

日本为 6.0%~8.4%; 美国约为 12%; 欧洲与美国的偏头痛患病率较为接近^[7]。在美国, 每年因头痛发作造成的经济损失高达 130 亿美元^[8]。目前, 布洛芬等非甾体抗炎药及其复方制剂作为轻、中度的偏头痛发作和既往使用有效的重度偏头痛发作的一线药物^[9]。且临床显示, 联合中药复方疗效更佳。

本实验研究结果显示, 布洛芬、芎麻汤水煎浸膏、及两药联用均能增加偏头痛小鼠的体质量, 延长其凝血时间, 调节 5-HT 的过度降低, 提高血清中单胺类神经递质 5-HT 及其代谢产物 5-HIAA 的含量。从实验数据上分析, 两药联用效果更好, 其原因可能是, 一方面中药复方芎麻汤中的某些有效成分协同布洛芬的抗炎及镇痛作用, 有效缓解偏头痛的急性发作; 另一方面可能是中药复方芎麻汤某些有效成分能双向调节单胺类递质 5-HT 的含量, 促使其恢复平衡, 从而达到控制偏头痛发作。但具体的作用机制还需进一步研究确定。

综上所述, 本实验研究能为临床联合用药提供实验依据。

REFERENCES

- [1] CUI L Y. Routine Nerve Internal Medicine Diagnosis and Treatment(神经内科诊疗常规) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2004: 337-339.
- [2] LI J C, MENG X L, ZENG Y. The current research on migraine animal model [J]. Pharm Clin Chin Mater Med(中药与临床), 2010, 1(4): 56-60.
- [3] CHEN Q. Traditional Chinese Medicine Pharmacology Research Methodology(中药药理研究方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2006: 36-38.
- [4] DENG F J, CHEN X L. Experimental migraine method in mice [J]. Chin J Curr Clin Med(中国现代临床医学杂志), 2005, 3(8): 708-710.
- [5] LI J X, GAO H X, ZHANG Y J. The role of headache medicine for migraine model [J]. Hebei Med J(河北医药), 2006, 28(9): 863-864.
- [6] ZHANG Y P. Digital [J]. Chin Health Ind(中国卫生产业), 2010, 7(4): 18-20.
- [7] STOVNER L J, ANDREE C. Prevalence of headache in Europe: a review for the Eurolight project [J]. J Headache Pain, 2010, 11(4): 289-299.
- [8] WANG S. Migraine treatment status quo [J]. J Brain Nerv Dis(脑与神经疾病杂志), 2001, 9(6): 379-389.
- [9] BEBBINGTON P. The world health report 2001 [J]. Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol, 2001, 36(10): 473-479.

收稿日期: 2013-04-13

复方甘草酸苷注射液对小鼠放、化疗模型减毒作用实验研究

王涛¹, 刘薇², 庄辉传³, 陈蜜¹, 江振洲^{1*} (1.中国药科大学江苏省新药筛选中心, 南京 210009; 2.南京市职业病防治院药剂科, 南京 210015; 3.中国人民解放军第八一医院药剂科, 南京 210002)

摘要: 目的 考察复方甘草酸苷注射液(美能注射液)对于放、化疗动物模型骨髓抑制和免疫损伤的减毒作用, 探寻本品临床应用的新价值。方法 选择正常及 S180 荷瘤小鼠, 采用放疗(⁶⁰Co 照射, 5.0 Gy)和化疗(环磷酰胺, 100 mg·kg⁻¹, 腹腔注射)方法建立模型, 通过体质量、胸腺指数、脾脏指数、白细胞数和骨髓有核细胞数等指标, 评价复方甘草酸苷注射液对放、化疗模型减毒作用。复方甘草酸苷注射液设高、中、低剂量组(以甘草酸苷计分别为 40, 20, 10 mg·kg⁻¹), 1 次·d⁻¹, 连续静脉注射给药 7 d。第 8 天处死动物, 测定体质量、外周血白细胞数、骨髓有核细胞数、胸腺系数、脾脏系数。结果 ①化疗模型中, 环磷酰胺可使得正常小鼠和 S180 荷瘤小鼠胸腺和脾脏的脏器指数显著下降($P<0.01$), 白细胞数和骨髓有核细胞数显著减少($P<0.05$)。复方甘草酸苷注射液高剂量可明显升高 2 种化疗动物模型白细胞数和骨髓有核细胞数($P<0.05$), 中低剂量组也有部分改善作用。复方甘草酸苷注射液对胸腺和脾脏的脏器指数改善作用不明显。②放疗模型中, ⁶⁰Co 照射可使得正常小鼠和 S180 荷瘤小鼠胸腺和脾脏的脏器指数显著降低($P<0.01$), 白细胞和骨髓有核细胞数显著减少($P<0.01$)。复方甘草酸苷注射液各剂量组对 ⁶⁰Co 照射引起的正常小鼠和 S180 荷瘤小鼠各项指标变化均未见明显改善作用。结论 对于环磷酰胺化疗引起的正常小鼠和 S180 荷瘤小鼠的骨髓抑制, 复方甘草酸苷注射液具有明显的改善作用; 对于 ⁶⁰Co 放疗引起的正常小鼠和 S180 荷瘤小鼠的骨髓抑制, 复方甘草酸苷注射液改善作用不明显, 提示本品在化疗骨髓抑制防护方面具有一定的应用价值。

关键词: 复方甘草酸苷注射液; 化疗; 放疗; 骨髓抑制

中图分类号: R965.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)09-0943-06

作者简介: 王涛, 男, 硕士, 助理研究员 Tel: (025)83271043
助理研究员 Tel: (025)83271043 E-mail: jiangcpu@163.com

E-mail: wangtao1331@126.com *通信作者: 江振洲, 男, 硕士, 助

Experimental Research of Toxicity Attenuation of Stronger Neo-minophagen C Injection with Chemotherapy and Radiotherapy in Mice

WANG Tao¹, LIU Wei², ZHUANG Huichuan³, CHEN Mi¹, JIANG Zhenzhou^{1*} (1.Jiangsu Center for Drug Screening, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 2.Department of Pharmacy, Nanjing Occupation Disease Prevention and Treatment Hospital, Nanjing 210015, China; 3.Department of Pharmacy, 81 Hospital of PLA, Nanjing 210002, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate toxicity attenuation of chemotherapy and radiotherapy with Stronger Neo-Minophagen C Injection(SNMCI) and explore the new value of SNMCI for clinical application. **METHODS** Normal and S180 inoculated mice were divided randomly into low, medium and high dose groups of SNMCI. SNMCI were intravenously-administrated with the dosage of 40, 20 and 10 mg·kg⁻¹(calculated as dosage of glycyrrhizin) to the groups of mice, respectively, once per day for 7 days. Mice were treated with chemotherapy (cyclophosphamide, 100 mg·kg⁻¹, ip) and radiotherapy(⁶⁰Co, 5.0 Gy). On 8th day, mice were sacrificed. And then body weight, thymus index, spleen index, periphery blood of WBC, bone marrow nucleated cells were observed. **RESULTS** ①Chemotherapy could significant reduce thymus index, spleen index, periphery blood of WBC, bone marrow nucleated cells in both normal and S180 inoculated mice($P<0.01$). High dose group of SNMCI significantly increased periphery blood of WBC and bone marrow nucleated cells compared with chemotherapy group($P<0.05$), medium and low dose groups also had some improvement. Three doses of SNMCI had poor improvement on thymus index and spleen index. ②Radiotherapy could significantly reduce thymus index, spleen index, periphery blood of WBC, bone marrow nucleated cells in both normal and S180 inoculated mice($P<0.01$). Three doses of SNMCI had poor improvement on lesion induced by radiotherapy. **CONCLUSION** SNMCI can significantly improve myelosuppression induced by cyclophosphamide in normal and S180 inoculated mice while has poor improvement for myelosuppression induced by ⁶⁰Co radiation. The present findings suggest that SNMCI is valuable for myelosuppression induced by chemotherapy.

KEY WORDS: Stronger Neo-minophagen C injection; chemotherapy; radiotherapy; myelosuppression

放疗和化疗均属于目前恶性肿瘤的主要治疗手段。免疫损伤和骨髓抑制是肿瘤放、化疗引起的最常见的毒性反应,该毒性反应减弱了患者对治疗的依从性,甚至可以抵消化疗治疗肿瘤带来的正面效益。严重的免疫损伤和骨髓抑制可能造成感染、出血,不仅影响下一疗程的治疗,甚至危及生命,故需要临床积极防治^[1]。

复方甘草酸苷(美能)注射液是以甘草酸苷为主要成分的静脉制剂,具有抗炎及保护肝细胞膜的作用^[2],并通过抗氧化、清除自由基,使机体的免疫系统正常化^[3]。多项研究结果表明:恶性肿瘤患者化疗过程中使用复方甘草酸苷注射液对预防和治疗化疗引起的药物性肝损害有较好的疗效^[4-6],亦有研究者认为其还具有保护患者骨髓的功能^[7-8]。复方甘草酸苷注射液对放、化疗引起的骨髓抑制和免疫损伤方面的实验研究未见报道,笔者通过动物模型,考察本品对于放、化疗模型骨髓抑制和免疫损伤的减毒作用,探寻本品临床应用的新价值。

1 材料

1.1 试剂

受试药物:复方甘草酸苷注射液[缩写为“SNMCI”,卫材(中国)药业有限公司,批号:

P0310, 20 mL·支⁻¹]; 阳性药:重组人粒细胞刺激因子注射液(rH-GSF, 北京双鹭药业股份有限公司,批号:20110915, 75 μg·瓶⁻¹); 注射用环磷酰胺(cyclophosphamide, Cy, 江苏恒瑞医药股份有限公司,批号:11122332, 0.2 g·瓶⁻¹); 乙酸(南京化学试剂有限公司,批号:110510364, 分析纯, 500 mL·瓶⁻¹)。

1.2 仪器

FEJ-200电子天平(0.1~200 g, 福州富日衡之宝电子有限公司); BS210S 精密电子天平(0.1 mg~10 g, 德国赛多利斯); CELLtac α型血球分析仪(日本NIHON KOHDEN公司); CountessTM自动细胞计数仪(美国Invitrogen公司)。

1.3 动物

ICR 小鼠, ♀ ♂ 各半, 体质量 18~22 g, SPF 级, 购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司, 合格证号: SCXK(沪)2008-0016。

1.4 细胞株

S180 肿瘤细胞株, 购自中科院细胞库, 由本中心传代保存。

2 方法

2.1 对正常小鼠化疗(Cy)和放疗(⁶⁰Co)的减毒作用

2.1.1 药物配制

SNMCI 主要成分甘草酸苷的浓

度为 $2\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，分别将注射液原液稀释成 1/2 和 1/4 原液。试验中高、中、低剂量组分别给予原液、1/2 和 1/4 原液，给药体积均为 $20\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ （高、中、低组剂量以甘草酸苷计分别为 40, 20, $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ）。

2.1.2 剂量设置 取正常 ICR 小鼠 60 只，按体重随机分为 6 组，每组 10 只，♀ ♂ 各半。各组动物静脉注射给药连续 7 d，给药体积均为 $20\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，1 次·d⁻¹，剂量与分组如下：①正常对照组，生理盐水， $20\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ ；②放、化疗模型组，Cy $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ；③rH-GSF 组， $50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ；④复方甘草酸苷注射液高剂量组(SNMCI-H)，原液；⑤复方甘草酸苷注射液剂量组(SNMCI-M)，1/2 原液；⑥复方甘草酸苷注射液低剂量组(SNMCI-L)，1/4 原液。

2.1.3 化疗模型 按“2.1.2”项下剂量设置给药，第 4、5 天除正常对照组外，其余各组开始腹腔注射 Cy($100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)，连续 2 d，停药后 24 h 内处死动物，处死前称重，并由眼眶静脉取血，血球自动分析仪测定外周血白细胞总数(WBC)，同时摘取一侧完整股骨，采用 3%醋酸溶液 5 mL 反复冲洗，取冲洗液采用细胞计数仪计数骨髓有核细胞数，并取胸腺、脾称重，计算胸腺、脾脏指数，并用 *t* 检验进行统计学处理。胸腺指数=胸腺重/体质量×10；脾脏指数=脾重/体质量×10。

2.1.4 放疗模型 取 60 只正常 ICR 小鼠，除正常对照组 10 只动物外，其余 50 只小鼠进行一次⁶⁰Co 照射，剂量为 5.0 Gy；⁶⁰Co 照射后动物根据体重按“2.1.2”项下方案随机分为 5 组，每组 10 只，♀ ♂ 各半。各组按“2.1.2”项下剂量设置给药 7 d，停药后 24 h 内处死动物，同“2.1.3”项下化疗模型方法测定外周血白细胞总数、骨髓有核细胞数、脾脏指数和胸腺指数。

2.2 对 S180 荷瘤小鼠化疗(Cy)和放疗(⁶⁰Co)的减毒作用

2.2.1 瘤株接种 取本室体内传代的 S180 荷瘤小鼠，按移植性肿瘤研究法，在无菌操作下取瘤块，称重，用玻璃组织匀浆器研磨，磨匀后放入无菌容器内，加生理盐水稀释成 1:3 的细胞悬液，容器置冰块上，用空针抽吸，每次抽吸前将细胞混匀，每只小鼠右前肢腋窝皮下接种 0.2 mL，建立 S180 移植瘤模型。

2.2.2 药物配制 同“2.1.1”。

2.2.3 剂量设置 取 S180 荷瘤小鼠，按“2.1.2”项下进行剂量设置。

2.2.4 化疗模型 取正常 ICR 小鼠 60 只，按“2.2.1”项下方法接种 S180 移植瘤，接种次日，按“2.2.3”剂量设置给予受试药物，连续 7 d。给药第 4、5 天除正常对照组外，其余各组开始腹腔注射 Cy($100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)，连续 2 d，于停药后 24 h 内处死动物，同“2.1.3”方法测定外周血白细胞总数、骨髓有核细胞数、脾脏指数和胸腺指数，同时剥取各组肿瘤组织，称重。

2.2.5 放疗模型 除正常对照组 10 只动物外，其余 50 只小鼠于肿瘤接种次日进行一次⁶⁰Co 照射，剂量为 5.0Gy；⁶⁰Co 照射后动物根据体重按“2.2.3”方案随机分为 5 组，每组 10 只，♀ ♂ 各半。各组给药 7 d，停药后 24 h 内处死动物，同“2.1.3”化疗模型方法测定外周血白细胞总数、骨髓有核细胞数、脾脏指数和胸腺指数，同时剥取各组肿瘤组织，称重。

2.3 数据处理与统计方法

各试验计量数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用 SPSS 19 软件先做 ANOVA 分析，判断方差齐性，进而采用非配对 *t* 检验考察显著性，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对正常小鼠 Cy 化疗的减毒作用

与对照组正常小鼠相比，Cy 可使得胸腺和脾脏的脏器指数显著减少($P < 0.01$)，白细胞数和骨髓有核细胞数显著减少($P < 0.01$)；rH-GSF $50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 对 Cy 引起的脾脏指数的下降有明显的改善作用($P < 0.01$)，同时显著升高模型动物白细胞和骨髓有核细胞数($P < 0.01$)。SNMCI-H 可明显升高化疗动物白细胞数和骨髓有核细胞数($P < 0.05$)，SNMCI-M 组也有部分改善作用。SNMCI-L 组对胸腺和脾脏的脏器指数改善作用不明显。结果见表 1。

3.2 对正常小鼠 ⁶⁰Co 放疗的减毒作用

与对照组正常小鼠相比，⁶⁰Co 照射可使得胸腺和脾脏的脏器指数显著降低($P < 0.01$)，白细胞和骨髓有核细胞数显著减少($P < 0.01$)；rH-GSF $50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 对 ⁶⁰Co 照射骨髓有核细胞数下降具有显著改善作用($P < 0.01$)，对其他指标变化也具有部分改善作用。SNMCI 各剂量组对 ⁶⁰Co 照射引起的正常小鼠各项指标变化均未见明显改善作用，结果见表 2。

表 1 SNMCI 对正常小鼠环磷酰胺化疗模型脏器指数、骨髓有核细胞数和外周血白细胞数的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Tab 1 Effects of SNMCI on thymus index, spleen index, periphery blood of WBC, bone marrow nucleated cells in cyclophosphamide-treated mice($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	第 7 天体重/g	胸腺指数/mg·g ⁻¹	脾脏指数/mg·g ⁻¹	WBC/10 ⁹ ·L ⁻¹	骨髓有核细胞数/10 ⁷ ·L ⁻¹
正常对照组		28.6±2.8	0.32±0.07	0.52±0.08	4.95±0.65	11.59±4.04
模型组		28.0±3.4	0.12±0.03 ¹⁾	0.19±0.03 ¹⁾	2.19±0.63 ¹⁾	2.19±0.87 ¹⁾
rH-GSF	0.05	27.8±1.7	0.17±0.10	0.32±0.11 ³⁾	3.02±0.52 ³⁾	7.81±1.56 ³⁾
SNMCI-H	40.0	26.1±1.9	0.13±0.04	0.22±0.08	2.85±0.67 ²⁾	4.15±2.65 ²⁾
SNMCI-M	20.0	26.9±1.6	0.11±0.05	0.23±0.07	2.46±0.49	2.89±2.31
SNMCI-L	10.0	28.0±2.9	0.09±0.03	0.19±0.05	2.27±0.49	3.13±0.86 ²⁾

注：与对照组比较，¹⁾ $P<0.01$ ；与模型组比较，²⁾ $P<0.05$ ，³⁾ $P<0.01$
Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$

表 2 SNMCI 对正常小鼠 ⁶⁰Co 放疗模型脏器系数、骨髓有核细胞数和外周血白细胞数的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Tab 2 Effects of SNMCI on thymus index, spleen index, periphery blood of WBC, bone marrow nucleated cells in ⁶⁰Co-radiated mice($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	第 7 天体重/g	胸腺指数/mg·g ⁻¹	脾脏指数/mg·g ⁻¹	WBC/10 ⁹ ·L ⁻¹	骨髓有核细胞数/10 ⁷ ·L ⁻¹
正常对照组		28.4±1.5	0.32±0.06	0.48±0.06	4.94±2.38	13.48±4.45
模型组		27.8±2.5	0.21±0.08 ²⁾	0.39±0.08 ¹⁾	2.50±0.98 ²⁾	10.03±1.75 ¹⁾
rH-GSF	0.05	28.9±3.4	0.21±0.06	0.46±0.11	3.53±1.34	14.57±4.62 ³⁾
SNMCI-H	40.0	27.5±2.3	0.20±0.07	0.33±0.09	2.44±0.97	11.29±3.96
SNMCI-M	20.0	28.7±3.2	0.24±0.07	0.61±0.65	2.97±1.08	9.35±4.99
SNMCI-L	10.0	26.6±2.2	0.22±0.08	0.41±0.10	2.59±1.42	9.56±4.23

注：与对照组比较，¹⁾ $P<0.05$ ，²⁾ $P<0.01$ ；与模型组比较，³⁾ $P<0.01$
Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; compared with model group, ³⁾ $P<0.01$

3.3 对 S180 荷瘤小鼠 Cy 化疗的减毒作用

与对照组 S180 荷瘤小鼠相比, Cy 可使胸腺、脾脏指数显著减少($P<0.01$), 白细胞数和骨髓有核细胞数显著减少($P<0.05$); rH-GSF 50 μg·kg⁻¹ 可使得 Cy 化疗 S180 荷瘤小鼠脾脏指数($P<0.01$)、白细胞数($P<0.01$)和骨髓有核细胞数($P<0.05$)均显著升高。SNMCI 各剂量组对化疗小鼠的白

细胞数和骨髓有核细胞数也有一定的升高作用, 其中 SNMCI-H 组骨髓有核细胞数具有统计学显著差异($P<0.05$)。瘤重测定结果显示, 接受化疗各组的瘤重均显著下降, 但各组间未见明显差异, 对胸腺和脾脏的脏器指数改善作用不明显, 提示本品对化疗的抗肿瘤作用无明显影响, 结果见表 3。

表 3 SNMCI 对 S180 荷瘤小鼠环磷酰胺化疗模型脏器系数、骨髓有核细胞数和外周血白细胞数的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Tab 3 Effects of SNMCI on thymus index, spleen index, periphery blood of WBC, bone marrow nucleated cells in cyclophosphamide-treated S180 inoculated mice($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	第 7 天体重/g	胸腺指数/mg·g ⁻¹	脾脏指数/mg·g ⁻¹	WBC/10 ⁹ ·L ⁻¹	骨髓有核细胞数/10 ⁷ ·L ⁻¹	瘤重/g
正常对照组		29.2±2.5	0.19±0.06	0.72±0.30	4.15±0.60	14.85±7.73	1.54±0.26
模型组		28.3±6.7	0.11±0.04 ²⁾	0.65±0.19	2.72±1.37 ¹⁾	7.82±2.68 ¹⁾	0.61±0.23 ²⁾
rH-GSF	0.05	29.9±4.5	0.10±0.05	1.02±0.30 ⁴⁾	5.22±1.38 ⁴⁾	9.93±1.46 ³⁾	0.60±0.14 ²⁾
SNMCI-H	40.0	31.3±6.4	0.10±0.04	0.65±0.24	3.48±0.94 ³⁾	10.40±2.21 ³⁾	0.65±0.15 ²⁾
SNMCI-M	20.0	31.0±5.7	0.11±0.06	0.50±0.18	3.23±1.17	8.41±3.04	0.65±0.29 ²⁾
SNMCI-L	10.0	29.5±3.4	0.11±0.04	0.71±0.16	3.48±1.77	7.45±3.64	0.68±0.19 ²⁾

注：与对照组比较，¹⁾ $P<0.05$ ，²⁾ $P<0.01$ ；与模型组比较，³⁾ $P<0.05$ ，⁴⁾ $P<0.01$
Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; compared with model group, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$

3.4 对 S180 荷瘤小鼠 ⁶⁰Co 放疗的减毒作用

与对照组 S180 荷瘤小鼠相比, ⁶⁰Co 照射可使得胸腺和脾脏的脏器指数显著降低($P<0.01$), 白细胞和骨髓有核细胞数显著减少($P<0.01$); rH-GSF $50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 对 ⁶⁰Co 照射 S180 荷瘤小鼠白细胞和胸腺下降具有明显改善作用($P<0.05$), 对骨髓有核细

胞数显著减少也有一定改善作用。SNMCI 各剂量组对 ⁶⁰Co 照射引起的正常小鼠各项指标变化均未见明显改善作用。瘤重测定结果显示, 接受化疗各组的瘤重均显著下降, 但各组间未见明显差异, 提示本品对化疗的抗肿瘤作用无明显影响, 结果见表 4。

表 4 SNMCI 对 S180 荷瘤小鼠 ⁶⁰Co 放疗模型脏器系数、骨髓有核细胞数和外周血白细胞数的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)
Tab 4 Effects of SNMCI on thymus index, spleen index, periphery blood of WBC, bone marrow nucleated cells in ⁶⁰Co-radiated S180 inoculated mice($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组 别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	第 7 天体质量/g	胸腺指数/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	脾脏指数/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	WBC/ $10^9\cdot\text{L}^{-1}$	骨髓有核细胞数/ $10^7\cdot\text{L}^{-1}$	瘤重/g
正常对照组		28.0±1.6	0.22±0.08	0.60±0.09	4.84±1.57	12.87±6.39	1.49±0.25
模型组		26.5±5.4	0.05±0.02 ¹⁾	0.18±0.07 ¹⁾	0.23±0.18 ¹⁾	4.88±2.23 ¹⁾	0.50±0.10 ¹⁾
rH-GSF	0.05	27.2±3.2	0.07±0.02 ²⁾	0.18±0.06	0.51±0.31 ²⁾	6.29±2.79 ²⁾	0.51±0.15 ¹⁾
SNMCI-H	40.0	26.5±3.3	0.06±0.02	0.17±0.03	0.22±0.15	3.69±0.92	0.52±0.14 ¹⁾
SNMCI-M	20.0	29.2±3.4	0.07±0.03	0.19±0.07	0.35±0.28	5.43±2.37	0.52±0.22 ¹⁾
SNMCI-L	10.0	25.9±3.6	0.05±0.03	0.14±0.04	0.33±0.31	4.55±1.75	0.49±0.14 ¹⁾

注: 与对照组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$
Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$

4 讨论

甘草为中国传统中医学中的补气药, 功能补脾益气, 调和诸药。周身脏腑器官组织得到气的激发和推动, 才能发挥各自的功能; 脾胃为后天之本, 水谷生化之源。补气药大多能增强机体的免疫功能, 产生扶正祛邪的功效, 对机体肝脏、脾脏、骨髓等器官组织的蛋白合成有促进作用, 并可调节内分泌功能^[9]。

早期研究显示, 甘草提取物和甘草次酸对于低剂量 γ 射线导致的小鼠免疫损伤和白细胞减少具有改善作用^[10]。近年来研究显示, 甘草酸可通过抗氧化减轻 H_2O_2 对细胞DNA的损伤^[11], 也可以通过抑制炎症因子的基因转录对抗紫外线诱导细胞DNA损伤, 进而促进细胞DNA修复, 产生类似于放化疗保护的作用^[12]。此外, 对于豆蔻酰佛波醇乙酯(TPA)诱发的小鼠皮肤氧化应激和DNA损伤, 甘草酸苷具有明显的抑制作用, 发挥化疗保护作用。

在骨髓造血方面, 有研究显示甘草酸可通过促进成熟淋巴细胞凋亡而有助于免疫诱导小鼠骨髓造血功能障碍的恢复^[13]。此外, 甘草酸对骨髓间充质细胞(BMSCs)向诱导多能干细胞(iPS)转化具有促进作用, 提示其在改善骨髓造血功能方面可能具有一定的意义^[11]。由此笔者推测以甘草酸

苷为主要成分的SNMCI对于放化疗诱发的骨髓抑制和免疫损伤具有潜在的改善作用。

本实验结果表明, 对于 Cy 化疗所致的正常动物和 S180 荷瘤小鼠白细胞和骨髓有核细胞下降, SNMCI 均有明显的改善作用。白细胞来源于骨髓造血细胞, 化疗引起的外周白细胞下降是由于骨髓抑制所致, 理论上时间顺序是骨髓有核细胞先降, 而外周白细胞后降, 而同理药物的改善也可能是先改善骨髓有核细胞而后表现为对外周白细胞的改善。本试验中 SNMCI 使得模型动物骨髓有核细胞数量呈倍数以上增加, 其中荷瘤小鼠的化疗模型中的改善幅度甚至略优于阳性药 rH-GSF, 提示本品可能是通过对抗化疗所致的骨髓抑制, 进而升高白细胞水平。对 ⁶⁰Co 放疗所致的正常动物和荷瘤小鼠白细胞和骨髓有核细胞下降, SNMCI 改善作用均不明显。

一般而言, 放、化疗均可导致骨髓抑制发生, 但不同化疗药物之间以及化疗与放疗之间在诱发骨髓抑制的表现和机制方面是有所不同的。骨髓抑制分为急性骨髓抑制和潜在骨髓损伤 2 种类型。大多数化疗药物及中-高剂量放射线, 对骨髓具有高度毒性, 通过引起造血祖细胞的耗竭而导致急性骨髓抑制的发生。然而一些急性骨髓抑制的患

者则发展成为潜在的骨髓损伤,这归因于造血干细胞储备的减少及自我更新能力的损伤,通常发生于对造血干细胞具有高选择性毒性的药物如卡铂、白消安、卡氮芥等及大剂量放疗时^[14-15]。

化疗药物引起的骨髓抑制主要是对骨髓细胞的毒性作用。而放射线不仅可以杀死骨髓造血细胞使骨髓抑制,而且可以直接杀伤粒细胞或引起染色体改变,其微循环的改变往往在相当时间内得不到回复。这2种模型相对而言放疗的损伤面更大,尤其是对白细胞的直接杀伤作用,而本品的药效特点可能是以升高骨髓有核细胞更为明显,这可部分解释本品对环磷酰胺化疗的疗效优于⁶⁰Co照射放疗。

在免疫损伤方面,鉴于甘草酸苷具有一定的免疫调节作用^[16-17],而对于本试验中所观测的放、化疗所致免疫器官量下降,SNMCI改善作用均不明显,分析本结果可能与模型损伤过于严重或者SNMCI的给药剂量、时间不足有关,有待更全面观测指标的进一步探讨。

综上,本研究表明SNMCI在肿瘤化疗所致骨髓损伤的防护方面具有一定的应用价值,但对于放疗所致的骨髓损伤尚未见明确的改善,此种改善作用的差异可能与环磷酰胺和⁶⁰Co照射诱发骨髓抑制的机制、严重程度差异有关。

REFERENCES

- [1] XIE S, WEI C S. Investigation and analysis of myelosuppression in patients with cancer chemotherapy [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2010, 27(13): 1219-1221.
- [2] ZHOU Y Z, HAN L, LIU X H, et al. Study on HPCE fingerprint of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2012, 29(5): 405-409.
- [3] FANG H Y, SONG X L, WU X M. Comparison of effects of oral and parenteral diammonium glycyrrhizinate on some immune function in mice [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2002, 19(4): 274-275.
- [4] FANG X Y, LUO H, CHEN Z G. An analysis of treatment for 94 cases with malignancy concurrent hepatic dysfunction by Stronger Neo-Minophagen C [J]. Bull Chin Cancer(中国肿瘤), 2007, 16(12): 1045-1046.
- [5] IKEDA K, ARASE Y, KOBAYASHI M, et al. A long-term glycyrrhizin injection therapy reduces hepatocellular carcinogenesis rate in patients with interferon-resistant active chronic hepatitis C: a cohort study of 1249 patients [J]. Dig Dis Sci, 2006, 51(3): 603-609.
- [6] MATSUO K, TAKENAKA K, SHIMOMURA H, et al. Lamivudine and glycyrrhizin for treatment of chemotherapy-induced hepatitis B virus(HBV) hepatitis in a chronic HBV carrier with non-Hodgkin lymphoma [J]. Leuk Lymphoma, 2001, 41(1/2): 191-195.
- [7] ZHU X J, ZHANG X D. Clinical observation of prevention and treatment of glycyrrhizin on esophageal cancer chemotherapy side effects [J]. China Prescr Drug(中国处方药), 2006, (10): 60-61.
- [8] FANG X Y, PENG F C, HONG Y, et al. Application of the Stronger Neo-Minophagen C injection in the treatment of malignant tumor [J]. J Chin Pract Med(中华实用医药杂志), 2005, 5(9): 873-874.
- [9] ZHANG M X, WANG X Y, SHI T Y F, et al. Effects of glycyrrhizin on the expression of key genes bone mesenchymal stem cell to induced pluripotent stem cells reprogramming [J]. Jilin J Tradit Chin Med(吉林中医药), 2012, 32(7): 705-709.
- [10] LIN I H, HAU D M, YOU J S, et al. Effects of glycyrrhizae and glycyrrhizic acid on cellular immunocompetence in low-dose gamma-ray irradiated mice [J]. Changgeng Yi Xue Za Zhi, 1999, 22(3): 370-377.
- [11] ZHANG X, HUANG Y, ZENG X. Effect of glycyrrhizic acid on protecting intestinal epithelial cells from H₂O₂-induced DNA damage [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharm(中药新药与临床药理), 2012, 23(3): 239-242.
- [12] CHERNG J M, TSAI K D, YU Y W, et al. Molecular mechanisms underlying chemopreventive activities of glycyrrhizic acid against UVB-radiation-induced carcinogenesis in SKH-1 hairless mouse epidermis [J]. Radiat Res, 2011, 176(2): 177-186.
- [13] RENG C A, ZHANG F L, ZHAO X L, et al. Role of glycyrrhizin on bone marrow hematopoiesis in immune-induced aplastic anemia mice [J]. J Shandong Univ(Health Sci)(山东大学学报: 医学版), 2006, 44(1): 10-14.
- [14] MUGURUMA Y, YAHATA T, MIYATAKE H, et al. Reconstitution of the functional human hematopoietic microenvironment derived from human mesenchymal stem cells in the murine bone marrow compartment [J]. Blood, 2006, 107(5): 1878-1887.
- [15] WANG Y, PROBIN V, ZHOU D. Cancer therapy-induced residual bone marrow injury-mechanisms of induction and implication for therapy [J]. Curr Cancer Ther Rev, 2006, 2(3): 271-279.
- [16] LI XL, ZHOU A G. Evaluation of the immunity activity of glycyrrhizin in AR mice [J]. Molecules, 2012, 17(1): 716-727.
- [17] RAPHAEL T J, KUTTAN G. Effect of naturally occurring triterpenoids ursolic acid and glycyrrhizic acid on the cell-mediated immune responses of metastatic tumor-bearing animals [J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2008, 30(2): 243-255.

收稿日期: 2013-04-09