

# 天升元口服液对再生障碍性贫血模型小鼠血液 T 淋巴细胞异常和造血调控因子 GM-CSF 水平的影响

朱传江<sup>1\*</sup>, 刘苹<sup>1,2</sup>, 秦晓天<sup>3</sup>

(1. 中国医学科学院北京协和医学院药物研究所, 北京 100050; 2. 浙江中医药大学药学院, 杭州 310053; 3. 北京天雨义鸣生物科技有限公司, 北京 100078)

**[摘要]** 目的: 观察天升元口服液对免疫介导的再生障碍性贫血 (immune-mediated aplastic anemia, IAA) 模型小鼠外周血 T 淋巴细胞异常和正负造血调控因子水平的影响, 以探讨其作用机制。方法: 给予 IAA 模型小鼠天升元口服液 (含生药 6.2, 12.4 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) ig, 14 d 后, 通过流式细胞术检测外周血 CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> 及其比值, 并结合荧光免疫分析法检测外周血中造血正负调控因子 (GM-CSF, TNF- $\alpha$ ) 的含量。结果: 天升元口服液高剂量组 CD8<sup>+</sup> 及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 分别为 (15.89  $\pm$  8.32)% 和 (2.34  $\pm$  1.10), ( $n=7$ ), 模型对照组 CD8<sup>+</sup> 及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 分别为 (35.13  $\pm$  13.13)% 和 (0.92  $\pm$  0.33) ( $n=12$ ), 组间有非常显著差异 ( $P<0.01\sim0.001$ ); 同时, 天升元口服液高剂量组的 GM-CSF 含量 (1400  $\pm$  670) ng·L<sup>-1</sup>, ( $n=10$ ), 也显著高于模型对照组 (665  $\pm$  276) ng·L<sup>-1</sup>, ( $n=12, P<0.01$ )。此外, TNF- $\alpha$  有一定程度的降低。结论: 天升元口服液通过降低 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞的产生, 提高 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值, 促进 T 淋巴细胞亚群的平衡, 同时促进造血正调控因子 (GM-CSF) 的产生, 从而呈现对 IAA 模型小鼠的治疗作用。

**[关键词]** 再生障碍性贫血; 天升元口服液; T 淋巴细胞; 造血调控因子; 流式细胞术; 荧光免疫分析法

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)24-0189-05

**[DOI]** CNKI:11-3495/R.20111017.0942.012 **[网络出版时间]** 2011-10-17 9:42

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20111017.0942.012.html>

## Effects of Tianshengyuan Oral Solution on Abnormality of T Lymphocyte Subsets and Level of GM-CSF, in Mice with Immune-Mediated Aplastic Anemia

ZHU Chuan-jiang<sup>1\*</sup>, LIU Ping<sup>1,2</sup>, QIN Xiao-tian<sup>3</sup>

(1. Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China;

2. College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China;

3. Beijing Tianyu Yiming Biotechnology Company Limited, Beijing 100078, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the regulation of Tianshengyuan oral solution (TSY) for the abnormality of T lymphocyte subsets and the level of hematopoietic cellular factors in mice with immune-mediated aplastic anemia (IAA). **Method:** T-cell subsets, including CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, in peripheral plasma were analyzed by flow cytometry. GM-CSF and TNF- $\alpha$  were measured by fluorescence immunoassay. **Result:** TSY (12.4 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) ig for 14 days could significantly reduce the production of peripheral CD8<sup>+</sup> [(15.89  $\pm$  8.32)%,  $n=7, P<0.01$ ], increase in the ratio of CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> (2.34  $\pm$  1.10,  $n=7, P<0.001$ ) and in the level of GM-CSF [(1400  $\pm$  670) ng·L<sup>-1</sup>,  $n=10, P<0.01$ ], compared with IAA model group [(35.13  $\pm$  13.13)%, (0.92  $\pm$  0.33), and (665  $\pm$

**[收稿日期]** 2011-03-10

**[通讯作者]** \* 朱传江, 研究员, 博士, 从事新药药效学和药代动力学研究, Tel:010-63026367, E-mail: zhucj@imm.ac.cn

276)  $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $n = 12$ , respectively]. Meanwhile, the decreased levels of TNF- $\alpha$  were also seen in the same group.

**Conclusion** These results suggest that TSY for the treatment of IAA mice could be by modulating the balance between T-lymphocyte subsets, and the levels of hematopoietic cellular factors.

[ **Key words** ] aplastic anemia; Tianshengyuan oral solution; T-lymphocyte; hematopoietic cellular factor; flow cytometry; fluorescence immunoassay

免疫发病机制是再生障碍性贫血 (aplastic anemia, AA) 近 10 年来的研究热点, 涉及 T 淋巴细胞及其亚群数和功能异常、造血调控因子异常、造血细胞凋亡、细胞黏附分子异常、造血干/祖细胞异常等因素在 AA 发病中的作用<sup>[1-5]</sup>。

T 淋巴细胞是细胞免疫的主要效应细胞。CD4<sup>+</sup>T 细胞能促进免疫细胞的增殖与分化, 协调免疫细胞间的相互作用; CD8<sup>+</sup>T 细胞具有杀伤靶细胞及抑制免疫调节的功能。CD4<sup>+</sup>T 细胞按所分泌的细胞因子谱分为 Th1, Th2 两类。Th1 细胞分泌 IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-12 等, 参与细胞免疫; Th2 细胞分泌  $\gamma$ -干扰素 IL-4, IL-5, IL-6 等, 参与体液免疫。此外, 淋巴细胞产生的细胞因子还参与机体的造血功能调控, 使功能下调的为造血负调控因子, 如 IFN- $\gamma$  和肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ); 使功能上调的为造血正调控因子, 如粒-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、粒细胞集落刺激因子 (G-CSF), IL-3 等。AA 患者不仅存在 T 细胞数量异常, 也存在表型和功能改变, 并致使造血调控因子释放失常<sup>[6]</sup>。

天升元口服液 (TSY) 是一纯中药复方制剂, 药效学研究表明, 它能改善免疫介导的 AA 模型小鼠和苯及环磷酰胺诱导的 AA 模型小鼠的造血功能, 促进造血细胞增殖, 产生对 AA 的治疗效应。本文通过对外周血 T 细胞亚群 (CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>), Th1 和 Th2 平衡代表性细胞因子 (分别为 IFN- $\gamma$  和 IL-4) 以及造血调控因子 (GM-CSF 和 TNF- $\alpha$ ) 的测定, 探讨 TSY 产生效应的可能机制。

## 1 材料

**1.1 动物** DBA/2 小鼠, 20 ~ 24 g, 雄性, 许可证号 SCXK (京) 2007-0001; BALB/C 小鼠, 19 ~ 22 g, 雄性, 许可证号 SCXK (京) 2007-0001, 均为 SPF 级, 均购自北京维通利华实验动物技术有限公司。

**1.2 药品和试剂** 天升元口服液 (TSY), 纯中药制剂, 由人参、何首乌、杏仁、青皮、厚朴、乳香等药材经现代工艺精制而成, 无色透明液体, 生药含量为  $0.31 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 由北京天雨义鸣生物科技有限公司提供, 批号

06121601; 仓鼠抗小鼠 CD3-FITC (IgG), 大鼠抗小鼠 CD4-TRI-COLOR (PE-Cy5; 大鼠 IgG2a), 大鼠抗小鼠 CD8a-R-PE (IgG2b), 仓鼠 IgG-FITC (同型对照), 大鼠抗小鼠 IFN- $\gamma$ -Alexa Flour 488 (IgG<sub>1</sub>), 固定剂和打孔剂 (FIX & PERM), 均为 Caltag 公司; 大鼠抗小鼠 IL-4-PE (IgG1), 大鼠 IgG1-PE (同型对照), Bioscience 公司; 破膜剂, 杭州联科生物科技有限公司; FlowCytomix 小鼠 GM-CSF (单克隆) simplex kit (BMS8612FF); FlowCytomix 小鼠 TNF- $\alpha$  (多克隆) simplex kit (BMS8607FF), Bender 公司; RPMI-1640 培养基, Gibco; 优级胎牛血清, 杭州四季青生物工程材料有限公司。

**1.3 仪器** <sup>60</sup>Co 辐照装置, 由北京大学化学与分子工程学院钴源室提供; DL-CJ-2N 超净台, 北京东联哈尔滨仪器制造有限公司; XDS-1B 倒置显微镜, 重庆光电仪器有限公司; HF90 型 CO<sub>2</sub> 培养箱和 Neofuge15 型台式高速冷冻离心机, 上海力申科学仪器有限公司; Sysmex-K21 型血细胞分析仪, 日本希森美康株式会社; FACS Calibur 流式细胞仪、流式细胞分析软件 (Cellquest 用于 T 细胞亚群及 Th1 和 Th2 细胞因子分析), 美国 BD 公司; Flow Cytomix Pro 软件 (用于造血调控因子分析), Bender 公司。

## 2 方法

**2.1 模型制备<sup>[7]</sup>和分组** 取 DBA/2 小鼠, 断颈处死, 75% 乙醇浸泡消毒后, 在超净台无菌取出胸腺, 置含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液中, 除去黏附的结缔组织, 剪碎, 轻磨, 200 目不锈钢网过滤, 制成单细胞悬液, 台盼蓝鉴定细胞活性 (> 95%), 计数后用 RPMI-1640 培养液调细胞密度为  $5 \times 10^6$  个/mL, 分装于 25 cm<sup>2</sup> 培养瓶, 置 CO<sub>2</sub> 孵箱中待用。再取 BALB/C 小鼠, 给予 5.0 Gy <sup>60</sup>Co  $\gamma$  射线 1 次全身照射 (剂量  $1.0 \text{ Gy}\cdot\text{min}^{-1} \times 5 \text{ min}$ ); 另取 BALB/C 小鼠, 进行假照射, 用作正常对照组。对于照射后的小鼠, 当天由尾 iv 上述新鲜配制的胸腺细胞悬液, 0.2 mL/只, 含细胞数为  $1 \times 10^6$  个。动物分 4 组, 即正常对照组 (假照射动物组, 10 只)、模型对照组、TSY 高、低剂量组, 后 3 组动物为接受 <sup>60</sup>Co 照射并接受胸

腺细胞的动物,每组15只。

**2.2 给药和取样** 各组动物 ig,2次/d,2次间隔约10 h;正常对照组和模型对照组给予蒸馏水,每次0.4 mL/只,TSY高、低剂量组给予 TSY,分别每次0.4 mL/只(含生药 $6.2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )和0.2 mL/只(含生药 $3.1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),连续2周。2周后自内眦静脉取血,置15% EDTA- $\text{K}_2$ 抗凝(或肝素抗凝,用于造血调控因子测定)的试管中,混匀,待测。

**2.3 T细胞亚群 CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>的测定** 取0.1 mL抗凝血到流式样品试管中,分别向试管中加入荧光标记抗体1  $\mu\text{g}$ ,并设同型对照,室温下避光孵育30 min后,加入溶血素,室温避光孵育10 min, PBS(含5%胎牛血清)洗1~2遍后,用流式细胞仪检测。荧光通道 FL1 对应 FITC; FL2 对应 PE; FL3 对应 PE-Cy5; FL4 对应 APC。取门内5 000个细胞。

**2.4 Th1 和 Th2 细胞因子的测定** 取0.1 mL抗凝血到标号的流式样品试管中,分别向试管中加入荧光标记抗体,每管1  $\mu\text{g}$ ,并设同型对照,室温下避光孵育30 min;孵育后,加入 Fix & Perm 中的试剂 A,室温避光孵育15 min, PBS(含5% FBS)洗1~2遍;进行流式细胞仪检测。FL1 对应于 Alexa Flour 488; FL2 对应于 PE; FL3 对应于 PE-Cy5; FL4 对应于 APC。取门内3 000个细胞。

**2.5 造血调控因子的测定** 按试剂盒说明书操作。① 分别配备1  $\times$ 分析缓冲液、GM-CSF 和 TNF- $\alpha$  系列对照溶液、磁珠混合液(锡箔纸包裹避光)、生物素复合物混合液以及 PE-链霉卵白素工作液。②

取各组动物肝素抗凝血上清50  $\mu\text{L}$ ,置标号的流式测定试管中。同时取1  $\times$ 分析缓冲液50  $\mu\text{L}$ 到空白管,作为对照。③ 加25  $\mu\text{L}$ 磁珠混合液(用前混匀)及50  $\mu\text{L}$ 生物素复合物混合液到所有管,混匀,铝箔包裹避光,室温孵育1.5 h。④ 加1  $\times$ 分析缓冲液1 mL到各管,混旋,200  $\times g$ 离心5 min,弃上清,留100  $\mu\text{L}$ 在管中。⑤ 各管加50  $\mu\text{L}$  PE-链霉卵白素工作液,混匀,铝箔包裹避光,室温孵育1 h。⑥ 加1  $\times$ 分析缓冲液1 mL到各管,混旋,200  $\times g$ 离心5 min,小心弃上清,留100  $\mu\text{L}$ 在管中。⑦ 加1  $\times$ 分析缓冲液500  $\mu\text{L}$ 到各管,混旋后,流式细胞仪检测。每样取3 000个磁珠,测定平均荧光强度(MFI),并通过标准曲线和 FlowCytomix Pro 软件求得浓度值( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )。

**2.6 数据处理** 检测结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,用  $t$  检验法(方差不齐时用秩和检验法)比较组间差异,  $P < 0.05$  为差别有显著意义。

### 3 结果

**3.1 对 AA 模型小鼠 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞比值的影响** 小鼠在接受<sup>60</sup>Co  $\gamma$ 射线全身照射和胸腺细胞悬液注射后,出现 CD4<sup>+</sup> T 细胞显著降低和 CD8<sup>+</sup> T 细胞显著升高, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 显著降低(与正常对照组比较  $P < 0.001$ )。TSY 低、高剂量组均能降低 CD8<sup>+</sup> T 的产生,与模型对照组比较,分别达29.6%和54.8%(高剂量组  $P < 0.01$ ),因而也显著提高 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T 的比值( $P < 0.05 \sim 0.001$ )。见表1。

表1 天升元口服液对 AA 小鼠 CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

分组	n	剂量 /g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	CD4 <sup>+</sup> /%	CD8 <sup>+</sup> /%	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>
正常	10	-	49.52 ± 6.06 <sup>3)</sup>	14.31 ± 2.53 <sup>3)</sup>	3.57 ± 0.84 <sup>3)</sup>
模型	12	-	29.02 ± 5.35	35.13 ± 13.13	0.92 ± 0.33
TSY	9	6.2	31.61 ± 11.28	24.73 ± 15.63	1.68 ± 1.24 <sup>1)</sup>
	7	12.4	31.96 ± 9.89	15.89 ± 8.32 <sup>2)</sup>	2.34 ± 1.10 <sup>3)</sup>

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>3)</sup>  $P < 0.001$ (表2~3同)。

**3.2 对 AA 模型小鼠 Th1/Th2 细胞平衡的影响** 模型组 Th1 和 Th2 细胞都升高(与正常对照组比,  $P < 0.05$ ),以 Th1 细胞升高更明显, Th1/Th2 细胞比例处于失衡状态。TSY 使 Th1 细胞比例减少, Th2 细胞比例增多,使 Th1/Th2 细胞的失衡状态得到改善(高剂量组与模型组比,  $P < 0.05$ ),见表2。

**3.3 对 AA 模型小鼠造血调控因子异常的影响** 与正常对照组比,模型组小鼠造血正调控因子 GM-

CSF 下降显著( $P < 0.001$ ),而造血负调控因子 TNF- $\alpha$  显著上升( $P < 0.05$ )。TSY 高剂量组能显著促进 GM-CSF 的产生( $P < 0.01$ ), TNF- $\alpha$  也有下调趋势。见表3。

### 4 讨论

免疫系统紊乱在 AA 的发生、发展中起着重要的作用<sup>[8]</sup>。研究表明 AA 患者的外周血中 T 细胞亚群失衡,辅助性 T 细胞(相当于 CD4<sup>+</sup>)减少,抑制性

表 2 天升元口服液对 AA 小鼠血中 Th1/Th2 细胞水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

分组	n	剂量 /g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	Th1 /%	Th2 /%	Th1/Th2
正常	6	-	0.39 ± 0.14 <sup>1)</sup>	0.40 ± 0.23 <sup>1)</sup>	1.00 ± 0.49
模型	7	-	1.53 ± 0.98	1.01 ± 0.52	1.52 ± 0.56
TSY	10	6.2	1.49 ± 1.21	1.60 ± 0.59	1.14 ± 1.18
	7	12.4	1.04 ± 0.21	1.67 ± 0.77	0.76 ± 0.47 <sup>1)</sup>

表 3 天升元口服液对 AA 小鼠造血调控因子的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )  
ng·L<sup>-1</sup>

分组	剂量 /g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	GM-CSF	TNF-α
正常	-	2 673 ± 839 (9) <sup>3)</sup>	17 890 ± 2 693 (9) <sup>1)</sup>
模型	-	665 ± 276 (12)	22 773 ± 6 057 (10)
TSY	6.2	820 ± 674 (13)	21 152 ± 5 389 (6)
	12.4	1 400 ± 670 (10) <sup>2)</sup>	20 677 ± 3 840 (9)

注: 4) ( ) 内为动物数。

T 细胞(相当于 CD8<sup>+</sup>)增多, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>降低或倒置, 异常增多的活化 CD8<sup>+</sup>对骨髓造 T 细胞(相当于 CD8<sup>+</sup>)增多, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>降低或倒置细胞直接抑制<sup>[9]</sup>。CD8<sup>+</sup>细胞除了直接抑制造血系统干/祖细胞的增殖外, 还激活细胞毒 T 淋巴细胞(CTL), 释放 γ 干扰素 (IFN-γ) 和肿瘤坏死因子 (TNF-α) 等造血负调控因子<sup>[10]</sup>。后者通过阻止造血细胞进入增殖周期并刺激 CD3, CD4 细胞过度表达 Fas(死亡受体)诱导其凋亡, 从而抑制早期造血功能, 损害自身造血系统<sup>[11]</sup>。CD8<sup>+</sup>引起的 CTL 的活化和增多主要发生在骨髓, 其对骨髓造血干/祖细胞的毒性作用是造血功能衰竭的主要原因<sup>[5]</sup>。由此可见, 抑制性 T 细胞在 AA 的发病中起着极为重要的作用<sup>[10]</sup>。本研究观察到, TSY 高剂量组能明显降低 CD8<sup>+</sup>的水平而使 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>接近于正常对照组。这意味着 TSY 可通过降低抑制性 T 细胞 CD8<sup>+</sup>的产生, 增加 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, 从而减少对造血系统中干/祖细胞的抑制, 促进骨髓造血系统的修复和重建, 发挥治疗 AA 的效应。同时, 本研究还观察到, 模型组呈现出 Th1 型优势, 比正常组高出近 4 倍。TSY 高剂量组能降低 Th1 细胞, 同时升高 Th2 细胞数量, 使 Th1/Th2 向正常值靠近。这些结果提示, 促进 T 淋巴细胞亚群趋于平衡, 纠正免疫系统紊乱, 可能是 TSY 治疗 IAA 模型小鼠的重要机制之一。

AA 患者的免疫紊乱, 一方面引起骨髓及外周血中 IFN-γ, TNF-α 等造血负调控因子水平的明显提

高, 另一方面引起造血正调控因子如 GM-CSF 的下降。AA 患者骨髓及外周血中 IFN-γ, TNF-α 水平明显提高是造成 AA 造血功能衰减的原因之一<sup>[11-12]</sup>。IFN-γ 除了能阻止造血细胞周期进行和促进 CD3, CD4, CD34<sup>+</sup>细胞凋亡外, 还抑制粒-巨噬系祖细胞 (CFU-GM) 和红系祖细胞 (BFU-E, CFU-E) 的形成。IFN-γ 与 TNF-α 协同作用, 其抑制效应更强。TNF-α 可以激活磷脂酶 A<sub>2</sub>, 后者使花生四烯酸转化为前列腺素。在这个代谢过程中产生的自由基和过氧化物, 易进入造血细胞核内造成 DNA 链的损害<sup>[13]</sup>。而造血正调控因子 GM-CSF 与 IL-3 协同作用, 能促进定向祖细胞的增殖和分化, 阻止造血细胞凋亡, 维持其存活。本研究表明, TSY 通过提高 GM-CSF 的水平, 同时降低 IFN-γ 和 TNF-α 的水平, 从而保护了造血细胞及其功能。这可能是 TSY 治疗 IAA 模型小鼠的另一重要机制。

### [参考文献]

[1] 邵宗鸿, 袁焯. 再生障碍性贫血免疫发病机制及免疫治疗[J]. 中国实用内科杂志, 2006, 26(4):252.

[2] 孙凤, 王函. 再生障碍性贫血发病机制的研究进展[J]. 光明中医, 2008, 23(5): 691.

[3] 王继亮, 关旭鸥, 孙晓静. 再生障碍性贫血发病机理研究进展[J]. 中国临床医药, 2004, 5(13): 43.

[4] 张学光, 傅晋翔. 再生障碍性贫血免疫致病机制的研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2000, 16(10):517.

[5] 王小钦, 林果为. 再生障碍性贫血的免疫机制和免疫抑制治疗[J]. 中国现代实用医学杂志, 2004, 3(5):30.

[6] 余寿益, 田华琴, 郎江明, 等. 再生障碍性贫血患者外周血 T 淋巴细胞亚群及 HLA-DR 抗原的变化及临床意义[J]. 临床血液学杂志, 2006, 19(5):309.

[7] 姚军, 李树浓. 淋巴细胞与再生障碍性贫血关系的实验研究[J]. 中华血液学杂志, 1991, 12(5):229.

[8] Risitano A M, Kook H, Zeng W, et al. Oligoclonal and polyclonal CD4 and CD8 lymphocytes in aplastic anemia and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria measured by V beta CDR3 spectratyping and flow cytometry[J]. Blood, 2002, 100(1): 178.

[9] 李如英, 钱新宏, 郑跃杰, 等. 再生障碍性贫血患者造血细胞因子的研究[J]. 第四军医大学学报, 2001, 22(4):371.

[10] 黄云鹏, 张伟华, 张秀莲, 等. 再生障碍性贫血患者外周血 T 细胞亚群及 Th1/Th2 细胞分析[J]. 山西医科大学学报, 2005, 36(4):443.

· 毒理 ·

## 玉红膏单次给药家兔体内汞的吸收及毒性

孙新民<sup>1</sup>, 王旗<sup>1\*</sup>, 牟稷征<sup>2</sup>, 王丽霞<sup>2</sup>

(1. 北京大学公共卫生学院毒理学系, 北京 100191;

2. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053)

**[摘要]** 目的: 研究含 0.4% 轻粉的玉红膏单次给药后家兔体内汞的吸收及毒性, 以考察玉红膏用药的安全性。方法: 日本大耳白家兔 12 只, 雌雄各半, 分为 3 组, 分别为基质(凡士林)对照组, 玉红膏组, 0.4% 轻粉组。按  $1.56 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  ( $0.039 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-2}$ , 相当于临床日用剂量的 2 倍) 单次经皮给药, 用氢化物-原子吸收法测定全血和主要脏器中的汞含量来确定体内汞的吸收情况, 以血生化指标丙氨酸转氨酶(ALT), 天冬氨酸转氨酶(AST), 肌酐(Cr), 血尿素氮(BUN)评价给药后对家兔肝、肾功能的影响。**结果:** 单次经皮给药后, 和基质对照组相比, 玉红膏和 0.4% 轻粉组家兔血中汞含量未见明显差异, 不同时间点家兔血中汞含量和给药前相比也未见明显升高; 和对照组相比, 给药组家兔肝、肾中汞含量显著升高, 心、脾和脑中汞含量均没有显著变化; 各组血生化指标 BUN, Cr, AST 的差异无统计学意义; 和基质对照组相比, 玉红膏组、0.4% 轻粉组 ALT 显著升高。**结论:** 玉红膏单次经皮给药后家兔吸收入血的汞很少, 但在肝、肾组织中有一定蓄积。

**[关键词]** 玉红膏; 家兔; 经皮给药; 汞吸收; 安全性

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)24-0193-04

## Mercury Absorption and Toxicity of Single Dose of Yuhong Ointment in Rabbits

SUN Xin-min<sup>1</sup>, WANG Qi<sup>1\*</sup>, MU Ji-zheng<sup>2</sup>, WANG Li-xia<sup>2</sup>

(1. Department of Toxicology, School of Public Health, Peking University, Beijing 100191, China;

2. Guanganmen Hospital, The Chinese Academy of Chinese Medicine, Beijing 100053, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the toxicity and absorption of mercury following single dose transdermal administration of Yuhong ointment containing 0.4% calomel in rabbits. **Method:** Twelve Japanese white rabbits, half in male or female, were divided into three groups: control group, Yuhong ointment group and 0.4% calomel

**[收稿日期]** 20110825(014)

**[基金项目]** “十一五”国家科技支撑计划项目(2008BA153B084)

**[第一作者]** 孙新民, 硕士研究生, 从事中药毒理研究, E-mail: newman-611@163.com

**[通讯作者]** \*王旗, 教授, Tel: 010-82801527, E-mail: wangqi@bjmu.edu.cn

[11] Dufour C, Corcione A, Svahn J, et al. Interferon  $\gamma$  and tumour necrosis factor  $\alpha$  are overexpressed in bone marrow T lymphocytes from paediatric patients with aplastic anaemia [J]. Br J Haematol, 2001, 115 (4):1023.

[12] Dubey S, Shukla P, Nityanand S. Expression of interferon- $\gamma$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  in bone marrow

T cells and their levels in bone marrow plasma in patients with aplastic anemia [J]. Ann Hematol, 2005, 84 (9):572.

[13] 董爱英, 孙续国, 袁宝军. G-CSF、TNF- $\alpha$  的水平表达与再生障碍性贫血发病机制的相关研究[J]. 中国综合临床, 2001, 17(2):153.

[责任编辑 何伟]