

活髓片对环磷酰胺造模小鼠骨髓细胞 DNA 含量及细胞周期的影响

陈志雄¹ 曹克俭² 薛恺睿² 指导:丘和明²

摘要 研究结果表明,活髓片与补肾、活血方具有促进骨髓抑制小鼠骨髓细胞 DNA 合成作用;且补肾、活血方具有保护骨髓和促进骨髓细胞由 G₁ 期进入 S 期的效应。而健脾方则无此作用。

主题词 骨髓细胞/遗传学 骨髓细胞/药物作用 细胞周期/药物作用 @ 活髓片

活髓片是广州中医药大学内科血证组在丘和明教授指导下研制的具有补肾、健脾、活血化瘀功效,促进骨髓造血,治疗再生障碍性贫血、白血病化疗后及白细胞减少症等血液系统疾病有效药物。为了深入探讨活髓片及补肾、健脾、活血方促进骨髓造血的不同作用机理,我们进行了补肾、健脾、活血化瘀中药及活髓片对注射环磷酰胺造模小鼠骨髓细胞 DNA 含量及细胞周期影响的实验观察,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 动物分组:选用雄性 NIH 小鼠,体重 20~25g,由广州中医药大学动物中心提供。将小鼠随机分为正常组、生理对照组(生对组)、六味地黄汤组(补肾组)、四君子汤组(健脾组)、丹参饮组(活血组)及活髓片组(活髓组)共 6 组,每组 25 只。

1.2 药物:补肾组选六味地黄汤原方,健脾组选四君子汤原方,活血组选丹参饮去檀香加红花,活髓片组药由黄芪、人参、枸杞子、川芎、黄精、补骨脂、虎杖、当归等中药组成。分别将上方制成浓缩煎剂,每毫升约含 20mg 生药,以 1ml/10g 的剂量给实验组小鼠灌胃,生理对照组灌服等量蒸馏水。灌胃由实验第 1 天起至第 12 天结束,每日 2 次。环磷酰胺由上海华联制药公司生产,批号 970306。流式细胞仪:ELITE 型,由美国 COULTER 公司制造。

1.3 造模方法:除正常组外,实验各组于第 2、4、6 天按 1mg/10g 剂量经腹腔注射环磷酰胺。于实验第 12 天断头处死小鼠,取右侧股骨,以 6 ½ 针头用生理盐水反复冲洗,冲出全部骨髓。以 2000 转/分离心 10 分钟。去上

液加入 4ml 75% 冷乙醇固定,并上振荡器摇匀送检。

1.4 统计学处理:两均数差别的显著性检验用 *t* 检验,两样本率的比较用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 小鼠骨髓细胞 DNA 含量变化比较:表 1 示,补肾组、活血组及活髓组骨髓细胞 DNA 含量均有不同程度的增加,且与生对组、健脾组、正常组相比差异有显著性($P < 0.05$),而补肾组、活血组及活髓组之间相比,差异无显著性($P > 0.05$)。

表 1 各组小鼠骨髓细胞 DNA 含量变化比较($\bar{X} \pm S$)

组别	鼠数	Mean G ₁	Mean G ₂
生对组	10	44.8 ± 0.85	87.0 ± 1.13
补肾组	10	47.8 ± 2.02 $\Delta^{**}\blacktriangle$	90.03 ± 2.68 $\Delta^{*}\blacktriangle$
健脾组	10	45.37 ± 0.38	87.57 ± 1.57
活血组	10	47.13 ± 1.41 $\Delta^{**}\blacktriangle$	92.5 ± 2.95 $\Delta^{**}\blacktriangle$
活髓组	10	47.03 ± 0.51 $\Delta^{*}\blacktriangle$	91.8 ± 0.95 $\Delta^{**}\blacktriangle$
正常组	10	44.97 ± 0.85	87.33 ± 1.50

与生对组比较, $\Delta P < 0.01$;与健脾组比较, $* P < 0.05$,
 $** P < 0.01$;与正常组比较, $\blacktriangle P < 0.01$

2.2 各组小鼠骨髓细胞周期百分率比较:表 2 示,环磷酰胺对小鼠骨髓细胞周期影响是显著的,正常组与实验各组相比 G₁ 期、S 期、G₂ 期差异都有极显著性($P < 0.01$)。G₁ 期细胞百分率以生对组和活髓组为最高,且与活血组相比,差异有显著性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);活血组最低,其与健脾组相比,差异亦有显著性($P < 0.05$)。S 期细胞百分率以活血组为最高,与生对组、健脾组、活髓组相比,差异有显著性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。G₂ 期细胞百分率以健脾组为最高,健脾组、活血组与活髓组相比,差异有显著性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

3 讨论

环磷酰胺主要破坏细胞 DNA 的结构和功能,是细胞周期非特异性药物,其对细胞的 S 期作用最明显,且能够损伤骨髓微循环^[1],表现出血窦舒张、渗出、出血及结构的破坏^[2]。可见环磷酰胺对骨髓的抑制,既有对骨髓造血细胞直接损伤,又有因对骨髓微循环的破坏而使造血细胞得不到正常能量供给而出现 DNA 合成代谢障碍的间接影响。

1 广州中医药大学第一附属医院,广州市机场路 12 号(510407)

2 广州中医药大学

收稿日期:1998-09-25

表 2 各组小鼠骨髓细胞周期百分率比较($\bar{X} \pm S$)

组别	鼠数	G ₁ %	S%	G ₂ %
生对组	10	87.0±1.70	9.3±2.69	3.65±1.06
补肾组	10	83.8±9.46▲	12.1±7.15▲	4.10±2.43▲
健脾组	10	84.1±4.05▲ [#]	11.17±2.80▲ ^{#*}	4.73±1.34▲ [*]
活血组	10	79.1±4.92△ [*] ▲	16.23±2.80△△ [*] ▲	4.63±0.84△▲ [*]
活髓组	10	88.7±4.10▲	8.07±3.00▲	3.27±1.11▲
正常组	10	70.07±3.05	22.2±2.05	7.77±0.95

与生对组比较, $\Delta P < 0.05$, $\triangle \Delta P < 0.01$; 与正常组比较, $\blacktriangle P < 0.01$; 与活髓组比, $* P < 0.05$, $** P < 0.01$; 与活血组相比, $\# P < 0.05$

细胞 DNA 含量的高低反映其增殖活性, DNA 含量增多, 细胞增殖分裂旺盛, 反之则分裂增殖受抑^[3]。实验结果表明, 补肾组、活血组、活髓组的 DNA 含量均高于正常组、健脾组与生对组 ($P < 0.05$)。证明补肾中药、活血化瘀中药及活髓片具有促进骨髓抑制小鼠骨髓细胞 DNA 合成即促进其增殖的作用, 而健脾药则无此作用。说明补肾药、活血化瘀药与健脾药在促进造血功能方面机理有所不同。

G_1 期是指上一次细胞分裂结束到 DNA 开始复制的时间, G_1 期细胞为 DNA 复制作好物质准备, S 期细胞将进行 DNA 复制, 在 G_2 期细胞复制完成并将进行细胞分裂^[4]。实验表明, 环磷酰胺对小鼠骨髓抑制是严重的, 实验各组其骨髓细胞 S 期百分率均明显低于正常组 ($P < 0.01$)。而活血组、补肾组则高于实验的其它 3 组, 证明活血化瘀中药和补肾中药具有保护环磷酰胺抑制的骨髓细胞或/和促进细胞由 G_1 期进入 S 期的作用。再次说明活血化瘀中药、补肾中药与健脾中药在促进造血上存在着差异。

多项实验证实补肾中药具有促进骨髓造血干(祖)细胞的增殖作用^[5~7]。谢仁敷等^[8]认为,活血化瘀中药有改善骨髓造血微环境、促进造血的作用,然不能直接促进造血干(祖)细胞的增殖。我们认为,活血方改善了环磷酸胍造模小鼠骨髓的血瘀状态,进而降低了因血瘀对骨髓细胞的间接影响,从而促进了造血。另有实验亦表明^[9],补肾中药、健脾中药与活髓片均有降低注射环磷酸胍小鼠 IL-2 和升高其 GM-CSF 水平的作用,活血化瘀中药则无此作用,进而初步揭示了其不同的作用机理。

4 参考文献

- 1 杨冀宸主编. 医用药理学. 第3版, 北京: 人民卫生出版社, 1994; 1023.
- 2 彭登慧, 谢仁敷, 田牛. 补肾中药对注射环磷酰胺小鼠骨髓微循环障碍的影响. 中西医结合杂志, 1983, 3(5): 292.
- 3 魏旭东, 赵志平. 再生障碍性贫血 DNA 损伤修复活性的研究. 中华血液学杂志, 1992, 13(10): 540.
- 4 陈兆聪主编. 医学分子生物学. 武汉: 武汉大学出版社, 1988; 350.

- 5 展昭民. 补肾药对再生障碍性贫血骨髓造血祖细胞作用的研究. 中医药信息, 1989, (1), 23.
- 6 谢仁敦, 庄杰盾, 麻柔. 中药大菟丝子饮与十四味建中汤对骨髓造血干细胞作用的初步观察. 中华血液学杂志, 1980, 1(2), 92.
- 7 曹克俭, 俞亚琴, 曹慧滨, 等. 补髓生血冲剂对小鼠骨髓干(祖)细胞 CFU-S、CFU-D、CFU-E 的影响. 天津中医学院学报, 1996, 15(2), 40.
- 8 谢仁敦, 廖军鲜, 袁霞霞, 等. 活血化瘀药对骨髓造血的影响. 中西医结合杂志, 1988, 8(10), 616.

注:本课题由国家中医药管理局重点科研基金资助(No. 972114)

• 书 讯 •

●《中国特色医疗大全》由中国中医研究院副院长阎孝诚任主编，施莫邦、唐由之、陈可冀教授任顾问。全书囊括国内500名专家学者丰富的临床经验，并配有作者的照片、简历、通讯地址。吴阶平教授及中医老前辈吕炳奎先生为本书题辞；著名书法家蒋之先生为本书题写书名。本书为16开，精装烫金护封，每册定价98元（含邮资，书款收到后3日内寄书）购书者请将姓名、地址、邮编及所购册数务必书写准确，以免误寄。

汇款地址:北京东直门内北新仓 18 号,邮编:100700。联系人:唐蓓蓓,电话:(010)84017675。

●《中华药海》崔月犁、冉先德主编，16开，1300万字（上、下）精装。在原卫生部长崔月犁同志的直接领导下，在全国范围内挑选有真才实学的中医专家、中西医结合专家任编委，集体创作，分目编写，是中医中药史上划时代的里程碑。《中华药海》载药8000余种，参阅古代本草专著150种，旁及医籍方书、经史百家有关书籍1000余种，并广收1820年至1991年的国内外有关本草中药文献资料，既有古代的传统经验，又有现代的科研成果。内容丰富，博古通今；药味众多，图文并茂；体例严谨，科学性强；文词优美，正确使用中医术语，注重趣味性，语言通俗流利，切合实用。本书经150余位有关专家论证，列为国家新闻出版署“八五”期间100项重点出版项目之一，是继明代李时珍《本草纲目》之后，有划时代意义的中药学巨著。该书每套4册定价：980.00元，优惠价：490.00元。欲购者请汇款至北京东直门内北新仓18号中医杂志医海林音像书店图书部收，邮编：100700，写清所购书名及数量。备有书目函索即寄。