

# 当归补血汤促进小鼠骨髓移植后造血组织重建的研究

徐瑞荣\*, 崔 兴, 王 琰, 刘寨东  
(山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250011)

[摘要] 目的: 探讨当归补血汤对小鼠同基因骨髓移植(BMT) 后骨髓造血组织重建的影响。方法: 建立典型同基因 BMT 小鼠模型, 随机分成 BMT 模型对照组和 BMT+ 当归补血汤组, 另取正常小鼠外周血及骨髓作空白对照。分别给以生理盐水、当归补血汤  $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  灌胃治疗。于 BMT 后第 1, 11, 22 天观察外周血细胞、骨髓单个核细胞(BMMNC), 镜下观察小鼠骨髓切片。结果: BMT+ 当归补血汤组第 11, 22 天外周血白细胞、红细胞、血小板、BMMNC 水平均显著高于 BMT 模型对照组( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 骨髓造血组织学情况也明显好于对照组。结论: 当归补血汤有促进造血组织重建的作用。

[关键词] 当归补血汤; 骨髓移植; 造血组织; 功能重建

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)10-0039-03

## Effect of Danggui Buxue Decoction on Promoting Function Reconstruction of Hematopoietic Tissue after Bone Marrow Transplantation

XU Rui-rong\*, CUI Xing, WANG Yan, LIU Zhai-dong  
(Department of Hematology, Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional  
Chinese Medicine, Jinan 250011, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Danggui Buxue Decoction on function reconstruction of hematopoietic tissue in mice after bone marrow isothermplantation (iso-BMT). **Methods:** The typical mouse model of iso-BMT was established. The model mice were randomly divided into BMT+ Danggui Buxue Decoction treatment group (treated with Danggui Buxue Decoction by gastrogavage) and BMT model group (treated with normal saline by gastrogavage). PB and BM of normal mice were obtained as blank. The following parameters were observed in the day 1, 11 and 22: peripheral blood cells, bone marrow mono-nuclear cells(BMMNC), and the observation of bone marrow under microscope. **Results:** The levels of peripheral WBC, RBC, platelet, BMMNC, and the observation of bone marrow by microscope at the day 11 and 22 in BMT+ Danggui Buxue Decoction treatment group were all significantly better than that of BMT model group ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Danggui Buxue Decoction could improve the function reconstruction of hematopoietic tissue.

[Key words] danggui Buxue Decoction; bone marrow transplantation; hematopoietic tissue; function reconstruction

骨髓移植(bone marrow transplantation, BMT) 成功的关键就在于造血干细胞进行有效增殖分化、重建

机体的造血和免疫功能。研究发现当归补血汤具有改善微造血环境, 促进造血干细胞增殖的作用<sup>[1-2]</sup>。我们建立了同基因骨髓移植小鼠模型, 探讨当归补血汤在骨髓移植中对骨髓造血组织重建的作用, 为促进骨髓移植后骨髓重建造血, 探索具有潜在价值的治疗方法。

[收稿日期] 2008-01-22

[通讯作者] \* 徐瑞荣, Tel: (0531) 82950414-6367; E-mail: xrr18@sina.com

# 1 材料与方

## 1.1 材料

1.1.1 实验动物 SPF 级近交系, 8~ 10 周龄, 体重 (17~ 20) g, 雌雄各半, 由山东大学实验动物中心提供。于照射前 3 d 至照射后 22 d, 每天以 200 U/只剂量喂庆大霉素水清洁胃肠道。

1.1.2 药物 当归补血汤: 当归、黄芪以 1: 5 比例, 常规水煎后制成 0.5 g·mL<sup>-1</sup> 生药浓度的药液冷藏备用。

## 2 方法

2.1 BMT 模型的建立 依照参考文献<sup>[3~4]</sup>介绍的方法造模。(1) 将 48 只 BALB-c 小鼠以剂量率 0.399 6 Gy·min<sup>-1</sup>, 总剂量 7.5 c GY <sup>60</sup>Co $\gamma$  射线, 进行全身均匀照射, 作为移植前预处理。(2) 骨髓移植, 取 15 只健康正常的 BALB-c 小鼠(雌雄各半), 断颈处死后, 无菌分离股骨, 剪开骨垢端, 用注射器吸取 RPMI-1640 培养液反复冲洗骨髓腔, 将冲出的骨髓细胞液过 4 号针头使之成单个细胞悬液, 用 RPMI-1640 培养液洗 2 次后, 给每只接受移植预处理的小鼠, 在 4 h 内经尾静脉输入体内 10<sup>6</sup> 细胞, 即建立 BMT 模型。

2.2 分组及给药 BMT 模型建成后随机分为, BMT

模型对照组 24 只, BMT+ 当归补血汤组 24 只, 分别以生理盐水、当归补血汤灌胃剂量为 10 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>。另取 8 只正常 BALB-c 小鼠的外周血及骨髓作为空白对照。

## 2.3 观察指标

2.3.1 外周血细胞计数 将 BMT 后第 1, 11, 22 天各组小鼠眼眶血计数。

2.3.2 骨髓单个核细胞(BMMNC)计数 于 BMT 后 1、11、22 天颈椎脱臼法处死小鼠, 取双侧股骨, 用 RPMI1640 从骨髓腔中冲出单个核细胞, 并计数。

2.3.3 骨髓组织病理学观察 将 BMT 后第 1、11、22 天各组小鼠处死后即取双侧尺骨, 3% 盐酸脱钙, 常规脱水, 透明石蜡包埋, 4  $\mu$ m 切片, HE-Giemsa+ 瑞氏混合液染色, 在 10 $\times$ 40 高倍镜下计数, 每张切片观察 15 个高倍镜视野, 计算每个视野巨核细胞数; 计算整个骨髓腔内造血组织占整个骨髓腔的容积。

2.4 统计学处理 统计学分析数据以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用 SAS8.0 进行 *t* 检验和相关分析。

## 3 结果

外周血细胞及骨髓单个核细胞(BMMNC)计数结果见表 1。

表 1 外周血细胞及 BMMNC 计数比较( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	BMT (d)	剂量 (g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	WBC $\times 10^9/L$	RBC $\times 10^{12}/L$	PLT $\times 10^9/L$	BMMNC ( $\times 10^6/\text{根股骨}$ )
正常组	—	—	4.93 $\pm$ 0.42	11.46 $\pm$ 0.36	1 084.00 $\pm$ 60.31	3.67 $\pm$ 0.45
BMT 对照组	1	—	2.20 $\pm$ 0.45 <sup>1)</sup>	10.02 $\pm$ 0.65 <sup>1)</sup>	889.90 $\pm$ 55.36 <sup>1)</sup>	0.31 $\pm$ 0.42 <sup>1)</sup>
	11	—	0.35 $\pm$ 0.13 <sup>1)</sup>	7.75 $\pm$ 0.52 <sup>1)</sup>	76.50 $\pm$ 22.07 <sup>1)</sup>	0.56 $\pm$ 0.46 <sup>1)</sup>
	22	—	1.55 $\pm$ 0.31 <sup>1)</sup>	8.74 $\pm$ 0.99 <sup>1)</sup>	625.25 $\pm$ 84.14 <sup>1)</sup>	0.58 $\pm$ 0.26 <sup>1)</sup>
BMT+ 当归补血汤组	1	10	2.34 $\pm$ 0.27 <sup>1)</sup>	10.01 $\pm$ 0.54 <sup>1)</sup>	876.56 $\pm$ 28.35 <sup>1)</sup>	0.43 $\pm$ 0.32 <sup>1)</sup>
	11	10	1.28 $\pm$ 0.48 <sup>1,3)</sup>	9.32 $\pm$ 0.55 <sup>1,3)</sup>	177.75 $\pm$ 34.03 <sup>1,3)</sup>	0.99 $\pm$ 0.34 <sup>1,4)</sup>
	22	10	3.05 $\pm$ 0.34 <sup>1,3)</sup>	10.99 $\pm$ 0.74 <sup>3)</sup>	886.75 $\pm$ 110.73 <sup>1,3)</sup>	1.27 $\pm$ 0.21 <sup>1,3)</sup>

注: 与正常组比较: <sup>1)</sup> *P* < 0.05, <sup>2)</sup> *P* < 0.01; 与 BMT 对照组比较: <sup>3)</sup> *P* < 0.05, <sup>4)</sup> *P* < 0.01(下同)

由表 1 看出 BMT 后第 11 天, 第 22 天的外周血 WBC, RBC, PLT 计数以及 BMMNC 计数 BMT+ 当归补血汤组均明显高于 BMT 对照组。

骨髓组织学观察结果见表 2, 图 1~ 3。

从表 2 可以观察到, 在 BMT 后第 11 天、22 天的骨髓造血组织容量 BMT 当归补血汤组。均显著高于 BMT 对照组。

## 4 讨论

骨髓移植能否成功的关键是造血组织的重新建

立, 尽快促进造血功能恢复, 是临床亟亟解决的问题, 积极探索毒副作用少, 有潜在治疗作用的药物或方法, 对改善骨髓移植患者的预后和生存, 有重要意义。传统中医药对促进造血组织重建可能发挥一定作用。当归补血汤以当归益血和营、黄芪大补脾肺元气, 为经典的气血双补名方。研究证明该方的补血生血作用主要系促进集落刺激因子(CSFs) 分泌、刺激骨髓细胞增殖、增强红细胞功能所致<sup>[5~6]</sup>。

表 2 各组小鼠骨髓组织学观察结果比较( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	BMT (d)	剂量 ( $g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ )	巨核细胞数 (个/高倍镜视野)	造血组织容量 (%)
正常组			5.89 ± 4.19	90.38 ± 6.70
BMT 对照组	1	—	4.88 ± 2.10	52.75 ± 11.30 <sup>1)</sup>
	11	—	0.35 ± 0.13 <sup>1)</sup>	16.38 ± 5.53 <sup>1)</sup>
	22	—	0.46 ± 0.64 <sup>1)</sup>	23.63 ± 9.32 <sup>1)</sup>
BMT+ 当归补血汤组	1	10	5.75 ± 2.71	51.63 ± 8.23 <sup>1)</sup>
	11	10	0.63 ± 1.41 <sup>1)</sup>	32.13 ± 7.10 <sup>1,3)</sup>
	22	10	0.75 ± 1.16 <sup>1)</sup>	30.25 ± 8.21 <sup>1)</sup>

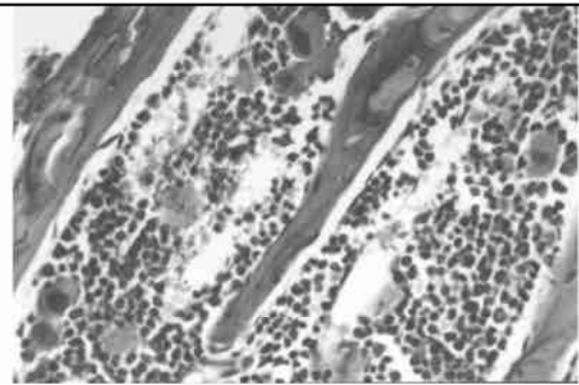


图 1 正常小鼠骨髓组织学图片 10×40 倍镜

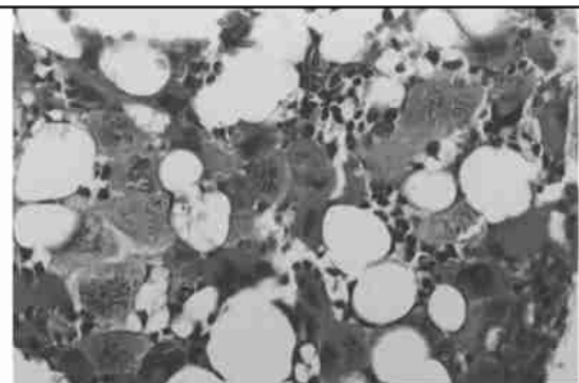


图 2 BMT 模型对照组小鼠 d22 骨髓组织学图片 10×40 倍镜

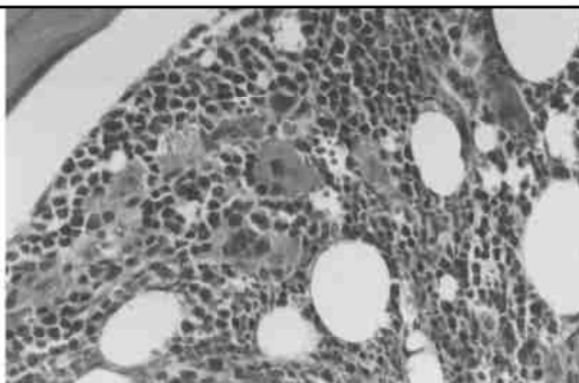


图 3 BMT+ 当归补血汤组 d22 骨髓组织学图片 10×40 倍镜

我们所建立的小鼠骨髓移植模型,能较好的模拟临床骨髓抑制状态,其外周血象、BMMNC 计数的变化特点能反映骨髓的造血水平,骨髓组织学切片,能直观地观察骨髓的有效造血面积,通过移植后的连续切片观察,能客观地反映骨髓造血组织重建的动态变化,是研究骨髓造血功能恢复的一个很好的方法。当归补血汤组小鼠在外周血白细胞、血小板计数和骨髓有核细胞计数、骨髓组织学切片等指标明显好于对照组小鼠,显示了当归补血汤具有较好促进骨髓移植后小鼠骨髓造血重建的作用。

当归补血汤能较好促进骨髓移植小鼠骨髓早期造血组织重建,为骨髓移植及其他骨髓增生低下性疾病的造血恢复的用药,提供了一个新的思路。

[参考文献]

- [1] 杨 岚,张力华,周 毅.当归补血汤对骨髓抑制小鼠骨髓细胞增殖的影响[J].中国组织工程研究与临床康复,2007,11(3):538-539.
- [2] 陈玉春,高依卿.当归补血汤补血作用机理的探讨[J].中国中药杂志,1994,19(1):43-45.
- [3] 韩明哲,万岁桂,钱林生,等.小鼠骨髓细胞体外扩增及其造血重建的研究[J].中华血液学杂志,1997,18:413-416.
- [4] 丁顺利,褚建新,赵钧铭,等.骨髓移植后造血重建过程中干、祖细胞增殖特性的研究[J].中国实验血液学杂志,1999,7:138-141.
- [5] 陈云华,孙建宁.当归补血汤对急性缺氧小鼠红细胞功能的影响[J].中国实验方剂学杂志,2006,12(10):41-43.
- [6] 童延清,侯火明.当归补血汤治疗贫血机制研究进展[J].江西中医药,2006,2:62-63.