

地榆总皂苷对⁶⁰Co-γ射线所致骨髓抑制小鼠外周血象的保护作用及其机制

朱林杰^{1,2}, 陈琳³, 黄飞鸿², 代燕平¹, 邹文俊^{1*}, 吴建明^{2*}

¹成都中医药大学药学院, 成都 610075; ²西南医科大学药学院; ³西南医科大学附属医院, 泸州 646000

摘要: 本文探讨地榆总皂苷(TSSO)对⁶⁰Co-γ射线所致骨髓抑制小鼠的药效及其分子机制。实验采用650 cGy ⁶⁰Co-γ射线一次性全身照射诱导骨髓抑制小鼠模型, 灌胃不同剂量TSSO(1、0.5、0.1 mg/kg), 每天一次, 共10 d。分别于第4、7、10 d检测小鼠外周血WBC、RBC、HCT、PLT及PCT水平; 次日测定肝、脾、胸腺指数, 计数骨髓有核细胞数, 并检测骨髓细胞中GM-CSF、IL-3、SCF及c-Kit mRNA表达。结果显示, TSSO能显著升高小鼠外周血WBC、RBC、HCT、PLT及PCT水平, 提升小鼠骨髓有核细胞数目并提高骨髓细胞中GM-CSF、IL-3、SCF及c-Kit mRNA表达。提示TSSO对⁶⁰Co-γ射线所致骨髓抑制具有明显保护作用, 其机制可能与提高GM-CSF、IL-3、SCF及c-Kit mRNA表达水平有关。

关键词: 地榆总皂苷; ⁶⁰Co-γ射线; 骨髓抑制; IL-3; GM-CSF; SCF; c-Kit

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.6.006

Protective Effects of Peripheral Blood of Total Saponins of *Sanguisorba officinalis* L. on Myelosuppressive Mice induced by ⁶⁰Co-γ ray and Its Associated Mechanism

ZHU Lin-jie^{1,2}, CHEN Lin³, HUANG Fei-hong², DAI Yan-ping¹, ZOU Wen-jun^{1*}, WU Jian-ming^{2*}

¹College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China;

²College of Pharmacy, Southwest Medical University;

³Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China

Abstract: Protective effects and mechanism of total saponins of *Sanguisorba officinalis* L. (TSSO) on myelosuppressive mice induced by ⁶⁰Co-γ ray was investigated. The myelosuppressive mice model was established by irradiating the whole body one time with 650 cGy ⁶⁰Co-γ ray. Then the myelosuppressive mice were treated with TSSO (1, 0.5 and 0.1 mg/kg, i. g.) once a day, for total 10 days. The levels of WBC, RBC, HCT, PLT and PCT were measured at the 4th, 7th and 10th day. The next day, the liver, spleen and thymus was collected for counting organ index. The numbers of bone marrow cells were also counted and the mRNA expressions of GM-CSF, IL-3, SCF and c-Kit were measured by qPCR analysis. The results showed that TSSO can improve the levels of WBC, RBC, HCT, PLT, PCT, BMC, and the mRNA expression of GM-CSF, IL-3, SCF, and c-Kit in TSSO groups significantly. Thus, TSSO can alleviate myelosuppression induced by ⁶⁰Co-γ ray. The improvement of the mRNA expressions of GM-CSF, IL-3, SCF and c-Kit may be the mechanisms.

Key words: total saponins of *Sanguisorba officinalis* L.; ⁶⁰Co-γ ray; myelosuppression; IL-3; GM-CSF; SCF; c-Kit

目前, 肿瘤发病率不断攀升并已成为导致人类死亡的主要病因, 其治疗手段仍以放、化疗为主^[1,2]。然而, 放、化疗在实现肿瘤治疗效果的同时, 其毒副作用发生率也非常明显, 尤其骨髓抑制已

成为放、化疗过程中最常见与最严重的问题^[3,4]。在骨髓抑制状态下, 骨髓中血细胞前体的整体活性下降, 外周血中白细胞和红细胞都源于骨髓造血干细胞, 这两类细胞寿命短, 需不断补充, 作为血细胞前体的干细胞必须不断快速分裂, 以满足机体需要。而放、化疗及许多其它抗肿瘤疗法, 都是针对快速分裂的细胞, 常抑制骨髓造血细胞的生长, 导致其功能障碍, 临床常表现为外周血全血细胞下降, 免疫力下

收稿日期: 2017-01-23 接受日期: 2017-03-20

基金项目: 四川省科技厅项目(14JC0798); 四川省教育厅重点项目(15ZA0155); 泸州市科技计划(2015-S-43); 西南医科大学附属医院项目(15114)

* 通信作者 Tel: 86-830-3161506; E-mail: jianmingwu@swmu.edu.cn

降,从而导致放、化疗周期的延长甚至停止。因此,在放、化疗过程中保护骨髓造血功能,对肿瘤的治疗和患者健康具有重要意义。

地榆(*Sanguisorba officinalis* L.)为蔷薇科地榆属植物,具有凉血止血、解毒敛疮之功效,传统用于便血、水火烫伤痈肿疮毒等的治疗^[5],现代药理学研究表明地榆还具有抗炎、抗菌、抗氧化、促造血等作用^[6-8]。以地榆原药材制剂而成的中成药—地榆升白片在临床上主要用于治疗各种因素所致骨髓抑制,并已取得显著疗效^[9-11]。地榆的主要成分为鞣质、皂苷以及黄酮类等^[12],目前已经证实,地榆促造血功能的物质基础主要是皂苷和鞣质两类物质^[13]。现代药理学研究表明,地榆总皂苷(TSSO)是地榆升白的主要物质基础之一,并可显著改善化疗药物所导致的骨髓抑制^[14],但未见其对放射线所致骨髓抑制影响的报道。鉴于目前尚无地榆总皂苷对放射线导致骨髓抑制的相关研究,本文在已有的研究基础上,拟采用⁶⁰Co-γ 射线建立骨髓抑制模型,观察了TSSO对⁶⁰Co-γ 射线所致骨髓抑制的保护作用,并从粒细胞-单核细胞集落刺激因子(GM-CSF)、白细胞介素-3(IL-3)、干细胞因子(SCF)以及干细胞因子受体(c-Kit)mRNA表达水平初步阐明其分子机制,旨在为地榆升白片对放疗引起的骨髓抑制的临床运用提供相关科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物

KM小鼠,SPF级,质量(18~22 g),6~8周龄,♀♂各半,由成都达硕实验动物有限公司提供,合格证号:SCXK(川)2013-24。

1.1.2 药品

地榆购自成都五块石药材市场,经成都中医药大学中药鉴定教研室卢先明教授鉴定为地榆*Sanguisorba officinalis* L.;鲨肝醇(江苏鹏鹞药业有限公司,批号:150820)。

1.1.3 仪器与试剂

全自动动物血液分析仪(日本希森美康医用电子有限公司,型号:XT-1800i),全自动动物血液分析仪稀释液(日本希森美康医用电子有限公司,批号:G6054),全自动动物血液分析仪溶血剂(日本希森美康医用电子有限公司,批号:A6044),RPMI 1640培养基(美国Gibco公司,批号:8115384),逆转录试

剂盒(北京全式金生物技术有限公司,批号:K31218),qPCR试剂盒(北京全式金生物技术有限公司,批号:K31215),GM-CSF、IL-3、SCF、c-Kit引物均自行设计,由Invitrogen(美国)英潍捷基上海贸易公司合成。

1.2 实验方法

1.2.1 TSSO的制备

取干燥地榆药材500 g,粉碎为粗粉,加入10倍量70%乙醇浸泡30 min,热回流提取三次,每次60 min,纱布过滤;合并浸出液后,减压过滤,浓缩得醇浸膏,加水混悬,保温至60℃,用正丁醇萃取,连续三次,合并萃取液,浓缩干燥回收正丁醇,然后用丙酮洗涤,收集沉淀用乙酸乙酯重结晶,置50℃干燥,即得地榆总皂苷提取物。所得TSSO以地榆皂苷I为对照品,经高效液相色谱测定,TSSO中地榆皂苷I的含量为76.3%。

1.2.2 动物分组及给药

取SPF级KM小鼠84只,♀♂各半。小鼠适应性饲养5 d后,随机分为6组,即正常组、模型组、鲨肝醇组(30 mg/kg)、TSSO高剂量组(1 mg/kg)、TSSO中剂量组(0.5 mg/kg)、TSSO低剂量组(0.1 mg/kg),每组14只。给药组灌服相应药物,给药容量为10 mL/kg,正常组及模型组灌胃等体积纯水。每天一次,连续10 d。

1.2.3 造模与指标检测

给药组及模型组进行总剂量为650 cGy的⁶⁰Co-γ 射线一次性全身照射,制备小鼠骨髓抑制模型;次日开始给药,给药后第4、7、10 d从眼底静脉丛取血测定白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、红细胞压积(HCT)、血小板(PLT)、血小板压积(PCT)水平,第11 d脱颈椎处死小鼠,取肝、脾、胸腺,称重并计算其脏器指数;剥取左侧股骨,用1 mL 1640培养液冲洗骨髓至股骨发白,200目尼龙网过滤,使用全自动动物血液分析仪计数骨髓有核细胞(BMC)数目。

1.2.4 qPCR测定骨髓细胞中GM-CSF、IL-3、SCF、c-Kit mRNA的表达

给药后第11 d,根据1.2.3方法收集骨髓细胞,Trizol法常规提取总RNA,使用Trans Script逆转录试剂盒将总RNA逆转录成cDNA,以GAPDH为内参,进行荧光定量聚合酶链反应(qPCR)检测。反应条件均为:55℃,30 min(逆转录);95℃,10 min;95℃,15 s,60℃,1 min(扩增),40个循环,72℃,5 min(最后延伸)。以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 表示实验结果,计为与对照组进行比较后的相对值,对照组设为1。引物信息见表1。

表 1 引物信息
Table 1 Information of primers

引物 Primer	信息 Information		
	正义链 Sense	反义链 Antisense	长度 Length
GM-CSF	5' TCCTGGGCATTGTGGTCT 3'	5' CCTGGGCTTCCTCATTTC 3'	415 bp
IL-3	5' GCTCCGAGAACCTGAACT 3'	5' TCATTTCGCAGATGTAGGC 3'	180 bp
SCF	5' CGGGAATCCTGTGACTGA 3'	5' CTCGGGACCTAATGTTGA 3'	430 bp
c-Kit	5' AAATGAATGGCTGTTGCT3'	5' GGCTAGCCCGAAATCGCA 3'	89 bp
GADPH	5' GCTCCGAGAACCTGAACT 3'	5' TCATTTCGCAGATGTAGGC 3'	180bp

1.2.5 数据统计

各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 19.0 的 One Way ANOVA 检验进行统计学分析,以 $P < 0.05$ 为具统计学意义。

2 实验结果

2.1 TSSO 对⁶⁰Co-γ 射线所致骨髓抑制小鼠 WBC 水平的影响

与正常组比较,模型组 WBC 水平显著降低,第 4 d 降至最低点,第 7、10d 呈上升趋势,但均明显低于正常组水平,且具极显著性差异 ($P < 0.01$),提

示⁶⁰Co-γ 射线建立骨髓抑制模型成功。鲨肝醇组在第 4 d 有增加 WBC 的趋势,给药至 7 d 时其 WBC 水平与模型组比较具有显著性差异 ($P < 0.05$),说明所选阳性药物疗效肯定且实验体系成立。TSSO 高、中、低剂量组在第 4 d 与模型组比较均有升高 WBC 水平的作用趋势,且 TSSO 高剂量组具统计学意义 ($P < 0.05$)。在第 10 d TSSO 中、高剂量组与模型组比较均有显著升高 WBC 的作用 ($P < 0.05$),尤其以 TSSO 高剂量组作用最为显著 ($P < 0.01$)。上述结果表明,TSSO 能显著升高⁶⁰Co-γ 射线所致骨髓抑制小鼠 WBC 水平,结果见表 2。

表 2 TSSO 对⁶⁰Co-γ 射线所致骨髓抑制小鼠 WBC 水平的影响 ($n = 14, \bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of TSSO on WBC count in myelosuppressive mice induced by ⁶⁰Co-γ ray ($n = 14, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	剂量 Dose (mg/kg)	白细胞 WBC ($10^9/L$)			
		0 d	4 d	7 d	10 d
正常 Control	-	9.817 ± 1.76	9.575 ± 2.12 **	11.292 ± 1.36 **	10.383 ± 2.77 **
模型 Model	-	9.822 ± 1.74	1.240 ± 0.45	2.538 ± 0.74	2.522 ± 0.45
鲨肝醇 Batilol	30.0	9.852 ± 1.72	1.392 ± 0.37	3.225 ± 0.88 *	2.517 ± 0.79
TSSO 低剂量 TSSO-L	0.1	9.843 ± 1.67	1.308 ± 0.31	2.492 ± 1.21	2.758 ± 1.42
TSSO 中剂量 TSSO-M	0.5	9.787 ± 1.65	1.375 ± 0.76	2.675 ± 1.19	3.157 ± 1.55 *
TSSO 高剂量 TSSO-H	1.0	9.794 ± 1.58	1.733 ± 0.66 *	3.650 ± 1.93	3.891 ± 1.27 **

注:与模型组比较,* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with model, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

2.2 TSSO 对⁶⁰Co-γ 射线所致骨髓抑制小鼠 RBC 及 HCT 水平的影响

与正常组相比,⁶⁰Co-γ 射线对小鼠 RBC 水平的影响呈下降趋势,至第 10 d 降至最低水平。在药物作用第 10 d 时,TSSO 高、中、低剂量组均能明显抑制 RBC 水平的下降,并具有显著性差异 ($P < 0.05$),其中 TSSO 高剂量组最为显著 ($P < 0.01$)。阳性药鲨肝醇组在第 7 d 与模型组比较具有极显著差异 ($P < 0.01$)。⁶⁰Co-γ 射线对 HCT 的影响及其作

用规律与 RBC 一致,同时 TSSO 给药组对 HCT 的影响也与 RBC 相似。上述结果显示 TSSO 能显著升高⁶⁰Co-γ 射线所致骨髓抑制小鼠 RBC 及 HCT 水平,结果见表 3 和表 4。

2.3 TSSO 对⁶⁰Co-γ 射线所致骨髓抑制小鼠 PLT 及 PCT 水平的影响

与正常组相比,⁶⁰Co-γ 射线对小鼠 PLT 水平的影响呈现先下降后上升的趋势,至第 7d 降至最低水平,相比于正常组具有极显著差异 ($P < 0.01$),说

表3 TSSO对⁶⁰Co-γ射线所致骨髓抑制小鼠RBC水平的影响($n=14, \bar{x} \pm s$)Table 3 Effect of TSSO on RBC count in myelosuppressive mice induced by ⁶⁰Co-γ ray ($n=14, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	剂量 Dose(mg/kg)	红细胞 RBC($10^{12}/L$)			
		0 d	4 d	7 d	10 d
正常对照 Control	-	9.436 ± 0.43	9.592 ± 1.01	9.996 ± 0.73 **	9.871 ± 0.74 **
模型组 Model	-	9.368 ± 0.48	9.257 ± 0.53	9.052 ± 0.85	7.390 ± 0.76
鲨肝醇 Batilol	30.0	9.366 ± 0.57	9.383 ± 0.90	9.987 ± 0.50 **	7.834 ± 0.75
TSSO 低剂量 TSSO-L	0.1	9.219 ± 0.46	8.719 ± 1.31	8.949 ± 0.88	8.005 ± 0.66 *
TSSO 中剂量 TSSO-M	0.5	9.285 ± 0.31	8.732 ± 1.21	9.507 ± 0.65	8.173 ± 0.89 *
TSSO 高剂量 TSSO-H	1.0	9.495 ± 0.53	9.560 ± 0.99	9.594 ± 0.81	8.464 ± 0.76 **

注:与模型组比较, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。Note: Compared with model group, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.表4 TSSO对⁶⁰Co-γ射线所致骨髓抑制小鼠HCT水平的影响($n=14, \bar{x} \pm s$)Table 4 Effect of TSSO on HCT level in myelosuppressive mice induced by ⁶⁰Co-γ ray ($n=14, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	剂量 Dose(mg/kg)	红细胞压积 HCT(%)			
		0 d	4 d	7 d	10 d
正常对照 Control	-	36.6 ± 5.3	36.3 ± 3.8 **	39.2 ± 2.9 **	39.3 ± 2.8 **
模型组 Model	-	36.2 ± 3.4	32.7 ± 2.9	32.9 ± 2.4	33.7 ± 2.4
鲨肝醇 Batilol	30.0	37.7 ± 4.7	33.1 ± 3.5	31.5 ± 3.7	36.4 ± 6.8
TSSO 低剂量 TSSO-L	0.1	38.4 ± 3.1	32.5 ± 3.8	28.8 ± 5.3	35.4 ± 9.7
TSSO 中剂量 TSSO-M	0.5	36.8 ± 3.9	32.9 ± 5.2	31.8 ± 3.5	39.9 ± 4.7
TSSO 高剂量 TSSO-H	1.0	37.5 ± 4.8	34.9 ± 3.2 *	32.2 ± 3.3	41.8 ± 4.6 **

注:与模型组比较, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。Note: Compared with model group, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

明⁶⁰Co-γ射线能够成功降低小鼠PLT水平。在药物作用第7d时,TSSO高、中、低剂量均能抑制PLT水平的下降,且均具有统计学意义($P < 0.05$),TSSO高剂量组最为显著($P < 0.01$)。同时TSSO三个剂量组对PLT的保护作用还具有明显的量-效关系,其中高、中、低三个剂量对PLT的回升率分别为57.69%、43.91%、24.71%。⁶⁰Co-γ射线对PCT的影响及其作用规律与PLT一致,同时,给药组对PCT

的影响也与PLT相同。上述结果显示TSSO能显著升高⁶⁰Co-γ射线所致骨髓抑制小鼠PLT及PCT水平,结果见表5和表6。

2.4 TSSO对⁶⁰Co-γ射线所致骨髓抑制小鼠脏器指数及骨髓有核细胞计数的影响

与正常组相比,模型组骨髓有核细胞(BMC)水平有下降趋势;TSSO各组与模型组比较,三个剂量组均明显高于模型组水平,且中、低剂量具有显著性

表5 TSSO对⁶⁰Co-γ射线所致骨髓抑制小鼠PLT水平的影响($n=14, \bar{x} \pm s$)Table 5 Effect of TSSO on PLT count in myelosuppressive mice induced by ⁶⁰Co-γ ray ($n=14, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	剂量 Dose(mg/kg)	血小板 PLT($10^9/L$)			
		0 d	4 d	7 d	10 d
正常对照 Control	-	566.2 ± 166.0	529.6 ± 183.9	565.8 ± 164.3 **	625.6 ± 120.2 **
模型组 Model	-	524.7 ± 126.2	624.7 ± 166.9	206.8 ± 72.0	324.9 ± 128.1
鲨肝醇 Batilol	30.0	546.2 ± 125.7	785.4 ± 179.0 *	232.7 ± 73.1	394.4 ± 108.3
TSSO 低剂量 TSSO-L	0.1	549.4 ± 74.3	651.1 ± 142.1	257.9 ± 57.7 *	353.8 ± 87.5
TSSO 中剂量 TSSO-M	0.5	535.5 ± 127.2	731.1 ± 217.4	297.6 ± 105.2 *	363.4 ± 166.6
TSSO 高剂量 TSSO-H	1.0	574.4 ± 125.9	785.1 ± 189.7 *	326.1 ± 106.3 **	370.2 ± 87.8

注:与模型组比较, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。Note: Compared with model group, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

表6 TSSO对⁶⁰Co-γ射线所致骨髓抑制小鼠PCT水平的影响($n=14, \bar{x} \pm s$)
Table 6 Effect of TSSO on PCT level in myelosuppressive mice induced by ⁶⁰Co-γ ray ($n=14, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	剂量 Dose(mg/kg)	血小板压积 PCT(%)			
		0 d	4 d	7 d	10 d
正常对照 Control	-	0.207 ± 0.108	0.208 ± 0.090	0.208 ± 0.067 **	0.233 ± 0.049 **
模型组 Model	-	0.231 ± 0.102	0.230 ± 0.082	0.080 ± 0.042	0.140 ± 0.052
鲨肝醇 Batilol	30.0	0.276 ± 0.072	0.291 ± 0.070 *	0.108 ± 0.029 *	0.150 ± 0.067
TSSO 低剂量 TSSO-L	0.1	0.289 ± 0.086	0.255 ± 0.082	0.107 ± 0.016 *	0.142 ± 0.051
TSSO 中剂量 TSSO-M	0.5	0.256 ± 0.085	0.275 ± 0.087	0.112 ± 0.038 *	0.145 ± 0.052
TSSO 高剂量 TSSO-H	1.0	0.290 ± 0.092	0.308 ± 0.079 *	0.133 ± 0.049 **	0.155 ± 0.069

注:与模型组比较, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with model group, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

差异($P < 0.05$),而高剂量组具有极显著差异($P < 0.01$),但各组脏器指数无明显差异。上述结果提

示 TSSO 能显著提升⁶⁰Co-γ射线所致骨髓抑制小鼠造血潜力,但对其脏器指数无明显影响,结果见表7。

表7 TSSO对⁶⁰Co-γ射线所致骨髓抑制小鼠脏器指数及骨髓有核细胞计数的影响($n=14, \bar{x} \pm s$)
Table 7 Effect of TSSO on organ index and BMC count in myelosuppressive mice induced by ⁶⁰Co-γ ray ($n=14, \bar{x} \pm s$)

组别 Group	剂量 Dose(mg/kg)	骨髓有核细胞 BMC($10^9/L$)	脏器指数 Organ index(%)		
			脾脏 Spleen	肝脏 Liver	胸腺 Thymus
正常对照 Control	-	2.75 ± 1.36	5.44 ± 1.82	57.03 ± 5.23	3.18 ± 1.15
模型组 Model	-	2.46 ± 0.96	6.25 ± 1.13	54.55 ± 4.18	2.69 ± 0.41
鲨肝醇 Batilol	30.0	1.82 ± 0.88	6.07 ± 2.87	51.01 ± 6.12	1.91 ± 0.76 **
TSSO 低剂量 TSSO-L	0.1	3.17 ± 0.97 *	5.86 ± 3.58	50.14 ± 16.6	2.26 ± 0.92
TSSO 中剂量 TSSO-M	0.5	3.67 ± 1.37 *	5.66 ± 2.92	51.50 ± 3.07	2.31 ± 0.47
TSSO 高剂量 TSSO-H	1.0	4.17 ± 1.75 **	5.33 ± 3.35	53.37 ± 5.46	2.48 ± 0.83

注:与模型组比较, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with model group, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

2.5 TSSO对⁶⁰Co-γ射线所致骨髓抑制小鼠骨髓细胞中GM-CSF、TL-3、SCF及c-Kit mRNA表达的影响

与正常组相比,模型组小鼠GM-CSF、IL-3、SCF mRNA表达显著降低($P < 0.01$),c-Kit mRNA水平显著降低($P < 0.05$);与模型组相比,给药10 d,TSSO三个剂量组GM-CSF、IL-3、SCF及c-Kit mRNA表达水平显著升高($P < 0.01$),并呈明显的剂量依赖性。上述结果表明,TSSO能显著升高⁶⁰Co-γ射线所致骨髓抑制小鼠骨髓有核细胞中GM-CSF、IL-3、SCF及c-Kit mRNA表达水平。结果见图1。

3 讨论与结论

理想、合适的动物模型在药实验研究中起到关键作用。本研究采用的⁶⁰Co-γ射线诱导小鼠骨髓抑制模型是药理学和血液学研究中常用的动物模型。机体造血系统对⁶⁰Co-γ射线高度敏感,经亚致死量

的⁶⁰Co-γ射线照射后,可损伤机体造血细胞,抑制机体造血功能^[15,16]。在本研究中,我们观察到模型小鼠外周血WBC水平逐渐降低,到4 d时达到最低值,之后慢慢开始恢复,第10 d时仍然低于正常水平。从WBC水平看,模型组均明显低于正常水平,具有极显著差异($P < 0.01$)。此外,⁶⁰Co-γ射线对小鼠外周血其它指标如血小板等指标也有明显的影响,均显著低于正常水平。同时,从模型小鼠的生理特征来看,经⁶⁰Co-γ射线照射后第二天模型组小鼠出现萎靡,食欲下降,皮毛失去光泽,竖毛易落等生理特征,部分小鼠肛门明显出血。这些生理特征也从另一个角度证实上述⁶⁰Co-γ射线对小鼠血象和机体的影响。说明本研究所采用的⁶⁰Co-γ射线辐射造模方法能够有效的建立稳定的骨髓抑制小鼠模型。

临床上,以地榆药材为活性成分的中成药产品地榆升白片,是临床上广泛使用的放、化疗辅助治疗

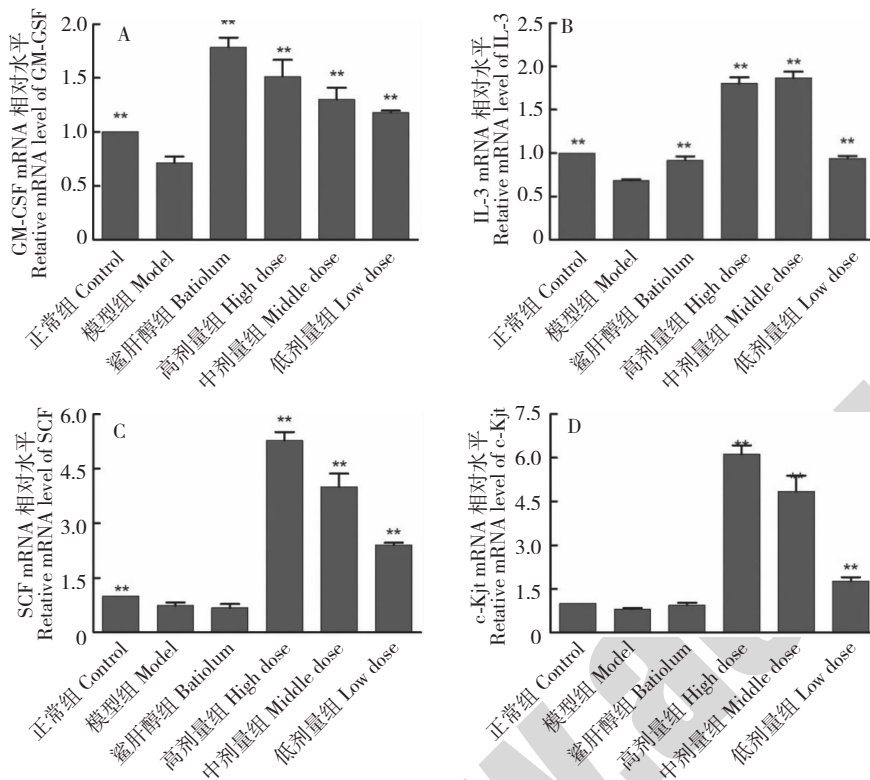


图1 TSSO对⁶⁰Co-γ射线致骨髓抑制小鼠骨髓细胞中GM-CSF、IL-3、SCF及c-Kit mRNA水平的影响

Fig. 1 Effects of TSSO on the mRNA expression of GM-CSF, IL-3, SCF and c-Kit in myelosuppressive mice induced by ⁶⁰Co-γ ray
注:与模型组比较, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

Note: Compared with model group, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

药物^[17,18],具有稳定、确切的治疗放、化疗所致骨髓抑制的药理作用,而TSSO是由地榆药材经一系列提取工艺分离精制而成^[19],对环磷酰胺所致骨髓抑制具有显著保护作用^[14]。据报道,TSSO还具有直接的抗癌、抗肿瘤等作用,能显著抑制肿瘤细胞的生长、增殖,并诱导肿瘤细胞分化和凋亡^[20,21]。本研究结果表明TSSO对⁶⁰Co-γ射线所致的骨髓抑制有明显的保护作用,而以1mg/kg的剂量作用最好。TSSO各组能均在一定程度上拮抗辐射模型小鼠WBC、RBC及PLT水平的下降,较快升高模型小鼠外周血中WBC、RBC及PLT水平,并具有明显的量-效关系。此外,TSSO还能显著提高辐射模型小鼠骨髓有核细胞数目。由此推测,TSSO可能通过促进骨髓细胞增殖,从而起到提升外周血细胞水平的作用。

GM-CSF、IL-3、SCF属于多谱系生长因子,SCF能促进多能干细胞向三系髓样干细胞和淋巴干细胞分化,IL-3、GM-CSF能促进三系髓样干细胞定向祖细胞分化及定向祖细胞的进一步增殖分化,最终形成成熟的粒细胞、红细胞、血小板^[22]。项目组前

期研究发现,TSSO能显著促进体外造血祖细胞的增殖、分化^[17],本研究在已有的研究基础上通过qPCR对⁶⁰Co-γ射线所致骨髓抑制小鼠骨髓细胞中GM-CSF、IL-3、SCF及c-Kit mRNA表达水平进行了测定,结果表明,TSSO能显著提高小鼠骨髓细胞中GM-CSF、IL-3、SCF及c-Kit mRNA的表达,提示TSSO可能通过上述分子机制促进小鼠骨髓中造血干细胞的分化,最终升高外周血细胞水平。

以上结果表明,TSSO对⁶⁰Co-γ射线所致骨髓抑制具有保护作用,其作用机制可能与提高细胞因子GM-CSF、IL-3、SCF以及c-Kit mRNA表达有关,进而促进造血干细胞增殖分化,最终升高外周血细胞,改善放疗引起的骨髓抑制。本研究初步阐明TSSO对放射线所致骨髓抑制影响的作用机理,后续还将通过流式细胞术等手段进一步分析骨髓中相关因子的表达,深入研究TSSO促进骨髓造血功能的分子机制。

参考文献

1 Mcquade RM, Stojanovska V, Bornstein JC, et al. Colorectal

- cancer chemotherapy: The evolution of treatment and new approaches. *Curr Med Chem*, 2017, 24: 1553-1561.
- 2 Zhang P, Rimner A, Yorke E, *et al.* A geometric atlas to predict lung tumor shrinkage for radiotherapy treatment planning. *Phys Med Biol*, 2017, 62: 702-714.
 - 3 Bisi JE, Sorrentino JA, Roberts PJ, *et al.* Preclinical characterization of G1T28: A novel CDK4/6 inhibitor for reduction of chemotherapy-induced myelosuppression. *Mol Cancer Ther*, 2016, 15: 783-793.
 - 4 Clermont T, Leblanc AK, Adams WH, *et al.* Radiotherapy-induced myelosuppression in dogs: 103 cases (2002-2006). *Vet Comp Oncol*, 2012, 10: 24-32.
 - 5 Ye ZJ (叶招尧), Yan L (阎澜), Li HJ (李洪娇), *et al.* Research progress in pharmacological effect and clinical application of *Sanguisorba officinalis* L. *Pharm Care Res* (药学服务与研究), 2015, 15: 47-50.
 - 6 Yang JH, Hwang YH, Gu MJ, *et al.* Ethanol extracts of *Sanguisorba officinalis* L. suppress TNF- α /IFN- γ -induced pro-inflammatory chemokine production in HaCaT cells. *Phytomedicine*, 2015, 22: 1262-1268.
 - 7 Chen X, Shang F, Meng Y, *et al.* Ethanol extract of *Sanguisorba officinalis* L. inhibits biofilm formation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an ica-dependent manner. *J Dairy Sci*, 2015, 98: 8486-8491.
 - 8 Gao XP, Wu JM, Zou WJ, *et al.* Two ellagic acids isolated from roots of *Sanguisorba officinalis* L. promote hematopoietic progenitor cell proliferation and megakaryocyte differentiation. *Molecules*, 2014, 19: 5448-5458.
 - 9 Jiang DX (江丹贤), Weng YJ (翁一洁), Liang CX (梁彩霞), *et al.* Function of garden Burnet root leukopoietic tablets to prevent myelosuppression induced by FOLFOX chemotherapy in patients with colorectal cancer. *Clin Med Eng* (临床医学工程), 2015, 22: 286-288.
 - 10 Tian HF (田慧芳). Therapeutic effects and safety of Garden Burnet Root leukopoietic tablets combined with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in treatment of marrow suppression after chemotherapy of paclitaxel. *J Clin Med Prac* (实用临床医药杂志), 2015, 19: 29-33.
 - 11 Fu LR (付利然). Diyushengbaitables in the treatment of malignant tumors after radiotherapy leukopenia randomized parallel controlled study. *J Prac Trad Chin Inter Med* (实用中医内科杂志), 2014, 28: 71-73.
 - 12 Dai LM (代良敏), Xiong YA (熊永爱), Fan K (范奎), *et al.* Chemical composition and pharmacological effect of sanguisorbae radix. *Chin J Exp Trad Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2016, 22: 189-195.
 - 13 Su TT (苏柘僮). The druggability research of Xinsheng capsule based on the mutual inhibition between sanguisorba tannins and saponins in treating leucopenia. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (成都中医药大学), MSc. 2012.
 - 14 Dai LM (代良敏), Xiong YA (熊永爱), Yang GY (杨桂燕), *et al.* Protective effect of tannins from *Sanguisorba officinalis* on cyclophosphamide-induced myelosuppression in mice. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2016, 28: 852-859.
 - 15 Khan S, Adhikari JS, Rizvi MA, *et al.* Melatonin attenuates 60 Co gamma-ray-induced hematopoietic, immunological and gastrointestinal injuries in C57BL/6 male mice. *Environ Toxicol*, 2017, 32: 501-518.
 - 16 Tian XL, Zhao H, Cai TJ, *et al.* Dose-effect relationships of nucleoplasmic bridges and complex nuclear anomalies in human peripheral lymphocytes exposed to 60Co gamma-rays at a relatively low dose. *Mutagenesis*, 2016, 31: 425-431.
 - 17 Chen CJ (陈婵娟), Chen CN (陈昌南), Lin YX (林云笑), *et al.* Effect-analysis on the intervention therapy of G-CSF and Diyushengbai table early-used on the tumor-chemotherapy. *Jilin Med J* (吉林医学), 2015, 36: 3737-3738.
 - 18 Shan XY (单学贇), Sun NT (孙乃同), Wang CB (王纯斌). Effect-observe on the therapy of G-CSF combined Diyushengbai table on myelosuppression. *J Chin Pres Drug* (中国处方药), 2015, 13: 90-91.
 - 19 Dai YP (代燕平), Gao XP (高小平), Wu JM (吴建明), *et al.* Effect of total saponins from *Sanguisorba officinalis* on megakaryocyte progenitor cells proliferation, differentiation and relative receptor expression. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2014, 39: 1685-1689.
 - 20 Qin SH (秦三世), Li K (李坤), Zhou L (周玲), *et al.* Experimental study on the antitumor effect of Sanguisorbasaponins. *Shandong med J* (山东医药), 2010, 15: 24-26.
 - 21 Qin SH (秦三世), Mu YL (牟艳玲), Zhou L (周玲), *et al.* Inhibitory effect and mechanism of Sanguisorbasaponins on ascitic-fluid type hepatocarcinoma H22 in mice. *Acta Chin Med Pharm* (中医药学报), 2013, 1: 10-13.
 - 22 Narita R, Yamashita H, Goto A, *et al.* Syndecan-dependent binding of Drosophila hemocytes to laminin alpha3/5 chain LG4-5 modules: potential role in sessile hemocyte islets formation. *FEBS Lett*, 2004, 576: 127-132.