

# 三类传统方剂治疗5-氟尿嘧啶所致大鼠贫血的研究

田宇楠<sup>1</sup>, 向玉珂<sup>1</sup>, 王涛<sup>1</sup>, 杨鲜<sup>1</sup>, 祝慧凤<sup>1\*</sup>, 万东<sup>2\*</sup>

(1. 西南大学药学院, 重庆 400715;

2. 重庆医科大学附属第一医院, 重庆 400016)

**[摘要]** **目的:**比较四物汤、四君子汤和八珍汤对贫血(血虚证)大鼠的治疗作用和可能机制,初步探索补血、补气和气血双补方剂对中医血虚证型的疗效差异与作用机制。**方法:**将SD大鼠随机分为正常组、模型组、八珍汤组、四物汤组和四君子汤组(2.3, 3.0, 1.2 g·mL<sup>-1</sup>), 每组8只。除正常组外,其他4组按大鼠体重150 mg·kg<sup>-1</sup>尾静脉注射5-氟尿嘧啶(5-FU)造模,观察3种方剂对贫血大鼠的外观体征、脾指数和胸腺指数,红细胞(RBC),血红蛋白(HGB),血小板(PLT),白细胞(WBC)数量,网织红细胞和骨髓象的影响,并应用RT-PCR技术检测肝肾中促红细胞生成素(EPO)mRNA含量。**结果:**与正常组比较,模型组脾指数和胸腺指数明显降低,RBC,HGB,PLT,WBC数量明显降低( $P < 0.01$ ),骨髓增殖能力降低,EPO mRNA的表达降低;与模型组比较,八珍汤与四物汤组明显改善贫血大鼠外观、提高脾指数和胸腺指数,升高RBC,HGB,PLT,WBC数量( $P < 0.05, P < 0.01$ ),提高骨髓增殖能力,并上调EPO mRNA的表达。**结论:**三方中,气血双补方剂(八珍汤)疗效最好,补血方剂(四物汤)疗效优于单纯补气(四君子汤)组,实验结果为补气、补血、气血双补治疗血虚疾病提供了实验依据,一定程度上说明了临床治疗贫血症(血虚证)辨证施治理论的合理性。

**[关键词]** 5-氟尿嘧啶; 血虚; 四物汤; 四君子汤; 八珍汤; 贫血; 骨髓抑制

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)23-0139-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2015230139

## Experiment of Three Traditional Chinese Prescriptions in Inhibiting 5-fluorouracil-induced Rats Anemia

TIAN Yu-nan<sup>1</sup>, XIANG Yu-ke<sup>1</sup>, WANG Tao<sup>1</sup>, YANG Xian<sup>1</sup>, ZHU Hui-feng<sup>1\*</sup>, WAN Dong<sup>2\*</sup> (1. School of Chinese Medicine, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the effects and possible mechanism of Siwu Tong (SWT), Sijunzi Tang (SJZT), and Bazhen Tang (BZT) in anemia (blood deficiency syndrome) rats induced by 5-fluorouracil (5-FU) and preliminarily explore the effect difference and action mechanism of blood replenishing prescription, qi tonifying prescription as well as blood and Qi double replenishing prescription. **Method:** SD rats were randomly divided into normal group, model group, Bazhen Tang group, Siwu Tang group and Sijunzi Tang group (2.3, 3.0, 1.2 g·mL<sup>-1</sup>), 8 rats for each group. Rats in other 4 groups except normal group were modeled by intravenous injection at tail at 150 mg·kg<sup>-1</sup> 5-FU. Effect of the three prescriptions on appearance of anemia rats, spleen index and thymus index, red blood cells (RBC), hemoglobin (HGB), platelet (PLT), white blood cells (WBC) count, reticulocyte and myelogram was observed, and reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) was applied for determining the expression of EPO mRNA in kidney and liver. **Result:** Compared with normal group, spleen index and thymus index were significantly reduced in model group, RBC, HGB, PLT, and WBC counts were significantly reduced ( $P < 0.01$ ), bone marrow proliferation ability was reduced, and EPO mRNA expression was reduced. Compared with the model group, BZT group and SWT group could significantly improve

**[收稿日期]** 20141009(018)

**[基金项目]** 国家大学生创新训练项目(201310635015)

**[第一作者]** 田宇楠,主要从事中药药理学和血液学疾病的研究, Tel:023-68251225, E-mail: tianyunan09@sina.com

**[通讯作者]** \* 祝慧凤, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事中药治疗脑血管疾病、中药药理学及新药研发工作, Tel:023-68251225, E-mail: zhfbsci@126.com; \* 万东, 博士, 副主任医师, 副教授, 从事重症医学、脑血管疾病及中药药理学及新药研发工作, Tel:023-68251225, E-mail: wandongcqykd@126.com

the appearance of anemia rats, increase spleen index and thymus index, increase RBC, HGB, PLT and WBC counts ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), improve the ability of bone marrow proliferation, and up-regulate EPO mRNA expressions. **Conclusion:** Blood and Qi double replenishing prescription (Bazhen Tang) among these three prescriptions has the best curative effect. Blood replenishing prescription (Siwu Tang) has better effect than Qi tonifying group (Sijunzi Tang). The experimental results provide experimental basis for the treatment of blood deficiency diseases by Qi tonifying therapy, blood replenishing therapy as well as blood and Qi double replenishing therapy, illustrating the rationality of dialectical theory in clinical treatment of anemia (blood deficiency syndrome) to some extent.

**[Key words]** 5-fluorouracil; blood deficiency; Siwu Tang; Sijunzi Tang; Bazhen Tang; anemia; bone marrow suppression

贫血是指单位容积的血液内血红蛋白量和红细胞数以及红细胞压积低于正常值的一种病证,中医称之为血虚证,临床以肌肤黏膜的颜色淡白、脉细弱为辨证要点<sup>[1]</sup>,祖国医学所指血虚内涵丰富,从病因、临床特点来看与现代医学的贫血有密切关系<sup>[2]</sup>。血虚证的症状在贫血患者中有较高的出现率,贫血的中医证型以血虚证为主<sup>[3-6]</sup>,因此可以借鉴现代医学对于贫血的研究方法来帮助认识血虚证的本质和辨证施治的合理性。抗癌药物 5-氟尿嘧啶(5-FU)临床上应用较广,但因其较为严重的骨髓抑制而导致患者贫血。根据 5-FU 抑制骨髓造成贫血的作用,可以构建为学界公认的贫血模型<sup>[7-9]</sup>。采用该模型为筛选纠正贫血的中药和机制研究,认识血虚证的本质提供了研究契机。

中医学认为气血相依相生,“血为气之母,气为血之帅”,气能带动血液循环。四物汤补血养血,四君子汤健脾益气,而八珍汤是 2 种方剂的复方,以上三方均出自《太平惠民和剂局方》。四物汤其功能补血调血,主治营血虚滞证,现代研究发现四物汤能显著升高粒-巨噬系集落形成单位(CFU-GM),红系集落形成单位(CFU-E),爆式红系集落形成单位(BFU-E)及混合系集落形成单位(CFU-mix)等骨髓造血祖细胞集落形成单位数量<sup>[10]</sup>;此外,有人采用综合放血法建立小鼠贫血模型,四物汤能够升高外周血细胞总数,促进骨髓细胞 DNA 合成,减轻造血细胞的代偿作用<sup>[11]</sup>。四君子汤可益气健脾,有研究显示四君子汤联合小剂量丝裂霉素 C 治疗小鼠膀胱癌肿瘤,能恢复和维持小鼠化疗后的外周白细胞总数,增强腹腔巨噬细胞活性,从而调动机体免疫功能<sup>[12]</sup>。八珍汤益气补血,主治气血两虚,有报道八珍汤能提高<sup>60</sup>Co 照射所致贫血小鼠骨髓细胞的增殖能力,同时促进巨噬细胞分泌白介素-1(IL-1)及脾细胞分泌 IL-2,有利于造血功能和免疫功能的重

建<sup>[13]</sup>;此外,八珍汤能显著促进正常小鼠、大鼠的脾淋巴细胞和混合淋巴细胞产生集落刺激因子<sup>[14]</sup>。三方分别针对血虚证、气虚证和气血两虚证患者显示出较好的临床效果;动物实验研究也有一定的积累,但对 3 种方剂(SSB)的横向比较研究和深入机制探讨尚有待加强。

中药现代化就是要采用现代医学理论和科学研究手段,阐释中药治疗疾病的物质基础和作用机制,用现代语言赋予中医药有关理论、治法科学内涵,加速中医药被国际接受,及在世界上传播发展<sup>[15]</sup>。本研究采用 5-FU 模拟中医血虚证型大鼠,以大鼠一般情况、外周血象、骨髓象和促造血因子 EPO 基因表达变化为观察指标,横向比较 3 种方剂(补血、补气、气血双补治法)对血虚证模型大鼠的作用,旨在为三类传统方剂治疗贫血提供实验数据,为传统的“辨证施治”理论和方证对应的合理性提供实验依据,该实验将为认识和深入研究中医学的“气血理论”,“辨证施治”原理奠定实验基础。

## 1 材料

**1.1 动物** SD 大鼠 40 只,体重(200 ± 5) g,雌性,购自重庆医科大学实验动物中心,合格证号 SCXK(渝)2002-A040。

**1.2 药物及试剂** 四物汤由熟地黄 30 g,当归 20 g,白芍 20 g,川芎 12 g 组成;四君子汤由党参 10 g,白术 9 g,茯苓 9 g,甘草 6 g 组成;八珍汤由党参 3 g,白术 10 g,茯苓 8 g,当归 10 g,川芎 5 g,熟地黄 15 g,炙甘草 5 g,芍药 8 g 组成,以上药物均购自重庆市北碚中医院药房。三方药物分别用 1 L 蒸馏水浸泡 30 min,第一次煎煮至沸腾 60 min,第二次沸腾 30 min,将过滤后的药液合并,并用常规方法浓缩,4 ℃ 保存,备用。5-氟尿嘧啶注射液(天津金耀氨基酸有限公司,批号 1210161),RT-PCR 所用 PCR 引物由威斯腾生物技术公司合成。Taq 酶, DNaseI

(RNase free, 日本 TaKaRa 公司), RNA 提取试剂 Tripure reagent(瑞士 Roche 公司), M-Mulv Reverse Transcriptase(美国 Promega 公司), 其余均为国产分析纯试剂。

**1.3 仪器** LD 型电子秤(凯丰集团有限公司 ACS-6), 电子分析天平(Shanghai Jingtian JT302N), FACS Calibu 型流式细胞仪(美国 BD 公司), Elx800 型酶标仪(美国 BioTek 公司), Centrifuge 5417R 型离心机(德国 Eppendorf 公司), LX-200 型微量高速离心机(海门市其林贝尔仪器), ABI 2720 型 PCR 仪(美国 ABI 公司), Bio-Rad PowerPac Basic 型电泳仪(美国 Bio-Rad 公司), 192 型 Sub-Cell 电泳槽(美国 Bio-Rad 公司), Bio-Rad 全自动凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司), Millipore 超纯水系统(美国 Millipore 公司), 微量移液枪(德国 Eppendorf 公司), Bio-Rad 核酸蛋白测定仪(美国 Bio-Rad 公司)。

## 2 方法

**2.1 动物分组及给药** 将大鼠随机分为正常组、模型组、八珍汤组、四物汤组和四君子汤组, 每组 8 只。除正常组外, 其他 4 组按大鼠体重  $150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  尾静脉注射 5-FU 造模, 造模(记为 0 d)后 24 h 开始给药。根据动物与人的每公斤体重剂量折算系数, 计算出大鼠的给药剂量, 然后采取其二倍剂量给予大鼠汤剂, 即: 治疗组大鼠分别采用四物汤、四君子汤、八珍汤每日 1 次  $ig$  1 mL(分别含生药 3.0, 1.2, 2.3 g), 正常组和模型组  $ig$  1 mL 生理盐水。

**2.2 大鼠外观体征、体重及食欲的观察** 每日观察各组大鼠的外观体征, 并记录大鼠活动情况, 体重, 饮食, 皮毛, 反应性等, 同时记录大鼠的死亡情况。

**2.3 外周血象检测** 造模前 5 d 采样作为基础值, 并于实验周期中的 0, 5, 10, 15, 20 d 时眼眶静脉丛采血  $300 \mu\text{L}$ /只, 用 EDTA 抗凝, 使用全自动血液分析仪进行血常规检测, 观察白细胞(WBC), 红细胞(RBC), 血红蛋白(HGB), 血小板(PLT)的含量。

**2.4 网织红细胞计数** 与外周血象检测用同一份标本, 取少量血与等量的煌焦油蓝试剂于试管混匀, 于室温染色 20 min 后制片, 在油镜下观察 1 000 个红细胞, 计数网织红细胞数。

**2.5 脏器指数** 大鼠在末次  $ig$  前称重, 处死后分别取出其胸腺和脾脏, 剥离干净后, 于电子分析天平上称重, 计算公式为如下。

$$\text{脏器指数} = \text{脏器质量}(\text{mg}) / \text{体重}(\text{g})$$

**2.6 骨髓涂片** 于 20 d 处死大鼠后, 无菌条件下

取出股骨, 按照文献[16-17]制备骨髓涂片, 用瑞氏姬姆萨混合染色法染色, 镜检, 观察有核细胞与成熟红细胞的大致比例, 以确定增生程度。

**2.7 RT-PCR 技术检测促红细胞生成素(EPO)在肾和肝的转录** EPO mRNA 在肾和肝脏的基因表达通过逆转录 PCR(RT-PCR)技术来测定。最后一次给药 24 h 后, 脱颈椎处死大鼠, 在无 RNA 酶的环境中取出肾脏和肝脏, 然后储存在液氮中。按 RNA 提取试剂盒说明分别提取肝肾总 RNA。采用两步法逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR), 具体方法参照分子克隆实验指南。引物由威斯腾生物技术公司设计合成。引物序列为: EPO 上游引物: 5'-ATTTGCGACAGTCGCGTCT-3', 下游引物: 5'-GTATCCGCTTGAAGTGTTTCG-3', 片段长度 395 bp; 内参物  $\beta$ -actin 上游引物: 5'-CCTAAGGCCAACCGTAAAG-3', 下游引物: 5'-TCTTCATGGTGCTAGGAGCGA-3', 片段长度: 623 bp。cDNA 的合成参照逆转录酶 M-Mulv Reverse Transcriptase 使用说明书, cDNA 合成后, 取  $2 \mu\text{L}$  cDNA 为模板, 用目的基因的上下游引物进行 PCR 扩增。扩增体系的组成与配制按试剂说明进行。取 PCR 产物在 1.0% 琼脂糖上进行凝胶电泳, 应用凝胶成像系统摄取各样品电泳图像, 通过成像分析软件 Quantity One 进行半定量。进行半定量时, 每组实验做 3 个平行重复, 以 3 次重复的平均值为依据, 计算样品中目的基因与  $\beta$ -actin 扩增条带的积分吸光度 IA 比值。

**2.8 统计学分析** 采用 SPSS 20.0 软件进行分析, 所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 各组数据进行方差齐性检验, 同时进行单因素多水平方差分析, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对大鼠一般状态的影响** 造模后, 模型组大鼠活动减少, 进食量减少, 体重下降, 皮毛疏松易掉, 尾、耳、爪无血色, 常闭目且出现萎靡嗜睡症状。给药组中八珍汤组, 四物汤组, 四君子汤组上述症状依次减轻, 但与模型组比较状态尚可, 正常组状态良好。各组大鼠无死亡情况。大鼠的一般状态显示, 5-FU 造贫血模型成功, 且八珍汤、四物汤、四君子汤均能一定程度上改善贫血大鼠的外观体征。

**3.2 对大鼠外周血象的影响** 造模后大鼠外周血中 WBC, RBC, HGB, PLT 显著降低, 与正常组比较有统计学意义, 表明由 5-FU 造贫血模型成功, 结合一般状态观察, 符合中医血虚证表现。

与模型组比较,八珍汤组 WBC, RBC, HGB, PLT 极显著升高 ( $P < 0.01$ ); 四物汤组 WBC 计数显著升高 ( $P < 0.01$ ), HGB, PLT 升高 ( $P < 0.05$ ), RBC 计数虽有所升高但不具显著性。说明八珍

汤、四物汤对血虚大鼠外周血象均有治疗作用,且八珍汤治疗效果优于四物汤 ( $P < 0.05$ )。而从数据上,四君子汤对贫血大鼠外周血象无改善作用。见表 1, 图 1。

表 1 八珍汤、四物汤、四君子汤对大鼠外周血象 (10 d) 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Table 1 Effects of SSB on hematologic parameters in rat ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量/g·mL <sup>-1</sup>	RBC/ $\times 10^{12}/L$	HGB/g·L <sup>-1</sup>	PLT/ $\times 10^9/L$
正常	-	6.329 $\pm$ 0.589 <sup>2)</sup>	123.857 $\pm$ 5.699 <sup>2)</sup>	741.286 $\pm$ 73.575 <sup>2)</sup>
模型	-	3.900 $\pm$ 0.604	81.375 $\pm$ 9.349	573.750 $\pm$ 89.282
八珍汤	2.3	5.801 $\pm$ 0.348 <sup>2)</sup>	128.286 $\pm$ 6.499 <sup>2)</sup>	869.714 $\pm$ 65.794 <sup>2)</sup>
四物汤	3.0	3.524 $\pm$ 0.657	91.714 $\pm$ 6.824 <sup>1)</sup>	673.143 $\pm$ 64.439 <sup>1)</sup>
四君子汤	1.2	3.423 $\pm$ 0.266	80.143 $\pm$ 8.194	527.000 $\pm$ 67.560

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (图 1~4 同)。

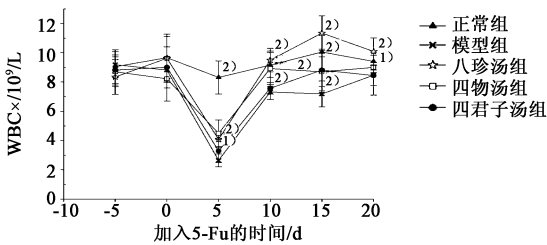


图 1 八珍汤、四物汤、四君子汤对大鼠白细胞数量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Fig. 1 Effects of SSB on WBC in rats ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

**3.3 对网织红细胞数目的影响** 造模后大鼠外周血中网织红细胞含量显著降低,与正常组比较有统计学意义 ( $P < 0.01$ ),表明由 5-FU 造贫血模型成功。与模型组比较,八珍汤组和四物汤组 RC 含量极显著升高 ( $P < 0.01$ ),说明八珍汤、四物汤能促进血虚大鼠网织红细胞数目的增加,且八珍汤治疗效果优于四物汤,而四君子汤无明显作用。见表 2。

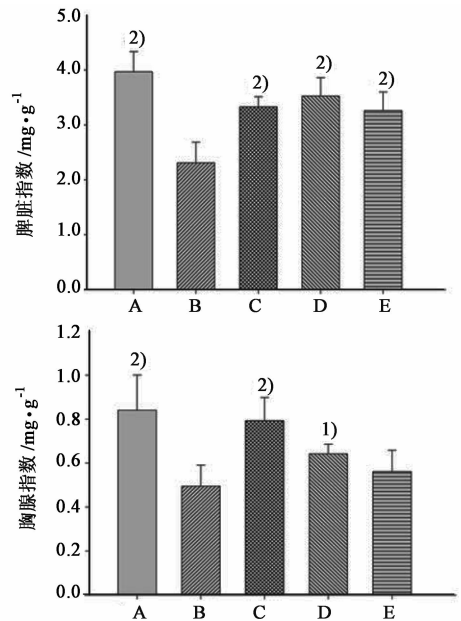
表 2 八珍汤、四物汤、四君子汤对大鼠网织红细胞数目 (10 d) 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Table 2 Effects of SSB on RC in rats on 10 d ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量/g·mL <sup>-1</sup>	RC/%
正常	-	101.25 $\pm$ 6.38 <sup>2)</sup>
模型	-	37.10 $\pm$ 3.65
八珍汤	2.3	83.32 $\pm$ 7.09 <sup>2)</sup>
四物汤	3.0	66.50 $\pm$ 6.76 <sup>2)</sup>
四君子汤	1.2	44.50 $\pm$ 4.33

**3.4 对大鼠脏器指数的影响** 与正常组比较,模型组大鼠脾指数和胸腺指数下降,表明 5-FU 损伤到免疫功能。与模型组比较,3 种方剂均使大鼠脾脏指数升高,并具有显著统计学意义 ( $P < 0.01$ ),八珍汤对胸腺指数影响效果最好 ( $P < 0.01$ ),而四君子汤没有对胸腺指数产生显著影响。说明 3 种代表不同

治则的方剂对由 5-FU 造成的血虚大鼠的脾指数和胸腺指数的影响程度存在差异。见图 2。



A. 正常组; B. 模型组; C. 八珍汤组; D. 四物汤组 E. 四君子汤组 (图 3 同)

图 2 八珍汤、四物汤、四君子汤对大鼠脏器指数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Fig. 2 Effects of SSB on organ index in rat ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

**3.5 对大鼠骨髓增生程度的影响** 骨髓涂片结果显示,模型组大鼠骨髓增生极度低下;正常组、八珍汤组和四物汤组大鼠骨髓增生活跃,活跃程度依次降低,接近于正常骨髓状态,但与模型组比较有显著性差异;而四君子汤组大鼠骨髓增生低下。说明八珍汤和四物汤促进骨髓抑制大鼠骨髓增殖能力的恢复,而四君子汤组大鼠的骨髓增殖能力恢复不如八珍汤组和四物汤组。见图 3。

**3.6 对大鼠肝脏和肾脏 EPO mRNA 表达的影响** 与正常组比较,造模后大鼠肝脏和肾脏 EPO mRNA 表

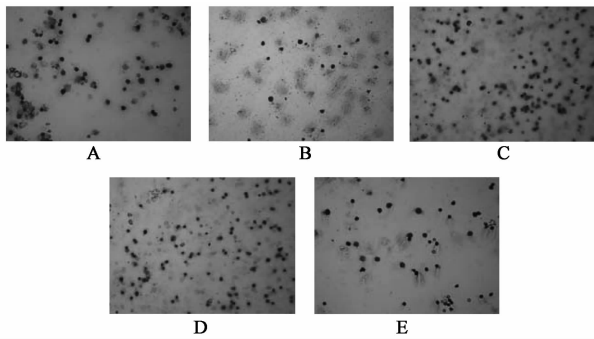
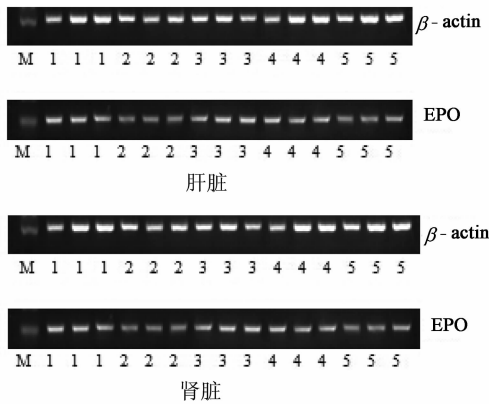


图 3 八珍汤、四物汤、四君子汤对大鼠骨髓增生程度的影响(瑞氏吉姆萨, ×400)

Fig. 3 Effects of SSB on bone marrow cellularity in rats (Switzerland's Jim, ×400)

达皆明显减少,与正常组比较有统计学意义( $P < 0.01$ );给予药物治疗后,与模型组比较,各组大鼠肝脏和肾脏 EPO mRNA 表达增强,在肾脏中尤为明显,其中八珍汤、四物汤使其显著上调( $P < 0.01$ ),而四君子汤组上调作用未达到统计学意义。表明八珍汤、四物汤可能通过上调 EPO mRNA 表达,进而增加 EPO 血清浓度,直接激活不成熟红系细胞,而起到治疗贫血的作用。见图 4。



M. marker; 1. 正常组; 2. 模型组; 3. 八珍汤组; 4. 四物汤组; 5. 四君子汤组

图 4 八珍汤、四物汤、四君子汤对肝、肾中 EPO mRNA 表达的影响  
Fig. 4 Effects of SSB on EPO mRNA in kidney and liver of rats

#### 4 讨论

5-FU 是临床上应用较广的抗肿瘤药物,5-FU 影响 DNA 的合成,也能掺入 RNA 中干扰蛋白质合成,在抑制肿瘤细胞生长的同时,存在骨髓抑制的副作用,继而引发贫血<sup>[18-19]</sup>。因此利用 5-FU 上述作用可以构建贫血模型<sup>[7-9,20]</sup>。本实验 5-FU 造模后 WBC, RBC, PLT, RC 计数和 HGB 含量均显著降低,骨髓增生低下。与正常组比较,有显著性差异,提示造模成功,同时,大鼠脾脏指数和胸腺指数下降,提

示 5-FU 也影响了机体的免疫功能。

气属阳,主动、主温煦;血属阴,主静、主濡润,传统医学认为:“人之身,皆气血之所循行,气非血不和,血非气不运,故曰:气主煦之,血主濡之”(《医学真传》),这种关系可概括为“气为血之帅,血为气之母”<sup>[21]</sup>。本实验中大鼠注射 5-FU 模拟中医血虚证型后,大鼠处于血虚状态,而“血为气之母”,血能生气亦能载气,气存于血中,赖血之运载而达全身,血虚必然导致气虚。“气为血之帅”乃是因为气能生血、行血、摄血,因此气虚又必然加重血虚,如此恶性循环必将导致气血两虚。根据试验周期内大鼠外周血象变化情况(图 1,表 1)猜测,0~5 d 大鼠血虚占主导,此时八珍汤尚未完全发挥出气血双补的作用,而补血方剂四物汤相比较八珍汤而言更适应大鼠的机体状况而充分发挥了补血的作用,所以 5 d 结果显示四物汤组外周血象恢复较八珍汤组好。继而,血虚引起气虚,气虚又反而加重血虚,最终导致大鼠处于气血两虚的状态,此时,根据辨证施治理论和虚则补之的治法治则,气血双补方剂八珍汤更符合机体证的变化,因而辨“证”施治,更好地改善了外周血象。而四君子汤因为单纯补气,尽管各项指标有改善,但与模型组并无显著性差异。

药物治疗组中,八珍汤和四物汤对外周血的 WBC, RBC, HGB, PLT, RC 均有显著提高,对脾指数和胸腺指数下降,骨髓增生低下都有很好的治疗作用,同时上调 EPO mRNA 基因的表达。在升高 WBC, RBC, HGB, PLT 含量,促进骨髓分化以及上调 EPO mRNA 基因研究中显示:八珍汤的效果要优于四物汤( $P < 0.05$ ),从数据上看,其余项目中八珍汤的疗效也比四物汤好,但未达到统计学差异。说明应用气血双补的方剂治疗 5-FU 所致的血虚证(贫血)比应用单纯补血的方剂效果好,这在一定程度上验证了中医学的“气血理论”。而四君子汤仅对脾指数的降低有治疗作用,其余从数据上虽有抑制贫血的效果,但无统计学意义,可见单纯补气(四君子汤)对贫血虽有治疗效果但并不理想,这为中医学的“气非血不和,血非气不运”提供了实验依据,一定程度上证实了中医“辨证施治”理论的合理性。

EPO 是一种刺激红系造血的激素,能促进红细胞的增殖、分化、成熟,又称为红系造血刺激因子(ESF),是最早发现并首先运用于临床的造血生长因子<sup>[22-24]</sup>。EPO 表达除与缺氧、血红蛋白(hemoglobin, HGB)的水平有关外,还与骨髓红系细胞生成的功能密切相关<sup>[25]</sup>。EPO 的基本生理功能

是促进骨髓中红细胞系增殖、分化、成熟。早期红系祖细胞(BFU-E)增殖受EPO,白细胞介素3(interleukin-3, IL-3),巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)多种因子的调控;晚期红系祖细胞(CFU-E)的增殖分化主要由EPO调节。本实验结果提示八珍汤、四物汤对大鼠造血功能的影响机制可能是通过上调EPO mRNA基因,进而增加EPO的血清浓度,刺激大鼠骨髓造血细胞生长和分化,直接激活不成熟红系细胞,从而达到补血的功效。本实验中,气血双补方剂(八珍汤)效果优于单纯补血经方(四物汤),单纯补血经方(四物汤)又优于单纯补气方剂(四君子汤),实验结果为传统的“辨证施治”理论和方证对应的合理性提供了一定实验依据,赋予了中医学辨证施治原理和气血理论现代医学内涵。

本次实验仅对3种方剂治疗5-FU所致贫血效应和机制进行了初步比较研究,今后将以此为基础,从造血微环境、细胞周期调控等方面深入探索,如比较研究3种方剂对EPO因子调控造血的下游信号机制。

[参考文献]

[1] Liang Y, Lu X, Chen R. Research progress of blood-deficient syndrome in traditional Chinese medicine[J]. Chin J Inf Tradit Chin Med, 1999, 6(1):16-18.

[2] 谢鸣. 中医方剂的现代研究[M]. 北京:学苑出版社, 1997:274-275.

[3] 秦林, 刘更生, 宋月芹. 试论四物汤血虚证与贫血症的关系[J]. 中国中医基础杂志, 2004, 10(2):48-52.

[4] Jonas W B, Levin J S, Berman B. Essentials of complementary and alternative medicine[M]. Lippincott Williams & Wilkins Philadelphia, PA, 1999.

[5] 曾常春, 梁毅, 孔猛. 血虚证的本质初探[J]. 浙江中医杂志, 2009, 44(10):706-707.

[6] 刘卫民, 暴宏伶, 韩艳欣. 中医血虚证与现代医学贫血的相关性研究[J]. 中国自然医学杂志, 2004, 6(3):200-201.

[7] Ivan N. Rich; The effect of 5-fluorouracil on erythropoiesis [J]. Blood, 1991, 77:1164-1170.

[8] Hatano R, Takano F, Fushiya S, et al. Water-soluble extracts from *Angelica acutiloba* Kitagawa enhance hematopoiesis by activating immature erythroid cells in mice with 5-fluorouracil-induced anemia [J]. Exp Hematol, 2004, 32(10):918-924.

[9] Ling S, Xu J W. Model organisms and traditional Chinese medicine syndrome models [J]. Evid Based

Complement Alternat Med, 2013;761987.

[10] 高月, 马增春, 谭洪玲, 等. 四物汤及其提取物对辐射致血虚证小鼠造血作用的研究[J]. 天津中医药, 2003, 20(6):47-51.

[11] 谭玮, 宋崇顺, 谭洪玲, 等. 四物汤对综合放血法致小鼠血虚证造血功能的影响[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(12):926-929.

[12] 李传刚, 李墨林, 舒晓宏, 等. 四君子汤对小鼠膀胱癌化疗的减毒增效作用[J]. 中国中西医结合杂志, 2005, 25(4):354-357.

[13] 赵弋清, 罗霞, 陈东辉, 等. 八珍汤对<sup>60</sup>Co  $\gamma$ 照射小鼠骨髓细胞及脾细胞凋亡研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(12):1165-1167.

[14] 高依卿, 陈玉春. 八珍汤对粒系, 单核系统细胞养血补血作用机理的研究[J]. 中医研究, 2000, 13(2):22-25.

[15] Zheng yong-qi. What it takes to bring medicine into mainstream medicine of the 21st century: a personal perspective[J]. 中药与天然药物杂志, 2001:27-35.

[16] 谭宗宪, 辛伟标, 伍尚剑, 等. 血液骨髓涂片快速染色的探讨[J]. 中国社区医师:医学专业, 2011, 20(13):210.

[17] Wang J, Weiss L M, Chang K L, et al. Diagnostic utility of bilateral bone marrow examination[J]. Cancer, 2008, 94(5):1522-1531.

[18] 尤启冬, 孙铁民, 李青山, 等. 药物化学[M]. 7版. 北京:人民卫生出版社, 2011:270-272.

[19] 朱依淳, 殷明, 邹莉波, 等. 药理学[M]. 7版. 北京:人民卫生出版社, 2011:568-569.

[20] 高丽萍, 贾丽霞, 王晓梅, 等. 5-氟尿嘧啶诱发大鼠贫血的实验研究[J]. 职业与健康, 2002, 10(18):37-38.

[21] 王新华. 中医基础理论[M]. 北京:人民卫生出版社, 2001:370-371.

[22] 李静, 王亚平. 促红细胞生成素与红细胞生成的调控[J]. 国外医学:临床生物化学与检验学分册, 2001, 22(5):239-241.

[23] Jelkmann W. Physiology and pharmacology of erythropoietin [J]. Transfus Med Hemoth, 2013, 40(5):302-309.

[24] Bieber E. Erythropoietin, the biology of erythropoiesis and epoetin alfa [J]. J Reprod Med, 2001, 46(5):521-530.

[25] 闫盈滨, 闫中亮, 吕中阳. 六味地黄丸对慢性再生障碍性贫血的疗效及对EPO、SCF细胞因子活性的影响[J]. 中医药信息, 2010, 27(4):102-104.

[责任编辑 周冰冰]