

当归多糖对照射小鼠造血干细胞的影响

梅其炳、陶静仪、张惠迪¹、段志兴¹、陈耀祖¹

(第四军医大学药理教研室, 西安 710015; ¹兰州大学有机分析研究室, 兰州 730001)

提要 本实验采用集落形成单位测定法, 观察了当归多糖对照射小鼠造血干细胞的辐射防护作用。照射前 24 h 和 30 min 给 ip 当归多糖 300 mg/kg 能增加照射小鼠脾脏内源性造血灶形成, 能促进照射小鼠骨髓 CFU-S 与 CFU-C 的恢复, 但对 CFU-S 和 CFU-C 的放射敏感性影响较小。当归多糖防止照射后效应, 促进造血干细胞的恢复, 可能是其抗辐射作用原理之一。

关键词 当归; 多糖; 辐射防护剂; 造血干细胞; 集落形成单位测定

某些多糖类药物能增加照射小鼠脾脏内源性造血灶形成, 增强造血功能⁽¹⁾。对其促进内源性造血灶形成作用, 有人认为, 与多糖促进造血干细胞自骨髓转移有关, 而与降低造血干细胞的放射敏感性关系不大^(2,3)。当归多糖能促进照射小鼠骨髓有核细胞数的恢复, 能提高全身照射小鼠 30 d 存活率⁽⁴⁾。本实验采用内、外源性脾结节与体外琼脂培养方法, 进一步观察了当归多糖对照射小鼠造血干细胞的辐射防护作用, 以初步探讨其抗辐射作用原理。

材料与 方法

动物 内、外源性脾结节测定分别采用 12 wk CFW♂小鼠(77只)和 10-12 wk LACA♂小鼠(390只); 骨髓细胞体外琼脂培养选用 10-11 wk(SISC♀×Balb/c♂)F1♀♂小鼠(180只); 体重 23.0±SD 1.7 g。饲养室温度 22±1℃, 湿度 65±10%。

药物 当归多糖(*Angelica polysaccharides*)系从甘肃岷县当归 [*Angelica sinensis* (Oliv.)

Diels]中提取并鉴定(高压玻璃纤维纸电泳显示一个点, Sepharose 4 B 琼脂糖凝胶流出曲线为一单峰, 与兰葡聚糖($M_r 2 \times 10^6$)混合上 Sepharose 4 B 柱, NaCl 0.1 mol/L 洗脱时, 当归多糖在兰葡聚糖前被检出, 表明当归多糖 M_r 大于兰葡聚糖)。实验前用蒸馏水溶解, 调 pH 至 7.0。照射前 24 h 和 30 min, 给多糖预防组小鼠 ip 当归多糖 300 mg/kg, 对照组给予等容量(20 ml/kg)生理盐水。

照射条件 采用 ⁶⁰Co-γ 射线源。照射小鼠与照射源的距离分别为 80 和 120 cm, 剂量率 0.88-2.76 Gy/min。根据观察指标, 实验小鼠分别接受 0.75-9.00 Gy 一次全身照射。

血液学指标观察方法 多能造血干细胞的测定采用内、外源性脾结节法^(6,6)。以照射或骨髓细胞输注后 10 d 和 9 d 小鼠脾表面生成的结节数表示一个多能造血干细胞形成单位(colony forming unit-spleen, CFU-S)。骨髓细胞体外琼脂双层培养^(7,8), 于照射后不同时间, 将小鼠颈椎脱臼处死, 取 3 只小鼠的同侧股骨, 用 10 ml RPMI 1640 培养液冲出全部骨髓, 通过 4½ 针头分散, 准确吸取 0.2-0.4 ml 加入 37℃的 RPMI 1640-马血清-琼脂培养体系(总量 8.0 ml)。混匀后, 取 1 ml 加入 30 mm 培养皿内作为上层。底层采用同种正常小鼠肺组织块产生细胞集团生成的刺激因子。待上层琼脂半凝固后, 将培养皿置于二氧化碳孵箱, 通以含 5% CO₂ 的空气, 37℃培养 5 d。在低倍镜下计数细胞灶。以 50 个细胞以上的细胞集团代表一个粒系定向干细胞生成单位(colony forming unit-culture, CFU-C)。

统计处理 比较多糖预防组和盐水对照组间各数据差别是否显著, 用 *t* 测验; CFU-S 和

CFU-C 剂量-存活曲线中 D_{01} 和 n 值的计算,应用直线回归方程法⁽⁹⁾。

结 果

当归多糖对照射小鼠造血功能的影响 内源性脾结节测定结果(Tab 1)表明,随着照射剂量(7-9 Gy)的增加,照射小鼠脾表面内源性造血灶 CFU-S 数、骨髓有核细胞数和脾脏重量均相应递减,但各照射组中,多糖预防组的各指标均显著高于盐水对照组($p < 0.01$)。

Tab 1. Effects of *Angelica polysaccharides* (APS) on the hemopoietic function of irradiated mice. NNBMC, number of nucleated bone marrow cells. $\bar{x} \pm SD$. *** $p < 0.01$ vs saline (NS)

Radiation dose (Gy)	Drug	n	Spleen wt (mg)	Colonies/spleen	NNBMC/femur ($\times 10^{-6}$)
7.00	NS	12	45 \pm 11	14.1 \pm 4.1	4.0 \pm 1.1
	APS	12	97 \pm 33***	26.7 \pm 4.4***	8.3 \pm 1.2***
8.00	NS	13	26 \pm 5	5.9 \pm 3.2	2.7 \pm 1.3
	APS	13	68 \pm 26***	17.8 \pm 4.5***	6.6 \pm 1.6***
9.00	NS	13	22 \pm 4	3.1 \pm 2.7	1.8 \pm 0.7
	APS	14	43 \pm 15***	12.2 \pm 4.8***	5.2 \pm 1.4***

当归多糖对小鼠骨髓 CFU-C 和 CFU-S 放射敏感性的影响 由 Fig 1 可见,当归多糖预防组照射小鼠骨髓 CFU-C 存活率略高于对照组。多糖预防组 CFU-C 的 D_{01} 值为 1.62(1.44-1.83) Gy, $n = 1.11$; 盐水对照组 D_{01} 等于 1.36(1.27-1.46)Gy, $n = 1.15$ 。但两者间无统计学差别。表明当归多糖并不能明显降低照射小鼠骨髓 CFU-C 的放射敏感性。同样于照射后 30 min 处死供体小鼠,将其骨髓细胞输注给 9.0 Gy 照射小鼠,测得多糖预防组小鼠骨髓 CFU-S 的 D_{01} 为 1.15(1.08-1.22) Gy, $n = 0.80$; 盐水对照组的 D_{01} 则为 1.05(1.01-1.11), $n = 0.94$ 。

当归多糖对 4 Gy 照射后不同时间 CFU-C 与 CFU-S 生长活力的影响 Fig 2 显示了 CFU-C 和 CFU-S 共五批实验结果,多糖预防组和盐水对照组小鼠骨髓 CFU-C 和 CFU-S 均在照射后 30 min 点明显下降。多糖预防组小鼠骨髓 CFU-C 和 CFU-S 无照射后效应(照射后,动物体内存活的造血干细胞,在照射即刻损伤基础上继续减少的过程),从照射后 3 d 开始恢复,以 CFU-C 为明显, d 14 基本恢复到照射前水平。此期间,各时相点均显著高于盐水对照组。而盐水对照组小鼠骨髓 CFU-C 和 CFU-S 直到 d 7 才开始恢复,到 d 14 仅为照射前的 73% 和 47%。

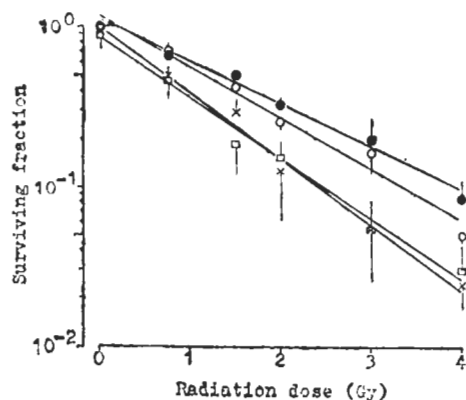


Fig 1. Influences of *Angelica polysaccharides* on radiosensitivity of the colony forming unit-culture (CFU-C) and the colony forming unit-spleen (CFU-S) in bone marrow of irradiated mice. $n = 6$ donors, $\bar{x} \pm SD$. CFU-C (saline \circ , APS \bullet , $p > 0.05$), CFU-S (saline \times , APS \square ; $p > 0.05$).

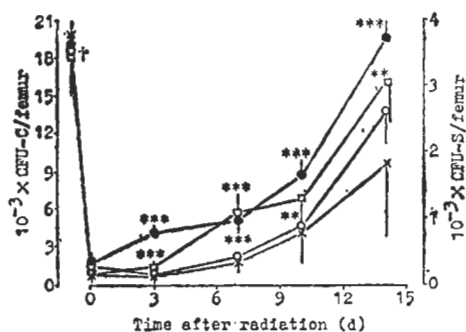


Fig 2. Effect of *Angelica polysaccharides* on the growth activity of CFU-C and CFU-S in the bone marrow of mice irradiated with 4.0 Gy. CFU-C (9 donors, saline \circ , APS \bullet). CFU-S (6 donors, saline \times , APS \square). ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$, \dagger Control

讨 论

本实验结果表明, 当归多糖能显著增加照射小鼠脾脏内源性造血灶的形成, 提高照射小鼠骨髓有核细胞计数, 增强造血功能; 当归多糖对照射小鼠骨髓 CFU-S 和 CFU-C 的放射敏感性影响较小, 但能防止照射后效应, 能显著促进照射小鼠骨髓 CFU-S 和 CFU-C 的恢复。

造血干细胞的损伤和恢复在造血型放射病中, 起着重要作用。降低造血干细胞的放射敏感性或防止照射动物体内存活干细胞的继续减少, 促使其提前进入增殖期, 对照射动物造血功能的恢复将起到有益的作用。实验证明, 在辐射损伤中, CFU-C 和 CFU-S 的恢复缓慢, 尤其是 CFU-C, 常需数月, 甚至更长⁽¹⁰⁾。在本实验中, 小鼠经 4 Gy 照射后 d 14, 盐水对照组小鼠骨髓 CFU-C 和 CFU-S 仅恢复到正常对照的 73% 与 47%。而预防性地给予当归多糖, CFU-C 已恢复至照前水平, CFU-S 接近正常对照水平。因此, 推测当归多糖防止照射后效应, 促进照射小鼠造血干细胞的恢复, 可能是其抗辐射作用原理之一。

致谢 罗立梅、赵汝能进行当归生药鉴定

参 考 文 献

1 Vacek A, Palyga GF, Bartoníčová A,

- Zhukova NA, Rotkovská D. Radioprotective effects of dextran sulphate in mice. *Strahlentherapie* 1981; 157 : 692
- 2 吴祖泽、吴歧泰、薛惠华、杨凤桐、蒋铁男. 硫酸葡聚糖对造血干细胞的动员作用. *输血及血液学* 1979; 3 (4) : 15
- 3 徐承熊、杨凤桐、刘葆英、陆如山. 银耳制剂对小鼠骨髓造血干细胞及其放射敏感性的影响. *中华放射医学与防护杂志* 1983; 3 (4) : 44
- 4 梅其炳、陶静仪、张惠迪、段志兴、陈耀祖. 当归多糖对小鼠急性放射病的防护作用. *同上* 1986; 6 : 344
- 5 Kinnamon KE, Ketterling LL, Stampfli HF, Grenan MM. Mouse endogenous spleen counts as a means of screening for anti-radiation drugs. *Proc Soc Exp Biol Med* 1980; 164 : 370
- 6 Till JE, McCulloch EA. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat Res* 1961; 14 : 213
- 7 Bradley TR, Metcalf D. The growth of mouse bone marrow cells *in vitro*. *Aust J Exp Biol Med Sci* 1966; 44 : 287
- 8 Sheridan JW, Metcalf D. A low molecular weight factor in lung-conditioned medium stimulating granulocyte and monocyte colony formation *in vitro*. *J Cell Physiol* 1973; 81 : 11
- 9 吴祖泽. 造血细胞动力学概论. 北京: 科学出版社, 1978 : 397-9
- 10 迟永春. 造血干细胞的辐射后效应. *中华放射医学与防护杂志* 1982; 2 (4) : 49

Acta Pharmacologica Sinica 1988 May; 9 (3) : 279-282

Effects of *Angelica sinensis* polysaccharides on hemopoietic stem cells in irradiated mice

MEI Qi-Bing, TAO Jing-Yi, ZHANG Hui-Di¹, DUAN Zhi-Xing¹, CHEN Yao-Zu¹
(Department of Pharmacology, Fourth Military Medical College, Xi'an 710015; ¹Department of Organic Analysis, Lanzhou University, Lanzhou 730001)

ABSTRACT The effects of the polysaccharides isolated from the root of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels on hemopoietic stem

cells in irradiated mice were studied with the colony-forming units assay. The administration of *Angelica* polysaccharides (300

mg/kg) 24 h and 30 min prior to irradiation increased the formation of endogenous colonies of the hemopoietic tissue on the surface of the spleen in irradiated mice. The drug did not enhance the radioresistance of the colony forming unit-spleen (CFU-S) and the colony forming unit-culture (CFU-C) in the bone marrow. However, it helped the recovery in varying degrees of the number of CFU-S and CFU-C after the

irradiation with 4.0 Gy. Therefore, the radioprotective effects of *Angelica* polysaccharides on hemopoietic cells were one of the important factors in radioprotective action for mice.

KEY WORDS *Angelica sinensis*; polysaccharides; radiation-protective agents; hemopoietic stem cells; colony-forming units assay