

抗毒生血饮对小鼠脾脏和胸腺放射损伤修复作用的组织病理学研究*

王勒渝 吴振宇 张秀英 赵蝶生 郑 军

内容提要 从组织病理学方面研究中药“抗毒生血饮”对 8 Gy⁶⁰Co γ 线照射后小鼠脾脏、胸腺免疫器官的修复作用。用 LACA 小鼠 130 只分 3 组进行实验, 对照组和用药组用 8 Gy⁶⁰Co γ 线 1 次全身照射, 用药组在照射前 1h 和照射后连续 5 天给药。实验结果表明, 抗毒生血饮可以促使损伤的脾脏、胸腺组织结构恢复正常。照射后第 30 天用药组与对照组比较, 有显著性差异 ($P < 0.01$)。

关键词 抗毒生血饮 放射损伤 脾脏 胸腺 组织病理学

A Histopathologic Study on Recovering Effect of Kangdu Shengxue Decoction on Spleen and Thymus of Mice with Radiation Injury WANG Le-yu, WU Zhen-yu, ZHANG Xiu-ying, et al
Department of Pathology, Guanganmen Hospital, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing (100053)

The effect of Kangdu Shengxue Decoction (KDSXD) on the spleen and thymus of mice irradiated with ⁶⁰Co γ -rays has been studied by histopathological methods. 130 LACA mice were divided into 3 groups. Control and experimental groups were generally irradiated for once with 8 Gy ⁶⁰Co γ -rays. The experimental group were treated with KDSXD one hour before irradiation and consecutively five days after radiation. The results of experiment showed that 30 days after irradiation the structure of spleen and thymus of treated mice normalized. The difference of recovery between control and experimental group showed a high significance statistically ($P < 0.01$).

Key words Kangdu Shengxue Decoction, radiation injury, spleen, thymus, histopathology

在肿瘤患者的放射治疗中存在较大的放射副反应, 影响患者的正常治疗和康复, 因此寻找有效无毒, 能长期服用的中药放射防护剂已成为一个很迫切的问题。抗毒生血饮是以中医理论为指导, 在总结我院及国内十多年中医药防治辐射损伤和肿瘤放疗副反应的研究基础上^(1, 2), 研制的辐射防护剂。为了探讨此药促使放射损伤修复作用机理, 为临床治疗放射病提供一定的实验与理论根据, 我们进行了抗毒生血饮对⁶⁰Co γ 线所致小鼠脾脏、胸腺急性放射损伤修复作用的组织病理学研究, 报告如下。

材料与方法

1 动物和分组 LACA 小鼠 130 只, 雌雄各半, 鼠龄 7~8 周, 体重 20 ± 2 g, 由军事医学科学院动物场提供。将小鼠随机分为 3 组: 用药组、对照组

和正常组。正常组小鼠 10 只, 其他两组小鼠分别为 60 只。

2 药物 抗毒生血饮口服液为本院基础研究室制备, 由生地 20 g 黄芪 25 g 当归 10 g 川芎 10 g 等中药组成, 含量为 2 g 生药/ml。

3 实验方法 用药组和对照组小鼠均作⁶⁰Co γ 线 1 次全身照射, 剂量率为 1.875 Gy/min, 总剂量 8 Gy。用药组在照射前 1h 和照射后连续 5 天给抗毒生血饮灌胃, 每天 1 次, 每次 0.6 ml/只 (相当 60 g 生药/kg)。正常组不接受照射和灌药。用药组与对照组小鼠均于照射后第 9、30 天分批处死。正常组小鼠于第 30 天处死。取处死的小鼠脾脏和胸腺, 用 Bouin 氏液固定, 经脱水透明, 石蜡切片, HE 染色, 于光镜下观察脾脏和胸腺的组织结构形态变化。

4 统计学处理 采用 Radit 分析, 差异变化用 u 检验⁽³⁾。

* 国家自然科学基金资助课题

中国中医研究院广安门医院 (北京 100053)

结 果

1 脾脏和胸腺组织形态变化的分级标准 参照文献^[4], 将脾脏和胸腺的组织形态变化分为 4 级: “-”表示组织严重损伤、未恢复; “+”表示组织轻度恢复; “++”表示组织恢复较好; “+++”表示组织恢复正常。

2 观察结果

2.1 脾脏的变化 正常小鼠脾脏组织结构: 脾脏表面被覆一层由致密结缔组织构成的被膜。脾实质内白、红髓结构清楚, 白髓围绕中央动脉及其分支而分布, 淋巴细胞呈鞘状包绕在中央动脉周围, 脾小结位于中央动脉周围淋巴鞘之一侧, 可见生发中心。红髓内的脾索由淋巴组织索构成, 索内含有许多淋巴细胞、巨噬细胞、浆细胞等; 脾血窦不充血, 可见巨核细胞。

照射后第 9 天: 用药组和对照组的脾脏组织结构

发生明显损伤性变化。白髓: 淋巴细胞明显减少, 中央动脉周围淋巴鞘变薄, 脾小结明显萎缩或消失; 红髓: 脾索内淋巴细胞、巨噬细胞等明显减少并散在分布; 所有小鼠的脾窦都有不同程度的充血, 巨核细胞明显减少或消失, 见表 1、表 2。

照射后第 30 天: 对照组少数小鼠脾脏组织结构有好转的趋势, 如白髓淋巴细胞稍有增加, 脾小结稍有增多但无生发中心, 巨核细胞稍增多, 然而大多数小鼠的脾脏组织结构仍未好转恢复(图 1、2, 见封 3)。用药组小鼠脾脏组织结构则明显修复好转, 大多数恢复正常; 白、红髓结构清楚, 白髓中淋巴细胞密集, 中央动脉周围淋巴鞘明显, 脾小结明显增多, 可见生发中心; 红髓中脾索的淋巴细胞、巨噬细胞增多明显, 脾窦基本不充血, 巨核细胞明显增多(图 3、4, 见封 3)。两组相比, 脾脏组织结构的修复性变化有显著性差异($P < 0.01$), 见表 1、表 2。

表 1 8 GY⁶⁰Co γ 线照射后两组不同时间脾脏白髓组织结构变化

组别	照射后时间 (天)	鼠数 (只)	淋 巴 细 胞						脾 小 结			
			-	+	++	+++	$\bar{R} \pm \frac{1}{\sqrt{3n}}$	-	+	++	+++	$\bar{R} \pm \frac{1}{\sqrt{3n}}$
用药	9	16	0	10	6	0	0.386 ± 0.144	4	10	2	0	0.462 ± 0.144
	30	16	0	0	2	14	$0.850 \pm 0.144^*$	0	2	6	8	$0.828 \pm 0.144^*$
对照	9	16	0	13	3	0	0.313 ± 0.144	11	5	0	0	0.264 ± 0.144
	30	12	0	6	6	0	0.433 ± 0.166	3	9	0	0	0.424 ± 0.166

注: 与对照组同一时间比较, * $P < 0.01$

表 2 8 GY⁶⁰Co γ 线照射后两组不同时间脾脏红髓组织结构变化

组别	照射后 时间 (天)	鼠 数 (只)	髓 索				脾 窦 充 血					巨 核 细 胞					
			-	+	++	+++	$\bar{R} \pm \frac{1}{\sqrt{3n}}$	-	+	++	+++	$\bar{R} \pm \frac{1}{\sqrt{3n}}$	-	+	++	+++	$\bar{R} \pm \frac{1}{\sqrt{3n}}$
用药	9	16	1	15	0	0	0.404 ± 0.144	0	12	4	0	0.519 ± 0.144	14	2	0	0	0.139 ± 0.144
	30	16	0	2	6	8	$0.754 \pm 0.144^*$	0	0	11	5	$0.845 \pm 0.144^*$	0	4	7	5	$0.762 \pm 0.144^*$
对照	9	16	2	13	1	0	0.407 ± 0.144	2	9	5	0	0.522 ± 0.144	11	5	0	0	0.201 ± 0.144
	30	12	0	10	2	0	0.125 ± 0.166	0	6	6	0	0.613 ± 0.166	5	2	5	0	0.446 ± 0.166

注: 与对照组同一时间比较, * $P < 0.01$

2.2 胸腺的变化 正常小鼠胸腺组织结构: 胸腺表面被复一薄层结缔组织, 被覆结缔组织伸入胸腺实质将胸腺分隔成许多小叶, 胸腺的皮、髓质结构清楚, 皮质位于小叶周边部, 髓质位于小叶中央部; 皮质的淋巴细胞密集, 故显得染色较深; 髓质含有较多上皮性网状细胞, 故颜色较淡; 在皮、髓质内部含有一些巨噬细胞。

照射后第 9 天: 对照组小鼠的胸腺组织结构发生明显损伤性变化, 皮、髓质萎缩, 皮质淋巴细胞明显减少, 呈稀疏分布; 髓质上皮网状细胞稀少, 有的消

失; 胸腺内的巨噬细胞明显减少; 用药组小鼠的胸腺组织结构亦发生不同程度的损伤性变化, 见表 3。

照射后第 30 天: 对照组除了少数小鼠的胸腺皮质淋巴细胞稍有所增多外, 其余大多数小鼠的胸腺组织结构无好转(图 5, 见封 3)。而用药组小鼠的胸腺组织结构明显好转, 多数基本恢复正常, 皮、髓质结构清楚, 皮质淋巴细胞增多、密集, 髓质的上皮性网状细胞明显增多, 巨噬细胞增多(图 6, 见封 3)。两组相比, 胸腺组织结构的修复性变化有显著性差异($P < 0.01$), 见表 3。

表 3 8GY⁶⁰Co γ 线照射后两组不同时间胸腺组织结构变化

组别	照射后 时间 (天)	鼠 数 (只)	皮 质					髓 质					巨 噬 细 胞				
			-	+	++	+++	$\bar{R} \pm \frac{1}{\sqrt{3n}}$	-	+	++	+++	$\bar{R} \pm \frac{1}{\sqrt{3n}}$	-	+	++	+++	$\bar{R} \pm \frac{1}{\sqrt{3n}}$
用药	9	16	0	0	13	3	0.613 ± 0.144	0	9	7	0	0.384 ± 0.144	6	9	1	0	0.519 ± 0.144
	30	16	0	0	6	10	$0.742 \pm 0.144^*$	0	1	8	7	$0.682 \pm 0.144^*$	0	5	6	5	$0.581 \pm 0.144^*$
对照	9	16	0	5	11	0	0.462 ± 0.144	2	11	3	0	0.282 ± 0.144	11	5	0	0	0.172 ± 0.144
	30	12	0	5	5	2	0.479 ± 0.166	1	7	4	0	0.334 ± 0.166	3	8	1	0	0.198 ± 0.166

注: 与对照组同一时间比较, * $P < 0.01$

讨 论

从实验中观察到, 对照组小鼠在 8 Gy⁶⁰Co γ 线照射后的第 9 天, 脾脏和胸腺的淋巴网状细胞受到严重的破坏。到 30 天仍无明显好转。用药组在照射后的第 9 天, 其脾脏和胸腺的淋巴网状细胞虽然亦受到明显的损伤, 但在 30 天后, 基本恢复正常。这表明抗毒生血饮对放射损伤的脾脏和胸腺具有明显的修复作用, 促使向正常化逆转。

脾脏和胸腺是对电离辐射具高度敏感性器官⁽⁵⁾, 在电离辐射作用下, 其组织结构较快地发生严重损伤。目前很多学者认为, 淋巴、网状细胞质膜是放射最敏感的部位⁽⁶⁾, 在射线作用下, 首先损伤线粒体等质膜上琥珀酸脱氢酶 SH 基和其他蛋白质肽链等, 从而改变这些蛋白质结构, 使得酶、蛋白质及膜功能的丧失⁽⁷⁾, 结果导致淋巴、网状细胞损伤和死亡。我们推测抗毒生血饮可能具有增强琥珀酸脱氢酶的活性及减轻放射对蛋白质结构和线粒体等细胞质膜的损伤, 恢复了淋巴、网状细胞内质膜和线粒体正常的完整性, 保证了细胞内正常的能量代谢, 促进了线粒体的再生, 从而促使脾脏和胸腺的修复。有人报道⁽⁸⁾, 白细胞介素-2(IL-2)对放射损伤的淋巴细胞增殖抑制有逆转作用。王正森等⁽⁹⁾通过实验研究证实抗毒生血饮有保护脾细胞和淋巴细胞产生 IL-2 的能力, 这也是抗毒生血饮促进脾脏和胸腺修复的原因之一。由于脾脏和胸腺是机体的重要免疫器官, 其组织结构恢复正常, 有助于增强机体免疫和抗病的能力。

脾脏除了是免疫器官外, 在胚胎时期还是一个造血器官, 哺乳动物在出生后造血功能减弱, 但在红髓中尚可见巨核细胞等造血细胞, 在一定条件下脾脏可以恢复其造血功能⁽⁵⁾。我们在实验中观察到, 正常组脾脏红髓内可见一些巨核细胞。在照射 9 天后对照组和用药组脾脏内的巨核细胞明显减少或消失。照射第 30 天, 对照组只有少数脾脏红髓中的巨核细胞稍有

增加, 而用药组脾脏红髓中的巨核细胞明显增多, 提示抗毒生血饮同时具有一定的恢复造血功能的作用。

目前中医中药抗放射损伤的作用越来越受到人们的重视。通过动物实验研究证明, 抗毒生血饮对辐射损伤免疫及造血系统有较好的防护作用, 从而可以推测该药有增强机体抗辐射损伤的能力, 对放射治疗后造血和免疫功能低下的患者有一定的防治功效。

参 考 文 献

1. 中国中医药管理局编. 建国 40 年中医药科技成就. 第 1 版. 北京: 中医古籍出版社, 1989: 495—499.
2. 王正森, 吴振宇, 李建华, 等. 养阴合剂抗辐射效应和对淋巴细胞转化影响的初步研究. 中药通报 1982; 7(5): 33—35.
3. 倪宗瓚主编. 医学统计学. 第 1 版. 北京: 人民卫生出版社, 1990: 248—260.
4. 郭琼林, 张世明, 戎诚兴. 黄芪多糖对小鼠脾脏急性放射损伤修复作用的实验研究. 中华放射医学与防护杂志 1989; 9(3): 171—174.
5. 上海第一医学院主编. 组织学. 第 1 版. 北京: 人民卫生出版社, 1983: 567—574, 590—596.
6. Chandra S, Stefani S. Plasma membrane as a sensitive target in radiation-induced cell injury and death an ultrastructural study. Int J Radiat Biol 1981; 40: 305—307.
7. Campagnari F. The effect of x-irradiation on the nicotinamide adenine dinucleotides (NAD-NADH) content of rat thymocytes. Exp Cell Res 1966; 42: 646—649.
8. 张渊生. IL-2 对放射损伤淋巴细胞增殖抑制的逆转作用. 中国免疫学杂志 1989; 5(5): 318—319.
9. 王正森, 于 兵, 吴振宇, 等. 抗毒生血饮对辐射小鼠脾细胞产生白细胞介素-2 的影响. 中国中西医结合杂志 1993; 13(12): 741—742.

(收稿: 1996—01—08 修回: 1996—05—13)

抗毒生血饮对小鼠脾脏和胸腺放射损伤 修复作用的组织病理学研究*

王勒渝 吴振宇 张秀英 赵蝶生 郑 军

(正文见第 489 页)

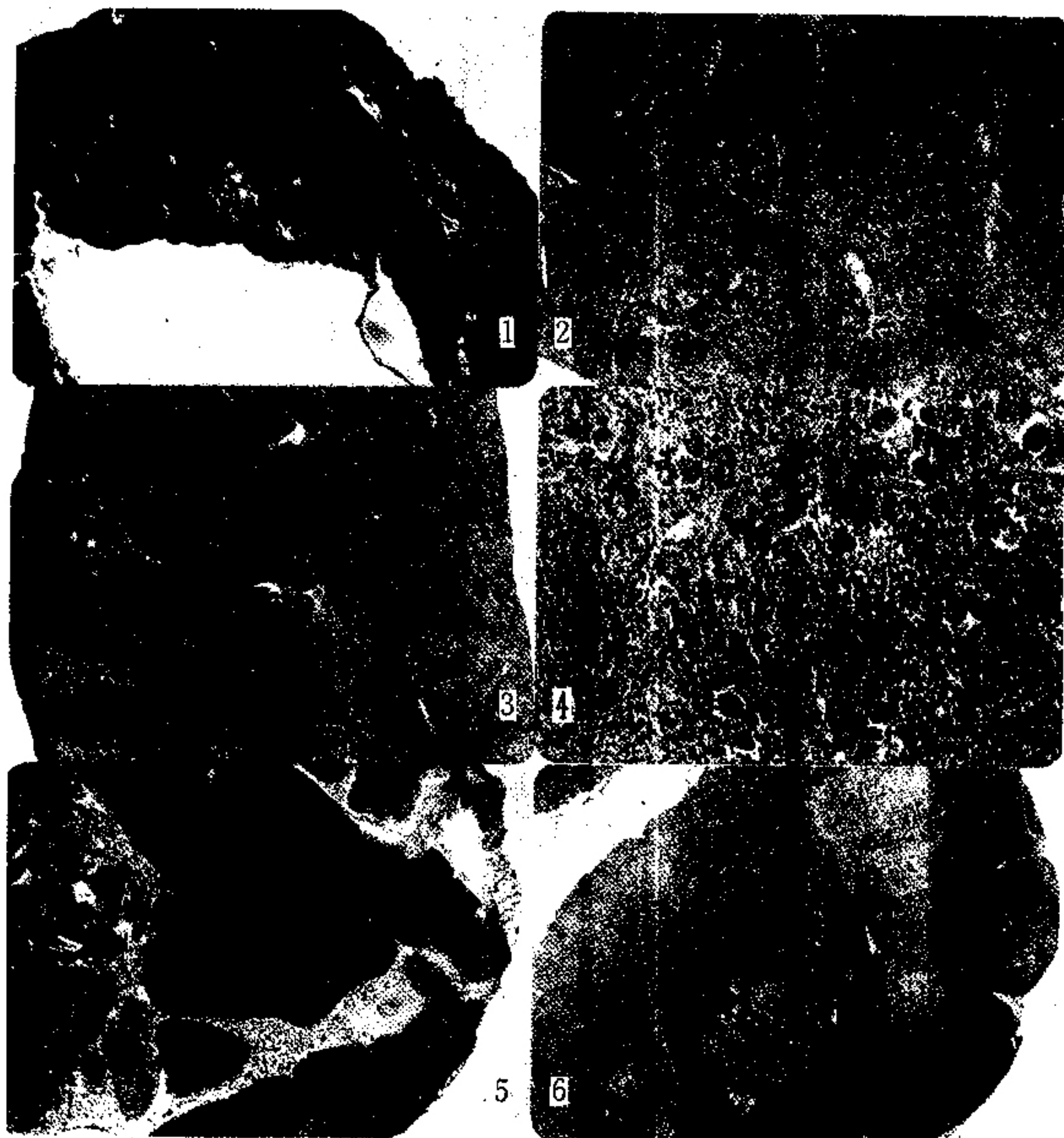


图 1 照射后第 30 天对照组小鼠脾脏。表现出白髓淋巴细胞明显减少, 脾小结萎缩, 无生发中心, 脾窦充血。HE×40 图 2 照射后第 30 天对照组小鼠脾脏。表现出脾窦充血, 淋巴细胞、巨噬细胞明显减少, 巨核细胞消失。HE×100 图 3 照射后第 30 天用药组小鼠脾脏。表现组织结构恢复正常, 白、红髓结构清楚, 白髓淋巴细胞密集, 脾小结增多, 生发中心明显。HE×40 图 4 照射后第 30 天用药组小鼠脾脏。表现出组织结构恢复正常, 脾窦不充血, 淋巴细胞、巨噬细胞及巨核细胞明显增多。HE×100 图 5 照射后第 30 天对照组小鼠胸腺。表现出皮质、髓质萎缩, 皮质的淋巴细胞和髓质上皮性网状细胞、巨噬细胞均稀少。HE×40 图 6 照射后第 30 天用药组小鼠胸腺。表现出组织结构恢复正常。皮、髓质的淋巴细胞增多, 髓质的上皮性网状细胞、巨噬细胞增多。HE×40