

· 基础研究 ·

肾虚型慢性再生障碍性贫血小鼠模型建立

吴逢选¹ 王晓燕² 陈鑫丽^{3*} 吴婷婷³ 梁哲彬³ 刘军平⁴ 吴迪炯⁵ 叶宝东⁵

摘要 **目的** 建立肾虚型慢性再生障碍性贫血(chronic aplastic anemia, CAA)小鼠模型。**方法** 将 70 只小鼠行体能测试,筛选出体能相近的小鼠随机分成肾阴虚组(20 只)、肾阳虚组(20 只)及正常组(10 只),其余随机分成苯组(10 只)及玉米油组(10 只)。肾阴虚组每日灌胃甲状腺素片水溶液(350 mg/kg),共 21 天;肾阳虚组每日皮下注射氢化可的松(25 mg/kg),共 14 天。正常组皮下注射生理盐水(25 mg/kg),共 14 天,并灌胃生理盐水(350 mg/kg),共 21 天。在肾虚模型建立的基础上,给予皮下注射苯试剂和玉米油混合液 2 mL/kg,每周 3 次,共 25 次,建立肾虚型 CAA 小鼠模型。相应药物介入 1 d 起,观察小鼠日常生活状态,通过体能测试监测游泳时间;采用 ELISA 试剂盒测定血清 T₃、T₄、尿 17-羟皮质类固醇(17-hydroxy-cortico steroid, 17-OHCS)、环磷酸腺苷(cAMP)、环磷酸腺苷/环磷酸鸟苷(cAMP/cGMP)水平;血细胞分析仪检测白细胞、血红蛋白及血小板数量;电子显微镜下计数骨髓有核细胞;HE 染色观察骨髓病理特征。**结果** 药物干预 25 d 后,与正常组比较,肾阴虚组游泳耗时延长、肾阳虚组游泳耗时缩短($P < 0.01$)。药物干预 22 d 后,肾阴虚组小鼠 T₃、T₄、17-OHCS、cAMP、cAMP/cGMP 水平上升;肾阳虚组 T₃、T₄、17-OHCS、cAMP/cGMP 水平下降($P < 0.05$, $P < 0.01$)。苯试剂介入第 12 次时,与正常组比较,肾阴虚+苯组、肾阳虚+苯组及苯组白细胞、血小板计数降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。苯试剂介入第 18 次时,与正常组比较,肾阴虚+苯组、肾阳虚+苯组及苯组白细胞、血红蛋白、血小板计数均下降($P < 0.05$, $P < 0.01$)。药物介入 75 d,肾阴虚+苯组、肾阳虚+苯组及苯组骨髓有核细胞数均下降($P < 0.05$)。药物介入 75 d,苯试剂导致骨髓增生明显低下,血白细胞、血红蛋白及血小板计数均有不同程度减少,非造血细胞比例增高。**结论** 灌胃甲状腺素法联合皮下注射苯试剂法可成功建立肾阴虚型 CAA 小鼠模型;皮下注射氢化可的松法联合皮下注射苯试剂法可成功建立肾阳虚型 CAA 小鼠模型。

关键词 肾虚型;慢性再生障碍性贫血;模型制备

Establishment of Chronic Aplastic Anemia with Shen Deficiency Mouse Model WU Feng-xuan¹, WANG Xiao-yan², CHEN Xin-li³, WU Ting-ting³, LIANG Zhe-bin³, LIU Jun-ping⁴, WU Di-jiong⁵, and YE Bao-dong⁵ 1 Department of Emergency, First Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou (310003); 2 Department of Oncology Medicine, Yuhang District Hospital of TCM, Hangzhou (311106); 3 First Clinical Medical College, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou (310053); 4 Laboratory Animal Research Center, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou (310053); 5 Department of Hematology, First Affiliated Hospital, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou (310006)

ABSTRACT **Objective** To establish mouse model of Shen deficiency complicated with chronic aplastic anemia (CAA). **Methods** Physical fitness was examined in 70 mice. Mice with similar physical fitness were randomly divided into Shen yin deficiency group ($n=20$), Shen yang deficiency group ($n=20$), the normal group ($n=10$). The remaining mice were randomly divided into benzene group and corn oil group, 10 in each group. Thyroxine Tablet (350 mg/kg) solution was daily administered to mice in Shen yin deficiency group for 21 days. Hydrocortisone (25 mg/kg) was subcutaneously injected to mice

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81373634);浙江省高等教育质量工程-中青年学科带头人资助项目(No.GK2011, No.GK2012)

作者单位:1.浙江大学医学院附属第一医院急诊科(杭州 310003);2.杭州市余杭区中医院肿瘤内科(杭州 311106);3.浙江中医药大学第一临床医学院(杭州 310053);4.浙江中医药大学动物实验研究中心(杭州 310053);5.浙江中医药大学附属第一医院血液科(杭州 310006)

通讯作者:叶宝东, Tel: 0571-86620325, E-mail: 13588453501@163.com

*作者现在浙江省丽水市中医医院(浙江 323000)

DOI: 10.7661/j. cjim. 20170511. 159

in Shen yang deficiency group for 14 days. Normal saline (25 mg/kg) was subcutaneously injected to mice in the normal group and Shen yang deficiency group for 14 days. Besides, normal saline (350 mg/kg) was administered to mice in the normal group and Shen yang deficiency group for 21 days. Based on established model of Shen deficiency model, mixture of benzene and corn oil was subcutaneously injected, 2 mL/kg, thrice per week for 25 times. Mouse model of CAA with Shen deficiency was established. Conditions of daily living were observed from day 1 after corresponding drug intervention. Swimming time was monitored by fitness test. Serum levels of T3, T4, 17-hydroxy-cortico steroid (17-OHCS), cyclic adenosine monophosphate (cAMP), cAMP/cyclic guanosine monophosphate (cGMP) were detected by ELISA. Counts of WBC, hemoglobin, and platelet were detected by hematology analyzer. Bone marrow karyocytes were counted under electron microscope. Pathological features were observed by HE staining. Results After 25 days of drug intervention, as compared with the normal group, swimming time consumption was prolonged in Shen yin deficiency group; swimming time consumption was shortened in Shen yang deficiency group ($P < 0.01$). After 22 days of drug intervention, levels of T3, T4, 17-OHCS, cAMP, cAMP/cGMP ratio increased in Shen yin deficiency group; levels of T3, T4, 17-OHCS, cAMP/cGMP ratio decreased in Shen yang deficiency group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). After intervention of benzene for 12 times, as compared with the normal group, counts of WBC and platelet decreased in Shen yin deficiency + benzene group, Shen yang deficiency + benzene group, and benzene group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). After intervention of benzene for 18 times, as compared with the normal group, counts of WBC and platelet, hemoglobin content decreased to various degrees in Shen yin deficiency + benzene group, Shen yang deficiency + benzene group, and benzene group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). After intervention of benzene for 75 days, as compared with the normal group, counts of bone marrow karyocytes were obviously reduced in Shen yin deficiency + benzene group, Shen yang deficiency + benzene group, and benzene group ($P < 0.05$). After intervention of benzene for 75 days, benzene reagent lead to significantly lower bone marrow hyperplasia. WBC, counts of platelet, hemoglobin content all decreased to various degrees. The proportion of non-hematopoietic cells increased. Conclusions By gastric infusion of thyroxine and subcutaneous injection of benzene method could successfully establish mice model of CAA with Shen yin deficiency. By subcutaneous injection of hydrocortisone and subcutaneous injection of benzene method could successfully establish mouse model of CAA with Shen yang deficiency.

KEYWORDS Shen deficiency; chronic aplastic anemia; model establishment

慢性再生障碍性贫血(chronic aplastic anemia, CAA)具有病情反复、疗程较长、可缓解却难于治愈等特点,中医学将其纳入“虚劳”范畴,根据临床表现,通常分为肾阴虚、肾阳虚、肾阴阳两虚 3 型。中医药在治疗上以补肾为本,辅以健脾、活血化瘀、清热解毒等法,能明显增强机体免疫功能,起到增效减毒的作用,可缓解症状及改善生活质量^[1-3]。肾阴虚、肾阳虚合并 CAA 动物模型目前尚属空白,使得不少理论上的经典方药难于从实验研究中证实其有效性,作用机制也无法得到明确。CAA 中医肾阴、肾阳虚动物模型一旦成功建立,这对于今后中医药在该病中的进一步研究和开发具有重要的现实意义。

材料与方法

1 实验动物 70 只 Balb/c 小鼠(雌性),6~

8 周龄,17~20 g,给予普通饲料及饮用水。由浙江中医药大学动物实验中心提供,动物合格证号:SCXK(沪)2013-0016。

2 试剂与仪器 甲状腺素片(thyroxine,美国 Sigma 公司,批号:110805),氢化可的松(Hydrocortisone,美国 Sigma 公司,批号:1209121),苯(上海阿拉丁生化科技公司,批号:421975),玉米油(上海嘉里食品工业公司,批号:782987)。ELISA 试剂盒(美国 Sigma 公司),全自动血细胞分析仪(美国 Beckman Coulter Gen.S),LDZ5-2 型低速自动平衡离心机(北京时代北利离心机有限公司),ELX800 全自动酶标仪(美国 BioTek 公司)。

3 动物分组 将 70 只 Balb/c 小鼠进行体能测试(游泳实验),筛选出体能相近的 50 只小鼠随机分成肾阴虚组(20 只)、肾阳虚组(20 只)、正常组(10 只)。

其余随机分成苯组(10 只)及玉米油组(10 只)。

4 模型建立

4.1 肾虚模型建立 参照参考文献[4-6]建立肾虚模型。肾阴虚组每天给予 350 mg/kg 的甲状腺素片水溶液灌胃,共 21 天,并皮下注射与肾阳虚组等量的生理盐水(25 mg/kg),共 14 天;肾阳虚组每天给予皮下注射 25 mg/kg 的氢化可的松,共 14 天,并灌胃与肾阴虚组等量的生理盐水(350 mg/kg),共 21 天。正常组皮下注射与肾阳虚组等量的生理盐水(25 mg/kg),共 14 天,并灌胃与肾阴虚组等量的生理盐水(350 mg/kg),共 21 天。

4.2 CAA 模型建立 肾阴虚组给药 21 天后、肾阳虚组给药 14 天后给予皮下注射苯试剂和玉米油混合液 2 mL/kg,每周 3 次,共 25 次,肾阴虚组干预 54 天,肾阳虚组干预 61 天。苯组和玉米油组分别皮下注射苯剂和玉米油(2 mL/kg),每周 3 次,共 25 次。

5 观察指标及检测方法

5.1 一般情况观察 观察各组小鼠毛发、活动灵敏度、体重、饮食等情况。

5.2 体能测试(游泳试验) 参照文献[7],小鼠在相应药物注射后,分别于 7、15、25、50、74 d 行体能测试。按照小鼠体重的 10%取铜丝,并将铜丝系在小鼠尾巴根部,将小鼠倒入水槽并开始计时。当小鼠沉入水中不再浮出水面超过 5 s,停止计时并捞出小鼠,记录小鼠游泳时间。

5.3 血常规指标 于苯试剂介入第 6、12、18、25 次后用镊子小鼠眼眶取血,用血细胞分析仪检测小鼠白细胞、血红蛋白及血小板数量。

5.4 血清三碘甲状腺原氨酸(T3)、甲状腺素(T4)、17-羟皮质类固醇(17-OHCS)、环磷酸腺苷(cAMP)、环磷酸腺苷/环磷酸鸟苷(cAMP/cGMP)水平检测 采用 ELISA 法。小鼠眼眶取血后,以 3 000 r/min 离心 10 min,取血清稀释后在标准品中加样 50 μL,待测样品中先后加样品稀释液 40 μL 和待测样品 10 μL,混匀后置 37 ℃温育 30 min。配液后反复洗涤,除白孔外每孔加入酶标试剂 50 μL,再次经过温育和洗涤。在每孔中先后加入显色剂 A 50 μL 和显色剂 B 50 μL,于 37 ℃避光显色 15 min 后加终止液 50 μL,10 min 内以 450 nm 波长测量

各孔吸光度。

5.5 骨髓有核细胞计数 苯试剂介入第 25 次后,小鼠脱颈处死,取左侧股骨头经 RPMI-1640 培养液冲洗后,显微镜下计算有核细胞个数。

5.6 骨髓象 取小鼠右侧股骨行 HE 染色。二甲苯脱蜡 10 min,梯度酒精水化 8 min,蒸馏水洗 2 min,苏木素染 15 min,自来水洗 5 min,酸水分化 5 min,氨水 2 min,伊红复染色 5 min,梯度酒精 6 min,二甲苯 10 min,中性树胶封片。

6 模型制备成功判断标准 小鼠具有肾阴虚或肾阳虚表现,且外周血三系细胞减少,正细胞性贫血,骨髓有核细胞计数减少,骨髓病理提示骨髓增生不良或低下(造血细胞容量 <40%,非造血细胞增多等改变),即判断为造模成功。

7 统计学方法 采用 SPSS 17.0 进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。符合正态分布者,多组计量资料采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组小鼠一般情况观察 肾阴虚组小鼠体重下降,躁动不安,皮毛光泽度差,多饮、多食、多尿,大便干结等。肾阳虚组小鼠体重下降,畏寒蜷缩,反应迟钝,精神萎靡,体毛枯疏、失去光泽,饮水摄食减少,大便清稀、尿量增多等。苯组小鼠体重下降、精神萎靡、食欲减退、体毛稀疏、大小便减少等。玉米油组小鼠体重增加、皮毛光泽、活动灵敏、正常饮食,大小便正常。正常组体重增加、皮毛光泽、活动灵敏、正常饮食,大小便正常。

2 各组小鼠体能测试情况比较(表 1) 25 d 时,与正常组比较,肾阴虚组游泳试验耗时延长,肾阳虚组耗时明显缩短($P < 0.01$)。随着苯试剂量的积累,小鼠出现乏力、精神萎靡、体毛稀疏等症状加重,于干预 74 d 时,肾阴虚组与肾阳虚组耗时缩短($P < 0.01$)。

3 各组血清 T3、T4、17-OHCS、cAMP、cAMP/cGMP 水平比较(表 2) 从相应药物干预起 22 d,与正常组比较,肾阴虚组小鼠 T3、T4、17-OHCS、cAMP、cAMP/cGMP 水平升高,肾阳虚组 T3、T4、17-OHCS、

表 1 各组小鼠体能情况比较 (min, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	7 d	15 d	25 d	50 d	74 d
正常	10	6.4 ± 1.0	6.0 ± 1.8	6.2 ± 1.6	6.9 ± 1.3	7.2 ± 1.1
肾阴虚	20	6.2 ± 1.6	5.9 ± 1.7	7.4 ± 1.5*	7.0 ± 1.3	5.2 ± 1.2**
肾阳虚	20	6.8 ± 1.0	5.3 ± 1.6	2.5 ± 1.6**Δ	2.3 ± 1.5**Δ	1.5 ± 0.8**Δ

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与肾阴虚组比较,Δ $P < 0.01$

表 2 各组血清 T3、T4、17-OHCS、cAMP、cGMP 及 cAMP/cGMP 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	时间	T3 (ng/mL)	T4 (ng/mL)	17-OHCS (ng/mL)	cAMP (pmol/mL)	cGMP (pmol/mL)	cAMP/cGMP
正常	10	10 d	32.0 ± 1.9	904 ± 27	99 ± 8	41.0 ± 3.1	5.93 ± 0.51	7.5 ± 1.3
		22 d	30.6 ± 1.2	919 ± 18	100 ± 5	41.0 ± 4.2	5.77 ± 0.43	7.1 ± 0.7
		52 d	29.4 ± 1.1	926 ± 39	97 ± 6	40.4 ± 4.8	5.59 ± 0.20	7.2 ± 0.4
		75 d	29.2 ± 1.7	908 ± 31	99 ± 5	39.9 ± 3.4	5.47 ± 0.25	7.1 ± 0.5
肾阴虚	20	10 d	31.6 ± 2.0	935 ± 34 *	106 ± 9 *	43.3 ± 3.8 *	5.18 ± 0.50	8.6 ± 1.3 *
		22 d	32.0 ± 1.8 *	982 ± 28 **	113 ± 8 **	46.3 ± 3.2 **	5.44 ± 0.38	8.5 ± 1.0 **
		52 d	34.5 ± 1.6 **	943 ± 31 **	111 ± 7 **	45.8 ± 3.4 **	5.52 ± 0.45	8.3 ± 0.7 **
		75 d	33.5 ± 1.8 **	941 ± 22 **	118 ± 4 **	42.8 ± 2.5 *	5.37 ± 0.38	8.1 ± 1.5 *
肾阳虚	20	10 d	31.2 ± 1.7	896 ± 20 Δ	97 ± 5 Δ	40.2 ± 2.2 Δ	6.36 ± 0.63 Δ	6.3 ± 0.7 * $\Delta\Delta$
		22 d	27.2 ± 2.0 **	881 ± 19 ** Δ	91 ± 5 ** Δ	40.6 ± 2.7 $\Delta\Delta$	6.56 ± 0.50 * $\Delta\Delta$	6.1 ± 0.8 * $\Delta\Delta$
		52 d	26.7 ± 1.4 **	887 ± 31 * Δ	88 ± 6 ** Δ	39.8 ± 3.7 $\Delta\Delta$	6.12 ± 0.46 ** $\Delta\Delta$	6.4 ± 0.8 * $\Delta\Delta$
		75 d	27.3 ± 1.5 **	874 ± 20 * Δ	89 ± 7 ** Δ	39.6 ± 2.9 Δ	6.11 ± 0.55 * Δ	6.2 ± 0.7 *

注:与正常组同期比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与肾阴虚组同期比较, $\Delta P < 0.01$

cAMP/cGMP 水平降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与肾阳虚组同期比较,肾阴虚组干预 10 ~ 75 d,T4、17-OHCS、cAMP、cGMP 及 cAMP/cGMP 水平均升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

4 各组血常规比较(表 3) 当苯试剂介入第 12 次,与正常组比较,肾阴虚 + 苯组、肾阳虚 + 苯组、苯组白细胞、血小板计数降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。当苯试剂介入第 18、25 次,与正常组比较,肾阴虚 + 苯组、肾阳虚 + 苯组、苯组血三系水平明显降低($P < 0.01$)。

表 3 各组小鼠血常规比较 ($\bar{x} \pm s$)

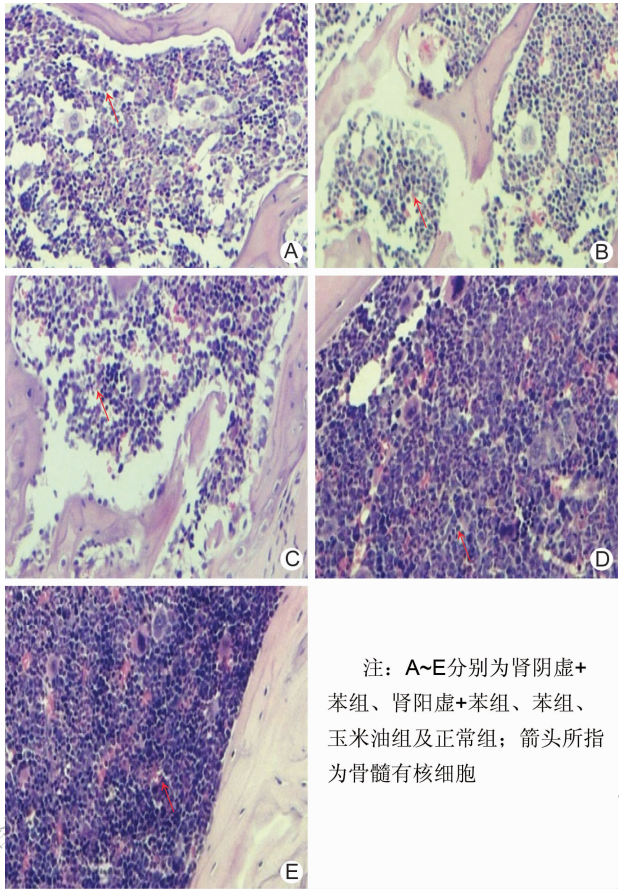
组别	n	次数	白细胞 ($\times 10^9/L$)	血红蛋白 (g/L)	血小板 ($\times 10^9/L$)
正常	10	6	10.2 ± 1.9	170 ± 11	990 ± 138
		12	9.8 ± 1.4	168 ± 9	987 ± 110
		18	9.0 ± 1.4	171 ± 10	1003 ± 141
		25	9.2 ± 1.4	173 ± 11	1113 ± 132
肾阴虚 + 苯	20	6	6.6 ± 1.2 **	171 ± 10	1025 ± 128
		12	5.7 ± 1.2 **	165 ± 12	890 ± 112 *
		18	4.1 ± 1.2 **	139 ± 11 **	800 ± 121 **
		25	2.4 ± 1.2 **	121 ± 11 **	723 ± 119 **
肾阳虚 + 苯	20	6	7.0 ± 0.9 **	164 ± 13	980 ± 160
		12	5.9 ± 1.3 **	160 ± 11	890 ± 105 *
		18	5.0 ± 1.5 **	141 ± 12 **	807 ± 109 **
		25	3.3 ± 1.3 **	123 ± 12 **	730 ± 110 **
苯	10	6	7.2 ± 1.2 **	172 ± 12	942 ± 135
		12	4.8 ± 1.0 **	164 ± 10	838 ± 107 **
		18	4.0 ± 1.1 **	137 ± 11 **	798 ± 110 **
		25	2.2 ± 1.2 **	118 ± 12 **	710 ± 130 **
玉米油	10	6	9.1 ± 1.7	169 ± 13	1124 ± 119
		12	9.5 ± 1.4	167 ± 16	1031 ± 125
		18	8.3 ± 1.4	171 ± 11	998 ± 127
		25	8.9 ± 1.5	170 ± 11	1121 ± 122

注:与正常组同期比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

5 各组小鼠骨髓有核细胞计数比较 与正常组(959 ± 135)比较,肾阴虚 + 苯组(626 ± 128)、肾阳虚 + 苯组(633 ± 99)、苯组(664 ± 94)骨髓有核细胞

数减少($P < 0.01$),玉米油组(973 ± 125)差异无统计学意义($P > 0.05$)。

6 各组小鼠骨髓象病理结果比较(图 1) 正常组小鼠骨髓象增生活跃,各系细胞增生良好,各阶段比例及形态正常。苯试剂介入的小鼠骨髓增生明显减低,粒、红系及巨核细胞均不同程度减少,淋巴细胞、网状细胞及浆细胞等非造血细胞比例增高,含较多脂肪滴。



注: A~E 分别为肾阴虚 + 苯组、肾阳虚 + 苯组、苯组、玉米油组及正常组;箭头所指为骨髓有核细胞

图 1 各组小鼠骨髓象病理结果 (HE, $\times 200$)

讨 论

中医学认为“肾”包含神经内分泌和免疫等多种功能,且补肾法能调节下丘脑—垂体—靶腺(肾上腺皮质、甲状腺、性腺、胸腺)和免疫功能的紊乱,这与再障的免疫调节治疗相契合。故动物模型的制备方法以注射氢化可的松模型较为经典且公认。而肾阴虚的造模方法以单用甲状腺素以模拟阴虚火旺之象较为经典^[9]。

肾虚模型建立中,通过小鼠日常生活状态观察,肾阴虚组出现躁动不安,皮毛光泽度差,多饮、多食、多尿,大便干结,而肾阳虚组出现畏寒蜷缩,反应迟钝,精神萎靡,体毛枯疏、失去光泽,饮水摄食减少,大便清稀、尿量增多。体能测试显示当 25 d 时,显示肾阴虚组耗时明显延长,肾阳虚耗时明显缩短。另外,ELISA 相关检测显示,从 22d 起,肾阴虚组 T3、T4、17-OHCS、cAMP、cAMP/cGMP 水平比正常组高,肾阳虚组 T3、T4、17-OHCS、cAMP/cGMP 水平比正常组低。这与 T3、T4、17-OHCS、cAMP、cAMP/cGMP 水平上升时提示肾阴虚, T3、T4、17-OHCS、cAMP/cGMP 水平下降时提示肾阳虚相符合,亦表明肾虚模型初步建立。同样,当 75 d 时,肾阴虚组、肾阳虚组、正常组间亦存在差异,表明肾虚模型贯穿整个实验进程。

在合并 CAA 中,采用皮下注射苯试剂的方法,因苯难溶于水易溶于有机溶剂,选用玉米油作为溶媒其机制是通过产生大量氧自由基损伤 DNA,导致基因突变、染色体改变并诱导造血干细胞凋亡和坏死,阻碍造血干细胞和祖细胞生长发育,造成骨髓增生低下,血细胞生成减少^[10,11]。国外学者提出这主要由于苯代谢产物能够抑制骨髓内细胞间隙连接通讯系统功能,从而抑制骨髓^[12]。该法造模周期 > 2 个月^[13],若给药时间不足,则苯对骨髓抑制作用呈明显的可逆性,发病率低。给足一定的量,则骨髓抑制能力持久而缓慢,较符合临床 CAA 的发病特点和预后规律,理论上也较符合中医 CAA 模型复制的基本要求。

本实验中,当苯试剂介入第 12 次,肾阴虚 + 苯组、肾阳虚 + 苯组、苯组白细胞、血小板计数均较正常组低,而血红蛋白虽有下降趋势,但与正常组比较未见明显差异,这可能与血红蛋白凋亡周期长有关。同样,当苯试剂介入第 18、25 次,肾阴虚 + 苯组、肾阳虚 + 苯组、苯组血三系均比正常组低,提示当苯试剂介入 12 次后,小鼠逐渐进入 CAA 阶段。另外,通过骨髓有核细胞计数及病理显示,肾阴虚 + 苯组、肾阳虚 + 苯组、苯组骨髓有核细胞数均较正常组少,提示小鼠骨髓

因受苯试剂的介入处于抑制状态。

综上所述,选择灌胃甲状腺素法和皮下注射苯试剂法建立肾阴虚型 CAA;皮下注射氢化可的松法和皮下注射苯试剂法建立肾阳虚型 CAA 等复合模型具有一定的可靠性及重现性。鉴于复合模型的成功建立,为今后中医药治疗 CAA 的进一步研究创造了有利的条件。

参 考 文 献

- [1] 刘永华,江锦红,吴迪炯,等. 补肾活血法与益气补肾法治疗慢性再生障碍性贫血的疗效比较[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2015, 22(3): 234-238.
- [2] 刘现辉,郭晓娜. 补肾益气养血法对慢性再生障碍性贫血患者的血象、骨髓象及 IL-17 的影响[J]. 中成药, 2016, 38(2): 467-470.
- [3] 万姜维,刘锋. 慢性再生障碍性贫血中医辨治体会[J]. 中医杂志, 2015, 56(13): 1154-1156.
- [4] 王萍,王喜军. 肾阴虚症动物模型研究概况[J]. 中医药信息, 2013, 30(4): 123-125.
- [5] 张子怡,陈宝军,张英杰,等. 肾阳虚、肾阴虚症大鼠模型的建立与稳定性观察[J]. 福建中医药, 2015, 46(1): 51-54.
- [6] 苟小军,韩宝侠,王朝廷,等. 肾阳虚证造模方法考察[J]. 吉林中医药, 2009, 29(9): 814-815.
- [7] 龚梦鹏,谢媛媛,邹忠杰. 枸杞对阴虚小鼠的抗疲劳作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(14): 171-174.
- [8] 沈自尹. 肾阳虚证的定位研究[J]. 中国中西医结合杂志, 1997, 17(1): 50-52.
- [9] 徐启华,胡明华,马方励,等. 虚证动物模型的研究现状[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(11): 307-312.
- [10] 李锐,陈文娜. 苯诱发再生障碍性贫血小鼠骨髓病理改变及血液细胞的变化[J]. 中国医药导报, 2010, 7(12): 34-35.
- [11] Snyder R. Recent developments in the understanding of benzene toxicity and leukemogenesis[J]. Drug Chem Toxicol, 2000, 23(1): 13-25.
- [12] Rivedal E, Witz G. Benzene metabolites block gap junction intercellular communication: role in hematotoxicity and leukemia? [J]. Chemico-Biol Interactions, 2005: 153-154, 257-260.
- [13] 苑晓磊,李梅君. 苯与环磷酰胺联合建立小鼠再障模型的实验研究[J]. 辽宁医学院学报, 2007, 28(4): 33-36.

(收稿: 2015-08-07 修回: 2017-05-11)

责任编辑: 田琳

英文责编: 张晶晶