

# 补肾解毒活血法对骨髓抑制小鼠造血功能的影响

赵静梅 杨旭辉 王广占 窦永起

**【摘要】 目的** 探讨补肾解毒活血法对骨髓抑制小鼠造血功能的影响。**方法** 取昆明小鼠 60 只,随机分成空白对照组、模型组和中药治疗组,每组各 20 只,模型组和中药治疗组腹腔注射环磷酰胺 100 mg/(kg·d),连续 3 天;造模完成后次日,中药治疗组给予补肾解毒活血中药煎液灌胃,0.36 g/(kg·d),空白对照组与模型组灌服等量生理盐水,连续 10 天。各组随机抽取 10 只,于造模前 1 天及造模后第 1、3、5、7、10、14 天检测小鼠外周血象;其余 10 只于造模后第 11 天,颈椎脱臼处死,检测骨髓造血祖细胞集落形成和骨髓有核细胞(Bone Marrow Nucleated Cell, BMNC)的情况。**结果** 外周血白细胞,模型组和中药治疗组均在造模后第 1 天降到最低点,与空白对照组相比差异均有显著性意义( $P<0.01$ );模型组和中药治疗组均在第 3 天开始回升,中药治疗组在第 5 天恢复正常且保持稳定,而模型组在第 7 天出现异常性增高后又逐渐下降至正常。外周血小板,模型组在模后第 5 天降到最低然后回升至第 10 天恢复正常,而中药治疗组自第 3 天即开始回升,第 7 天时即与空白对照组持平,其最低值明显高于模型组( $P<0.01$ )。造模后第 11 天检测粒细胞-巨噬细胞集落生成单位(CFU-GM)、定向体外红系集落形成单位(CFU-E)、红细胞爆裂型集落生成单位(BFU-E)和小鼠骨髓有核细胞数(BMNC),模型组和中药治疗组均低于空白对照组( $P<0.05$ ),而中药治疗组高于模型组( $P<0.01$ )。**结论** 补肾解毒活血法治疗骨髓抑制可通过增加骨髓造血祖细胞数量,从而促进环磷酰胺致骨髓抑制小鼠外周血白细胞、血小板的稳定恢复。

**【关键词】** 补肾解毒活血法; 环磷酰胺; 骨髓抑制; 小鼠; 血细胞; 骨髓有核细胞; 造血祖细胞

**【中图分类号】** R551.3 **【文献标识码】** A doi: 10.3969/j.issn.1674-1749.2012.01.003

**Influence of BuShen JieDu HuoXue Recipe on the blood-producing function in mice of myelosuppression** ZHAO Jing-mei, YANG Xu-hui, WANG Guang-zhan, et al. Chinese Medicine Institute, the People's Liberation Army General Hospital, Beijing 100853, China  
Corresponding author: DOU Yong-qi, E-mail: dyqi\_301@yeah.net

**【Abstract】 Objective** To investigate the effects of Bushen Jiedu Huoxue Recipe on the blood-producing function in mice of myelosuppression induced by cyclophosphamide. **Methods** 60 mice were randomly divided into 3 groups, 20 in each group: the blank control, the model control and the Bushen Jiedu Huoxue group, the latter two groups of mice were injected cyclophosphamide intraperitoneally for 3 consecutive days at 100 mg/kg daily. The next day after the model was established, the Bushen Jiedu Huoxue group of mice were administrated by gavage with Bushen Jiedu Huoxue decoction for 10 days at 0.36 g/(kg·d), the same volume of physiological saline was given to the other two groups respectively. Thereafter, the peripheral blood was detected on 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14 days after model established; BMNC, hematopoietic progenitor cell colony forming were detected on the 11th day. **Result** The WBC of the model group and the Bushen Jiedu Huoxue group descended to the lowest point after 1d the model was established, which had obvious significance compared to the blank control group ( $P<0.01$ ), WBC of the

基金项目:国家自然科学基金(30973842)

作者单位:100853 北京,中国人民解放军总医院全军中医研究所[赵静梅(硕士研究生)、杨旭辉、王广占、窦永起]

作者简介:赵静梅(1983-),女,2009 级在读硕士研究生。研究方向:中西医结合临床肿瘤及内科。E-mail:zhaojingmei0403@sina.com.cn

通讯作者:窦永起(1965-),硕士,主任医师,教授。研究方向:中西医结合临床肿瘤及内科。E-mail:dyqi\_301@yeah.net

文献引证格式:

赵静梅, 杨旭辉, 王广占, 等. 补肾解毒活血法对骨髓抑制小鼠造血功能的影响[J]. 环球中医药, 2012, 5(1): 12-15.

model group and Bushen Jiedu Huoxue group both upswung on the 3rd day, while the Bushen Jiedu Huoxue group put back on the 5th day and kept steady, the model group showed up an abnormal raise on the 7th day and then returned to normal. The PLT of the model group descended to the lowest point after 5 days the model was established and upswung to normal on the 10th day, while the BushenJieduHuoxue group upswung from the 3rd day and recovered to normal on the 7th day. The lowest point of PLT of the mice in Bushen Jiedu Huoxue group was higher than that of the model group ( $P < 0.01$ ). The BMNC、CFU-GM、CFU-E and BFU-E of Bushen Jiedu Huoxue group was higher than the model group and lower than the control group. ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** Bushen Jiedu Huoxue Recipe may play a key role in increasing the number of hemopoietic progenitor cell of marrow- depressed mice induced by cyclophosphamide and enhanced the steady recovery of peripheral blood of WBC and PLT.

**【Key words】** BushenJieduHuoxueRecipe; Cyclophosphamide; Myelosuppression; Mice; Hemocyte; BMNC; Hemopoietic progenitor cell

化疗是恶性肿瘤治疗的主要手段之一,但由于化疗引起的骨髓抑制限制了化疗用药剂量和治疗节奏,影响了治疗效果,并容易引起严重感染、出血等并发症,严重影响患者生存质量并威胁患者生命。近年来出现的各种细胞集落刺激因子,虽然具有见效快、有效率高、应用普遍等优点,但费用高昂、副作用多、效果不持久。中医学多将化疗后骨髓抑制归于脾肾两虚、气血不足<sup>[1,2]</sup>,临床多以益气补血为主要的治疗方法,但疗效还不尽理想。笔者在多年临床实践中体会到在补肾基础上配合解毒活血药效果会更好,但其作用机制不明,相关的实验研究也罕有报道。本实验观察了补肾解毒活血法对环磷酰胺诱发骨髓抑制的影响,并对其作用机理作了初步探讨。

## 1 材料

### 1.1 动物

SPF 级昆明种小鼠 60 只,雌雄各半,体重 18 ~ 22 g,由军事医学科学院实验动物中心提供,常规饲养,动物合格证号:SCXK(军)2007-004,生产条件许可证:SYXK(军)2007-004。

### 1.2 主要试剂与仪器

MethoCult® 03534 培养基和 MethoCult® 03334 培养基(加拿大 StemCell Technologies 公司);电热恒温培养箱:DH4000A(天津泰斯特);超净工作台(北京昌平空气净化公司);Napco-5410 CO2 细胞培养箱(shelden 公司);光学显微镜 OLYMPUS(日本);Sysmex-820 自动血细胞计数仪(日本);注射用环磷酰胺,产品批号 10012621,规格 0.2 g(江苏恒瑞医药股份有限公司)。

### 1.3 中药

补肾解毒活血中药由熟地 10 g、何首乌 10 g、肉苁

蓉 10 g、苦参 10 g、白花蛇舌草 10 g、川芎 15 g、当归 10 g、丹参 15 g 组成,共计 90 g/d。按《中药药理研究方法学》<sup>[3]</sup>计算小鼠的等效剂量为  $0.36 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。以上药物均由解放军总医院中药房提供,经鉴定后,水煎、过滤、浓缩、配制成含生药 1 g/ml 的药液,置 4℃ 保存备用。

## 2 方法

### 2.1 模型制作

小鼠常规饲养 3 天适应环境后,观察无异常者,于次日按 100 mg/kg 剂量腹腔注射环磷酰胺,连续 3 天,制成骨髓抑制模型小鼠。

### 2.2 分组与给药

实验分空白对照组、模型组、中药治疗组。造模完成后次日开始灌胃给药,中药治疗组给予补肾解毒活血中药汤液,空白对照组和模型组分别给予等体积的生理盐水,连续 10 天。

### 2.3 外周血细胞分析

每组随机抽取 10 只,于造模前 1 天及造模后第 1、3、5、7、10、14 天,每只实验小鼠尾静脉取血 20  $\mu\text{L}$ ,用 Sysmex-820 自动血细胞计数仪检测外周血细胞。

### 2.4 骨髓有核细胞计数及造血祖细胞培养

制模后第 11 天,颈椎脱臼处死小鼠,剥取股骨,用 6 号针头以 PBS 冲出骨髓细胞,再用 4 号针头过滤制成单个骨髓细胞悬液,在显微镜下按白细胞计数法进行骨髓有核细胞计数。按文献方法<sup>[4]</sup>进行集落培养,检测小鼠骨髓粒细胞-巨噬细胞集落生成单位(CFU-GM)、红细胞爆裂型集落生成单位(BFU-E)、定向体外红系集落形成单位(CFU-E)的生成能力。

### 2.5 统计学处理

运用 SPSS 17.0 统计学软件统计, 各组实验数据以均值±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。组间的差异显著性分析用  $F$  检验。

### 3 结果

#### 3.1 补肾解毒活血汤对血虚小鼠外周血象的影响

外周血白细胞(WBC), 模型组在造模后第 1 天降到最低点, 与空白对照组相比差异有非常显著性意义( $P < 0.01$ ), 造模后第 3 天仍低于空白对照组, 至第 5 天恢复正常, 但在第 7 天时出现明显高于正常组的“反跳”现象, 而中药治疗组在造模后第 3 天虽低于空白对照组( $P < 0.01$ ), 但明显高于模型组( $P < 0.01$ ), 第 5 天恢复正常且保持稳定。见表 1。

外周血血小板(PLT), 模型组在造模后第 5 天降到最低然后回升, 至第 10 天达到正常, 而中药治疗组自第 3 天即开始回升, 第 7 天时即与空白对照组持平, 且其最低值明显高于模型组( $P < 0.01$ )。见表 2。

各组红细胞变化不明显, 故省略表。

#### 3.2 补肾解毒活血汤对骨髓抑制小鼠骨髓有核细

#### 胞计数和造血祖细胞集落的影响

结果显示模型组小鼠 BMNC 和 CFU-GM、CFU-E、BFU-E 计数较空白对照组均明显减少( $P < 0.01$ ), 经补肾解毒活血汤中药汤液治疗后, 小鼠 BMNC 计数和 CFU-GM、CFU-E、BFU-E 较模型组明显增多( $P < 0.01$ )。

### 4 讨论

机体造血主要依靠造血祖细胞来扩增。造血祖细胞在多种造血因子的调控下进一步增殖分化, 不断发育形成各种成熟血细胞<sup>[5]</sup>。当受到化学药物等损伤时, 即会发生造血功能障碍, 其主要原因之一是杀伤了赖以维持造血功能的造血干/祖细胞<sup>[6]</sup>, 这是化疗药引起骨髓造血功能下降及外周血细胞减少的主要原因。各种血细胞对化疗药物的敏感性取决于它们的半衰期长短<sup>[7]</sup>。白细胞半衰期最短 6 小时, 故最易受到抑制, 引起白细胞减少; 血小板半衰期为 5~7 天, 亦较易引起减少; 而红细胞半衰期长达 120 天, 因此红系祖细胞数目减少常不易从外周血红细胞中表现出来。

表 1 补肾解毒活血汤对环磷酰胺致骨髓抑制小鼠外周血 WBC 的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10, 10^9/L$ )

组别	造模前	1 d	3 d	5 d	7 d	10 d	14 d
空白对照组	6.87±1.20	10.16±2.78	7.94±1.30	12.29±2.29	8.69±1.94	10.67±3.29	9.26±1.59
模型组	6.33±1.17	1.21±0.51 <sup>b</sup>	1.75±1.02 <sup>b</sup>	12.84±7.42	16.43±10.6	12.20±4.88	11.91±3.34
中药治疗组	6.09±0.99	1.03±0.44 <sup>b</sup>	3.79±1.76 <sup>bd</sup>	13.04±6.37	13.38±6.08	14.93±8.17	14.58±7.25

注: 与空白对照组比较<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较<sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$ 。

表 2 补肾解毒活血汤对环磷酰胺致骨髓抑制小鼠外周血 PLT 的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10, 10^9/L$ )

组别	造模前	1 d	3 d	5 d	7 d	10 d	14 d
空白对照组	1025.1±286.78	1056.90±195.09	956.60±147.83	1103.60±187.67	1072.70±157.32	1054.90±90.60	1278.00±308.77
模型组	990.9±100.84	940.7±228.34	629.20±111.71 <sup>b</sup>	373.10±140.16 <sup>b</sup>	740.90±448.68 <sup>a</sup>	1355.20±341.11 <sup>b</sup>	1054.00±295.70
中药治疗组	961.5±82.71	984.80±204.24	609.60±193.57 <sup>bd</sup>	668.70±208.14 <sup>bd</sup>	1166.90±353.09 <sup>bc</sup>	1042.80±298.99 <sup>c</sup>	1015.56±319.28

注: 与空白对照组比较<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较<sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$ 。

表 3 补肾解毒活血汤对造血祖细胞集落形成及骨髓有核细胞计数的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

分组	BMNC ( $\times 10^6$ )	CFU-GM	BFU-E	CFU-E
空白对照组	11.20±1.82	95.00±5.83	44.00±2.76	70.33±2.42
模型组	4.13±1.22 <sup>b</sup>	58.17±6.49 <sup>b</sup>	10.17±1.72 <sup>b</sup>	30.00±3.35 <sup>b</sup>
中药治疗组	8.60±1.87 <sup>bd</sup>	86.50±3.78 <sup>ad</sup>	18.00±1.79 <sup>bd</sup>	61.00±4.10 <sup>bd</sup>

注: 与空白对照组比较<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较<sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$ 。

文献标引格式:

赵静梅, 杨旭辉, 王广占, 等. 补肾解毒活血汤对骨髓抑制小鼠造血功能的影响[J]. 环球中医药, 2012, 5(1): 12-15.



中医学认为血液的生成与心、脾、肾等多脏腑有关,其中与肾的关系最为密切。因肾藏精,主骨生髓,精髓化生血液。即《景岳全书》中“肾为水脏,主藏精而化血”。《张氏医通》中亦有“血之源头出于肾”之说。因此补肾法是临床常用的治疗化疗后骨髓抑制的方法。但临床上单用补肾法治疗常难以获得预期疗效,结合该病的临床表现和临床治疗经验,笔者认为化疗药物为热毒之品,邪毒内侵,热毒内蕴,瘀阻骨髓脉络,导致气血瘀滞,因此在补肾法的基础上结合解毒和活血法治疗本病,才能达到邪去而元气自复,瘀去而气血畅通的效果。方中熟地甘温,补血养阴,填精益髓,善补肾阴,为补肾阴之要药,《本草纲目》称其能“填骨髓,长肌肉,生精血,补五脏内伤不足”,何首乌补肝肾、益精血,治血虚萎黄。《本草纲目》谓其能养血益肝、固精益肾。肉苁蓉甘温助阳,为补肾阳、益精血之良药,三药平补肾之阴阳,药性平和,为补肾之良药。苦参苦寒,能清热燥湿解毒,白花蛇舌草也有较强的清热解毒作用,清除蕴积于体内的邪热和毒邪。川芎活血行气为血中之气药,当归补血活血,丹参活血调经,祛瘀止痛,即“一味丹参散,功同四物汤”。三药活血化瘀而生新,共同达到治疗骨髓抑制的效果。

表 1、表 2 表明,中药治疗组可以促进 WBC 的恢复,且相对于模型组来说其恢复过程较稳定;效果更为明显的是,中药治疗组血小板降低幅度小、持续时间短,因而提示补肾解毒活血法尤其能提高环磷酰胺所致骨髓抑制情况下的血小板再生。表 3 表明,环磷酰胺可以引起红系、粒系造血功能的下降,但由于红细胞半衰期长达 120 天,本实验外周血中未出现明显变化,而补肾解毒活血法可显著升

高 BFU-E、CFU-E 和 CFU-GM 集落产率,从而促进红系和粒单系造血能力的恢复。这可能是其治疗化疗后骨髓抑制的有效环节。

本实验还发现,该种造模方法动物恢复快,引起的骨髓抑制持续时间短,而由于中药作用时间长、起效慢,因而难以很好地反映出中药防治化疗后骨髓抑制的比较优势;另一方面,由于红细胞半衰期长达 120 天,本实验中未出现明显变化,临床上反复化疗而引起的贫血也未出现,故有必要考虑进一步改进造模方法。

综上所述,本实验结果提示补肾解毒活血法治疗骨髓抑制可通过增加骨髓造血祖细胞数量,从而促进环磷酰胺致骨髓抑制小鼠外周血 WBC、PLT 的稳定恢复。

## 参 考 文 献

- [1] 刘启华,王旭. 益气补血汤治疗化疗后白细胞减少 89 例疗效观察[J]. 中国中医药科,2007,14(6):447.
- [2] 苗文红. 补肾健脾法治疗肿瘤放疗后骨髓抑制 98 例[J]. 陕西中医,2000,21(7):289.
- [3] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1996:11103.
- [4] 刘秀珍. 造血祖细胞培养技术实验手册[M]. 北京:北京出版社,1993:25.
- [5] 牛泱平,陈小红,宋必卫,等. 人参二醇、三醇皂苷对小鼠骨髓造血干/祖细胞体外增殖的影响[J]. 中国药理学通报,2004,20(11):1316-1317.
- [6] 邹仲敏,孙慧勤,罗成基. 6Gy $\gamma$  射线照射诱导骨髓造血细胞凋亡[J]. 中华放射医学与防护杂志,1998,18(6):390-392.
- [7] 刘新春,程玉峰,李德爱. 实用抗肿瘤药物治疗学[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:1078.

(收稿日期: 2011-08-07)

(本文编辑: 秦楠)

## · 信息之窗 ·

### 《中国医学创新》杂志 2012 年征订函

《中国医学创新》杂志是中华人民共和国卫生部主管,《中国医学创新》杂志社编辑出版的国家一类医学科技综合性学术期刊。本刊已被万方数据数字化期刊群、中国核心期刊(遴选)数据库全文收录。现为旬刊,国际标准刊号 ISSN 1674-4985 国内统一刊号 CN11-5784/R 邮发代号 82-189。每期定价 15.00 元,全年 540 元(包邮资),全国邮局发行。

主要栏目:论著、临床研究、基础研究、卫生管理、护理园地、影像与检验、经验交流、学术讲座、医药之窗、医学综合、个案报道等栏目。根据全国继续医学教育委员会的《继续医学教育学分授予与管理办法》学分授予标准,在本刊发表的论文可获得国家级继续教育学分。

本刊每月 5 日、15 日、25 日出版,全年 36 期,对省级以上科研基金项目论文予以优先发表。《中国医学创新》杂志常年接受读者订阅,预订者可直接向本刊通联部办理邮购订阅业务,或直接在当地邮局订阅。本刊通联部同时接受破月订阅和补缺。欢迎各医学院校、医药厂家、医学工作者订阅和刊登广告。

地址:北京市丰台区菜户营 58 号财富西环 15A05 室《中国医学创新》通联部

邮编:100054 邮箱:zgyxcx01@163.com 电话:010-63357546 传真:010-51112832 网址:www.zgyxcx.com

文献标引格式:

赵静梅,杨旭辉,王广占,等. 补肾解毒活血法对骨髓抑制小鼠造血功能的影响[J]. 环球中医药,2012,5(1):12-15.