

红景天苷对环磷酰胺致骨髓损伤小鼠造血功能的影响

吴建良, 汪培欢, 王 翔, 杨水新(湖州市中心医院, 浙江 湖州 313000)

摘要: **目的** 考察红景天苷对环磷酰胺(Cyclophosphamide, CTX)致骨髓损伤小鼠骨髓造血和外周血象的影响。**方法** 84 只昆明小鼠随机分为 6 组, 即正常对照组, 模型组, 茜草双酯组($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 红景天苷低、中、高剂量组 ($20, 40, 80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。用 CTX 按 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量对小鼠腹腔注射, 每天 1 次, 连续 5 d, 复制骨髓损伤模型小鼠, 模型复制后第 1 次给予 CTX 后, 立即口服灌胃给予红景天苷, 每天 1 次, 连续 10 d, 在 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 14 d 检测外周血象, 在第 10 天进行骨髓细胞集落培养和血清造血因子测定。**结果** 与模型组比较, 红景天苷对 CTX 致骨髓损伤小鼠骨髓中红系祖细胞(CFU-E、BFU-E)、粒系祖细胞(CFU-GM)数量的回升有明显促进作用($P < 0.05$); 可以提高血清中粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、促红细胞生成素(Epo)的水平($P < 0.05$); 对 CTX 致骨髓损伤小鼠外周血白细胞和血小板的恢复有明显的促进作用 ($P < 0.05$)。**结论** 红景天苷可提高造血因子水平, 促进骨髓造血, 进而升高外周血中的白细胞和血小板, 提示红景天苷对 CTX 致骨髓损伤小鼠具有保护作用。

关键词: 红景天苷; 环磷酰胺; 骨髓损伤; 血象; 小鼠

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)04-0371-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.04.012

Effects of Salidroside on Hematopoietic Recovery in Cyclophosphamide-induced Marrow Injury Mice

WU Jianliang, WANG Peihuan, WANG Xiang, YANG Shuixin(Huzhou Central Hospital, Huzhou 313000 Zhejiang, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of salidroside on marrow hematopoiesis and peripheral blood hematology in mice with marrow injury induced by cyclophosphamide(CTX). **Methods** Eighty-four Kunming mice were randomly divided into 6 groups, normal group, model group, rubidate($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) group, and low-, middle-, and high-salidroside groups (in the dosage of 20, 40, $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, respectively). Mice model of marrow injury was established by intraperitoneal injection with CTX $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ once a day for five continuous days. After first medication of CTX, the mice were given gastric infusion of salidroside once a day for 10 continuous days. On day 0, 1, 3, 7, 9, 11, and 14, the peripheral blood hematology was investigated. On day 10, hematopoietic progenitor colony-forming cells were assayed and serum hematopoietic factors were detected. **Results** Salidroside could increase the number of erythroid burst forming unit(BFU-E), erythroid colony forming unit(CFU-E), neutrophils and colony-forming unit-granulocyte macrophage(CFU-GM), and elevate granulocyte colony-stimulating factor(G-CSF) and erythropoietin (Epo) levels in CTX-induced marrow injury mice($P < 0.05$). Salidroside could also increase the number of white blood cells(WBC) and blood platelets(PLT) in marrow injury mice($P < 0.05$). **Conclusion** Salidroside has protective effect on CTX-induced marrow injury mice, and the mechanism may be related with the recovery of marrow hematopoiesis through increasing hemopoiesis factors.

Keywords: Salidroside; Cyclophosphamide; Marrow injury; Hemogram; Mice

肿瘤化疗的毒副反应如骨髓抑制、免疫功能低下等限制了化疗药物的应用, 采用中药作为辅助治

疗可以降低化疗药物的毒副作用^[1]。国内学者对红景天在抗疲劳、抗缺氧、造血和免疫功能等方面进行

收稿日期: 2013-02-18

作者简介: 吴建良, 男, 硕士, 副主任药师, 研究方向: 中药药理。Email: wjl6592@163.com。

基金项目: 湖州市科技计划项目(2011YS09)。

了较系统的研究,证明其对造血和免疫功能均有较好的刺激保护及促进再生作用^[2-3]。红景天苷(Salidroside),又名对羟基苯乙基- β -D-吡喃葡萄糖苷,为红景天中的主要有效成分^[4],本实验观察了红景天苷对环磷酰胺(Cyclophosphamide, CTX)致骨髓损伤小鼠骨髓造血和外周血象的影响,以期为其临床应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物 昆明种小鼠 84 只,雌雄各半,6~8 周龄,体质量 18~22 g。其中外周血指标每组 10 只,共 60 只,雌雄各半;造血祖细胞培养和血清造血因子测定每组 4 只,共 24 只,雌雄各半。动物合格证号:SCXK-(军)2007-004。

1.2 药物 红景天苷(批号:110818-2004-04)、茜草双酯(批号:100418-200401),均购自中国药品生物制品检定所。

1.3 试剂及仪器 溶血素(批号:C9011)、稀释液(批号:C9134)、清洗液(批号:C9008),山东兰桥科技有限公司;Methocult 集落形成细胞检测试剂盒,批号:03120,杭州百通生物技术有限公司;Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)试剂盒,批号:20110905,武汉博士德公司。F820 型血细胞分析仪,日本 Sysmex 公司;CO₂ 培养箱,美国 Thermo Forma 公司。

1.4 方法

1.4.1 分组 动物常规饲养适应环境后,随机分 6 组,正常对照组,模型组,茜草双酯组(100 mg·kg⁻¹),红景天苷低剂量组(20 mg·kg⁻¹)、中剂量组(40 mg·kg⁻¹)、高剂量组(80 mg·kg⁻¹)。小鼠腹腔注射 CTX(50 mg·kg⁻¹),每天 1 次,连续 5 d,制成骨髓损伤模型小鼠^[5],模型复制后第 1 次给予 CTX 后,立即口服灌胃给予红景天苷,每天 1 次,连续 10 d,模型组和正常对照组则给予等体积的生理盐水。

1.4.2 外周血象检测 在 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 14 d, 每只小鼠尾静脉取血 20 μ L,用 Sysmex-800 自动血球计数仪检测外周血象。

1.4.3 骨髓细胞集落培养 按试剂盒说明操作,按照文献方法进行定向造血干细胞集落培养^[6],在末次给药后 24 h,颈椎脱臼处死小鼠冲取骨髓得单个核细胞悬液。配制粒系培养体系和红系培养体系。将充分混匀的培养体系加入培养皿中。培养 10~14 d 观察粒系祖细胞(CFU-GM)集落,大于 40 个细胞的细胞团为一个集落;红系祖细胞(CFU-E)在培养的第

5~7 天观察计数,大于 8 个细胞的细胞团为一个 CFU-E 集落;红系祖细胞(BFU-E)在培养的第 14 天计数,大于 50 个细胞组成的细胞团或 3 个中心以上的细胞团为一个 BFU-E 集落。集落的鉴定在倒置显微镜下,CFU-E 及 BFU-E 集落一般呈鲜红色,易于与其他集落比较。

1.4.4 血清造血因子测定 在末次给药后 24 h,每组取 4 只小鼠血清,按照试剂盒要求进行促红细胞生成素(Epo)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)检测。小鼠眼眶取血约 250 μ L,3000 g 离心 15 min 取上清,按照预实验进行一定比例的稀释,加入酶标反应孔中,每样品 3 孔,每孔 100 μ L,置于 37 $^{\circ}$ C,60 min 孵育。用洗涤液满孔洗涤 3 次,每次 2 min。加入酶标抗体,37 $^{\circ}$ C,60 min 孵育,洗涤液满孔洗涤 3 次,每次 3 min。加入底物液(TMB-过氧化氢尿素溶液),每孔 100 μ L,置 37 $^{\circ}$ C 避光放置 3~5 min,每孔加入终止液显色。于 20 min 内在酶标仪 450 nm 波长处测定 OD 值,计算各组相对于正常对照组的相对含量,以相对比值表示。

1.5 统计学处理方法 结果以($\bar{x} \pm s$)表示,进行具有可重复检测的单因素方差分析(ANOVA)。

2 结果

2.1 对 CTX 致骨髓损伤小鼠外周血象的影响 模型组小鼠外周血中白细胞总数在造模后 5 d 下降到最低点,然后缓慢回升。与模型组比较,红景天苷组在 3~11 d 显著升高外周血白细胞数,且具有剂量依赖性,与茜草双酯组比较,红景天苷组在第 3 天、5 天时外周血白细胞数升高优于茜草双酯组($P < 0.05$),结果见表 1。模型组小鼠外周血小板在造模后 9 d 下降到最低点,然后缓慢回升。与模型组比较,红景天苷组在 7~11 d 显著升高外周血小板,且具有剂量依赖性($P < 0.05$)。红景天苷组在第 9 d、11 天外周血小板升高优于茜草双酯组($P < 0.05$),结果见表 2。

2.2 红景天苷对 CXT 致骨髓损伤小鼠造血祖细胞的影响 模型组小鼠骨髓中的 CFU-GM、CFU-E、BFU-E 较正常对照明显减少($P < 0.05$)。经红景天苷治疗 10 d 后,小鼠骨髓中 CFU-GM、CFU-E、BFU-E 明显升高($P < 0.05$)。红景天苷高剂量对 CFU-GM、CFU-E、BFU-E 数量的回升明显优于茜草双酯组($P < 0.05$),结果见表 3。

2.3 红景天苷对 CTX 致骨髓损伤小鼠造血因子的影响 结果见图 1、图 2, G-CSF、Epo 的水平以相对

表 1 红景天苷对 CTX 致骨髓损伤小鼠外周血白细胞的的影响($n=10, \bar{x} \pm s, \times 10^9 \cdot L^{-1}$)

组别	WBC							
	0 d	1 d	3 d	5 d	7 d	9 d	11 d	14 d
正常对照组	8.62 ± 1.35	9.23 ± 2.01	8.98 ± 1.35	8.81 ± 2.12	9.65 ± 1.29	8.35 ± 2.01	7.89 ± 0.76	8.65 ± 1.35
模型组	8.89 ± 1.26	6.23 ± 1.56*	3.91 ± 0.52*	3.05 ± 0.98*	4.56 ± 1.12*	4.59 ± 1.16*	5.31 ± 0.59*	6.65 ± 1.65
茜草双酯组	8.39 ± 1.26	7.32 ± 1.61	4.24 ± 0.65	5.62 ± 0.56 [#]	6.21 ± 0.99 [#]	6.51 ± 0.58 [#]	7.14 ± 0.56 [#]	7.23 ± 0.89
红景天苷低剂量组	8.69 ± 1.251	6.71 ± 0.86	4.14 ± 0.87	4.15 ± 0.65 [#]	4.22 ± 0.65	5.09 ± 0.89	5.65 ± 0.77	6.68 ± 0.78
红景天苷中剂量组	7.98 ± 1.36	6.89 ± 0.89 [#]	4.32 ± 0.87	4.52 ± 0.78 [#]	5.89 ± 0.54 [#]	5.26 ± 0.77	5.45 ± 0.57	6.87 ± 1.24
红景天苷高剂量组	8.36 ± 1.98	7.35 ± 0.57	5.74 ± 0.78 ^{#Δ}	6.82 ± 0.54 ^{#Δ}	6.34 ± 0.69 [#]	6.51 ± 0.54 [#]	7.24 ± 0.77 [#]	7.59 ± 0.54

注：与正常对照组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，[#] $P < 0.05$ ；与茜草双酯组比较，^Δ $P < 0.05$ 。

表 2 红景天苷对 CTX 致骨髓损伤小鼠外周血小板的影响($n=10, \bar{x} \pm s, \times 10^{12} \cdot L^{-1}$)

组别	血小板							
	0 d	1 d	3 d	5 d	7 d	9 d	11 d	14 d
正常对照组	879.23 ± 89.25	898.12 ± 98.56	901.25 ± 89.56	956.32 ± 99.56	987.02 ± 121.23	887.12 ± 89.56	975.02 ± 99.24	875.23 ± 99.23
模型组	859.81 ± 85.56	775.56 ± 89.26	721.26 ± 88.36*	718.56 ± 77.21*	656.32 ± 102.32*	356.78 ± 34.24*	456.36 ± 49.56*	536.89 ± 99.56
茜草双酯组	879.65 ± 77.21	789.32 ± 98.65	756.32 ± 87.65	789.65 ± 77.69	687.54 ± 96.45	524.21 ± 77.85 [#]	554.01 ± 78.56 [#]	654.01 ± 77.87
红景天苷低剂量组	879.21 ± 87.16	778.96 ± 89.65	723.19 ± 98.65	795.36 ± 98.56	656.81 ± 99.86	457.08 ± 56.21 [#]	498.39 ± 77.45	558.98 ± 112.23
红景天苷中剂量组	879.32 ± 99.02	789.56 ± 99.87	787.69 ± 89.23	715.23 ± 87.12	659.84 ± 75.21	497.32 ± 94.12 [#]	512.36 ± 75.23 [#]	563.87 ± 87.25
红景天苷高剂量组	887.01 ± 99.63	801.23 ± 87.12	798.12 ± 95.24	775.93 ± 77.28	715.98 ± 54.46 [#]	675.61 ± 45.23 ^{#Δ}	676.45 ± 45.21 ^{#Δ}	621.23 ± 87.45

注：与正常对照组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，[#] $P < 0.05$ ；与茜草双酯组比较，^Δ $P < 0.05$ 。

表 3 红景天苷对 CTX 致骨髓损伤小鼠造血祖细胞的影响($n=4, \bar{x} \pm s, \text{个/孔}$)

Table 3 The effect of salidroside on hematopoietic progenitor cells injured by CTX

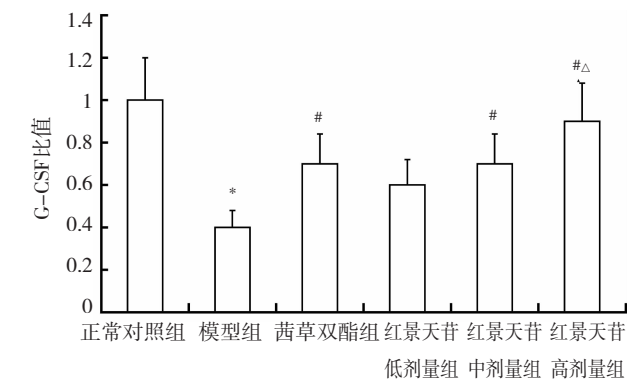
组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	CFU-E	BFU-E	CFU-GM
正常对照组	—	15.16 ± 3.89	40.21 ± 5.36	89.65 ± 15.26
模型组	—	3.65 ± 1.23*	3.65 ± 2.03*	15.26 ± 2.41*
茜草双酯组	100	8.89 ± 0.65 [#]	25.63 ± 2.65 [#]	35.26 ± 9.86 [#]
红景天苷低剂量组	20	4.56 ± 1.02	15.96 ± 2.26 [#]	28.23 ± 3.65 [#]
红景天苷中剂量组	40	7.56 ± 2.45 [#]	20.22 ± 8.54 [#]	32.26 ± 4.56 [#]
红景天苷高剂量组	80	12.79 ± 0.58 ^{#Δ}	32.26 ± 2.56 ^{#Δ}	41.25 ± 2.36 ^{#Δ}

注：与正常对照组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，[#] $P < 0.05$ ；与茜草双酯组比较，^Δ $P < 0.05$ 。

于正常对照组的相对比值表示。模型组小鼠血清中 G-CSF、Epo 的水平明显降低，经红景天苷治疗 10 d 后，小鼠血清中 G-CSF、Epo 的水平较模型组明显升高($P < 0.05$)，红景天苷高剂量对血清中 G-CSF、Epo 的水平升高作用优于茜草双酯组($P < 0.05$)。

3 讨论

化疗药物容易造成严重的骨髓抑制，促进骨髓造血的药物可以作为辅助治疗，减轻化疗药物引起的骨髓抑制^[7]。CTX 抑制骨髓细胞增殖，使造血干祖细胞减少，造成外周血象下降^[7-8]。茜草双酯主治



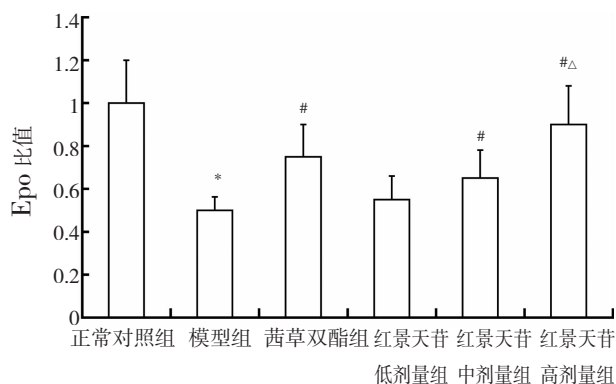
注：与正常对照组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，[#] $P < 0.05$ ；与茜草双酯组比较，^Δ $P < 0.05$ 。

图 1 红景天苷对 CTX 致骨髓损伤小鼠血清中 G-CSF 的影响

Figure 1 The effect of salidroside on G-CSF in serum of mice injured by CTX

各种原因引起的白细胞减少症，对化疗所致白细胞减少疗效较好，本文将茜草双酯作为阳性对照药。

本文观察了红景天中主要成分红景天苷对 CTX 致骨髓损伤小鼠骨髓造血和外周血象的影响，结果显示红景天苷对 CTX 致骨髓损伤小鼠骨髓中红系祖细胞(CFU-E、BFU-E)、粒系祖细胞(CFU-GM)数量的回升有明显促进作用($P < 0.05$)，红景天苷对 CTX



注：与正常对照组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ ；与茜草双酯组比较，Δ $P < 0.05$ 。

图2 红景天苷对CTX致骨髓损伤小鼠血清中Epo的影响

Figure 2 The effect of salidroside on Epo in serum of mice injured by CTX

致骨髓损伤小鼠外周血白细胞和血小板的恢复有明显的促进作用($P < 0.05$)。

粒细胞集落刺激因子是一种重要的生长因子，能够加强骨髓造血祖细胞生成，动员造血祖细胞从造血组织进入血液循环^[9]。促红细胞生成素是哺乳动物等生物体内促进红细胞生成的一种重要的调节因子，能通过刺激骨髓和脾脏中红血球生成，从而促进网状细胞生成以及红细胞膜蛋白合成^[10]。我们采用ELISA方法检测了相关血清因子水平，结果显示红景天苷可以提高血清中粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、促红细胞生成素(Epo)的水平。

红景天苷可提高造血因子水平，进而升高外周

血中的白细胞和血小板，且高剂量组的效果优于茜草双酯。在此基础上，本课题组目前正在红景天苷细胞水平的研究，拟发现红景天苷促进骨髓造血的信号通路和分子机制。

参考文献：

- [1] 王璐, 吴凤麟, 王金山, 等. 补血方对环磷酰胺所致小鼠血虚模型的影响[J]. 中药材, 2010, 32(3): 414-416.
- [2] 李妍, 张慧峰, 李晓光, 等. 红景天苷药理作用的研究进展[J]. 吉林医药学院学报, 2007, 28(3): 175-177.
- [3] 高月, 刘秀珍, 马成禹, 等. 红景天对小鼠造血功能的影响[J]. 中华放射医学与防护杂志, 1994, 14 (6): 391-392.
- [4] 李丹红, 孟玉彩, 赵文. 红景天植物生物活性研究进展[J]. 毒理学杂志, 2008, 22(4): 320-323.
- [5] 马增春, 高月, 刘永学, 等. 环磷酰胺所致血虚证小鼠骨髓CD34⁺细胞的变化及其意义[J]. 中国基础医学杂志, 2001, 7(7): 42-43.
- [6] 刘秀珍. 造血祖细胞培养技术实验手册[M]. 北京: 北京出版社, 1993: 25.
- [7] 徐宏贵, 方建培, 黄绍良, 等. 环磷酰胺对小鼠骨髓造血干/祖细胞作用及机制研究[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志, 2007, 12(3): 106-110.
- [8] 马增春, 谭洪玲, 肖成荣, 等. 环磷酰胺损伤小鼠骨髓造血的机制[J]. 毒理学杂志, 2007, 21(4): 332.
- [9] Ma ZC, Hong Q, Wang YG, et al. Effects of ferulic acid on hematopoietic cell recovery in whole-body Gamma irradiated mice[J]. Int J Radiat Biol, 2011, 87(5): 499-505.
- [10] Ma ZC, Hong Q, Wang YG, et al. Ferulic acid protects lymphocytes from radiation-predisposed oxidative stress through extracellular regulated kinase[J]. Int J Radiat Biol, 2011, 87(2): 130-140.

(编辑: 邓响潮)

丹酚酸 B 对原发性高血压大鼠的降压作用机制研究

周才杰^{1,2,3}, 刘江琦^{1,2,4}, 高 晗^{1,2}, 赖小平³, 邱书奇^{1,2} (1. 深圳市耳鼻咽喉研究所, 广东 深圳 518172; 2. 深圳市龙岗中心医院耳鼻咽喉科医院, 广东 深圳 518172; 3. 广州中医药大学, 广东 广州 510006; 4. 遵义医学院(珠海校区), 广东 珠海 519041)

摘要：目的 观察丹酚酸 B 对原发性高血压大鼠(SHR)的降压作用，并探讨其可能的降压机制。**方法** 将 64 只雄性 SHR 大鼠随机分为 4 组：模型组，阳性药组(依那普利组)，丹酚酸 B(SalB)高、低剂量组，另设正常对照组(16 只健康大鼠)，分别给予相应药物或蒸馏水。给药前分别测基础血压 1 次，给药后每 2 周测血压 1 次，给药 10 周后取一半大鼠检测各组大鼠血压，血浆肾素(PRA)、血管紧张素 II(Ang-Ⅱ)、内皮素(ET)、心钠素(ANF)含量，血清一氧化氮(NO)、胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、超氧化物歧化酶(SOD)及丙二醛(MDA)含

收稿日期: 2013-01-10

作者简介: 周才杰, 女, 博士, 研究方向: 中药新药临床与药理。Email: azhou828@163.com。通讯作者: 赖小平, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 中药新药研发。Email: lxp88@gzutm.edu.cn; 邱书奇, 教授, 主任医师, 研究方向: 耳鼻咽喉-头颈外科学。Email: qiuqi66858@163.com。