其细胞生物学鉴定[J]. 临床皮肤科杂志, 1991, 12(5): 226-227.
- [9] 帕它木·莫合买提, 潘建英, 洪新宇, 等. 烟酰胺抑制人皮黑素细胞的适宜浓度研究[J]. 日用化学工业, 2004, 34(5): 296-299.
- [10] Boissy RE. Melanosome transfer to and translocation in the keratinocyte [J]. Experimenta. Dermatology, 2003, Supplement 12(supplement 2): 5-12.
- [11] 张凤娥, 欧阳恒. 调肾祛斑颗粒含药血清对紫外线辐照后人皮黑素细胞增殖的影响研究[J]. 湖北民族学院学报, 2012, 29(4): 11-15.
- [12] 刘栋, 朱文元, 谭城. 皮质类固醇对培养 Cloudman S91 黑素瘤细胞株黑素合成的影响[J]. 临床皮肤科杂志, 2003, 32(1): 3-6.
- [13] 张凤娥, 欧阳恒, 杨志波. 黄褐斑的中西医治疗概况[J]. 湖南中医药大学学报, 2007, 27(6): 79-80.
- [14] 张凤娥, 欧阳恒, 杨志波. 中医治疗黄褐斑现状及展望[J]. 中国中医药信息杂志, 2008, 15(7): 107-108.
- [15] 欧阳恒. 中医皮科领域中的直观论治法[J]. 湖南中医药导报, 2001, 7(4): 143-144.

(责任编辑: 马力)

## 内病外治新疗法常年招生(教社证字 G03005 号)

一、鼻炎头痛学习班: 重点讲解为什么鼻炎、鼻窦炎、过敏性鼻炎不在鼻部肺部治疗能快速神奇治愈。顽固性正偏头痛、头晕、三叉神经痛、牙痛、口腔溃疡, 结膜炎, 失眠神经衰弱, 不在头部治疗的新理论和快速治愈方法。二、颈肩腰腿痛学习班: 重点讲解为什么腰痛不治腰, 腿疼不治腿, 足跟痛不治脚, 肩周炎有真假, 骨质增生能软化, 治股骨头坏死与膝关节炎取穴一样等关节软组织疼痛的新理论和快速治愈方法。三、内科病学习班: 讲解 2 型糖尿病, 胃病. 结肠炎. 冠心病. 胆囊炎. 小儿腹泻. 厌食同治一个病根新理论。四、男科妇科病学习班: 讲解男女乳腺增生. 痛经. 前列腺炎. 阳痿, 早泄, 慢性肾炎. 同治一个病根的外治新理论。五、皮肤病科: 讲解点耳穴, 根治青春痘, 湿疹, 皮炎, 各种癣疮等皮肤病的外治方法。六、快速查病诊断班: 患者无需开口, 看一眼患者的双腿便知道患者的病根在哪里, 超前诊断患者现在或将来易患什么病。让患者心服口服, 是大夫接诊快速准确诊断不可少的绝招技术。七、特效针法学习班: 一秒钟埋线法治疗各种慢性疑难病。泻血法, 六针法、X 针法、穿针法一次性治疗肱骨外上髁炎, 急性腰扭伤, 牙痛, 尾骨痛, 足跟痛, 踝关节扭伤, 棘上韧带损伤等症收效神速, 大多患者入针即效, 拔针即愈。以上各科明确全身慢性疑难病原发病因和继发病症的鉴别诊断治疗, 本疗法防治结合治未病, 可作为大夫本人即家庭治疗保健康复之首选。本校为学员可代为办理劳动和社会保障部门颁发的全国通用高级按摩师证书, 中医康复保健证书, 高级针灸师证书, 网上可查, 凭证可开业。每月 1 号, 15 号开班。本疗法把疑难病的诊断治疗简单化。有无医学基础 7~10 天即可学会, 学校有实习门诊, 患者很多, 不熟练可多学几天, 学会为止。七个科学费 5000 元。地址: 河北省石家庄市健康路省第四人民医院西 200 米, 石家庄内病外治新疗法培训学校, 联系人: 王卫平。手机 13930962015。详情登陆 [www.nbwzxf.com](http://www.nbwzxf.com), 农行卡号: 6228481250018026419, 邮政账号: 601331001200114327, 乘车路线: 石家庄火车站乘 131 路省四院下西行 200 米即到或石家庄北站乘 5 路省四院下西行 200 米即到。