

红景天与熟地配伍对骨髓抑制小鼠骨髓功能的影响

罗 晶 李 欣 林 卓

摘要 **目的** 探讨红景天与熟地配伍对环磷酰胺所致小鼠外周血白细胞下降及骨髓造血功能抑制的影响。**方法** ICR小鼠腹腔注射环磷酰胺致化学损伤骨髓抑制模型,连续灌胃给药10天,观察红景天和熟地单味药、红景天熟地合剂、红景天苷、红景天苷加熟地合剂对外周血象、骨髓有核细胞增殖的影响,对骨髓粒-巨噬系祖细胞(CFU-GM)集落形成、集落刺激因子(GM-CSF)及促红细胞生成素(EPO)分泌的影响。**结果** 红景天熟地合剂组及红景天苷加熟地组对骨髓抑制模型小鼠外周血白细胞具有明显增高作用;红景天熟地合剂组对骨髓有核细胞下降具有拮抗作用,可明显提高CFU-GM集落生成,与模型组比较,差异有统计学意义($P<0.01$);红景天熟地合剂可明显提高GM-CSF的产生,与模型组比较差异具有统计学意义,对EPO产生略有提高,但差异无统计学意义。**结论** 红景天熟地合剂通过促进骨髓细胞与集落的产生,及GM-CSF等细胞因子的合成,对造血系统进行调控,增加外周血白细胞数量,恢复机体造血机能。

关键词 红景天;熟地黄;骨髓抑制

Effect of Combined Use of Rehmannia and Rhodiola on Hemopoietic Function in Mice with Bone Marrow Depression LUO Jing, LI Xin, and LIN Zhuo *Changchun University of Traditional Chinese Medicine, Changchun (130117)*

ABSTRACT **Objective** To explore the effect of combined use of rehmannia (RM) and rhodiola (RD) on peripheral leukopenia and bone marrow hematopoietic function suppression induced by cyclophosphamide (CTX) in mice. **Methods** ICR mice were established into bone marrow inhibition models by intraperitoneal injection of CTX, and were administered with RM, RD or its extract (RDE), singly or in mixture, via gastrogavage for 10 days. The changes of peripheral hemogram, bone marrow nucleated cell proliferation, CFU-GM colony formation, GM-CSF and erythropoietin (EPO) secretion were observed. **Results** Compared with the un-treated model mice, the peripheral white blood cell count was significantly higher in model mice treated with RDE and RM mixture; the bone marrow nucleated cells count, CFU-GM formation, and GM-CSF production were significant higher in model mice treated with RD and RM mixture, showing statistical significance ($P<0.01$); while EPO production in the RD and RM mixture treated group was slightly elevated, but the difference showed no statistical significance. **Conclusion** RD and RM mixture could regulate hematopoietic system by promoting the production of bone marrow cells and colonies, as well as enhancing the synthesis of related cytokines, such as GM-CSF, so as to increase the amount of peripheral white blood cells and restore the hematopoietic function of organism.

KEYWORDS rhodiola; rehmannia; bone marrow suppression

红景天为景天科红景天属,是一种生长于高寒地带的珍贵药用植物,具有适应寒冷、缺氧及耐受太阳强烈辐射等苛刻的生存条件的能力,对生物体有“适应原”样作用^[1],其主要化学成分为红景天苷、苷元酪醇、红景天多糖等,近年来的实验研究证明它们有很好的抗辐射能力^[2,3]。熟地为玄参科植物地黄块根经炮制而成,具有补血滋阴、益精填髓之功效。现代研究其具

有补血、抗肿瘤、免疫调节等作用^[4]。我们研究发现红景天和熟地配伍可明显提高骨髓造血功能^[5],对骨髓抑制小鼠骨髓细胞的产生、有关细胞因子的合成和骨髓造血功能的恢复有明显促进作用。有报道红景天苷可促进骨髓造血功能,为了进一步探讨红景天与熟地配伍对骨髓抑制恢复机制,本研究对比了红景天熟地配伍与红景天苷熟地配伍对骨髓功能恢复的影响,红景天及红景天苷对骨髓抑制影响,进而分析并对比红景天全药及有效成分与熟地配伍对骨髓功能的影响。此项研究为进一步开发利用红景天和熟地提供实验基础,也可为中药治疗化疗所致骨髓抑制的临床应用提供新的思路。

基金项目:吉林省中医药管理局项目(No. 08sys-018)

作者单位:长春中医药大学(长春 130117)

通讯作者:罗 晶, Tel: 0431-86172304, E-mail: jingluo304@

yahoo.com.cn

材料与方法

1 动物 ICR小鼠，体重（20±2）g，雌雄各半，清洁级，由吉林大学实验动物中心提供。

2 药品 熟地、红景天生药均购自吉林省中医院。红景天加熟地合剂按熟地：红景天（3：1）比例混合，常规煎药方法煎煮浓缩为2 g生药/mL的药液。红景天煎液、熟地煎液均煎煮浓缩为2 g生药/mL的药液。红景天苷（纯度≥98%，成都曼思特生物科技有限公司），环磷酰胺（CY）0.2 g/支（江苏恒瑞医药有限公司），用生理盐水按75 mg/kg小鼠体重配制。RPMI-1640（美国GIBCO公司），新生牛血清（HyClone公司），促红细胞生成素（EPO）、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子（GM-CSF）ELISA试剂盒（美国RD公司）。

3 仪器 Olympus显微镜；Bio-rad 680酶标仪；全自动血象分析仪MEK-6318K；Biofuge Stratos全能台式高速冷冻离心机。

4 方法

4.1 动物分组及给药 ICR小鼠随机分为空白组、模型组、红景天熟地合剂组（合剂组）、熟地组、红景天组、红景天苷熟地组（苷加熟地组）、红景天苷组，每组10只。空白组和模型组用生理盐水灌胃，红景天苷组用红景天苷腹腔注射^[2]，红景天苷加熟地组用熟地煎液灌胃后再腹腔注射，其余3组分别用红景天熟地合剂、红景天煎液、熟地煎液灌胃。各组灌胃量为0.2 mL/10 g体重，红景天苷组与苷加熟地组腹腔注射红景天苷量为20 mg/kg体重，0.2 mL/只，连续给药10天。空白组腹腔注射生理盐水0.1 mL/10 g体重，其余各组腹腔注射CY0.1 mL/10 g制备骨髓抑制动物模型，连续3天。

4.2 外周血象检测 小鼠于连续注射CY3天后，计数第4、7、10天，尾静脉取血，用全自动血象分析仪对其进行检测分析，测定外周血白细胞数值。

4.3 骨髓有核细胞增殖试验^[6] 小鼠于连续注射CY3天后计数至第10天，颈椎脱臼处死，无菌取双侧股骨，制备骨髓单细胞悬液进行培养。培养结束用MTT法检测骨髓有核细胞增殖能力测定570 nm处吸光度值（OD值）。

4.4 骨髓粒-巨噬系祖细胞（CFU-GM）集落试验^[7] 小鼠于连续注射CY3天后计数至第10天，采用单层琼脂法进行集落实验，培养7天后用倒置显微镜计数CFU-GM集落总数。

4.5 集落刺激因子（GM-CSF）及促红细胞生成素（EPO）含量测定试验 小鼠于连续注射CY3天后计数

至第10天，采用ELISA方法检测血清中GM-CSF及EPO含量，方法按说明书操作。

5 统计学分析 实验数据用统计学软件SPSS 13.0进行分析。数据结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示，两组间比较采用t检验，多组间比较采用方差分析， $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 红景天与熟地配伍对骨髓抑制小鼠外周白细胞的影响（表1） 模型组小鼠外周血白细胞水平降低（ $P<0.01$ ），各实验组均有不同程度的升白作用，第4、7、10天合剂组、苷加熟地组外周血白细胞数均明显高于模型组，差异有统计学意义（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ）。

表1 各组外周血WBC比较（ $\times 10^9$ ， $\bar{x} \pm s$ ）

组别	n	WBC		
		4 d	7 d	10 d
空白	10	12.30±1.90	14.20±1.91	13.5±1.92
模型	10	3.53±0.90*	4.21±0.61*	7.44±2.47*
合剂	10	4.17±0.95 [△]	8.25±0.90 ^{△△}	12.88±3.57 ^{△△}
熟地	10	3.41±0.71	7.25±2.58 [△]	11.68±3.50 [△]
红景天	10	3.41±0.96	7.58±1.01 [△]	11.30±7.29 [△]
红景天苷	10	3.42±0.91	8.48±3.50 [△]	12.90±2.99 [△]
苷加熟地	10	4.08±1.34 [△]	9.87±4.04 ^{△△}	15.03±1.15 ^{△△}

注：与空白组比较，* $P<0.01$ ；与模型组比较， $\Delta P<0.05$ ， $\Delta\Delta P<0.01$

2 红景天与熟地配伍对骨髓抑制小鼠骨髓有核细胞增殖能力影响（表2） 模型组小鼠的骨髓细胞增殖能力较空白组下降，合剂组、熟地组、红景天组、苷加熟地组、红景天苷组小鼠的骨髓细胞增殖能力均较模型组升高（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ），合剂组回升最明显，优于其他各组（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ）。

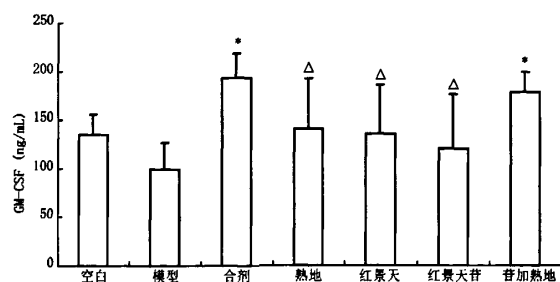
表2 红景天熟地配伍对骨髓抑制小鼠骨髓细胞增殖能力及CFU-GM集落形成的影响（ $\bar{x} \pm s$ ）

组别	n	OD值	CFU-GM集落数
空白	10	1.45±0.10*	189.5±7.3*
模型	10	0.64±0.07	121.0±10.7
合剂	10	1.15±0.12**	143.2±10.5*
熟地	10	0.89±0.14* ^{△△}	138.6±9.6* [△]
红景天	10	0.98±0.14* [△]	129.0±11.9 [△]
红景天苷	10	0.95±0.15* [△]	137.1±8.0*
苷加熟地	10	1.08±0.18** [△]	139.4±5.1*

注：与模型组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ；与合剂组比较， $\Delta P<0.05$ ， $\Delta\Delta P<0.01$

3 红景天熟地配伍对骨髓抑制小鼠骨髓CFU-GM集落形成的影响（表2） 各实验组CFU-GM集落数值均低于空白组，合剂组CFU-GM集落数高于熟地组和红景天组（ $P<0.05$ ）。

4 红景天熟地配伍对骨髓抑制小鼠GM-CSF和EPO分泌水平的影响（图1，2） 合剂组GM-CSF分泌水平



注: 与模型组比较, * $P < 0.01$; 与合剂组比较, $\Delta P < 0.01$

图1 红景天熟地合剂对GM-CSF分泌的影响

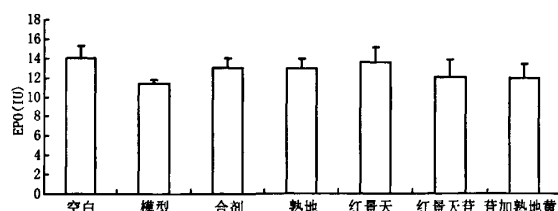


图2 红景天熟地合剂对EPO分泌的影响

较模型组明显提高, 且优于单味药组 ($P < 0.01$), 合剂组对EPO分泌略有促进作用, 但差异无统计学意义。

讨 论

中药具有保护骨髓、升白的功能, 且作用持久, 多以口服为主, 无明显毒副反应。其作用机制是动员“气血生发之源”来造血, 而不是把骨髓中的白细胞“驱赶”到外周血中。近年对红景天的药理作用以及对骨髓的保护作用进行了相关研究, 研究发现红景天提取物红景天苷对小鼠辐射损伤和放化疗所致骨髓抑制小鼠造血功能有保护作用^[8], 为红景天的临床应用提供了新的思路。熟地为玄参科植物地黄的干燥茎经炮制而成, 具有滋阴、补血、填精的功效, 临床上广泛用于阴虚、血虚所致的各种病症。

就红景天和熟地的药性和作用而言, 红景天全草入药属寒性, 归脾肺经, 有健脾益气、活血化瘀的功效, 但单独使用对有些寒性体质的患者则不适合。熟地性味甘温, 归肝肾经, 单独使用也可能导致滋补过胜, 如呃逆等。如果两药合用使药性温和, 可纠正两种药物单独使用的偏性, 能更好地发挥药效, 可以达到互补平衡 (药性互补、归经互补、功效互补)。

本实验采用腹腔注射CY致化学损伤骨髓抑制模型, 通过对外周血象、骨髓有核细胞数、CFU-GM和GM-CSF、EPO分泌水平的分析, 表明合剂组与苷加熟地组均能明显提高骨髓抑制小鼠的外周血白细胞数, 而红景天熟地合剂组可明显诱导骨髓有核细胞和集落产生以及造血相关细胞因子GM-CSF分泌水平, 通过以上结果我们发现对骨髓功能的恢复上, 红景天熟地配伍明

显优于单味药, 且红景天熟地合剂效果优于红景天苷单用, 并略高于红景天苷与熟地合剂, 提示红景天发挥作用的有效成分较为复杂, 具体机制有待于进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(2000年版一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 94-95.
National Pharmacopoeia Committee. People's Republic of China Pharmacopoeia[M] 2000 ed. Beijing: Chemical Industry Press, 2000: 94-95.
- [2] 张新胜, 祝彼得, 黄晓芹, 等. 红景天苷对骨髓抑制贫血小鼠骨髓细胞周期和凋亡相关蛋白表达的影响[J]. 四川大学学报(医学版), 2005, 36 (6): 820-823.
Zhang XS, Zhu BD, Huang XQ, et al. Effect of salidroside on bone marrow cell cycle and expression of apoptosis-related proteins in bone marrow cells of bone marrow depressed anemia mice[J]. J Sichuan Univ (Med Sci Ed), 2005, 36 (6): 820-823.
- [3] 李静, 祝彼得, 黄安培. 红景天多糖对骨髓抑制小鼠表达凋亡相关蛋白的影响[J]. 陕西中医学院学报, 2008, 31 (3): 52-54.
Li J, Zhu BD, Huang AP. Rhodiola polysaccharide: its effects on apoptosis related protein expression of rats with myelosuppression[J]. J Shaanxi Coll Tradit Chin Med, 2008, 31 (3): 52-54.
- [4] 卢瑞萍, 王勇. 地黄药理作用及临床应用研究进展[J]. 海峡药学, 2004, 16 (3): 23-26.
Lu RP, Wang Y. Research process of pharmacology and clinical applications of rehmannia[J]. Strait Pharm J, 2004, 16 (3): 23-26.
- [5] 林卓, 罗晶. 熟地黄和红景天升高白细胞作用研究[J]. 吉林中医药, 2009, 29 (10): 897-898.
Lin Z, Luo J. Effects of rehmannia glutinosa and rhodiola elevating white blood cell amount[J]. Jilin J Trad Chin Med, 2009, 29 (10): 897-898.
- [6] 韩红梅, 杨贵贞. 人参二醇型皂甙调整骨髓受抑模型鼠的免疫功能[J]. 中国免疫学杂志, 1991, 7 (5): 312-316.
Han HM, Yang GZ. Panaxatriol adjustment of bone marrow depression in rats [J]. Chin J Immunol, 1991, 7 (5): 312-316.
- [7] 陈小川, 林志彬. 4-硒(代)硫酸酯多糖对环磷酰胺所致小鼠白细胞减少的影响[J]. 北京医科大学, 1998, 30 (4): 317-319.
Chen XC, Lin ZB. Effect of 4-seleno-carrageenan on cyclophosphamide-induced leucopenia in mice[J]. J Beijing Med Univ, 1998, 30 (4): 317-319.
- [8] 张新胜, 祝彼得, 金沈瑞, 等. 红景天苷对骨髓抑制贫血小鼠骨髓基质金属蛋白酶的影响[J]. 生物医学工程学杂志, 2006, 23 (6): 1314-1319.
Zhang XS, Zhu BD, Jin SR, et al. Effects of salidroside on bone marrow matrix metalloproteinases of bone marrow depressed anemic mice [J]. J Biomed Eng, 2006, 23 (6): 1314-1319.

(收稿: 2010-04-16 修回: 2010-08-30)