

穿骨益髓丸对小鼠造血系统等功能的影响

段泾云 陈瑞明 魏绪仓* 等

(陕西省中医药研究院 西安 710003)

摘要 通过骨髓细胞培养发现穿骨益髓丸体外可促进骨髓有核细胞和网织红细胞的生长。对⁶⁰Co 辐射及环磷酰胺 120mg/kg i. p. 所致小鼠贫血模型,穿骨益髓丸 2.6g/kg 和 5.2g/kg 剂量可明显增加贫血小鼠 RBC、Hb、WBC 及 BPC 数量。另外,该药还能增强小鼠抗疲劳、耐缺氧能力,并增进小鼠免疫功能。

关键词 穿骨益髓丸 贫血模型 骨髓有核细胞 网织红细胞

Pharmacological Effects of Chuangu Yisui Pill

Duan Jingyun, Chen Ruiming, Wei Xucang, * et al

(Shaanxi Academy of T. C. M. Xian 710003)

(* Institute of Hematology of Shaanxi. Xian, 710003)

Abstract: Chuangu Yisui Pill (CGYSP) was found to promote growth of nucleated cells in bone marrow and reticulocyte in an vitro bone marrow culture. At a dose of 2.6g/kg or 5.2g/kg CGYSP significantly increased the number of RBC, Hb, WBC and BPC in mice with anaemia induced by ⁶⁰Co - irradiation and cytoxan 120mg/kg i. p. In addition, the preparation could enhance fatigue - resistant and hypoxia - tolerant capacities, and augment immunological function in mice.

Key words: Chuangu Yisui Pill, Anaemia, Nucleated Cells in Bone Marrow, Reticulocyte

穿骨益髓丸是由穿山甲、骨碎补、鹿角胶等 10 多味中药组成的复方水泛丸制剂。经陕西省血液病研究所临床使用多年,对治疗再障性贫血及放疗化疗所致三系细胞减少疗效满意。对其药效学研究报告如下。

1 实验材料

1.1 药品 穿骨益髓丸,200 粒/瓶相当生药 45g/瓶。口服一次 30 丸,一日二次,连服二月为一疗程。实验用其 50% 水提液。环磷酰胺 (CY),上海第十二制药厂出品,批号 930414。红细胞刺激因子(EPO)日本 TOXOBO 出品;1640 培养液(RPML)U. S. A. GLBC 出品;人胎盘条件培养液(PCM5%、Dulbecos C - S、2

× 10⁵/dish、Agar1 1.5%),0.5% 琼脂。

1.2 动物 ICR 品系小白鼠,体重 20 - 23g,♀♂ 各半,由本院动物研究室提供。

2 实验方法和结果

2.1 对⁶⁰Co 辐射小鼠 RBC、Hb、WBC、BPC 及网织红细胞、骨髓有核细胞数的影响 取小鼠 40 只随机分为 4 组。除对照组外,其余各组均以⁶⁰Co 射线 360R 照射后,按表 1 剂量给药。每日灌胃 1 次,连续 12 日。未次给药后 1h,眼眶取血,一部分按常规方法测 RBC、Hb、WBC、BPC 数;另一部分按煌焦油染色法^[1],测网织红细胞数。同时取各组小鼠右股骨 1.5cm,以 3% 乙酸 10ml 冲洗出骨髓内细胞,

* 陕西省血液病研究所

在计数盘内计数四大方格内的细胞数,所得数×2.5×10⁴即为—根股骨中的骨髓有核细胞数。结果表明,⁶⁰Co 辐射组小鼠三系细胞明显

下降,网织红细胞数及骨髓有核细胞数明显减少。穿骨益髓丸可明显对抗⁶⁰Co 辐射造成的三系细胞降低及骨髓造血功能的损伤。详见表1。

表1 穿骨益髓丸对外周血细胞及骨髓造血功能的影响($\bar{X} \pm SD$)

| 分组 | 剂量 g/kg | RBC (×10 ¹² /L) | Hb (g/L) | WBC (×10 ⁹ /L) | BPC (×10 ⁹ /L) | 网织红细胞 (%) | 骨髓有核细胞 (×10 ⁵) |
|----------------------|------------|-------------------------------|-----------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------|-------------------------------|
| 对照组 | | 8.0±0.5 | 121±9.2 | 7.4±0.5 | 287±27 | 3.7±1.3 | 106±16.1 |
| ⁶⁰ Co 辐射组 | | 7.1±0.6 [△] | 91.7±7.5 [△] | 6.0±0.6 [△] | 230±21 [△] | 1.1±0.9 [△] | 31.8±12.5 [△] |
| ⁶⁰ Co+药物组 | 2.6 | 7.8±0.7* | 102±0.8** | 6.5±0.5* | 256±21* | 2.0±1.2 | 36.8±10.2 |
| | 5.2 | 8.0±0.4** | 103±8.6** | 6.5±0.5* | 255±24* | 2.7±1.1** | 45.1±11.4* |

注:n=10 与对照组相比[△]P<0.01,与⁶⁰Co 组相比 *P<0.05, **P<0.01

2.2 对化学损伤所致贫血小鼠外周血细胞数及骨髓造血功能的影响 取小鼠40只,随机分为4组,除对照组外,均以环磷酰胺(cy) ip120mg/kg×3d,给药组同时以穿骨益髓丸2.6g/kg和5.2g/kg灌胃。每日1次连续12

日,末次给药1h眼眶取血,按常规方法测RBC、Hb、WBC、BPC数。同时按上述方法测网织红细胞及骨髓有核细胞数。结果表明,穿骨益髓丸可明显对抗cy引起的三系细胞降低及骨髓造血功能抑制。详见表2。

表2 穿骨益髓丸对化学损伤小鼠外周血细胞及骨髓造血功能的影响($\bar{X} \pm SD$)

| 分组 | 剂量 g/kg | RBC (×10 ¹² /L) | Hb (g/L) | WBC (×10 ⁹ /L) | BPC (×10 ⁹ /L) | 网织红细胞 (%) | 骨髓有核细胞 (×10 ⁵) |
|--------|------------|-------------------------------|-----------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------|-------------------------------|
| 对照组 | | 7.7±0.7 | 125±11 | 9.5±1.2 | 307±29 | 3.3±1.3 | 97.3±25.3 |
| CY组 | 0.12 | 6.8±0.7 [△] | 110±10.4 [△] | 6.2±1.3 [△] | 206±74 [△] | 1.1±0.9 [△] | 18.5±3.4 [△] |
| CY+药物组 | 2.6 | 8.0±0.6* | 127±10.2* | 9.3±0.8* | 311±24** | 2.1±1.1 | 23.6±3.0 |
| | 5.2 | 8.3±1.4** | 132±22.6* | 9.9±1.6* | 297±29* | 2.3±1.4 | 25.1±3.9 |

注:n=10 与对照组相比[△]P<0.01,与CY组相比 *P<0.05, **P<0.01

2.3 对小鼠红系祖细胞(CFU-E)及粒系祖细胞(CFU-GW)的影响^[2] 取ICR小鼠16只,脱臼处死后,在灭菌条件下摘取股骨1.5cm,以RPML培养液冲洗出骨髓细胞,配成2×10⁵/ml浓度。将培养体系1ml注入35mm的培养皿中,加入骨髓细胞悬液1.0ml,摇匀。放CO₂培养箱中在37C、饱和湿度下培养7d。给药组培养皿中加入灭菌处理的50%穿骨益髓丸水提液10g/kg,对照组不加。7d后,在倒置显微镜下观察≥8个细胞的细胞团为1个集落,代表1个红系祖细胞;计数≥40

个细胞的细胞团为1个粒系祖细胞。结果表明,穿骨益髓丸组CFU-E集落数及CFU-GM集落数明显多于对照组,详见表3。

表3 穿骨益髓丸对小鼠红系祖细胞及粒系祖细胞的影响($\bar{X} \pm SD$)

| 分组 | 剂量 kg/kg | 动物 数 | CFU-E 集落数 | CFU-GM 集落数 |
|--------|-------------|---------|--------------|---------------|
| 对照组 | | 10 | 49±9 | 105±31 |
| 穿骨益髓丸组 | 10 | 10 | 58±8* | 135±23** |

*P<0.05, **P<0.01

2.4 对失血性贫血小鼠免疫功能的影响 选

小鼠 40 只,随机分为 4 组,除对照组外,均采用眼眶放血 0.5ml/只,连续 2 次造成失血性贫血。按表 4 所列剂量灌胃给药,每日 1 次,连续 10 日,末次给药后 0.5h,按照碳廓清实验方法^[4]测定各组小鼠血清碳廓清速率,求出吞噬指数 k 值。结果表明,穿骨益髓丸能明显提高贫血小鼠的吞噬功能。

表 4 对贫血小鼠吞噬功能的影响($\bar{X} \pm SD$)

| 分组 | 剂量 (g/kg) | 动物数 (只) | 吞噬指数 k 值 $\times 10^{-2}$ |
|---------|--------------|------------|------------------------------|
| 对照组 | 20ml/kg | 10 | 3.6 \pm 1.3 |
| 贫血组 | | 10 | 2.3 \pm 0.4 ^c |
| 贫血 + 穿骨 | 2.6 | 10 | 2.9 \pm 0.7 * |
| 益髓丸组 | 5.2 | 10 | 3.3 \pm 0.6 * * |

与对照组比 $\Delta < P < 0.01$ 与贫血组比 * $P < 0.05$

* * $P < 0.01$

2.5 抗疲劳作用 小鼠 30 只,随机分为 3 组,按表 5 所列剂量灌胃给药,每日 1 次,连续 7 日。按文献方法测小鼠游泳时间,结果表明,穿骨益髓丸可明显延长小鼠游泳时间,提高小鼠耐疲劳能力。

2.6 对小鼠常压耐缺氧的影响 分组及给药量同上。按实验方法学测小鼠缺氧存活时间。结果表明,穿骨益髓丸可明显增加缺氧小鼠存活时间(见表 5)。

表 5 对小鼠游泳时间及缺氧存活时间的影响($\bar{X} \pm SD$)

| 分组 | 剂量 (g/kg) | 动物 数 | 游泳时间 (s) | 缺氧存活时间 (min) |
|-------|--------------|---------|----------------------|--------------------|
| 对照组 | 20ml/kg | 10 | 253.3 \pm 47.6 | 9.9 \pm 1.5 |
| 穿骨益髓丸 | 2.6 | 10 | 309.6 \pm 36.1 * | 14.7 \pm 1.3 * * |
| | 5.2 | 10 | 324.5 \pm 42.8 * * | 18.9 \pm 4.0 * * |

与对照组相比, * $P < 0.05$, * * $P < 0.01$ 。

3 讨论

实验结果表明,穿骨益髓丸对骨髓造血粒系祖细胞 CFU - GM, 红系祖细胞 CFU - E 的生长有明显促进作用。能显著提高由⁶⁰Co 辐射及 CY 抑制的小鼠网织红细胞及骨髓有核细胞的数量,同时对抑制的外周血中三系细胞降低有明显复常作用,反映了该方药补肾益髓生血的本质。另外该方药还具有抗疲劳、耐缺氧及增强免疫功能的作用,表明了该药扶正固本的内涵。为治疗再障及放疗化疗所致三系细胞下降,提供了实验依据。

致谢:陕西省中医药研究院临床检验医师刘旺轩做了部分工作,特表感谢。

参 考 文 献

- (1)李仪奎等, 中药药理实验方法学, 上海:上海科技出版社, 1991: 252
- (2)陈奇, 中药药理研究方法学, 北京:人民卫生出版社, 1993: 1012
- (3)陈叔云等, 药理实验方法学第 2 版, 北京:人民卫生出版社, 1991: 1233