

银耳多糖注射剂保护辐射损伤小鼠造血功能的研究

徐文清 高文远 沈秀 王月英 刘培勋

【摘要】 目的 研究银耳多糖注射剂对辐射损伤小鼠造血功能的防护作用。方法 用内源性脾结节形成, 股骨有核细胞计数及脾脏指数等方法观察银耳多糖在 6mg/kg、12mg/kg、24mg/kg 三个剂量时对 ^{137}Cs γ 射线照射 7.5Gy 后小鼠造血功能的影响。结果 照射前连续 3d 给药, 照后第 9 天受照小鼠的股骨有核细胞数、脾结节和脾指数与对照组相比有明显的增高, 经统计学处理有显著性差异。结论 银耳多糖对辐射损伤小鼠造血系统具有保护作用。

【关键词】 银耳多糖; 辐射损伤; 造血功能

【中图分类号】 R818.74 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2006)02-0114-03

Protective effect study of polysaccharides from tremella fuciformis on hematopoietic function in radiation-injured mice

XU Wen-qing^{1,2}, GAO Wen-yuan¹, SHEN Xiu², WANG Yue-ying², LIU Pei-xun²

(1. Department of Natural Pharmaceutics, The College of Pharmaceuticals and Biotechnology, Tianjin University, Tianjin 300072, China; 2. Department of Pharmaceutics, The Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300192, China)

【Abstract】 Objective To study the protective effects of polysaccharides of Tremella fuciformis on hematopoietic function in radiation-injured mice. **Methods** Colony-forming unit of spleen(CFU-S), number of nucleated cells in bone marrow (BMNC) and spleen index were used to investigate the effect of polysaccharides from tremella fuciformis at 6mg/kg, 12mg/kg, 24mg/kg on hematopoietic function of mice irradiated with 7.5 Gy ^{137}Cs γ -rays. **Results** On the 9th day after irradiation compared with the negative control group number of nucleated cells in bone marrow, colony-forming unit of spleen and spleen index of mice have treated with polysaccharides from Tremella fuciformis intraperitoneally for three days prior to irradiation increased markedly. **Conclusion** Polysaccharides of tremella fuciformis have protective effect on hematopoietic function of radiation-injured mice.

【Key words】 Polysaccharides, tremella; Radiation injuries; Hematopoietic function

银耳(tremella fuciformis), 俗称白木耳, 为常用的药食两用食品, 具有广泛的生物学活性^[1]。由中国医学科学院放射医学研究所研制、以银耳孢子发酵粉为原料的银耳孢糖胶囊具有抗辐射损伤、升高白细胞等作用, 已应用于临床。但由于银耳孢糖胶囊口服剂量大、显效慢等问题, 制约了临床应用。为了弄清银耳孢糖胶囊中的活性成分, 进一步研制新的药物剂型, 从银耳孢糖胶囊的原料中提取、分离得到了均一体银耳多糖, 其相对分子质量

为 68×10^3 , 元素分析 C 为 40.55%、H 为 6.78%, 其单糖组成通过气相色谱和纸层析鉴定为甘露糖、岩藻糖、木糖、阿拉伯糖、葡萄糖和葡萄糖醛酸, 其摩尔比为: 2.3: 3.3: 1.0: 1.9: 2.5, 其中中性糖含量为 52.88%, 糖醛酸的含量为 32.88%。本研究用均一体银耳多糖为原料, 制备成银耳多糖注射剂, 验证银耳多糖注射剂对辐射损伤小鼠造血功能的防护作用, 考察不同剂量时药物作用的量效关系。

1 材料与方法

银耳多糖注射剂: 从银耳孢糖胶囊粉中提取、分离得到均一体多糖, 用生理盐水配制成 6mg/kg、12mg/kg、24mg/kg 三个剂量组。银耳孢糖: 由中国医学科学院医学生物技术研究所药厂生产, 用生

基金项目: 天津市科技发展计划应用基础重点项目(033801711)

作者单位: 1. 300070, 天津大学药学院天然药物学研究室(徐文清、高文远); 2. 300192 天津, 中国医学科学院放射医学研究所药学研究室(徐文清、沈秀、王月英、刘培勋)

通讯作者: 徐文清(E-mail: xuwening67@yahoo.com.cn)

表1 银耳孢糖和银耳多糖注射剂 12mg/kg 对 7.5Gy ¹³⁷Cs γ 射线照射小鼠造血系统的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	脾指数 (mg/g)	胸腺指数 (mg/g)	DNA (吸光度/根股骨)	白细胞 ($\times 10^9/L$)	脾结节 (个)
对照组	0.77±0.376	1.13±0.294	0.111±0.026	0.185±0.085	0.10 ±0.316
银耳孢糖 (t 值)	1.03±0.279 (1.74)	0.98± 0.33 (1.07)	0.087±0.025 (2.1)	0.236±0.069 (1.46)	0.143±0.378 (0.087)
银耳多糖注射剂 (t 值)	1.05±0.06* (2.3)	1.72±0.375** (3.93)	0.166±0.08** (4.95)	0.475±0.157 *** (5.09)	0.83 ± 0.753* (2.83)

注: t 值和 P 值均是是与对照组相比; * 为 P<0.05; ** 为 P<0.01; *** 为 P<0.001

理盐水配制成 12mg/kg。

动物: 昆明种小鼠, 体质量 22~24g, 由军事医学科学院动物室提供 [许可证号: SCXK-(军) 2002-001]。

分组与给药: 动物随机分组, 雌雄各半。照射前第 3、2、1 日产量连续 3 次给药, 腹腔注射, 每次 0.5ml/只; 对照组给予生理盐水, 腹腔注射, 每次 0.5ml/只。

致伤条件: ¹³⁷Cs γ 射线一次全身照射, 照射剂量率为 2.2998×10²C·kg⁻¹·min⁻¹, 小鼠吸收剂量为: 7.5Gy。

观察指标:

(1) 骨髓有核细胞数: 照射后第 9 日将小鼠颈部脱椎处死, 取一侧股骨, 白细胞稀释液冲洗骨髓细胞, 电子显微镜下计数骨髓有核细胞数。

(2) 脾结节 (colong forming unit of spleen, CFU-S) 和脾指数: 取出脾脏、胸腺称重, 按式(1)计算脾指数、胸腺指数。

$$\text{脾指数} = \frac{\text{脾重}(\text{mg})}{\text{鼠重}(\text{g})} \quad (1)$$

$$\text{胸腺指数} = \frac{\text{胸腺重}(\text{mg})}{\text{鼠重}(\text{g})}$$

将脾脏放入 Bouin 液内 24h 后, 肉眼计数突出脾脏表面的结节数 (CFU-S)。

(3) 白细胞 (white blood cell, WBC) 数: 照射后第 9 日眼眶取血, 20μl/鼠, 用白细胞稀释液稀释后, 电子显微镜下计数 WBC 数。

(4) 骨髓 DNA 含量: 照射后第 9 日将小鼠颈部脱椎处死, 取一侧股骨, 用 0.005mol/L CaCl₂ 冲洗骨髓, 沉淀蛋白质, 离心取沉淀。加 0.2 mol/L HClO₄ 溶解, 加热、过滤, 滤液在 268nm 处测定吸光度。

统计方法: 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示; 组间比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 银耳孢糖和银耳多糖注射剂对受照小鼠造血系统的影响

分别将银耳孢糖和均一体银耳多糖制成的注射剂按 12mg/kg 的剂量, 在接受 7.5Gy γ 射线照射前三日连续给药 3 次, 结果表明, 在第 9 日时, 银耳多糖注射剂组的小鼠胸腺指数、骨髓 DNA 含量、白细胞数以及脾结节等指标均明显高于对照组, 且有显著性差异; 而银耳孢糖组未见明显差异。说明银耳多糖注射剂在保护辐射损伤小鼠造血功能方面好于银耳孢糖 (见表 1)。

2.2 不同剂量银耳多糖注射剂对受照小鼠造血系统的影响

与对照组相比, 银耳多糖注射剂在 6mg/kg、12mg/kg、24mg/kg 三个剂量时, 受照小鼠的骨髓有核细胞数增加明显, 经统计学处理, 有显著性差异。脾指数虽有一定的增加, 但经统计学处理无显著性差异; 脾结节数在 6mg/kg 增加明显, 说明银耳多糖注射剂能保护受照小鼠造血功能, 减轻射线对小鼠脾脏的损伤, 保护受照小鼠的造血干细胞, 促进造血功能的恢复 (见表 2)。

表2 不同剂量银耳多糖注射剂对 7.5Gy ¹³⁷Cs γ 射线照射小鼠造血功能的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=15)

组别	骨髓有核细胞 ($\times 10^6$ /根股骨)	脾指数 (mg/g)	脾结节 (个/脾)
对照组	1.31±0.18	0.993±0.206	1.29 ±1.14
6mg/kg (t 值)	1.53±0.33* (2.27)	1.115±0.196 (1.67)	2.80 ±0.32*** (4.95)
12mg/kg (t 值)	2.01±0.38*** (6.48)	1.084±0.188 (1.26)	1.07 ±0.96 (0.57)
24mg/kg (t 值)	1.73±0.49** (3.13)	1.134±0.186 (1.96)	1.38 ±1.02 (0.228)

注: t 值和 P 值均是是与对照组相比; * 为 P<0.05; ** 为 P<0.01; *** 为 P<0.001

3 讨论

造血器官是射线的敏感器官, 受照后造血组织损伤产生一系列病理变化, 造血功能的恢复是预后的关键因素。CFU-S 系代表一类多向性的造血干细胞群, 它们具有自我更新和向骨髓红系、粒系和巨

核细胞分化的能力, CFU-S 是促进造血恢复的主要成分。CFU-S 和骨髓有核细胞的变化代表机体造血组织恢复的能力^[3]。从本实验中可以看出, 银耳多糖注射剂可以保护受照小鼠的造血功能。

以银耳多糖和孢子为主要成分的银耳孢糖胶囊具有抗辐射、升高白细胞等作用。通过本实验可以说明银耳孢糖胶囊中具有抗辐射作用的成分是银耳多糖, 且银耳多糖注射剂保护受照小鼠造血功能的效果强于银耳孢糖胶囊。

辐射损伤是肿瘤治疗和意外核事故的主要损伤类型之一, 如何有效的防治是急需解决的问题, 中药在这方面具有一定的优势, 已发现许多植物多糖对造血功能的辐射损伤有一定的治疗作用, 如地黄多糖^[4]、梁金菇多糖^[5]等。

多糖类药物发挥药效作用有一个最合适的剂量范围, 从本实验观察到银耳多糖在 6~12mg/kg 剂

量时, 药效作用较好。

小鼠受照射后数日内造血功能损伤较大, 在第 9 日时, 造血功能开始恢复, 因此本研究观察了第 9 日时的各项指标^[6]。

参 考 文 献

- 1 郑仕中. 银耳的化学成分和药理研究进展. 中国药学杂志, 1993, 28(5): 164-267.
- 2 中华人民共和国卫生部药政局. 新药临床前研究指导原则汇编, 1993.
- 3 杨福军, 王汝勤, 赵云庭, 等. E838 对造血组织的放射防护作用. 中国肿瘤临床, 1998, 25(11): 832-833.
- 4 黄霞, 刘杰, 刘惠霞, 等. 熟地黄多糖对血虚模型小鼠的影响. 中国中药杂志, 2004, 29(12): 1168-1173.
- 5 席亚明, 席亚荣, 孙延庆, 等. 梁金菇多糖对辐射损伤小鼠造血功能的影响. 中华放射医学与防护杂志, 2002, 22(4): 291-293.
- 6 周永, 廖漫天, 杨镇洲. 三羟异黄酮对照射小鼠造血系统损伤的防护作用. 中华放射医学与防护杂志, 2002, 25(1): 21-24.

(收稿日期: 2005-12-28)

·放射生物学·

多聚(ADP-核糖)聚合酶与电离辐射

杜翔 龚守良

【摘要】 多聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)是广泛存在于细胞内的一种具有蛋白修饰和核苷酸聚合作用的聚合酶, 参与细胞 DNA 损伤后的修复过程。已经证实, PARP 具有多种生理、生化功能, 并与细胞的死亡相关, 电离辐射等各种细胞损伤因素都可以影响 PARP 活性。

【关键词】 细胞凋亡; 电离损伤; 多聚(ADP-核糖)聚合酶

【中图分类号】 Q555, Q691.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2006)02-0116-04

Poly (ADP-ribose) polymerase and ionizing radiation

DU Xiang, GONG Shou-liang

(Ministry of Health, Radiobiology Research Unit, School of Public Health, Jilin University, Changchun 130021, China)

【Abstract】 Poly ADP-ribose polymerase (PARP) is a kind of polymerase which widely exists in cells, has the function of protein modification and nucleotide polymerization, and participates in the repair processes after DNA has been damaged. It has been proved that PARP has lots of physiological and biochemistry functions and correlates with cell death. Many kinds of damage factors such as radiation may influence the activity of PARP.

【Key words】 Apoptosis; Radiation injuries; Poly (ADP-ribose) polymerase

多聚(ADP-核糖)聚合酶[poly (ADP-ribose) polymerase, PARP]是广泛存在于细胞内的一种具有蛋

白修饰和核苷酸聚合作用的聚合酶。环境因素、氧化剂或者自由基等各种有害因子所造成的 DNA 断裂损伤均可以影响 PARP 的活性, 引起包括自身在内的相应蛋白核苷多聚基化, 从而影响相关蛋白的活性, 进一步影响由于损伤修复而引起细胞内一系

作者单位: 130021 长春, 吉林大学公共卫生学院卫生部放射生物学重点实验室

通讯作者: 龚守良(E-mail: gongsl@163.com)