

银耳多糖对放射和化学损伤小鼠造血功能的保护作用

徐文清^{1,2}, 沈 秀², 周则卫², 刘培勋², 高文远¹

(1. 天津大学药学院, 天津 300072; 2. 中国医学科学院放射医学研究所, 天津 300192)

银耳 *Tremella fuciformis* Berk., 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已应用于临床, 具有抗辐射损伤、升高白细胞等作用。但由于银耳孢糖胶囊口服剂量大、显效慢等问题, 制约了其临床应用。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, 相对分子质量 68 000, 元素分析 C 为 40.55%、H 为 6.78%。本实验拟验证均一体银耳多糖对辐射和化学损伤小鼠造血功能的保护作用。

1 材料

1.1 药物: 银耳多糖, 中国医学科学院放射医学研究所药研究室从银耳孢糖胶囊中提取、分离得到均一体多糖, 质量分数为 86%。用时以生理盐水配制。环磷酰胺 (CTX) (批号 03062421)、盐酸阿糖胞苷 (批号 050403A) 为上海华联制药有限公司产品; 茜草双酯 (批号 050520), 山东方明药业公司生产。

1.2 动物: ICR 小鼠, 体重 22~24 g, 军事医学科学院动物中心提供, 许可证号: SCXK-(军)-2002-001。

2 方法与结果

2.1 银耳多糖对辐射损伤小鼠造血功能的影响

2.1.1 分组与给药: 小鼠随机分为 5 组 (每组 15 只, 雌雄兼用), 为正常组、模型组、银耳多糖 (6、12、24 mg/kg) 3 个剂量组。各组照射前 3 d 连续 3 次 ip 给药, 每只 0.5 mL, 正常组及模型组 ip 生理盐水。

2.1.2 致伤条件: 除正常组外, 其他各组小鼠用 ¹³⁷Cs-γ 射线一次全身照射, 照射剂量率为 22.998 mC/(kg·min), 小鼠吸收剂量为 7.5 Gy。

2.1.3 观察指标: 股骨有核细胞 (bone marrow nucleated cells, BMNC) 数: 照射后 9 d 将小鼠脱颈椎处死, 取一侧股骨, 白细胞稀释液冲洗骨髓, 电子显微镜下记细胞数。脾结节 (colong forming unit of

spleen, CFU-S) 和脾指数: 取出脾脏, 称质量, 计算脾指数; 将脾脏放入 Bouin 氏液 (苦味酸-甲醛固定液) 内, 24 h 后, 肉眼记数突出脾脏表面的 CFU-S。

2.1.4 统计方法: 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示; 组间比较采用 *t* 检验 (下面实验均采用此方法)。

2.1.5 结果: 与模型组相比, 银耳多糖在 6 mg/kg 时, 受照小鼠的 BMNC 数、脾指数和 CFU-S 增加明显, 差异有显著性。说明银耳多糖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。结果见表 1。

表 1 银耳多糖对照射损伤小鼠造血功能的影响 ($\bar{x} \pm s$, *n* = 15)

Table 1 Effect of polysaccharides from *T. fuciformis* on hematopoietic function in radiation-injured mice ($\bar{x} \pm s$, *n* = 15)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	BMNC/ (×10 ⁶)	脾指数/ (mg·g ⁻¹)	CFU-S/ 个
正常	—	2.67±0.21	4.651±1.27	0
模型	—	1.31±0.18△△△	0.993±0.206△△△	1.29±1.14△△△
银耳多糖	6	1.53±0.33*	1.115±0.196*	2.80±3.2***
	12	2.01±0.38***	1.084±0.188	1.07±0.96
	24	1.73±0.49**	1.134±0.186*	1.38±1.02

与正常组比较: △△△*P* < 0.001

与模型组比较: **P* < 0.05 ***P* < 0.01 ****P* < 0.001

△△△*P* < 0.001 vs normal group

P* < 0.05 *P* < 0.01 ****P* < 0.001 vs model group

2.2 银耳多糖对环磷酰胺引起的小鼠造血功能损伤的影响

2.2.1 分组与给药: 小鼠随机分为 6 组 (每组 10 只, 雌雄各半), 为对照组、CTX 组、银耳多糖 (6、12、24 mg/kg) 3 个剂量组及茜草双酯 (100 mg/kg) 组。各组连续给药 6 d, 对照组和银耳多糖组 ip 给药, 茜草双酯组 ig 给药。除对照组外, 其他各组从实验第 3 天开始 ip CTX 100 mg/kg, 连续注射 3 d。

2.2.2 观察指标: 白细胞 (WBC) 数目: 实验第 8 天小鼠眼眶取血, 每只 20 μL, 用白细胞液稀释后,

收稿日期: 2005-09-14

基金项目: 天津市科技发展计划应用基础重点项目 (033801711)

作者简介: 徐文清 (1967—), 女, 河北省衡水人, 中国医学科学院放射医学研究所副研究员, 天津大学博士研究生, 主要从事多糖的研究及新药开发。 Tel: (022) 85683049 E-mail: xuwenqing67@yahoo.com.cn

电子显微镜下记数。骨髓 DNA 水平:实验第 8 天,将小鼠脱颈椎处死,取一侧股骨,0.005 mol/L CaCl_2 冲洗骨髓,沉淀蛋白质,离心取沉淀。加 0.2 mol/L HClO_4 溶解,加热,滤过,滤液在波长 268 nm 处测定吸光度(A)值。

2.2.3 结果:银耳多糖在高、中、低 3 个剂量时均能对抗环磷酰胺引起的 WBC 数目降低,与环磷酰胺组相比,差异显著。在高剂量时效果好于阳性对照药茜草双酯。对骨髓 DNA 水平影响表明,银耳多糖可促进骨髓 DNA 的合成,保护骨髓造血功能,且效果好于阳性对照药茜草双酯。结果见表 2。

表 2 银耳多糖对 CTX 损伤小鼠的 WBC 数目及骨髓 DNA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effect of polysaccharides from *T. fuciformis* on WBC number and DNA level in bone marrow of mice treated with CTX ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组 别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	WBC/(×10 ⁹ ·L ⁻¹)	DNA/(A 值)
对照	—	5.975±1.210	1.276±0.135
CTX	100	0.460±0.250△△△	0.734±0.180△△△
银耳多糖	6	0.928±0.390*	0.767±0.153
	12	1.008±0.170**	0.819±0.137
	24	1.608±0.670**	0.960±0.204*
茜草多糖	100	1.325±0.510**	0.755±0.090

与对照组比较:△△△ $P<0.001$
与环磷酰胺组比较:* $P<0.05$ ** $P<0.01$
△△△ $P<0.001$ vs control group
* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs CTX group

2.3 银耳多糖对阿糖胞苷引起的小鼠造血功能损伤的影响

2.3.1 分组与给药:动物随机分为 5 组(每组 10 只,雌雄各半),为对照组、阿糖胞苷组、银耳多糖(6、24 mg/kg) 2 个剂量组及茜草双酯(100 mg/kg) 组。各组小鼠连续给药 6 d,对照组和银耳多糖组 ip 给药,茜草双酯组 ig 给药。除对照组外,其他各组从实验第 3 天开始 ip 阿糖胞苷 250 mg/kg,连续注射 3 d。

2.3.2 观察指标:WBC 数和骨髓 DNA 水平,方法同 2.2.2 项。

2.3.3 结果:银耳多糖能够拮抗阿糖胞苷引起的小鼠 WBC 数目降低,效果好于阳性对照药茜草双酯。特别在高剂量时效果明显,经统计学处理差异显著。

从骨髓 DNA 水平变化看,银耳多糖能保护骨髓 DNA 的合成,但没有统计学意义。结果见表 3。

表 3 银耳多糖对阿糖胞苷损伤小鼠的 WBC 数目及骨髓 DNA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effect of polysaccharides from *T. fuciformis* on WBC number and DNA level in bone marrow of mice treated with cytarabine ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组 别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	WBC/(×10 ⁹ ·L ⁻¹)	DNA/(A 值)
对照	—	5.975±1.21	1.276±0.135
阿糖胞苷	250	3.598±1.02△△	1.040±0.254△△
银耳多糖	6	4.508±1.40	1.076±0.153
	24	4.730±0.86*	1.096±0.058
茜草双酯	100	4.525±0.51*	1.075±0.029

与对照组比较:△△ $P<0.01$; 与阿糖胞苷组比较:* $P<0.05$
△△ $P<0.01$ vs control group; * $P<0.05$ vs cytarabine group

3 讨论

造血器官是射线的敏感器官,受照后造血组织的损伤是其最重要的病理变化,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。BMNC 是骨髓中的有核细胞成分。CFU-S 和 BMNC 的变化代表机体造血组织恢复的能力^[2]。从本实验中可以看出,银耳多糖可以保护辐照小鼠的造血功能。

环磷酰胺和阿糖胞苷是肿瘤临床中常用的化疗药物,其副作用是造成机体白细胞降低,这也是化疗无法继续的重要原因。本实验发现,银耳多糖可保护造血组织,拮抗白细胞的降低。

以银耳多糖和孢子为主要成分的银耳孢糖胶囊已用于临床,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的活性成分是银耳多糖,这为进一步开发银耳多糖新剂型提供了科学的依据。

References:

[1] Zheng S Z. Advance of study about *Tremella fuciformis* in chemistry and pharmacology [J]. *Chin Pharm J* (中国药杂志), 1993, 28: 164-167.
[2] Yang F J, Wang R Q, Zhao Y T, et al. Radioprotection of E838 to hematopoietic system [J]. *Chin J Clin Oncol* (中国肿瘤临床), 1998, 25: 832-833.

八 荣 八 耻

树立社会主义荣辱观:以热爱祖国为荣、以危害祖国为耻,以服务人民为荣、以背离人民为耻,以崇尚科学为荣、以愚昧无知为耻,以辛勤劳动为荣、以好逸恶劳为耻,以团结互助为荣、以损人利己为耻,以诚实守信为荣、以见利忘义为耻,以遵纪守法为荣、以违法乱纪为耻,以艰苦奋斗为荣、以骄奢淫逸为耻。