

长期食用何首乌对小鼠造血系统的影响

石桂英, 白琳

(中国医学科学院北京协和医学院实验动物研究所, 卫生部人类疾病比较医学重点实验室, 北京 100021)

【摘要】 目的 探讨长期食用何首乌后, 小鼠造血系统的变化。**方法** 小鼠随机分为 2 组, 对照组, 喂饲正常饲料; 何首乌饲料组, 喂饲添加何首乌的饲料, 10 个月后, 处死小鼠, 应用流式细胞仪分析外周血、脾脏、胸腺及骨髓中各种细胞。**结果** 何首乌饲料组小鼠, 脾脏 B 细胞增多, 胸腺 CD4⁺ 细胞增多, CD8⁺ 细胞减少; 骨髓造血干细胞显著减少, 其中静止期细胞增多, 增殖分裂期细胞减少。**结论** 长期适量食用何首乌有助于减缓小鼠造血系统的衰老, 维持造血系统稳定。

【关键词】 何首乌; 流式细胞术; 造血系统

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2016) 12-0010-04

doi: 10. 3969. j. issn. 1671 - 7856. 2016. 12. 003

Effects of long-term consumption of *Fallopia multiflora* on mouse hematopoietic system

SHI Gui-Ying, Bai Lin

(Institute of Laboratory Animal Science, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Key Laboratory of Human Disease Comparative Medicine, Ministry of Health, Beijing 100021, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effects of long-term consumption of *Fallopia multiflora* on mouse hematopoietic system. **Methods** Forty 10-month old female C57BL/6J mice were equally divided into two groups at random, the control group fed with normal food, and the experimental group, given food with added *Fallopia multiflora*. After 10 month, the mice were sacrificed, and the peripheral blood, spleen, thymus and bone marrow cells were examined by flow cytometry. **Results** In the mice fed with *Fallopia multiflora*, the percentage of B cells in the spleen and CD4⁺ cells in the thymus were increased, and CD8⁺ cells in the thymus and bone marrow hematopoietic stem cells were decreased, among the bone marrow cells, G0 cells were increased, but G1 and G2/S/M cells decreased. **Conclusions** Long-term proper consumption of *Fallopia multiflora* can delay the ageing of the hematopoietic system, and sustain its stability.

【Key words】 *Fallopia multiflora*; Flow cytometer; hematopoietic system; Bone marrow; Thymus; Mice

何首乌(*Fallopia multiflora*)是蓼科植物何首乌的干燥块根,是补益中药,根据炮制方法不同,可分为何首乌和制何首乌。何首乌可以解毒、消痈、润肠通便,制何首乌有补肝肾、益精血、乌须发、强筋

骨的作用^[1]。现代研究发现,何首乌含有二苯乙烯苷、蒽醌和磷脂等多种有效成分,具有促进造血功能,增强免疫功能,降血脂与抗动脉粥样硬化,保肝,延缓衰老等功能^[2]。本研究主要探讨长期食用

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金项目(No. 81200256);北京市自然科学基金项目(No. 7132161)。

[作者简介] 石桂英(1977-),女,研究方向:干细胞与衰老。E-mail: guying_shi77@163.com。

[通讯作者] 白琳(1984-),研究方向:干细胞与衰老。E-mail: bailin49@163.com

何首乌对小鼠造血系统的影响。造血干细胞是各种血细胞的来源,其自我更新能力维持造血干细胞的数量,以及造血系统的稳定状态^[3]。本研究分析了造血系统各种细胞的变化、造血干细胞数量及功能的改变。

1 材料和方法

1.1 动物和设备

实验所用动物为 10 月龄 C57BL/6J 雌鼠,购自北京华阜康生物科技股份有限公司,动物生产许可证号:SCXK(京)2014-0004。饲养环境为 SPF 级动物房,动物使用许可证号:SYXK(京)2014-0029。

本研究中使用的主要设备为美国 BD 公司 Aria I 流式细胞仪。

1.2 中药喂养

将小鼠随机分为正常对照组、何首乌饲料组,每组 20 只。正常对照组小鼠,饲料为小鼠 SPF 维持料;何首乌饲料组,饲料为 SPF 小鼠维持料中按比例加入何首乌。药物剂量按成人与小鼠之间剂量换算系数计算,每只小鼠每天摄食量为 3 g,小鼠摄入何首乌的剂量为 100 mg/kg·d。按上述换算所得数据,在常规小鼠饲料中加入相应剂量的何首乌配制成何首乌饲料。

1.3 流式分析

小鼠在给药 10 个月后处死,采集样品。样品制备及染色方法同参考文献[4]。

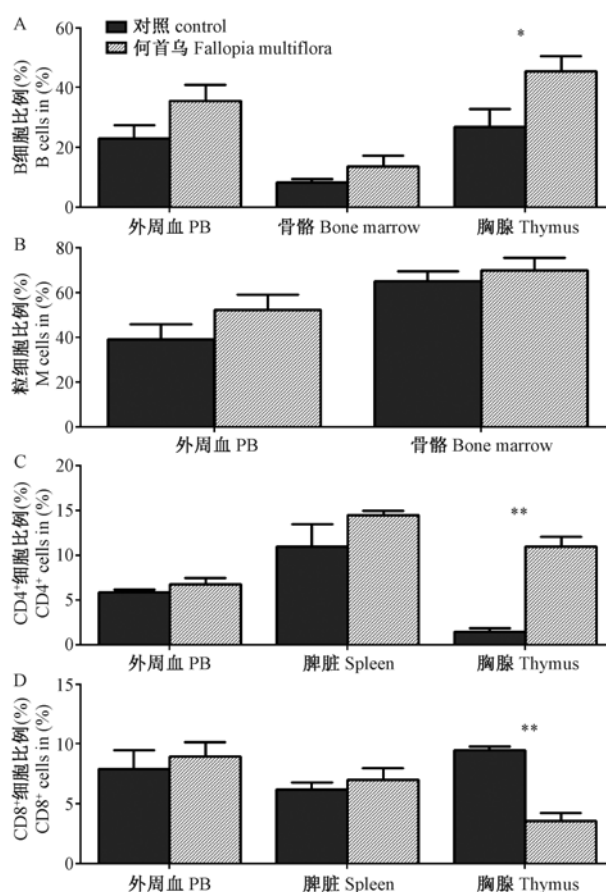
1.4 统计学方法

数据采用 GraphPad Prism 5 软件包进行统计分析,各组数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间资料分析采用 t 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 何首乌对成熟血细胞的影响

小鼠喂饲正常饲料或何首乌饲料 10 个月后处死,取外周血、骨髓、脾脏及胸腺,流式分析 B 细胞、粒细胞及 CD4⁺ 细胞、CD8⁺ 细胞。结果发现,何首乌饲料组小鼠成熟 B 细胞增多,尤其脾脏中成熟 B 细胞比例显著升高(图 1A);胸腺 CD4⁺ 细胞显著增多(图 1C),而 CD8⁺ 细胞显著减少(图 1D)。骨髓及外周血中的 B 细胞、粒细胞、CD4⁺ 及 CD8⁺ 细胞无显著差异(图 1A、B、C、D)。可见,长期食用何首乌对脾脏 B 细胞及胸腺 CD4⁺、CD8⁺ 细胞有影响。



注:对照组与何首乌饲料组相比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

图 1 外周血、骨髓、脾脏及胸腺中各种血细胞的比例

Note. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, the control compared vs. the *Fallopia multiflora* group.

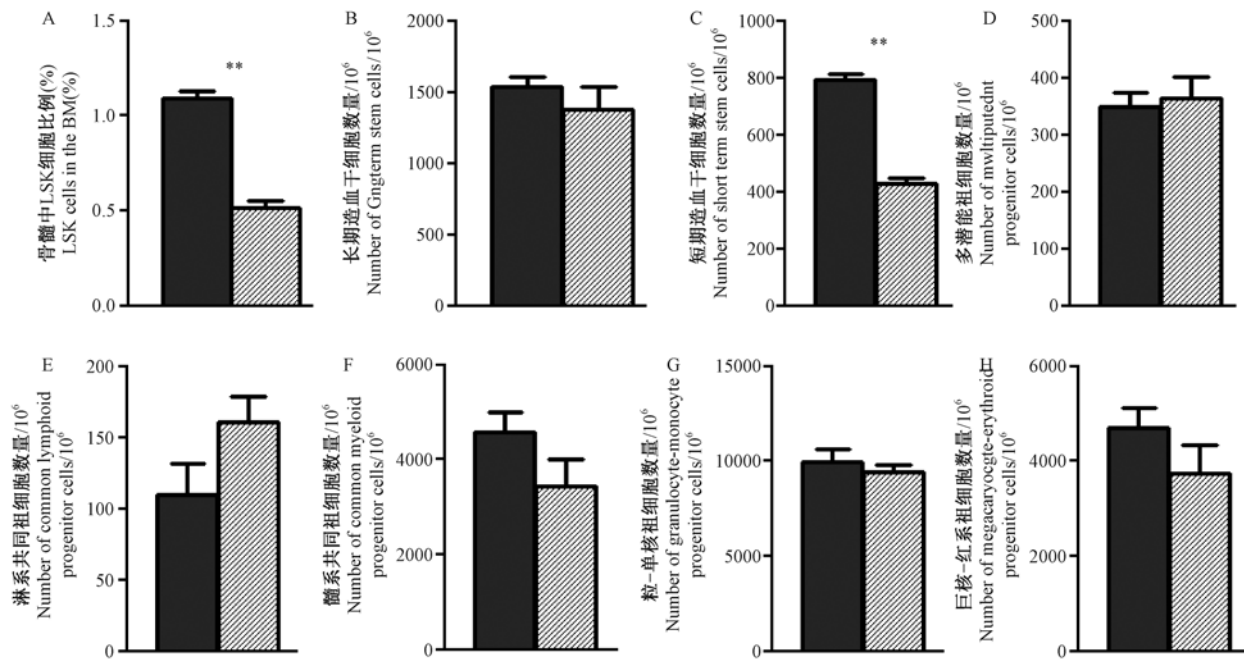
Fig. 1 Percentages of lymphocytes in the peripheral blood, bone marrow, spleen and thymus

2.2 何首乌对骨髓造血干、祖细胞的影响

成熟血细胞由造血干、祖细胞发育而来,因此,我们分析了小鼠骨髓中干、祖细胞的变化。结果发现,何首乌饲料组小鼠骨髓中 Lin-SCA1⁺ c-KIT⁺ (LSK) 细胞比例明显低于对照组(图 2A),短期造血干细胞数量显著减少(图 2C),淋系共同祖细胞数量增多,但差别无显著性(图 2E),而长期造血干细胞、多潜能祖细胞、髓系共同祖细胞、粒-单核祖细胞、巨核-红系祖细胞差别无显著性(图 2B、D、F、G、H)。

2.3 何首乌对造血干细胞功能的影响

衰老过程中,小鼠骨髓造血干细胞数量增加,但增加的是增殖活化的细胞^[5],因此,本研究中,分析了造血干细胞的增殖活化情况。结果表明,长期食用何首乌的小鼠骨髓造血干细胞 G0 期细胞显著增多,而 G1 及 S/G2/M 期细胞显著减少(图 3A)。

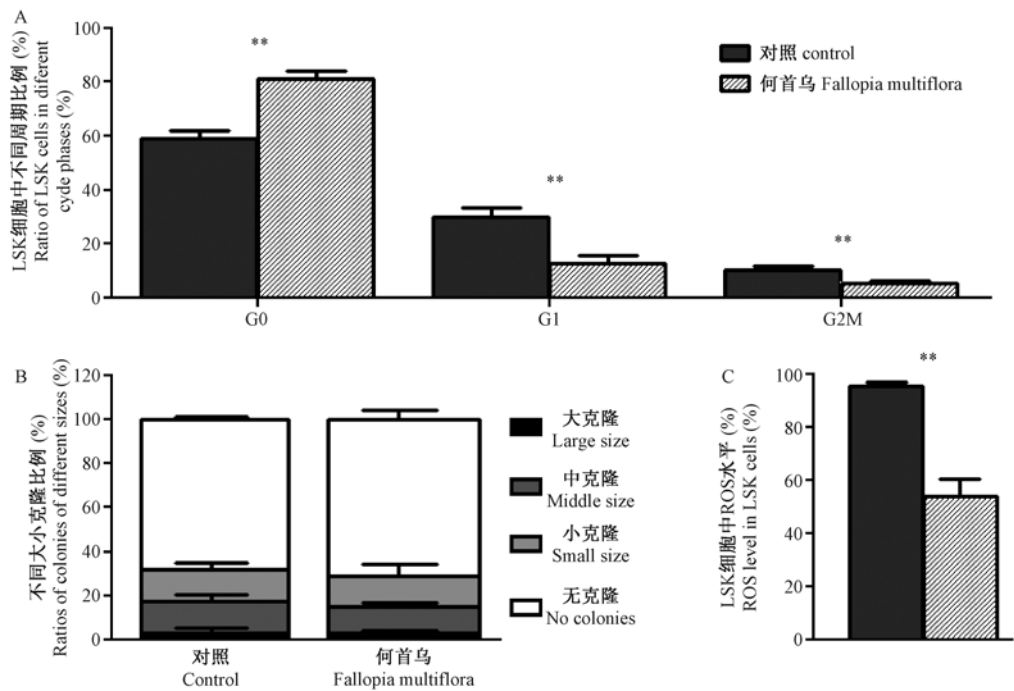


注:对照组与何首乌饲料组相比较, ** $P < 0.01$

图2 骨髓造血干、祖细胞数量

ote. ** $P < 0.01$, Control group vs. the *Fallopia multiflora* group.

Fig.2 Amount of hematopoietic stem cells and progenitor cells in the bone marrow



注:对照组与何首乌饲料组相比较, ** $P < 0.01$

图3 造血干细胞周期及功能的变化

Note. ** $P < 0.01$, control group compared with the *Fallopia multiflora* group.

Fig.3 Changes of cell cycle and function of the LSK cells

为了研究造血干细胞的功能,本实验应用流式细胞仪分选长期造血干细胞,进行体外培养,观察

单个长期造血干细胞的克隆形成能力。结果发现,何首乌饲料组小鼠长期造血干细胞的克隆形成能

力无显著变化(图 3B)。

氧化应激可以产生活性氧类化合物(ROS),这些化合物可以导致造血干细胞功能降低^[5]。本研究分析了造血干细胞中 ROS 水平,结果发现,何首乌饲料组显著低于正常对照组(图 3C)。

3 讨论

本研究应用 10 月龄 C57BL/J 小鼠为模型,喂饲正常小鼠饲料及添加何首乌饲料 10 个月后,分析两组小鼠骨髓、脾脏、胸腺及外周血中多种血细胞的比例或数量,以及造血干细胞的细胞周期、克隆形成能力及 ROS 水平。

已有研究表明,衰老过程中,小鼠淋系细胞生成能力降低而髓系细胞生成能力增强^[6]。本研究发现,何首乌饲料组小鼠脾脏 B 细胞增多,胸腺 CD4⁺ 细胞增多,而 CD8⁺ 细胞减少,粒细胞则无显著变化。这说明在一定程度上,长期食用何首乌可以改善小鼠淋系细胞生成能力。衰老小鼠造血干细胞数量增加,增殖活化的细胞增多,干细胞功能降低,ROS 水平升高^[5]。本研究中,何首乌饲料组小鼠造血干细胞减少,静止期细胞增多,增殖期细胞减少,ROS 水平降低。这说明长期食用何首乌有

利于小鼠造血干细胞维持静止状态,避免细胞过多增殖。

综上所述,长期适量食用何首乌有助于减缓小鼠造血系统的衰老,维持造血系统稳定。

参考文献:

- [1] 高任龙,王会肖,李晓娜,等. 何首乌的药理毒理研究进展[J]. 河北医药, 2015, 37(2): 42.
- [2] 蔡健. 何首乌的功能成分与保健功效[J]. 农产品加工, 2009, (4): 41-42, 45.
- [3] Kosan C, Godmann M. Genetic and epigenetic mechanisms that maintain hematopoietic stem cell function [J]. Stem Cells Int, 2016 (2016): Article ID 5178965.
- [4] 石桂英,白琳. 枸杞对小鼠辐射损伤后造血系统修复的促进作用[J]. 中国比较医学杂志, 2015, 25(2): 38-41, 66.
- [5] Chinn IK, Blackburn CC, Manley NR, et al. Changes in primary lymphoid organs with aging [J]. Semin Immunol, 2012, 24: 309-320.
- [6] Schultz MB, Sinclair DA. When stem cells grow old: phenotypes and mechanisms of stem cell aging [J]. Development, 2016, 143: 3-14.

[修回日期]2016-05-11