

磷酸酯化银耳多糖对辐射损伤小鼠造血功能的保护作用

王晓琳, 杨萍*, 孔令钰, 王倩

天津市医药科学研究所, 天津 300020

摘要: 目的 研究磷酸酯化银耳多糖对辐射损伤小鼠造血功能的保护作用。方法 小鼠随机分为6组: 对照组, 模型组, 银耳多糖(10 mg/kg)阳性对照组, 磷酸酯化银耳多糖低、中、高剂量(10、30、60 mg/kg)组。以¹³⁷Cs γ 射线辐射前, 给药组小鼠连续ip给药3 d, 每天1次, 辐射后第7天处死小鼠。以内源性脾结节形成、骨髓有核细胞数、白细胞数、脾脏指数及胸腺指数等为观察指标, 探讨磷酸酯化银耳多糖对辐射小鼠造血功能的影响。结果 与模型组相比, 磷酸酯化银耳多糖各剂量组小鼠的骨髓有核细胞数、白细胞数、脾指数和胸腺指数均有不同程度的升高。结论 磷酸酯化银耳多糖对辐射损伤小鼠造血功能具有一定的保护作用。

关键词: 磷酸酯化银耳多糖; 辐射损伤; 造血功能; 骨髓有核细胞; 脏器指数

中图分类号: R979.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2013)13-1811-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.13.020

Protection of phosphate esterification polysaccharides from *Tremella fuciformis* on hematopoietic function in radiation-injured mice

WANG Xiao-lin, YANG Ping, KONG Ling-yu, WANG Qian

Tianjin Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences, Tianjin 300020, China

Abstract: Objective To study the effect of phosphate esterification polysaccharides from *Tremella fuciformis* (PEPTF) on hematopoietic function in radiation-injured mice. **Methods** Rats were randomly divided into six groups: control, model, polysaccharides from *T. fuciformis* (10 mg/kg) positive control, low-, mid-, and high-PEPTF (10, 30, and 60 mg/kg) groups. Before irradiated with ¹³⁷Cs γ -ray, rats were ip administered once daily for 3 d. On the day 7 after irradiation, the rats were sacrificed. Colony-forming unit of spleen, number of nucleated cells in bone marrow, number of white blood cells, spleen index, and thymus index were used as observation indexes to investigate the effect of PEPTF on hematopoietic function of mice. **Results** Compared with the model group, the number of the nucleated cells in bone marrow, the number of white blood cells, spleen index, and thymus index of mice increased markedly. **Conclusion** PEPTF have the protective effect on the hematopoietic function of radiation-injured mice.

Key words: phosphate esterification polysaccharides from *Tremella fuciformis*; radiation injury; hematopoietic function; number of nucleated cells in bone marrow; organ indexes

放射疗法是治疗恶性肿瘤的常用重要手段。但肿瘤患者在接受放射治疗期间, 易导致机体免疫功能下降、造血组织及功能受损、白细胞水平降低等不良反应。中药不仅对肿瘤细胞可以产生直接的细胞毒活性, 而且能提高人体的免疫力, 在“祛邪”的同时还能“扶正”, 不良反应较少。有些中药不仅能增加肿瘤细胞对化疗药物的敏感性, 还具有较好的抗辐射作用, 其中许多植物多糖对辐射致造血功能损害的有一定的治疗作用, 如银耳多糖、地黄多

糖等^[1]。因此抗辐射中药的研发备受关注。

糖类化学修饰的目的是使其毒性降低, 生物活性和生物利用度提高, 也是研发多糖类药物的重要途径^[2]。抗氧化多糖的抗氧化活性可能是其抗肿瘤、抗衰老、抗感染、抗辐射等的作用机制之一, 其经磷酸化、乙酰化、硫酸化、羧甲基化等结构修饰后, 抗氧化活性得到较大改善^[3]。银耳多糖具有增强免疫功能、抗辐射、促进骨髓造血机能、升高白细胞、抗肿瘤、降低胆固醇等广泛的药理活性^[4]。笔者从

收稿日期: 2012-09-19

基金项目: 天津市卫生局科技基金(2010KY18)

作者简介: 王晓琳(1977—), 女, 技师, 研究方向为中药药理及药物代谢。Tel: (022)27236105 E-mail: wangxiaolin1977@163.com

*通信作者 杨萍 Tel: (022)27235075 E-mail: tjyangping74@126.com

银耳孢子粉中提取得到均一体银耳多糖, 并对其进行了磷酸酯化处理, 旨在为肿瘤治疗领域提供高效、低毒的辐射防护药物。本研究磷酸酯化银耳多糖对辐射损伤小鼠造血功能的保护作用, 为其临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 药品与试剂

银耳孢糖, 中国医学科学院医学生物技术研究所药厂, 批号 090620; 银耳多糖系天津市医药科学研究所制剂中心从银耳孢糖胶囊粉中提取得到的均一体多糖 (以葡萄糖计, 多糖质量分数为 91.6%)。磷酸酯化银耳多糖根据文献方法^[5]由天津市医药科学研究所制剂中心合成。采用电感耦合等离子体发射光谱法测定磷酸酯化银耳多糖中磷的质量分数为 0.41%。

白细胞稀释液, 深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司; Bouin 液 (含饱和苦味酸溶液 15 mL、甲醛 5 mL、冰乙酸 1 mL), 自制。

1.2 动物

昆明种小鼠, 体质量 18~20 g, 雌雄各半, 军事医学科学院动物室提供, 许可证号: SCXK-(军) 2002-001。

1.3 仪器

Gamma II 40 型 ¹³⁷Cs γ 射线照射仪, 加拿大原子能有限公司。

2 方法

2.1 造模、分组与给药

小鼠随机分为 6 组, 每组 10 只, 雌雄各半。分别为对照组, 模型组, 银耳多糖 (10 mg/kg, 溶于生理盐水) 组, 磷酸酯化银耳多糖低、中、高剂量 (10、30、60 mg/kg, 溶于生理盐水) 组。各给药组小鼠于照射前 ip 给药 3 d, 每天 1 次, 每次 0.2 mL, 对照组、模型组给予等量生理盐水。

给药后, 除对照组外, 其他各组小鼠用 ¹³⁷Cs γ 射线 0.702 8 Gy/min 全身照射 1 次, 小鼠吸收量为 7.5 Gy。

2.2 观察指标

照射后第 7 天将小鼠颈部脱椎处死, 取一侧股骨, 用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; 取出脾脏、胸腺, 称质量, 计算脾脏指数、胸腺指数。

脾脏 (胸腺) 指数 = 脾脏 (胸腺) 质量 / 体质量

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

照射后第 7 天, 小鼠处死前眼眶取血 20 μ L, 用白细胞稀释液稀释后, 显微镜下计数白细胞数。

2.3 统计学方法

采用 SPSS 16.0 软件对数据进行处理, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 检验。

3 结果

3.1 对小鼠骨髓有核细胞的影响

与对照组相比, 模型组骨髓有核细胞明显减少 ($P < 0.001$)。与模型组相比, 磷酸酯化银耳多糖 10、30、60 mg/kg 组骨髓有核细胞数明显增加 ($P < 0.05$ 、 0.01), 其中 30 mg/kg 组的效果优于银耳多糖组, 表明磷酸酯化银耳多糖能拮抗射线对小鼠骨髓核细胞的损伤。结果见表 1。

表 1 磷酸酯化银耳多糖辐射损伤小鼠骨髓有核细胞的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of PEPTF on number of nucleated cells in bone marrow of radiation-injured mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	骨髓有核细胞 / ($\times 10^6$ ·根股骨 ⁻¹)
对照	—	2.687 \pm 0.356
模型	—	1.159 \pm 0.272 ^{▲▲▲}
磷酸酯化银耳多糖	10	1.550 \pm 0.456*
	30	1.659 \pm 0.461**
	60	1.517 \pm 0.374*
银耳多糖	10	1.521 \pm 0.384*

与对照组比较: ^{▲▲▲} $P < 0.001$;

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$, 下表同

^{▲▲▲} $P < 0.001$ vs control group;

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group, same as below

3.2 对小鼠脾脏结节、脾脏和胸腺指数的影响

与对照组相比, 模型组小鼠脾脏结节显著增加, 脾脏和胸腺指数均显著降低 ($P < 0.001$)。与模型组相比, 磷酸酯化银耳多糖 10 mg/kg 剂量组小鼠脾脏指数明显增加 ($P < 0.05$), 也稍高于银耳多糖组; 30 mg/kg 剂量组小鼠的胸腺指数明显增加 ($P < 0.05$), 磷酸酯化银耳多糖 3 个剂量组对胸腺指数的改善效果均好于银耳多糖。与模型组相比, 磷酸酯化银耳多糖 10、30 mg/kg 组小鼠脾脏结节数虽有增加, 但无显著差异。表明磷酸酯化银耳多糖能减轻射线对小鼠脾脏和胸腺的损伤, 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 2。

表2 磷酸酯化银耳多糖对辐射损伤小鼠脾脏、胸腺指数和脾结节的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of PEPTF on spleen index, thymus index, and spleen nodule in bone marrow of radiation-injured mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	脾脏指数 / (mg·g ⁻¹)	胸腺指数 / (mg·g ⁻¹)	脾结节 / 个
对照	—	4.701 ± 1.286	2.069 ± 0.238	0
模型	—	1.123 ± 0.345 ^{▲▲▲}	0.900 ± 0.365 ^{▲▲▲}	1.222 ± 1.481 ^{▲▲▲}
磷酸酯化银耳多糖	10	1.494 ± 0.372 [*]	1.173 ± 0.364	2.125 ± 2.357
	30	1.249 ± 0.343	1.324 ± 0.457 [*]	3.000 ± 4.320
	60	1.247 ± 0.329	1.205 ± 0.406	0.556 ± 1.014
银耳多糖	10	1.364 ± 0.262	1.112 ± 0.596	4.333 ± 6.671

3.3 对小鼠白细胞数量的影响

与对照组相比, 模型组小鼠白细胞数显著减少 ($P < 0.001$)。与模型组相比, 磷酸酯化银耳多糖 30 mg/kg 组小鼠白细胞显著增加 ($P < 0.05$), 且效果好于银耳多糖组。表明磷酸酯化银耳多糖能够拮抗射线对小鼠白细胞数的降低。结果见表3。

表3 磷酸酯化银耳多糖对辐射损伤小鼠白细胞数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of PEPTF on number of white blood cells of radiation-injured mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	白细胞数 / (×10 ⁹ ·L ⁻¹)
对照	—	5.706 ± 1.160
模型	—	0.438 ± 0.190 ^{▲▲▲}
磷酸酯化银耳多糖	10	0.575 ± 0.327
	30	0.730 ± 0.149 ^{**}
	60	0.570 ± 0.148
银耳多糖组	10	0.644 ± 0.104 [*]

4 讨论

银耳多糖具有改善人体免疫功能、增强巨噬细胞的吞噬功能、增强白细胞功能等功效, 长期服用能抑制肿瘤、增强机体免疫功能^[6]。磷酸酯化银耳多糖是在银耳多糖分子中引入磷酸基团, 其可能通过改变糖链的构象, 增强银耳多糖的生物活性。

造血器官是射线的敏感器官, 受照射后造血系

统损伤, 进而产生一系列病理变化, 因此造血功能的恢复是辐射损伤、肿瘤放疗预后的关键因素。小鼠受辐射后数日内, 造血功能受到较大损害, 第7天造血功能开始恢复, 因此本研究观察了小鼠辐射后第7天时各项指标。骨髓有核细胞、脾指数、胸腺指数、白细胞数和脾结节数等的变化是反映机体造血组织的指标。本实验结果表明, 磷酸酯化银耳多糖可以保护辐射损伤小鼠的造血功能, 对骨髓有核细胞、脾指数、胸腺指数、白细胞数和脾结节数等有较好改善作用。磷酸酯化银耳多糖构效关系尚需系统地深入研究。随着糖化学和糖生物学研究的不断深入和发展, 具有抗肿瘤作用的多糖类药物将具有更广阔的应用前景。

参考文献

- [1] 娜日苏. 天然植物多糖及复合多糖的研究进展 [J]. 赤峰学院学报: 自然科学版, 2009, 25(1): 68-72.
- [2] 郭振楚. 糖类化学 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.
- [3] Yuan Y V, Bone D E, Carrington M F. Antioxidant activity of dulse (*Palmaria palmata*) extract evaluated *in vitro* [J]. *Food Chem*, 2005, 91(3): 485-494.
- [4] 陈飞飞, 蔡东联. 银耳多糖的主要生物学效用研究进展 [J]. 中西医结合学报, 2008, 6(8): 862-866.
- [5] 吴琼, 代永刚. 磷酸酯化修饰碱溶性银耳多糖的研究 [J]. 食品科技, 2010, 35(3): 75-77.
- [6] 颜军, 郭晓强, 郭晓勇, 等. 银耳多糖的提取及其清除自由基作用 [J]. 成都大学学报: 自然科学版, 2006, 25(1): 35-38.