文章编号:1000-5404(2013)08-0779-05

论著

当归多糖对辐射损伤小鼠骨髓基质细胞的影响

关雪晶,吴 宏,何晓莉,姜 蓉 (400016 重庆,重庆医科大学基础医学院干细胞与组织工程研究室,组织胚胎学教研室)

[摘要] **目的** 研究当归多糖(Angelica polysaccharides,APS)对辐射损伤小鼠骨髓基质细胞(bone marrow stromal cell,BMSC)的保护作用。**方法** BALB/c小鼠按随机数字表法分为10组,每组24只,共计240只。正常组不作任何处理,其余9组经X射线照射后分别给予生理盐水(NS)、2 mg/kg APS和8 mg/kg APS,给药至第7、14、21天计数小鼠外周血白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、血小板(PLT)及骨髓单个核细胞(BMNC);观察BMSC生长达80%贴壁所需时间及形成的成纤维细胞集落(CFU-F)数量;流式细胞术检测BMSC细胞周期、凋亡率及表面黏附分子CD54、CD106的表达水平。**结果** 与正常组比较,NS组外周血WBC、RBC、PLT及BMNC计数明显减少($P<0.05$);BMSC达80%贴壁所需时间明显延长,CFU-F数明显减少($P<0.05$);G_0/G_1期细胞比例显著增加,S期细胞比例显著降低($P<0.05$);BMSC细胞凋亡率明显增高($P<0.05$);CD54、CD106表达明显降低($P<0.05$)。2 mg/kg APS、8 mg/kg APS组与NS组相比,外周血各指标、BMNC数及CFU-F数明显增加($P<0.05$);BMSC达80%融合时间显著缩短($P<0.05$);G_0/G_1期比例明显降低,S期比例显著增加($P<0.05$);凋亡率显著降低($P<0.05$);CD54、CD106表达明显增高($P<0.05$)。第21天8 mg/kg APS组各指标均恢复正常。**结论** APS可能是通过提高BMSC贴壁及增殖能力,加速BMSC由G_0/G_1期向S期转换,降低BMSC凋亡率,上调CD54、CD106表达来促进辐射损伤后小鼠造血功能的恢复。

[关键词] 当归多糖;辐射损伤;骨髓基质细胞;凋亡率;黏附分子
[中图法分类号] R285.5;R331.22;R818.74 [文献标志码] A

Effects of Angelica polysaccharides on bone marrow stromal cells in radiation injured mice

Guan Xuejing, Wu Hong, He Xiaoli, Jiang Rong (Laboratory of Stem Cells and Tissue Engineering, Department of Histology and Embryology, College of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the radioprotective effect of Angelica polysaccharides (APS) on bone marrow stromal cells (BMSCs) in radiation injured mice. **Methods** Two hundred and forty BALB/c mice were randomly divided into 10 groups, including a normal group, three NS groups, three 2 mg/kg APS groups and three 8 mg/kg APS groups, and there were 24 mice in each group. All the mice except for those of the normal group underwent X-ray radiation, and the radiated mice were injected with NS, 2 mg/kg APS and 8 mg/kg APS for 7, 13 and 21 d, respectively. The numbers of white blood cells (WBC), red blood cells (RBC), platelets and bone marrow mononuclear cells (BMNCs) in peripheral blood were recorded by cell counting after treatment. The time for BMSC growing to 80% adherence and the number of fibroblast colony-forming unit (CFU-F) were observed. Cell cycle, apoptotic ratio and the expression of CD54 and CD106 on BMSC were detected by flow cytometry. **Results** Compared with the normal group, the cell counts of WBC, RBC, platelets and BMNC in peripheral blood of the NS groups decreased significantly ($P<0.05$), the time for BMSCs growing to 80% adherence prolonged significantly ($P<0.05$), and the number of CFU-F was significantly decreased ($P<0.05$). The results of flow cytometry showed that compared with the normal group, the percentage of BMSCs was significantly increased at G_0/G_1 phase but significantly declined at S phase ($P<0.05$), the apoptotic ratio was significantly increased ($P<0.05$), and the expression of CD54 and CD106 on

[基金项目] 重庆市自然科学基金(2007BB5284)
[通信作者] 吴 宏,电话:(023)68485050,E-mail:wuhong6368@126.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20121016.0913.001.html(2012-10-16)

BMSC was decreased significantly ($P<0.05$). Compared with the NS groups, the results of the 2 mg/kg APS groups and 8 mg/kg APS groups showed that the numbers of peripheral blood cells, BMNCs and CFU-F significantly increased ($P<0.05$), the time for BMSC growing to 80% adherence was significantly decreased, the percentage of BMSCs was significantly decreased at G_0/G_1 phase but significantly increased at S phase ($P<0.05$), the apoptotic ratio was significantly decreased ($P<0.05$), and the expression of CD54, CD106 on BMSC was significantly increased ($P<0.05$). The indicators of the 8 mg/kg APS groups returned to normal levels on the 21st day. **Conclusion** For BMSCs, APS can promote adherence and proliferation, accelerate transition from G_0/G_1 phase to S phase, decline apoptotic ratio, and up-regulate the expression of CD54 and CD106, so as to accelerate the hematopoietic recovery of radiation injured mice.

[**Key words**] Angelica polysaccharides; radiation injury; bone marrow stromal cell; apoptotic ratio; adhesion molecule

Supported by the Natural Science Foundation of Chongqing (2007BB5284). Corresponding author: Wu Hong, Tel: 86-23-68485050, E-mail: wuhong6368@126.com

当归属活血化瘀类中药,当归多糖(Angelica polysaccharides,APS)是其主要有效成分之一,研究发现,APS可促进放射损伤小鼠外周血象的恢复及提高组织的抗氧化能力[1-2],降低辐射损伤小鼠外周血淋巴细胞凋亡率,APS还可通过调节辐射损伤小鼠骨髓单个核细胞(bone marrow mononuclear cells, BMNC)表面黏附分子及细胞周期蛋白的表达促进造血功能恢复[3],另外APS可减轻射线对机体的免疫损害。本实验通过研究APS对辐射损伤小鼠骨髓基质细胞(bone marrow stromal cell,BMSC)细胞周期、凋亡率及黏附分子表达的影响,旨在为阐明APS抗辐射损伤的作用机制提供新的实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料和试剂

健康成年未交配清洁级BALB/c小鼠,雌雄各半,体质量18~22 g,6~8周龄,由重庆医科大学实验动物中心提供,实验小鼠共计240只。当归多糖(APS):重庆医科大学化学教研室分离、提取、纯化(纯度950 mg/g以上)。淋巴细胞分离液(Ficoll,灏洋生物公司产品),胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)(MD公司产品),胰蛋白酶(Gibco BRL公司产品)。磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)(HyClone公司产品)配成1 g/L的工作液,正压过滤除菌。DMEM/F12培养基(HyClone公司产品)。FITC标记抗小鼠CD106抗体及同型对照抗体(eBioscience公司产品)。PE标记抗小鼠CD54抗体及同型对照抗体(eBioscience公司产品)。凋亡试剂盒(碧云天生物技术研究所)。所用设备:超净工作台、倒置显微镜、流式细胞仪、离心机、CO_2细胞培养恒温箱、电热恒温水浴箱、电子分析天平、25 cm^2细胞培养瓶、培养板等;直线加速器(美国Varian公司生产,型号为2300CD)。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物分组及处理 BALB/c小鼠按随机数字表分为10组,每组24只,正常组(不作任何处理);生理盐水(normal saline,NS)组、2 mg/kg APS组和8 mg/kg APS组(后3组每组按作用时间分别分为7、14、21 d组),后9组小鼠采用直线加速器X射线全身均匀照射,总剂量4.0 Gy[4],剂量率为3 Gy/min,照射时间为1.33 min,有效面积为25 cm×25 cm,焦点-鼠距为98 cm。照射后2 h内分别腹腔注射NS、2 mg/kg APS和8 mg/kg APS,每天每次0.2 mL,连续注射6、13、20 d,分别于照射后第7、14、21天取外周血并处死小鼠取骨髓。实验小鼠共计240只,每组24只,用于各组外周血、BMNC及CFU-F计数6只,BMSC 80%贴壁时间观察6只,BMSC细胞周期、细胞凋亡率检测6只,黏附分子CD54、CD106表达水平检测6只。

1.2.2 外周血WBC、RBC、PLT及BMNC计数 给药后第7、14、21天取小鼠眼眶血后以颈椎脱臼法处死小鼠,常规方法计数WBC、RBC、PLT并用PBS冲出股骨骨髓,采用Ficoll-Hypague密度梯度离心法(密度1.077±0.002),2 500 r/min离心20 min后获得BMNC,用PBS洗涤2次,制成BMNC悬液,按白细胞计数方法进行BMNC计数。

1.2.3 CFU-F培养和计数 成纤维细胞集落(colony-forming unit fibroblast,CFU-F)培养方法参考文献[5],将上述BMNC悬液以5×10^6/孔接种于6孔培养板,每组复种6孔,培养体系为含100 mL/L胎牛血清的DMEM/F12培养液,至第7天首次全量换液,培养2周后倒置显微镜下计数,由50个以上成纤维细胞组成的细胞团为一个CFU-F。

1.2.4 BMSC生长达80%贴壁时间观察 不同时间点处死小鼠取骨髓,调骨髓细胞密度以5×10^6/孔接种于24孔培养板,每组复种6孔,培养体系为含100 mL/L胎牛血清的DMEM/F12培养液,倒置显微镜下观察BMSC生长情况,并记录各组BMSC生长达80%贴壁所需时间。

1.2.5 BMSC细胞周期的测定 各组分别于第7、14、21天处死小鼠取骨髓,调骨髓细胞密度为1×10^7/mL接种于25 cm^2培养瓶,培养10 d后,胰酶消化收集BMSC,预冷70%乙醇4 ℃固定过夜,晨起PBS洗涤2次,加入100 μL牛胰核糖核酸酶(1 mg/mL)于37 ℃水浴箱孵育30 min,之后加入碘化丙啶染色液(50 μg/mL)避光反应30 min,用流式细胞仪检测,Multicy-

cle软件(日本PHENIX公司)分析各组细胞周期的时相比例。

1.2.6 BMSC细胞凋亡率检测 各组BMSC培养10 d后收集,PBS充分洗涤,70%冷乙醇固定,置4 ℃冰箱保存,检测前用PBS洗2次,加入RNA酶,室温消化30 min,冰浴终止酶作用,PI染色,4 ℃保存30 min,流式细胞仪检测。

1.2.7 流式细胞术检测BMSC表面黏附分子CD54、CD106的表达 各组BMSC培养10 d后收集,PBS洗涤2次,制成100 μL细胞悬液,加入20 μL大鼠血清室温封闭30 min后,平均分成两份,一份加入新鲜稀释的PE标记的CD54和FITC标记的CD106单抗,另一份加入相应的同型对照抗体,4 ℃避光孵育30 min后上样,置流式细胞仪检测。以同型对照建立背景荧光,Cell Quest软件分析检测CD54、CD106的表达。

1.3 统计学分析

采用析因设计、单因素方差分析方法,数据均经SAS 10.1统计软件进行分析。所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 小鼠的一般情况

照射后NS组小鼠精神差、嗜睡,蜷缩一起,饮水、进食明显减少,活动迟缓,少量出现腹泻,毛色凌乱无光泽,但未见死亡,辐射损伤模型建立成功;各APS组小鼠上述症状较轻,恢复快,毛色有光泽。

2.2 APS对辐射损伤小鼠外周血WBC、PLT、RBC和BMNC的影响

照射后7、14、21 d NS组小鼠外周血各指标及BMNC较正常组均降低($P<0.05$),同时间点APS组较NS组WBC、PLT及BMNC下降幅度小,恢复快($P<0.05$),而大多数时间点8 mg/kg APS组比2 mg/kg APS组WBC、PLT及BMNC恢复快($P<0.05$);7 d APS组较NS组RBC下降幅度大($P<0.05$),但恢复快,且14 d 8 mg/kg APS组和2、8 mg/kg 21 d APS组较同时间点NS组RBC明显上升($P<0.05$),21 d 8 mg/kg APS组各指标均恢复正常。见表1。

表1 APS对辐射损伤小鼠外周血细胞和BMNC的影响 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	WBC ($\times10^9$/L)	RBC ($\times10^{12}$/L)	PLT ($\times10^9$/L)	BMNC ($\times10^6$/股骨)
正常组	10.20±0.49	10.85±0.07	1118.50±84.45	4.78±0.46
NS组				
7 d	0.91±0.13[a]	10.40±0.23[a]	275.00±11.24[a]	0.75±0.05[a]
14 d	2.03±0.20[a]	9.76±0.06[a]	337.00±26.88[a]	1.31±0.08[a]
21 d	3.68±0.35[a]	9.69±0.03[a]	578.00±36.11[a]	2.66±0.13[a]
2 mg/kg APS组				
7 d	1.93±0.24[ab]	10.20±0.38[ab]	422.33±31.96[ab]	1.07±0.06[a]
14 d	3.58±0.31[ab]	9.20±0.08[ab]	554.33±27.14[ab]	2.21±0.21[ab]
21 d	6.99±0.61[ab]	10.34±0.07[ab]	867.50±36.75[ab]	3.64±0.20[ab]
8 mg/kg APS组				
7 d	2.26±0.33[ab]	9.54±0.11[abc]	443.83±33.60[ab]	1.77±0.11[abc]
14 d	4.21±0.57[abc]	10.42±0.26[abc]	588.00±19.32[ab]	3.48±0.26[abc]
21 d	10.08±0.43[bc]	10.70±0.18[bc]	1092.83±69.80[bc]	4.60±0.47[bc]

a:$P<0.05$,与正常组比较;b:$P<0.05$,与NS组比较;c:$P<0.05$,与2 mg/kg APS组比较

2.3 APS对辐射损伤小鼠BMSC生长达80%贴壁时间及其形成CFU-F数量的影响

照射后7、14、21 d NS组BMSC达80%贴壁时间明显延长,与正常组有显著差异($P<0.05$),同一时间点APS组比NS组更快达80%贴壁($P<0.05$),但8 mg/kg APS组与2 mg/kg APS组比较BMSC贴壁时间差异不显著($P>0.05$),第21天APS组BMSC已恢复正常贴壁能力,与正常组无明显差异($P>0.05$),见表2。

照射后7、14、21 d NS组BMSC培养形成CFU-F数明显少于正常组($P<0.05$),7 d APS组与NS组比较,CFU-F数量无明显差异,而14、21 d APS组形成的集落数明显多于同时间点的NS组($P<0.05$),7、14 d 8 mg/kg APS组CFU-F数与2 mg/kg APS组比无明显差异($P>0.05$),21 d 8 mg/kg APS组CFU-F数显著多于2 mg/kg APS组($P<0.05$),与正常组无明显差异($P>0.05$)。见表2。

表2 APS对辐射损伤小鼠BMSC达80%贴壁时间及形成CFU-F数量的影响 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	CFU-F(个/孔)	80%贴壁时间(d)
正常组	85.16±4.16	5.33±0.51
NS组		
7 d	11.33±1.75[a]	13.33±0.51[a]
14 d	22.66±2.25[a]	10.33±0.52[a]
21 d	56.50±4.23[a]	7.16±0.40[a]
2 mg/kg APS组		
7 d	14.33±2.73[a]	11.50±0.54[ab]
14 d	41.16±4.11[ab]	8.33±0.52[ab]
21 d	72.66±3.98[ab]	5.67±0.51[ab]
8 mg/kg APS组		
7 d	15.00±2.52[a]	11.00±0.63[ab]
14 d	42.83±4.21[ab]	8.16±0.41[b]
21 d	84.16±5.03[bc]	5.50±0.54[b]

a:$P<0.05$,与正常组比较;b:$P<0.05$,与NS组比较;c:$P<0.05$,与2 mg/kg APS组比较

2.4 APS对辐射损伤小鼠BMSC细胞周期及细胞凋亡率的影响

照射后7、14、21 d NS组BMSC多数处于G_0/G_1期,S期合成减少,与正常组相比差异显著($P<0.05$),而同一时间点2 mg/kg APS组与NS组相比,G_0/G_1期和S期所占比例均无明显差异($P>0.05$);14、21 d 8 mg/kg APS组较NS组和2 mg/kg APS组G_0/G_1期比例明显下降,S期比例明显上升($P<0.05$),21 d 8 mg/kg APS组细胞周期各时相比例恢复正常($P>0.05$)。见表3。

照射后7、14、21 d NS组BMSC细胞凋亡率较正常组均明显增高($P<0.05$),同一时间点APS组较NS组细胞凋亡显著减少($P<0.05$),但2 mg/kg APS组与8 mg/kg APS组比较无明显差异($P>0.05$),2、8 mg/kg 21 d APS组细胞凋亡率已降至正常水平($P>0.05$)。见表3。

表3 APS对辐射损伤小鼠BMSC细胞周期及凋亡率的影响（%，$n=6$，$\bar{x}\pm s$）

组别	G_0/G_1	S	凋亡率
正常组	79.20±0.89	13.28±0.29	3.79±0.51
NS组			
7 d	93.02±0.41[a]	2.42±0.31[a]	17.69±1.09[a]
14 d	92.86±0.46[a]	5.45±0.38[a]	12.45±0.97[a]
21 d	91.03±0.32[a]	7.85±0.34[a]	6.58±0.54[a]
2 mg/kg APS组			
7 d	92.92±0.23[a]	2.68±0.31[a]	15.22±0.45[ab]
14 d	92.39±0.43[a]	5.82±0.23[a]	9.03±0.61[ab]
21 d	87.75±0.45[ab]	8.13±0.35[a]	3.95±0.64[b]
8 mg/kg APS组			
7 d	92.64±0.44[a]	4.62±0.36[ab]	15.06±0.41[ab]
14 d	90.48±0.71[abc]	8.79±0.26[abc]	8.64±0.53[ab]
21 d	78.85±0.76[bc]	13.03±0.20[bc]	3.83±0.63[b]

a：$P<0.05$，与正常组比较；b：$P<0.05$，与NS组比较；c：$P<0.05$，与2 mg/kg APS组比较

2.5 APS对辐射损伤小鼠BMSC表面黏附分子CD54、CD106表达的影响

照射后7、14、21 d NS组BMSC表面黏附分子CD54和CD106阳性率较正常组明显降低（$P<0.05$），同一时间点APS组较NS组CD54和CD106阳性率高，差异有统计学意义（$P<0.05$），但同时间点8 mg/kg APS组与2 mg/kg APS组相比，CD54阳性率差异不明显（$P>0.05$），而8 mg/kg APS组的CD106阳性率高于2 mg/kg APS组，有统计学差异（$P<0.05$），2、8 mg/kg 21 d APS组的CD54和8 mg/kg APS组的CD106阳性率已恢复至正常水平（$P>0.05$）。见表4。

表4 APS对辐射损伤小鼠BMSC表面黏附分子CD54、CD106表达的影响（%，$n=6$，$\bar{x}\pm s$）

组别	CD54	CD106
正常组	80.52±1.16	3.47±0.10
NS组		
7 d	53.51±0.67[a]	0.41±0.04[a]
14 d	60.89±0.99[a]	0.44±0.04[a]
21 d	72.63±0.80[a]	1.04±0.08[a]
2 mg/kg APS组		
7 d	70.05±1.54[ab]	1.01±0.07[ab]
14 d	74.78±0.87[ab]	1.70±0.04[ab]
21 d	79.67±1.02[b]	2.60±0.08[ab]
8 mg/kg APS组		
7 d	70.72±1.50[ab]	1.93±0.11[abc]
14 d	75.37±0.80[ab]	2.50±0.07[abc]
21 d	80.40±1.12[b]	3.44±0.10[bc]

a：$P<0.05$，与正常组比较；b：$P<0.05$，与NS组比较；c：$P<0.05$，与2 mg/kg APS组比较

3 讨论

BMSC是骨髓造血微环境的重要组成部分，BMSC通过其表面黏附分子及分泌的细胞因子参与造血细胞的增殖调控。辐射会对机体造成严重危害，包括免疫系统[6]、造血系统、消化系统等，其中以骨髓造血系统最敏感。有研究表明，辐射损伤可使BMSC贴壁层对BMNC的黏附能力明显下降，BMSC形成CFU-F的数量也明显减少[7]，辐射损伤后BMSC细胞数明显减少，大多被阻滞于G_0/G_1期，S期合成能力下降，DNA含量降低，体外培养的BMSC经射线照射后，细胞坏死率和凋亡率均增加。辐射损伤会降低BMSC表面黏附分子的表达，如CD45、CD106，不利于HSPC和BMSC之间相互黏附。研究发现APS有抗辐射致造血系统损伤的作用，但是否通过BMSC发挥作用少见报道。因此，研究APS在抗辐射中对于BMSC的保护作用及作用机制十分重要。

射线照射小鼠的致死剂量要达到8～8.5 Gy，而复制小鼠急性放射损伤模型一般采用4 Gy左右的射线照射。大量研究表明[8-9]，小鼠经4 Gy射线照射后造血系统和免疫系统均受到抑制。本课题组前期研究也证实BALB/c小鼠经致死剂量8.5 Gy射线照射后8～15 d内全部死亡[10]。经半致死剂量4 Gy X射线照射后小鼠未见死亡，但外周血各有形成分明显减少，骨髓单个核细胞的增殖及细胞周期受阻，说明小鼠急性放射损伤模型建立成功，且APS可促进该剂量辐射损伤小鼠造血功能的恢复[3]，因此后续实验均采用4 Gy X射线照射。

外周血及BMNC结果显示，照射后第7、14、21天NS组外周血各系和BMNC数显著下降，与正常组相比差异明显，提示辐射损伤小鼠模型建立成功。照射后NS组小鼠表现少动倦怠、精神萎靡、皮毛凌乱竖起、进食饮水明显减少，与中医所述气血受损症状相符。

辐射可引起骨髓造血功能的破坏和抑制，大量骨髓细胞凋亡，外周血WBC、RBC和PLT明显降低，因此BMNC和外周血WBC、RBC、PLT数可间接反映骨髓的造血功能。本实验结果显示：照射后第7、14、21天APS可显著减少BMNC和外周血WBC、PLT的下降幅度，比NS组恢复快，且8 mg/kg APS组与同时间点2 mg/kg APS组相比恢复更早。第7、14天APS组外周血RBC下降幅度大于NS组，与以往研究结果不同，原因尚不清楚。本研究结果提示，APS可以促进辐射损伤小鼠外周血象的恢复，但作用机制尚不明确。

BMSC只有贴壁后才具有增殖能力，而辐射损伤后小鼠BMSC的贴壁能力明显降低，BMSC增殖能力也受到抑制。BMSC经培养后可以形成CFU-F，骨髓中CFU-F的数量可间接反映造血微环境的情况。我

们发现照射后不同时间点NS组BMSC达80%贴壁时间明显延长,形成CFU-F的数量也明显下降,而APS能明显缩短BMSC达80%贴壁时间,并使CFU-F数量明显增多,提示APS可促使辐射损伤后BMSC恢复贴壁能力,贴壁后的BMSC增殖能力也明显提高,APS还可使BMSC形成CFU-F的能力增强,进而改善造血微环境,促进造血功能恢复。

在细胞周期中,G_1、S、G_2、M期间存在关键的调控点[11],其中G_1→S最易受外界条件改变的影响,我们的研究发现,照射后7、14、21 d NS组BMSC大多被阻滞于G_0/G_1期,DNA合成能力明显降低,而APS组随给药时间延长,各组G_0/G_1期呈现由高到低的趋势,S期也逐渐增高,第14、21天APS组与NS组差异显著,但均恢复较慢。据此我们推测APS可能是通过加速BMSC由G_0/G_1期向S期转换,使S期合成能力增强,来促进BMSC的增殖,从而改善受损的骨髓造血微环境。

辐射常导致DNA严重损伤,大多数学者认为辐射所致细胞死亡形式主要是细胞凋亡,本实验中APS组比NS组BMSC凋亡率明显降低,提示APS可减少放射损伤引起的骨髓基质细胞凋亡,起到保护BMSC的作用,但APS降低BMSC凋亡率的分子机制可能与一些凋亡基因的表达有关,具体机制有待进一步研究。

细胞黏附分子在骨髓造血微环境中具有解剖学定位作用,可介导造血细胞与基质细胞和细胞外基质密切接触,传递调控反应信号,使造血细胞在高浓度细胞因子作用下增殖、分化、成熟[12]。CD54(ICAM-1)和CD106(VCAM-1)是目前研究较多的位于BMSC表面的两种黏附分子,它们可以协助造血干/祖细胞黏附定位于骨髓诱导微环境,使造血干/祖细胞与骨髓基质细胞形成聚集体,在造血干细胞的动员和归巢中起着重要作用[13-14]。本实验结果显示,同一时间点APS组较NS组CD54和CD106阳性率显著增高,至21 d 2、8 mg/kg APS组的CD54和8 mg/kg APS组的CD106已恢复正常。推测APS可能是通过提高CD54和CD106的表达,以利于HSPC、BMSC以及微血管系统间相互黏附,使得HSPC借BMSC的支架作用,并由微血管提供充足的营养和细胞因子,恢复HSPC的增殖分化能力,重建造血功能。

本研究结果提示APS能提高辐射损伤小鼠BMSC的贴壁和增殖能力,加速BMSC细胞周期转换和降低凋亡率,增强BMSC表面黏附分子CD54和CD106的表达,改善骨髓造血微环境,进而促进放射损伤后造血功能恢复,说明APS具有良好的抗辐射效应。中药多糖的辐射防护作用机制可能是多方面的,APS的抗辐射效应是否与清除氧自由基、抑制脂质过氧化及增强BMSC支持各系造血细胞集落形成能力等因素有关,还有待于进一步研究。

参考文献:

[1] 孙元琳, 马国刚, 汤坚. 当归多糖对亚慢性辐射损伤小鼠的防护作用研究[J]. 中国食品学报, 2009, 9(4): 33-37.
[2] 孙元琳, 顾小红, 李德远, 等. 当归多糖对亚急性辐射损伤小鼠的防护作用研究[J]. 食品科学, 2007, 28(2): 305-308.
[3] 张雁, 吴宏, 关雪晶, 等. 当归多糖预防给药对放射损伤小鼠骨髓单个核细胞黏附分子表达及细胞周期的影响[J]. 中国生物制品学杂志, 2010, 23(6): 627-632.
[4] Marusyk A, Casas-Selves M, Henry C J, *et al*. Irradiation alters selection for oncogenic mutations in hematopoietic progenitors[J]. Cancer Res, 2009, 69(18): 7262-7269.
[5] 常保萍, 王亚丽, 赵变锋, 等. 放射损伤小鼠骨髓VEGF、CFU-GM、CFU-F的变化及川芎嗪对其影响的研究[J]. 河南医学研究, 2007, 16(2): 121-123.
[6] 李德冠, 王月英, 王小春, 等. p38抑制剂对辐射损伤小鼠中免疫细胞的作用[J]. 天津医药, 2011, 39(10): 933-935.
[7] 周永, 糜漫天, 杨镇洲. 三羟异黄酮对辐射损伤小鼠骨髓基质细胞的保护作用[J]. 第三军医大学学报, 2005, 27(6): 471-473.
[8] 张国良, 李文辉, 郭娜, 等. 苞叶雪莲水提物对小鼠免疫系统辐射防护作用的研究[J]. 西部医学, 2011, 23(9): 1626-1628.
[9] 毕良文, 李文辉, 段伟, 等. 苞叶雪莲水提物对辐射损伤小鼠防护作用的研究[J]. 现代肿瘤医学, 2009, 17(7): 1218-1221.
[10] 胡晶, 冯敏, 杨慧, 等. 当归多糖动员的造血干/祖细胞移植重建小鼠造血功能的研究[J]. 第三军医大学学报, 2007, 29(23): 2236-2239.
[11] Jaklevic B, Uyetake L, Lemstra W, *et al*. Contribution of growth and cell cycle checkpoints to radiation survival in Drosophila[J]. Genetics, 2006, 174 (4): 1963-1972.
[12] Lee Y H, Lee Y A, Noh K T, *et al*. Homing-associated cell adhesion molecules and cell cycle status on the nucleated cells in the bone marrow, mobilized peripheral blood and cord blood[J]. J Korean Med Sci, 2004, 19(4): 523-528.
[13] Peled A, Kollet O, Ponomaryov T, *et al*. The chemokine SDF-1 activates the integrins LFA-1, VLA-4, and VLA-5 on immature human CD34(+) cells: role in transendothelial/stromal migration and engraftment of NOD/SCID mice [J]. Blood, 2000, 95(11): 3289-3296.
[14] Wysoczynski M, Reca R, Ratajczak J, *et al*. Incorporation of CXCR4 into membrane lipid rafts primes homing-related responses of hematopoietic stem/progenitor cells to an SDF-1 gradient [J]. Blood, 2005, 105(1): 40-48.

(**收稿**:2012-03-22;**修回**:2012-05-23)
(编辑 吴培红)