

养阴生血饮防治辐射损伤的实验研究*

吴振宇 张 杰 王正森 李承军 吴志奎 陆 军

(中国中医研究院广安门医院基础医学研究室 北京 100053)

摘要 采用钴照射的动物模型及其体外生化及免疫分析方法,探讨了养阴生血饮的药理作用。结果表明养阴生血饮能提高致死剂量照射动物 30d 和小剂量多次照射 60d 及荷瘤小鼠 1 次照射后 20d 的存活率;能增加超氧化物歧化酶的活性;降低过氧化脂质的水平;减少细胞的微核形成;促进脾细胞 DNA 修复;诱导脾细胞产生白细胞介素-2;保护骨髓造血功能。

关键词 养阴生血饮 辐射损伤 DNA 修复 白细胞介素-2 微核形成

An Experiment Study on the Radioprevention of Yangyin Shengxie Formula

Wu Zhenyu, Zhang Jie, Wang Zhensen, Li Chengjun, Wu Zhikui, Lu Jun

(Department of Basic Medicine, Guang Anmen Hospital,
China Academy of TCM, Beijing, 100053)

Abstract: The pharmacological effect of Yangyin Shengxie Formula (YYSXF) was investigated in the experimental animals irradiated with the $^{60}\text{Co}-\gamma$ rays and in an in vitro biochemical and immunological systems. The results showed YYSXF could raise survival rate of the mice after irradiation, increase activity of superoxide dismutase (SOD) and reduce quantity of the lipid peroxide (LPO) in liver and red blood cell, extenuate micronucleus forming in V79-4 cell, promote unscheduled DNA synthesis and induce production of interleukin-2 in spleen cells and protect bone marrow cells in mice.

Key words: Yangyin Shengxie Formula, radioprevention, unscheduled DNA synthesis, interleukin-2, micronucleus forming

据资料报道,全世界每年约 600 万人患癌症,患病率高达 326.8~372.2 人/10 万人口。癌症的治疗约 70% 需要放射治疗。放射治疗可引起局部反应和全身反应,可直接损伤 DNA、蛋白质和酶,也继发产生一些辐射反应毒素,间接导致生物大分子、细胞结构的

破坏和骨髓造血功能的损伤^[1]。近十年来不少学者都在努力寻找一种具有抗辐射损伤、而且无毒副作用的药物。目前国际上公认的防治药物是 WR-2721[即 S-2(3 氨基丙基氨基乙基硫代磷酸)],但此药有升高血压,导致呕吐、嗜睡等毒副作用^[2]。

中医把放射反应视为“火、热”之邪,导致肝肾阴虚、脾胃不和,气血亏虚。临床上出现

口干咽燥,食欲下降,倦怠无力。治疗常采用滋阴清热,健脾和胃,补气生血^[3]。养阴生血饮是从临床上多年治疗该病有效方药中筛选出的较佳良方。为了探讨其药理学作用,特进行了如下实验研究。

1 实验材料

1.1 药物 养阴生血饮由黄芪、生地、当归、川芎等7味中药组成。吉林省通化白山制药三厂,按正式工艺生产的中试产品,批号880310和930315,制剂标量50ml/瓶,含生药2.1g/ml,含黄芪甲甙不少于9.0mg/50ml药液。西药WR-2721由军事医学科学院合成,生产日期1988年。二巯基苏糖醇(DTT)和刀豆素(ConA),美国Sigma公司产品,利血生,中外合资镇江吉贝尔药业有限公司产品。

1.2 动物 LACA品系小鼠,18g~20g,雌雄各半,军事医学科学院提供,Wistar大鼠,体重180g~200g,雌雄各半,医学科学院动物中心提供。

2 实验方法

2.1 动物受照后存活率的观察 ①采用致死剂量照射(800cGy 1次照射),剂量率178cGy/min,照前1h LACA小鼠灌胃养阴生血饮0.6ml和0.4ml/20g动物(相当于63g生药/kg和42g生药/kg)。阳性对照药400mg/kg(ip),对照组为同体积水。照后继续给药5d,观察30d内动物的存活率。②小剂量多次照射(100cGy×6d)。动物、药物和给药剂量同①,照后观察30d和60d动物的存活率。③荷瘤动物照射后生存率的观察,采用昆明种小鼠,接种S₁₈₀瘤株,分组与用药量同①,所有实验动物每天给药1次,连续5d,照射前1h再给药1次,照射剂量750cGy,剂量率190cGy/min,照后继续给药3d,观察20d内动物死亡情况。

2.2 超氧化物歧化酶和过氧化脂质的测定^[4] Wistar大鼠,照前1h分别按1.5ml/100g和1.0ml/100g灌胃,WR-2721为

400mg/kg(ip),对照同体积水,照射剂量800cGy,剂量率181cGy/min,照后继续给药3d,第4d取动物肝组织及红细胞测定。

2.3 细胞中微核的检测,受照后V79-4细胞中微核的检测按汪有蕃等方法^[5]进行。

2.4 脾细胞DNA修复试验按国体健等方法^[6]进行。

2.5 肠系膜淋巴结增殖试验按王正森方法^[7]进行。

2.6 脾细胞产生白细胞介素-2的测定按王正森等方法^[8]进行。

2.7 脾结节生成试验按管思南等方法^[9]进行。

2.8 外周血白细胞的计数按常规方法进行。

3 结果与分析

3.1 养阴生血饮对照射动物存活率的影响

3.1.1 800cGy照后小鼠30d存活率的影响

见表1。结果表明养阴生血饮2个剂量都能提高照后动物的生存率。

表1 养阴生血饮对800cGy照射小鼠30d存活率的影响

组别	剂量 g/kg	n	30d 存活率 %	提高存活率 %
养阴生血饮	63	20	60.3 ^{*Δ}	57.0
养阴生血饮	42	20	50.1 ^{*Δ}	46.8
WR-2721	0.4	20	89.4 [*]	86.1
对照		20	3.3	0

χ^2 检验 与对照比较^{*} $P<0.001$;与WR-2721比较^Δ $P<0.01$

3.1.2 小剂量(100cGy×6d)多次照射30d和60d存活率的影响 见表2。结果提示模仿临床肿瘤小剂量多次照射方式,较800cGy一次照射30d内提高动物存活率,中药组的作用明显提高,似更显中药养阴生血饮的优势。

表2 养阴生血饮对100cGy小剂量多次照射后小鼠30d、60d存活率的影响

组别	药物剂 量 g/kg	n	30d 存 活率 %	提高存 活率 %	60d 存 活率 %	提高存 活率 %
养阴生血饮	63	20	100	20	86.6	63.6 ^{*Δ}
养阴生血饮	42	20	100	20	85.4	62.4 ^{*Δ}
WR-2721	0.4	20	100	20	99.5	76.5 [*]
对照		20	80	0	23.0	0

χ^2 检验 与对照比较^{*} $P<0.01$;与WR-2721比较^Δ $P<0.05$

3.1.3 对荷瘤动物照射后 20d 存活率的影响 结果见表 3。表中结果提示养阴生血饮大剂量能提高荷瘤小鼠 750cGy 照射后的存活率。

表 3 养阴生血饮对 750cGy 照射后荷瘤小鼠 20d 存活率的影响

组别	剂量 g/kg	n	20d 内动物状况		
			死亡数	存活数	平均存活日(d)
养阴生血饮	63	30	11(37%)	19(63%)*	12.4
养阴生血饮	42	30	16(53%)	14(47%)	8.7
利血生	0.005	30	15(50%)	15(50%)	9.7
对照		30	19(63%)	11(37%)	7.2

χ^2 检验 与对照比较 * $P < 0.05$

3.2 养阴生血饮对照射所致有害自由基引起的 SOD 和 LPO 的变化 见表 4。结果提示中、西药均能提高肝组织和红细胞中 SOD 活性,以中药大剂量为优。LPO 抑制作用西药效果更佳。

表 4 养阴生血饮对 800cGy 照射后大鼠肝和红细胞 SOD、LPO 活性的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 g/kg	SOD 活性 (U/g 肝组织)	SOD 活性 (U/gRBCpro)	LPO 抑制率%
养阴生血饮	63	1659.9 ± 292.5*** [#]	1302.4 ± 215.4*	56.7**
养阴生血饮	42	1476.6 ± 282.5*	1245.1 ± 215.4*	48.6**
WR-2721	0.4	1322.4 ± 210.2*	1166.7 ± 196.1	63.3**
对照		1110.1 ± 182.5	1014.8 ± 239.8	0

t 检验 与对照比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;

与西药比较 [#] $P < 0.05$; n=10

3.3 养阴生血饮对放射所致细胞损伤的保护作用

3.3.1 养阴生血饮对 150cGy 照射后 V79-4 细胞微核形成的影响 见表 5。结果表明中药和西药均可减少放射所致细胞微核形成。

表 5 养阴生血饮对 150cGy 照射后中国地鼠 (V79-4) 细胞微核形成的影响

组别	剂量 $\mu\text{g/ml}$	正常细胞	微核形成数 (/500 细胞)	%	χ^2 值
养阴生血饮	2	486	14	2.9	10.19
养阴生血饮	10	492	8	1.6	18.64
养阴生血饮	50	492	8	1.6	18.64
DTT	1mM	485	15	3.4	9.11
对照	培养液	464	36	7.2	
未照射			0	0	

与对照比较均 $P < 0.05$

3.3.2 养阴生血饮对 500cGy 照射后小鼠脾细胞非程序 DNA 修复的作用 见表 6。结果提示养阴生血饮可明显促进受照后脾细胞 DNA 修复,小剂量组作用更明显。

表 6 养阴生血饮对 500cGy 照射后小鼠脾细胞非程序 DNA 的修复作用($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 g/kg	n	³ H-TdR 掺入 cpm
养阴生血饮	63	18	1339 ± 528*
养阴生血饮	42	18	1638 ± 439**
WR-2721	0.4	17	1276 ± 526*
对照		20	901 ± 496

与对照比较 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

3.3.3 养阴生血饮对 600cGy 照射后小鼠脾细胞产生白细胞介素-2 的作用 见表 7。结果提示脾细胞产生白细胞介素-2 的能力,虽不能使之恢复到正常水平,但可达 50% 左右。

表 7 养阴生血饮对 600cGy 照射后小鼠脾细胞产生 IL-2 的作用

组别	剂量 g/kg	n	³ H-TdR 掺入 cpm ($\bar{x} \pm s$)
养阴生血饮	63	12	59938 ± 7109* [#]
养阴生血饮	42	12	44356 ± 6985* [#]
WR-2721	0.4	15	41910 ± 8706* [#]
对照		10	8830 ± 1348*
正常未照射		10	99376 ± 7109 [#]

与正常未照射比较 * $P < 0.01$,与对照比较[#] $P < 0.001$

3.3.4 养阴生血饮对照射后小鼠脾结节生成的影响 见表 8。结果提示养阴生血饮能保护骨髓造血功能。

表 8 养阴生血饮对不同照射后小鼠外源性脾结节生成的影响

组别	剂量 g/kg	外源性脾结节生成个/脾 ($\bar{x} \pm s$)			
		n	750cGy	n	650cGy
养阴生血饮	63	15	5.6 ± 0.8**	10	19.6 ± 3.4**
养阴生血饮	42	15	3.4 ± 0.8*	10	18.3 ± 5.2**
WR-2721	0.4	15	3.7 ± 0.8*	10	15.0 ± 4.8*
对照		15	0.4 ± 0.2	10	10.6 ± 2.7

与对照比较 * $P < 0.01$, ** $P < 0.001$ (下表同)

3.3.5 养阴生血饮对 800cGy 照射后小鼠淋巴细胞增殖的影响 见表 9。结果提示养阴生血饮能显著保护淋巴细胞的活性。

表9 养阴生血饮对 800cGy 照射后动物
淋巴细胞增殖的影响

组别	剂量 g/kg	n	³ H-TdR 掺入 cpm($\bar{x} \pm s$)
养阴生血饮	63	15	4327 ± 646 *
养阴生血饮	42	15	3824 ± 576 *
WR-2721	0.4	15	3755 ± 451 *
对照组		15	1533 ± 459

3.3.6 养阴生血饮对 800cGy 照射后白细胞的变化 见表 10。结果表明给药组照后 13d 白细胞下降一半左右, 30d 可恢复至 70% 左右。但恢复状况不及西药。

表 10 养阴生血饮对 800cGy 照射后小鼠白细胞的保护作用

组别	剂量 g/kg	n	照后不同时间白细胞的数量变化 $1 \times 10^9/L$		
			0	13	30(d)
养阴生血饮	63	10	9.80 ± 1.73	4.53 ± 1.27 **	7.31 ± 1.27
养阴生血饮	42	10	10.30 ± 1.40	4.85 ± 1.31 **	6.95 ± 1.38 ^Δ
WR-2721	0.4	10	9.78 ± 0.91	5.15 ± 1.13 **	8.10 ± 1.71
对照		10	9.35 ± 1.35	0.80 ± 0.31	

与对照比 ** $P < 0.01$, 与西药比 $\Delta P < 0.05$

4 讨论

动物致死剂量照射后的存活率是宏观考查防护剂的整体效应。养阴生血饮 800cGy 照射动物存活率可提高 50% 左右, 与 WR-2721 组的 86% 比较有差异, 但小剂量多次照射 60d 存活率的比较显示两组差异缩小, 加之荷瘤小鼠照后 20d 存活率也表明养阴生血饮效果高于利血生, 三者综合评价养阴生血饮有良好的抗辐射损伤的效能。

SOD 和 LPO 试验结果分析, 养阴生血饮是提高 SOD 活性为主来降低 LPO 水平, 而 WR-2721 是抑制 LPO 生成为主, 如果将两种药物兼用效果可能会更理想。

放射最敏感的是骨髓细胞、淋巴细胞和白细胞, 通过 V79-4 细胞照射后微核形成数; 脾细胞照后 DNA 修复和白细胞介素-2

生成量; 鼠照后 4h 肠系膜淋巴细胞增殖的活性; 骨髓细胞的脾结节生成和外周血白细胞不同时间的恢复能力综合分析, 可表明养阴生血饮生血效应明显, 对放射所致的免疫功能低下, 白细胞下降有明显的作。

参考文献

- 1 谷铎之著. 肿瘤放射治疗学. 北京: 人民卫生出版社, 1983. 173~219
- 2 杜德林, 葛忠良. WR-2721 的抗辐射作用与临床的展望. 国外医学 放射医学分册, 1980(2): 83~87
- 3 张代钊. 扶正解毒冲剂对头、颈、胸恶性肿瘤放射减毒效应的临床和实验研究. 中日友好医院文集, 1986. 3
- 4 周浔, 方充中. WR-2721 对辐射所致脂类过氧化的影响 I, 全身照射小鼠组织中脂类过氧化值. 辐射研究与辐射工艺学报, 1985, 13(4): 25~28
- 5 汪有蕃, 丁丽华, 贾廷珍. 急性和亚急性照射红细胞微核测定实验研究. 中华放射医学与防护杂志, 1986(1): 68
- 6 国体健, 张志兴. 小鼠淋巴细胞 UDS 的研究及其在辐射生物效应中的应用. 中华放射医学与防护杂志, 1985(6): 427~428
- 7 王正森, 吴振宇. 养阴合剂抗辐射效应和淋巴细胞转化影响的初步研究. 中药通报, 1982(5): 33~35
- 8 王正森, 吴振宇, 鲁杰. 抗毒生血饮对辐射小鼠脾细胞产生白细胞介素-2 的影响. 中西医结合杂志, 1993(12): 741~743
- 9 管思南, 吴蔚. 甘露聚糖对小鼠免疫和造血功能的促进作用. 中华放射医学与防护杂志, 1986(5): 339~341

(收稿: 1998-03-06)