基础研究 文章编号:0253-3626(2010)07-0965-05

当归多糖照射前后给药对放射损伤小鼠造血功能恢复的比较研究

张 雁,吴 宏,关雪晶,周 玥
(重庆医科大学干细胞与组织工程研究室、基础医学院组胚教研室,重庆 400016)

【摘 要】目的:研究和比较当归多糖(Adhesion molecule,APS)2 种不同给药方式对放射损伤小鼠造血功能的修复作用。方法:外周血 WBC、RBC、PLT 及 BMNC 计数;流式细胞术检测 APS 对放射损伤小鼠 Sca-1⁺BMNC 粘附分子 CD44 和 CD49d 表达、BMNC 细胞周期的影响;MTT 法测定 APS 对放射损伤小鼠骨髓细胞增殖活性的影响。结果:与正常组比较,各 NS 组外周血 WBC、RBC、PLT 及 BMNC 计数明显减少,Sca-1⁺BMNC CD44、CD49d 表达、骨髓细胞增殖活性明显下降,BMNC G_0/G_1 期细胞比例显著增加。各 APS 预处理组能在更早期促进外周血各系和 BMNC 数目恢复、更早促进 Sca-1⁺BMNC 表面 CD44 和 CD49d 的表达下降使放射损伤小鼠造血功能较同时间点、同等剂量 APS 治疗组恢复快。各 APS 预处理组骨髓细胞增殖活性、BMNC G_0/G_1 期细胞比例较同时间点、同等剂量 APS 治疗组差异无统计学意义($P>0.05$)。结论:APS 对放射损伤小鼠造血功能具有修复作用,初步观察 APS 预处理组优于 APS 治疗组。

【关键词】当归多糖;粘附分子;Sca-1;CD44;CD49d
【中国图书分类法分类号】R146 【文献标识码】A 【收稿时间】2009-11-23

Compared study of hematopoietic recovery of angelica polysaccharides dosaged pre-irradiation and post irradiation on radiation injured mice

ZHANG Yan, et al
(*Laboratory of Stem Cell and Tissue Engineering, Department of Histology and Embryology, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the effects of Angelica polysaccharides on hematopoietic type of acute radiation sickness in mice. *Methods*: Techniques of peripheral blood cells and BMNC count were made; flow cytometry detected the expression of CD49d, CD44 on Sca-1⁺BMNC and the cell cycle on BMNC, the proliferation of BMNC were evaluated by MTT assay. *Results*: As

作者介绍:张 雁(1982-),女,硕士,
研究方向:造血干细胞生物学与中药药理学。
通讯作者:吴 宏,女,教授,E-mail:wuhong6368@126.com。
基金项目:重庆市自然科学基金计划项目(编号:2007BB5284)。

这是一个整体的、动态的过程。我们只有认识了整个过程中大量基因所起的作用和基因精确表达的调控机制,才能从根本上预防和解决心脏疾患。组蛋白乙酰化修饰正是除了基因本身的相互作用之外的一个全新角度,这也将为心脏发育的研究注入新的热点。p300 在心脏发育基因中的重要作用使它可能成为先天性心脏病临床干预预防的关键点,这些将为探明先天性心脏病的发生机理并施以干预进行临床预防提供强有力的基础理论依据。

参 考 文 献

[1] Christoffels V M, Habets P E, Franco D, el al. Chamber formation and morphogenesis in the developing mammalian heart[J]. Dev Biol, 2000, 223(2): 266-278.
[2] Olson E N. Gene regulatory networks in the evolution and development of the heart[J]. Science, 2006, 313(5795): 1922-1927.
[3] Harvey R P. Patterning the vertebrate heart[J]. Nat Rev Genet, 2002, 3(7): 544-556.
[4] Chan H M, La Thangue N B. p300/CBP proteins: HATs for trseciptional bridges and scaffolds[J]. J Cell Sci, 2001, 114(Pt 13): 2363-2373.
[5] Chen G Z, Zhu J, Lv T, et al. Spatiotemporal expression of histone acetyltransferases, p300 and CBP, in developing embryonic hearts[J]. J Biomed Sci, 2009, 16: 24.
[6] Kim Y, Nirenberg M. Drosophila NK-homeobox gene[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1989, 86(20): 7716-7720.
[7] Sadoul K, Boyault C, Pabion M, et al. Regulation of protein turnover by acetyltransferases and deacetylases[J]. Biochimie, 2008, 90(2): 306-312.
[8] Phan H M, Xu A W, Coco C, et al. GCN5 and p300 share essential functions during early embryogenesis[J]. Dev Dyn, 2005, 233(4): 1337-1347.
[9] Mouse Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome[J]. Nature, 2002, 420(6915): 520-562.
[10] Bruneau B G. Transcriptional regulation of vertebrate cardiac morphogenesis [J]. Circ Res, 2002, 90(5): 509-519.
[11] Pu W T, Ishiwata T, Juraszek A L, et al. GATA4 is a dosage-sensitive regulator of cardiac morphogenesis[J]. Dev Biol, 2004, 275(1): 235-244.
[12] Lin Q, Schwarz J, Bucana C, et al. Control of mouse cardiac morphogenesis and myogenesis by transcription factor MEF2C[J]. Science, 1997, 276(5317): 1404-1407.

(责任编辑:冉明会)

compared with those in control group, the numbers of the peripheral leukocyte, erythrocyte, platelet and BMNC in NS (normal saline) group decreased significantly; the expression of CD49d, CD44 on Sca-1⁺BMNC and the proliferation of BMNC declined; and the percentage of G_0/G_1 phases significantly increased. APS pretreatment could promote peripheral blood cells and BMNC numbers to recover, decrease the expression of CD49d, CD44 on Sca-1+BMNC in earlier period to make the hematopoietic function of radiation injured mice in pretreated groups to recover more quickly, as compared with APS treated groups receiving the same dose at the same time. The proliferation of BMNC and the percentage of G_0/G_1 phases in APS pretreated groups had no significant differences from those in APS treated groups receiving the same dose at the same time ($P>0.05$). *Conclusion*: The results support our hypothesis that APS can be used to treat the hematopoietic type of acute radiation sickness. APS pretreated groups had better results than APS treated groups in initial observation.

[Key words]APS; Adhesion molecule; Sca-1; CD44; CD49d

目前肿瘤的治疗除手术外，放疗是主要的治疗手段。但放疗缺乏特异性，在杀死肿瘤细胞的同时，也损伤正常细胞。因此，寻找可以拮抗辐射损伤药物的研究越来越多。当归作为中医“补血、活血”要药已有数千年的临床应用历史，当归多糖(Adhesion molecule, APS)是其主要化学成份之一。近年来研究发现 APS 既可通过上调造血微环境中的基质细胞分泌造血生长因子来促进正常造血细胞生成[1,2]，又能抑制白血病细胞增殖并诱导其向红系、粒系等方向分化[3,4]，且能促进造血干细胞的动员[5,6]，还能显著提高辐射损伤小鼠外周血象，促进造血功能[7]，本研究通过动态检测 APS 对放射损伤小鼠骨髓 BMNC 粘附分子的表达水平和细胞周期的影响，旨在比较 APS 照射前后给药对放射损伤小鼠造血功能恢复的治疗效果。

1 材料与方法

1.1 材料

健康成年未交配 BALB/c 小鼠，清洁级，雌、雄各半，8～12 周龄，体重 18～22 g，由重庆医科大学实验动物中心提供。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)。RPMI1640 培养液(Gibco 公司)配成 1 g/L 的工作液，正压过滤除菌。PE 标记抗小鼠 Sca-1 抗体及其同型对照抗体(eBioscience 公司，4℃保存)、FITC 标记抗小鼠 CD49d 抗体及其同型对照抗体(eBioscience 公司，4℃保存)、FITC 标记抗小鼠 CD44 抗体及其同型对照抗体(eBioscience 公司，4℃保存)、四甲基偶氮噻唑蓝(Methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)(Hyclone 公司)。所用设备包括：超净工作台、倒置显微镜、酶标仪、流式细胞仪等。

1.2 方法

1.2.1 实验动物的分组及处理 BALB/c 小鼠随机分为 7 组：正常组不作任何处理。NS 预处理组、2 mg/kg APS 预处理组和 8 mg/kg APS 预处理组分别腹腔注射 NS、2 mg/kg APS 和 8 mg/kg APS，0.2 ml / 次 /d[8]，连续注射 7 d，第 8 d 以上 3 组小鼠与 NS 治疗组、2 mg/kg APS 治疗组和 8 mg/kg APS 治疗组 BALB/c 小鼠一起全身均匀照射 X 射线，总剂量 4.0 Gy，吸收剂量率为 3.76 Gy/min，时间 1.25 min，焦点－鼠距 98 cm，面积 25 × 25 cm^2。照射后第 3 h 到第 4 h 内除正常对照组外其它 6 组分别腹腔注射 NS、2 mg/kg APS 和 8 mg/kg APS，0.2 ml /次/d，连续注射 6 或 13 d，分别于照射后第 7、14 d 采集外周血后处死小鼠并取骨髓。共计小鼠 318 只，正常对照组和其它 6 组第 7 d 每组 30 只，其中外周血和骨髓粘附分子检测共 12 只，骨髓细胞增殖能力检测共 12 只，细胞周期测定共 6 只；除正常对照组外其它 6 组第 14 d 每组 18 只，其中外周血和骨髓粘附分子检测共 12 只，细胞周期测定共 6 只。

1.2.2 外周血 WBC、RBC、PLT 及 BMNC 计数 照射后第 7、14 d 取小鼠眼眶血后以颈椎脱臼法处死小鼠，用常规方法进行 WBC、RBC、PLT 计数及用 PBS 冲出股骨骨髓。采用 Ficoll-Hypague 密度梯度离心法，2 500 r/min 离心 20 min 后获取 BMNC，用 PBS 洗涤 2 次，制成 BMNC 悬液，按 WBC 计数方法进行 BMNC 计数。

1.2.3 APS 体内对小鼠骨髓细胞增殖能力的影响 照射后第 7 d 处死小鼠采集骨髓，将 1×10^6 个/ml 骨髓细胞接种于含 100 ml/L 胎牛血清的 RPMI1640 培养液的 96 孔板中，置 37℃培养箱内孵育 72 h，终止前 5 h，掺入 MTT 5 mg/ml) 10 μl/孔，终止培养时离心弃上清，每孔加入 150 μl DMSO 溶解 MTT 还原产物甲臜，充分震荡 10 min，全自动酶标仪用 570 nm 波长测 A 值，以 A 值代表骨髓细胞活性。

1.2.4 Sca-1⁺BMNC 细胞表面粘附分子 CD44、CD49d 表达的检测 照射后第 7、14 d BMNC 计数后取 BMNC 细胞悬液 100 μl，加入新鲜稀释的 PE 标记的 Sca-1 单抗 100 μl，4℃避光孵育 30 min，PBS 洗涤 2 次后再加入稀释的 FITC 标记的 CD49d 或 CD44 单抗，4℃避光孵育 30 min。洗涤后重悬细胞，置流式细胞仪，检测 Sca-1⁺BMNC 细胞表面 CD44、CD49d 的表达。

1.2.5 BMNC 细胞周期的测定 照射后第 7、14 d 收集 BMNC 单细胞悬液，70%冰乙醇固定过夜，PBS 洗涤 2 次，加入 100 μl 牛胰核糖核酸酶(1 mg/ml)，37℃水浴孵育 30 min；加入碘化丙啶染色液(50 μg/ml)避光反应 30 min，流式细胞仪检测，Multicycle 软件(日本 PHENIX 公司)分析。

1.3 统计学方法

NS 组 7 d、NS 组 14 d、2 mg/kg APS 组 7d、2 mg/kg APS 组 14 d、8 mg/kg APS 组 7 d 和 8 mg/kg APS 组 14 d 6 组之间比

较采用析因设计，此 6 组与正常组之间的比较采用单因素方差分析(Dunnett's t 检验)，数据均经 SAS 10.1 统计软件进行分析，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 APS 对放射损伤小鼠外周血 WBC、RBC、PLT 和 BMNC 的影响

照射后第 7、14 d NS 治疗组和 NS 预处理组小鼠全血各系及 BMNC 细胞数全面下降，与正常组差异有统计学意义($P<0.05$)；照射后第 7、14 d 各 APS 治疗组或 APS 预处理组小鼠外周血 WBC、RBC 和 PLT 及 BMNC 与同时间点 NS 治疗组或 NS 预处理组相比下降幅度小，恢复快；各 APS 组第 14 d 与第 7 d 相比均有上升趋势；8 mg/kg APS 治疗组或 8 mg/kg APS 预处理组较 2 mg/kg APS 治疗组或 2 mg/kg APS 预处理组各指标下降幅度小；APS 组 RBC 和 PLT 可恢复到正常组水平($P>0.05$)，但各 APS 组 WBC 和 BMNC 较正常组仍有差异($P<0.05$)；各 APS 预处理组与同时间点 APS 治疗组相比各项指标恢复快，其中 2 mg/kg APS 预处理组和同时间点 2 mg/kg APS 治疗组相比除第 7、14 d RBC 和第 7 d PLT 外其他指标均恢复较快，差异均有统计学意义($P<0.05$)，8 mg/kg APS 预处理组和同时间点 8 mg/kg APS 治疗组相比除第 7 d PLT 和第 14 d RBC 外其他指标均恢复较快，差异均有统计学意义($P<0.05$)(表 1)。

2.2 APS 对放射损伤小鼠骨髓 Sca-1⁺BMNC 表面粘附分子 CD44、CD49d 表达的影响

照射后第 7、14 d NS 治疗组和 NS 预处理组小鼠 Sca-1⁺BMNC 表面 CD44、CD49 d 表达的阳性率明显低于正常组($P<0.05$)，第 14 d 较第 7 d CD44 表达有明显上升($P<0.01$)；第 7 d 各 APS 治疗组小鼠 Sca-1+BMNC 表面 CD44、CD49d 表达的阳性率明显高于正常组($P<0.05$)，而各 APS 预处理组表达阳性率则低于正常组($P<0.05$)；第 14 d 各 APS 治疗组和各 APS 预处理组较第 7 d 均表达下降，且均低于正常组($P<0.05$)；各 APS 预处理组和同时间点、同剂量 APS 治疗组相比差异无显著性($P>0.05$)；第 7 d 2 mg/kg APS 治疗组(或 8 mg/kg APS 治疗组)和同时间点 2 mg/kg APS 预处理组(或 8 mg/kg APS 预处理组)相比明显上升($P<0.01$)，第 14 d 差异无统计学意义($P>0.05$)(表 2)。

2.3 APS 对放射损伤小鼠骨髓细胞增殖能力的影响

NS 治疗组和 NS 预处理组小鼠骨髓细胞的增殖能力(分别为 0.28 ± 0.06、0.30 ± 0.04)显著低于正常组(0.57 ± 0.14，$P<0.05$)。2 mg/kg APS 治疗组或 2 mg/kg APS 预处理组小鼠骨髓细胞的增殖能力(0.41 ± 0.05 或 0.43 ± 0.09)较 NS 治疗组或 NS 预处理组增强($P<0.01$)，但低于 8 mg/kg APS 治疗组(0.47 ± 0.26)或 8 mg/kg APS 预处理组(0.49 ± 0.05)($P<0.05$)，且各组均低于正常组，差异有统计学意义($P<0.05$)。各 APS 预处理组骨髓细胞增殖能力较同剂量 APS 治疗组增强，但差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.4 APS 对小鼠 BMNC 细胞周期的影响

照射后第 7、14 d NS 治疗组和 NS 预处理组小鼠 BMNC 停滞于 G_0/G_1 期，S 期合成减少，与正常组比较差异显著($P<0.05$)，随时间推移，G_0/G_1 期细胞比例呈由高到低的变化，第 14 d 时仍未恢复正常；各 APS 组第 7、14 d S 期合成活跃，除第 7 d 2 mg/kg APS 治疗组外均与 NS 治疗组比较差异显著($P<0.01$)，8 mg/kg APS 治疗组或 8 mg/kgAPS 预处理组较 2 mg/kg APS 治疗组或 2 mg/kg APS 预处理组 S 期比例增高，但差异无统计学意义($P>0.05$)。照射后第 7、14 d 各 APS 预处理组和同时间点、同剂量 APS 治疗组相比差异无统计学意义($P>0.05$)(表 3)。

表 1 APS 对放射损伤小鼠外周血细胞和 BMNC 的影响($n=12, \bar{x} \pm s$)

组别	照射后时间(d)	WBC($\times 10^9$ 个/L)	RBC($\times 10^{12}$ 个/L)	PLT($\times 10^9$ 个/L)	BMNC($\times 10^6$ 个/根股骨)
正常组		6.75 ± 0.47	10.04 ± 1.70	1 189.33 ± 294.13	7.64 ± 0.75
NS 治疗组	7	0.78 ± 0.13*	7.23 ± 0.64*	231.58 ± 88.51*	0.62 ± 0.09*
	14	2.23 ± 0.29*	7.91 ± 1.11*	666.08 ± 143.04*	2.35 ± 0.66*
2 mg/kg APS 治疗组	7	1.05 ± 0.19*▲	8.53 ± 0.68*▲	558.08 ± 98.02*▲	0.86 ± 0.08▲
	14	4.27 ± 0.53*▲	9.63 ± 0.61▲	886.75 ± 102.93*▲	4.54 ± 0.72*▲
8 mg/kg APS 治疗组	7	1.41 ± 0.06*▲	8.59 ± 0.68*▲	588.00 ± 185.91*▲	0.88 ± 0.07▲
	14	4.46 ± 0.27*▲	9.90 ± 0.92▲	897.58 ± 136.65*▲	4.73 ± 0.98*▲
NS 预处理组	7	0.78 ± 0.17*	7.38 ± 0.69*	243.75 ± 76.34*	0.66 ± 0.10*
	14	2.69 ± 0.50*	8.15 ± 1.02*	675.58 ± 58.36*	1.85 ± 0.65*
2 mg/kg APS 预处理组	7	3.72 ± 0.49*▲	8.90 ± 0.92▲	640.67 ± 67.12*▲	2.21 ± 0.28*▲
	14	6.05 ± 0.53*▲	9.80 ± 1.02▲	1 009.08 ± 194.33*▲	6.75 ± 0.73*▲
8 mg/kg APS 预处理组	7	4.16 ± 0.50*▲	9.08 ± 1.14▲	650.25 ± 78.46*▲	2.35 ± 0.36*▲
	14	6.14 ± 0.52*▲	10.18 ± 1.30▲	1 132.25 ± 200.87▲	7.17 ± 0.67▲

与正常组比较*$P<0.05$，各 APS 治疗组 与 NS 治疗组比较▲$P<0.05$；各 APS 预处理组与 NS 预处理组比较▲$P<0.05$

表 2 APS 对放射损伤小鼠骨髓 Sca-1⁺BMNC 粘附分子表达的影响(n=12,$\bar{x}\pm s$)

组别	照射后时间(d)	CD44(%)	CD49d(%)
正常组		14.73 ± 2.58	10.73 ± 2.18
NS 治疗组	7	6.07 ± 1.08*	5.22 ± 0.20*
	14	10.66 ± 1.37*	6.59 ± 0.71*
2 mg/kg APS 治疗组	7	24.53 ± 5.60*▲	17.08 ± 5.31*▲
	14	6.47 ± 1.82*▲	4.53 ± 1.04*
8 mg/kg APS 治疗组	7	25.53 ± 5.60*▲	17.95 ± 3.52*▲
	14	6.02 ± 1.09*▲	4.24 ± 0.78*▲
NS 组预处理组	7	6.34 ± 0.90*	5.26 ± 0.33*
	14	10.92 ± 1.71*	7.00 ± 0.93*
2 mg/kg APS 组预处理组	7	9.73 ± 1.7*▲	8.27 ± 0.88▲
	14	5.84 ± 0.83*▲	3.57 ± 1.41*▲
8 mg/kg APS 组预处理组	7	9.04 ± 0.75*▲	8.44 ± 1.05▲
	14	5.15 ± 1.08*▲	3.46 ± 0.82*▲

与正常组比较*P<0.05,各 APS 治疗组 与 NS 治疗组比较▲P<0.05;各 APS 预处理组与 NS 预处理组比较▲P<0.05

表 3 APS 对放射损伤小鼠骨髓 BMNC 细胞周期的影响(n=12,$\bar{x}\pm s$)

组别	照射后时间(d)	G_0/G_1 期(%)	G_2/M 期(%)	S 期(%)
正常组		63.96 ± 6.13	7.20 ± 1.64	32.02 ± 6.75
NS 治疗组	7	94.80 ± 1.51*	2.08 ± 1.44*	3.24 ± 0.93*
	14	89.33 ± 2.74*	6.53 ± 4.47	4.38 ± 2.15*
2 mg/kg APS 治疗组	7	83.63 ± 1.56*▲	10.99 ± 4.35▲	5.63 ± 3.98*
	14	74.85 ± 2.24*▲	8.88 ± 0.75	14.77 ± 2.10*▲
8 mg/kg APS 治疗组	7	82.23 ± 3.14*▲	9.77 ± 3.24▲	7.74 ± 2.34*▲
	14	73.57 ± 1.42*▲	10.19 ± 5.21	16.24 ± 5.70*▲
NS 预处理组	7	94.78 ± 2.13*	2.44 ± 0.99*	3.46 ± 1.49*
	14	87.43 ± 4.64*	14.50 ± 2.49*	4.90 ± 1.39*
2 mg/kg APS 预处理组	7	80.63 ± 5.46*▲	13.25 ± 2.86▲	8.40 ± 0.88*▲
	14	71.93 ± 3.77*▲	7.05 ± 1.92*	17.00 ± 2.11*▲
8 mg/kg APS 预处理组	7	78.90 ± 5.27*▲	8.95 ± 0.47▲	10.88 ± 1.87*▲
	14	70.32 ± 6.18*▲	10.21 ± 4.70*	19.94 ± 3.70*▲

与正常组比较*P<0.05,各 APS 治疗组 与 NS 治疗组比较▲P<0.05;各 APS 预处理组与 NS 预处理组比较▲P<0.05

3 讨 论

射线可导致机体发生一系列生物学效应,出现病理、生化和形态学上的变化,其中以造血组织最为敏感。本实验结果显示,两 NS 组小鼠照射后全血各系及 BMNC 细胞数全面下降,与正常组相比有明显差异(P<0.05),提示放射损伤模型建立成功且稳定。造模成功后的 NS 组小鼠表现出现精神萎靡,反应迟钝,皮毛蓬松,少动倦怠,懒食易惊,与传统医学所述血虚、虚损等临床表现相符。

由于外周血中血细胞数量可间接反映骨髓的造血功能,因此,检测辐射后小鼠外周血中血细胞数量的变化可用于评价辐射防护剂的防治作用。本实验结果显示,第 7、14 d 各 NS 组小鼠外周血 WBC、RBC、PLT 和 BMNC 数目急剧下降,各 APS 组均可减少射线导致的外周血各系和 BMNC 的下降幅度,其中 APS 预处理组外周血各系和 BMNC 数目恢复明显快于同时间点同剂量 APS 治疗组,8 mg/kg APS 预处理组恢复最快。

骨髓造血过程局限在骨髓腔内的血管外间隙,由骨髓基质细胞和细胞外基质共同构成造血微环境。在造血干/祖细胞、基质细胞和髓窦内皮细胞表面及骨髓基质内有一系列粘附分子受体/配体,它们之间的相互作用介导了造血微环境对造血的调节[9]。Sca-1 是小鼠造血干细胞的标志分子,它能在多能干细胞上表达,故选用 Sca-1 作为干细胞识别标记。在造血干/祖细胞粘附于内皮层的过程中选择蛋白的作用举足轻重,在这一阶段内皮细胞表面的 E- 选择蛋白的主要配

体是造血干/祖细胞上的 CD44 分子，正是此二者的相互作用介导了这两种细胞间的粘附[10]。CD49d 是介导造血干细胞与骨髓粘附最重要的粘附分子，参与了动员中骨髓造血干细胞的重新分布和归巢过程[11]。Vermeulen 等[12]以粘附分子抗体封闭小鼠干细胞后发现抗 CD44 和抗 CD49d 对 CFU-S 进入骨髓的抑制程度达 77%~86%，而其他粘附分子抗体的抑制作用明显不如前两者，这说明干细胞归巢、增殖、分化依靠 CD44 和 CD49d 的作用。CD44 和 CD49 d 表达的高低，将影响造血细胞与细胞外基质的粘附，从而影响造血干细胞的增殖。本实验中第 7 d NS 组 Sca-1$^+$BMNC CD44 和 CD49 d 表达较正常组显著下降，但第 14 d 较第 7 d 表达显著增加，推断粘附分子表达先下降可促进骨髓中成熟血细胞释放到外周血以补充照射后血细胞的下降，而后表达的上升可能为受照射后骨髓内残存的、具有造血功能的造血细胞在内稳态被破坏后，增强其粘附分子的表达，进而增加造血细胞增殖、分化能力，加速造血功能的恢复。第 7 d 各 APS 治疗组 Sca-1$^+$BMNC CD44 和 CD49d 表达显著增加，而各 APS 预处理组 Sca-1$^+$BMNC CD44 和 CD49d 表达则显著下降，各组第 14 d 较第 7 d 下降更明显，推测 APS 预处理组与 APS 治疗组相比能在更早期促进骨髓造血细胞的增殖与分化，且能更早促进 Sca-1$^+$BMNC 表面 CD44 和 CD49d 的表达下降，从而使其与基质细胞的粘附性降低，以允许成熟的血细胞更快、更容易地进入外周血循环。

机体受到辐射后，射线作用于骨髓造血干/祖细胞，使骨髓幼稚造血细胞受损，细胞增殖功能受阻[13]。本实验可见各 APS 组骨髓细胞增殖活性均高于 NS 组且低于正常组，说明 APS 可减弱辐射对造血微环境和造血细胞的损伤，促进造血细胞的增殖，但各 APS 预处理组与同时间点、同剂量 APS 治疗组相比 BMNC 增殖能力差异不明显。辐射可引起细胞发生恶性转化，也可导致细胞死亡，而另有一些细胞对辐射却产生适应性或抗性，最终长期存活下来，此差异与辐射对细胞周期的影响密切相关。我们的研究表明：辐射损伤后 BMNC 发生 G_0/G_1 期阻滞，第 14 d 时仍未恢复，各 APS 组较 NS 组恢复快，但各 APS 预处理组与同时间点、同剂量 APS 治疗组相比 G_0/G_1 期差异不明显。

综上所述，本实验各 APS 预处理组疗效优于同时间点、同剂量 APS 治疗组可能是通过降低造血干细胞表面的粘附分子的表达，以促使骨髓细胞更早进入外周血循环，这对于放射治疗的肿瘤患者、辐照中心的工作人员以及一些特殊工作中用到射线检查等的工作人员预防辐射损伤具有重要意义。

参 考 文 献

[1] 吴 宏，姜 蓉，王亚平，等.人参多糖和当归多糖诱导人内皮细胞表达造血生长因子的实验研究[J].中国中西医结合杂志，2002，22(9)：687-690.

[2] 李 静，王亚平.当归多糖对骨髓巨噬细胞的影响及其与造血调控的关系[J].中草药，2005，36(1)：69-72.

[3] 华自森，王建伟，宋姝丹，等.当归多糖对 K562 白血病细胞 JAK2、STAT3 表达和活化的影响[J].解剖学杂志，2009，32(1)：8-11.

[4] 宋姝丹，华自森，王亚平，等.当归多糖对 K562 细胞 EpoR 介导的信号转导通路研究[J].生物技术，2009，19(2)：15-18.

[5] 杜小丽，王改琴，吴 宏.当归多糖对小鼠造血细胞表面粘附分子表达的影响[J].重庆医科大学学报，2008，33(3)：274-276.

[6] 王改琴，吴 宏.当归多糖对小鼠骨髓基质细胞粘附分子表达及粘附功能的影响[J].第四军医大学学报，2009，30(1)：53-56.

[7] 洪 艳，刘君炎.当归多糖对放射损伤小鼠红细胞免疫粘附功能和外周血象的影响[J].现代中西医结合杂志，2001，10(8)：708-709.

[8] 胡 晶，吴 宏.当归多糖对小鼠外周血造血干细胞动员作用的研究[J].中草药，2006，37(12)：1835-1838.

[9] Levesque J P，Liu F，Simmons P J，et al.Characterization of hematopoietic progenitor mobilization in protease-deficient mice[J].Blood，2004，104 (1)：65-72.

[10] Dimitroff C J，Lee J Y，Rafii S，et al. CD44 is a major E-selectin ligand on human hematopoietic progenitor cells[J].J Cell Biol，2001，153 (6)：1277-1286.

[11] Kroenweu R，Martin S，Haas R.The role of cytokines and adhesion molecules for mobilization of peripheral blood stem cell[J].Stem cells，2000，18(5)：320-330.

[12] Vermeulen M，Le-Pesteur F，Gagnerault M C，et al . Role of adhesion molecules in the homing and mobi lization of murine hematopoietic stem and progenitor cells[J]. Blood，1998，92(3)：894-900.

[13] Marusyk A，Casás-Selves M，Henry C J，et al. Irradiation alters selection for oncogenic mutations in hematopoietic progenitors[J].Cancer Res，2009，69(18)：7262-7269.

（责任编辑：冉明会）