DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.09.003
第24卷第9期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 9
2002年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2002

文章编号:1000-5404(2002)09-1009-02

论著

螺旋藻多糖对放烧复合伤所致小鼠造血功能抑制的保护作用

郭朝华[1],冉新泽[1],周燕虹[1],张 勇[2],王 劲[3],张成武[4],张媛贞[4],粟永萍[1],高京生[1],罗成基[1] (第三军医大学:[1]预防医学系防原医学教研室、全军复合伤研究所;[2]附属西南医院血液内科;重庆 400038;[3]附属大坪医院血液内科;重庆 400042;[4]南京大学生物系,南京 210000)

提 要:目的 观察螺旋藻多糖(SPP)对放烧复合伤所致造血功能抑制的保护作用。方法 小鼠5 Gy全身照射复合15%Ⅲ度烧伤后5、10、15 d分别取材,作骨髓粒单系、红系造血祖细胞培养,造血干细胞集落测定,以及外周血常规计数等。SPP用量为125 mg·kg^{-1}·d^{-1},ip,伤后连续注射6 d。结果 放烧复合伤后骨髓有核细胞数、粒单系CFU-GM、红系CFU-E、BFU-E及造血干细胞CFU-S集落数均显著低于正常对照组($P<0.01$),但应用SPP后,上述各项指标数值,均比同伤情的不用药组显著提高,尤以伤后10 d恢复最快($P<0.01$)。结论 SPP对放烧复合伤有明显保护和促进造血恢复的作用。

关键词:螺旋藻多糖;放烧复合伤;造血功能
中图法分类号:R644;R818;R979.6 文献标识码:A

Protective effect of spirulina platensis polysaccharide on hemopoiesis in mice with combined radiation—burn injury

GUO Chao-hua, RAN Xin-ze, ZHOU Yan-hong, ZHANG Yong, WANG Jin, ZHANG Cheng-wu, ZHANG Yuan-zhen, SU Yong-ping, GAO Jing-sheng, LUO Cheng-ji (Department of Radiation Medicine, Research Institute of Combined Injury, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract **Objective** To determine the protective effect of spirulina platensis polysaccharide (SPP) on hemopoiesis. **Methods** Mice with the combined injury of 15% Ⅲ° burn and 5 Gy irradiation were employed. SPP 125 mg/kg was intraperitoneally injected for 6 d post injury. CFU-GM, CFU-E, BFU-E and hemopoietic stem cells were cultured to indicate hemopoietic function in 5, 10 and 15 d post injury. Peripheral blood cell count was performed. **Results** CFU-GM, CFU-E, BFU-E and total nucleated cells were significantly lower in mice with the combined injury than control ($P<0.01$). SPP treatment significantly elevated the values of above-mentioned parameters. The most significant recovery was observed on the 10th day post injury. **Conclusion** SPP has the protective effect on hemopoiesis for the combined radiation-burn injury.

Key words: spirulina platensis polysaccharide; combined radiation-burn injury; hemopoiesis

放烧复合伤时,造血功能明显抑制,且存在着造血与免疫系统的双重紊乱[1],因此寻找既可促进造血又能调节免疫功能作用的物质(药物)是尚待研究的课题之一。螺旋藻多糖(Spirulina phatensis polysaccharide, SPP)来源于一种天然无毒的单细胞植物,内含丰富的蛋白质、维生素、矿物质元素及许多能提高机体免疫能力的生物活性物质,且具有抑制癌细胞增殖与抗辐射等作用[2]。作者既往研究证实,SPP具有促进正常小鼠骨髓造血干细胞和粒系祖细胞增殖的作用[3],但对放烧复合伤所致的造血功能抑制的保护效果如何?本实验进行了初步探讨。

1 材料和方法

1.1 药物

SPP由南京大学生物系惠赠,生理盐水配制。SPP精品白色粉末,易溶于水,用硫酸苯酚测定总糖含量为89.3%(其中包括用硫酸咔唑法测得的己糖醛酸含量20.6%)。经薄层层析和气相层析分析,SPP中各单糖组成相对含量为L-鼠李糖24.3%,D-木糖2.8%,D-甘露糖10.1%,D-半乳糖3.6%,D-葡萄糖38.6%和葡萄糖醛酸20.6%,用凝胶过滤柱色谱法测定分子量为21 950。

1.2 动物

健康昆明种小鼠,雌雄不拘,鼠龄8~10周,体重22~24 g,由第三军医大学实验动物中心提供。

1.3 致伤条件

用^{60}Coγ射线一次性全身照射5 Gy,照射距离150 cm,剂量率46.75 cGy/min。照后立即于背部剪毛区涂3%凝固汽油,燃烧7 s,致15%Ⅲ度烧伤(病理切片证实)。致伤后当天及伤后1 d腹腔注射生理盐水1.5 ml/只,以抗休克。

1.4 实验分组及用药方法

小鼠随机分为4组:正常对照组(Control)、正常用药组(N+SPP)、复合伤对照组(Combined injury)、复合伤用药组(C+SPP)。每组各时相点活杀的动物数为5~7只。用药组SPP剂量[3] 125 mg·kg^{-1}·d^{-1},ip连续6 d;对照组同时给等容量生理盐水。首次注射时间为致伤前3 d开始。

1.5 观察指标

1.5.1 外周血细胞 于伤后5、10、15 d断尾取血,检测血红蛋白(Hb),计数白细胞(WBC)和血小板(PLT)。

1.5.2 骨髓有核细胞(BMC)计数及粒-单系造血祖细胞(CFU-GM)和红系造血祖细胞(CFU-E, BFU-E)集落培养,参照文献方

基金项目:全军"九五"医药卫生攻关课题(96L045)
作者简介:郭朝华(1957—),男,湖北省公安县人,实验师,主要从事辐射血液学方面的研究,发表论文20篇。电话:(023)68752278
收稿日期:2001-09-29;修回日期:2001-12-10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

法[4~6]。

1.5.3 造血干细胞(CFU-S)测定 采用外源性脾结节法[2]，受体鼠均为 8 Gy 全致死剂量照射。

1.6 统计学分析

实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，采用 t 检验确定组间差异。

2 结果

2.1 螺旋藻多糖对外周血细胞及骨髓有核细胞数的影响

复合伤后外周血 WBC、PLT 及 BMC 均较正常对照组明显降低($P<0.01$)，而复合伤用药组 WBC、BMC 又明显高于复合伤对照组，Hb、PLT 数则无明显改变($P>0.05$)。表 1 显示正常用药组 BMC 明显高于正常对照组($P<0.01$)，而其它指标与正常对照组相比，均无显著性差异($P>0.05$)。

表 1 螺旋藻多糖对小鼠外周血细胞及骨髓有核细胞数的影响($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Effect of SPP on total nucleated cells of peripherial blood and bone marrow of mice($\bar{x}\pm s$)

Parameter	Time (d)	Control	N+SPP	Combined injury	C+SPP
Hb	5	142.82±10.63	144.93±13.82	158.72±18.13	159.82±21.38
(g/L)	10	139.12±15.46	141.15±10.03	155.25±16.32	146.81±18.25
	15	148.22±11.24	145.29±12.19	148.29±16.21	151.62±12.37
WBC	5	8.42±2.34	8.71±2.23	3.11±1.38△△	3.32±1.42
(1×10^9/L)	10	8.25±2.71	8.39±2.16	4.19±1.12△△	4.66±1.92
	15	8.32±2.65	8.29±2.81	7.12±2.13△△	8.36±2.56*
PLT	5	261.23±46.38	248.6 ±44.65	37.21±12.21△△	35.88±13.65
(1×10^9/L)	10	255.34±51.27	257±47.25	56.21±11.32△△	58.64±12.12
	15	258.37±48.26	253±46.62	241.61±36.21	252.98±37.14
BMC	5	10.16±4.81	13.55±3.78△△	3.81±0.94△△	5.96±0.88**
(1×10^6/bone)	10	10.51±1.69	13.35±1.19△△	5.54±1.25△△	8.94±0.72**
	15	10.46±4.11	13.37±3.55△△	10.12±5.36	10.41±6.28

△: $P<0.05$, △△: $P<0.01$ *vs* Control; *: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* Combined injury

2.2 螺旋藻多糖对小鼠造血祖细胞及造血干细胞数的影响

表 2 显示，伤后 5 和 10 d，复合伤组小鼠造血祖细胞和造血干细胞数均较正常对照组明显降低($P<0.01$)，15 d 虽有所降低，但相差不显著。而无论是正常小鼠或复合伤小鼠，SPP 用药组的 CFU-GM、CFU-E、BFU-E 及 CFU-S 数均高于相应的生理盐水对照组，尤以伤后 5 和 10 d 差别最显著($P<0.01$)。

表 2 螺旋藻多糖对小鼠造血祖细胞及造血干细胞数的影响($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Effect of SPP on hemopoietic progenitor cells and stem cells of mice($\bar{x}\pm s$)

Parameter	Time (d)	Control	N+SPP	Combined injury	C+SPP
CFU-GM	5	101.23±14.62	127.71±15.33△	22.64±5.84△△	29.85±4.63*
(1×10^5BMC)	10	97.15±11.21	126.65±12.28△	31.61±4.52△△	59.74±5.65**
	15	99.29±13.65	130.64±12.51△	96.35±15.26	100.86±12.46
CFU-E	5	95.21±16.32	117.61±18.21△	24.63±6.86△△	38.39±7.29*
(0.5×10^5BMC)	10	98.15±15.17	120.64±13.85△	44.67±10.71△△	78.76±15.45**
	15	98.75±18.21	121.28±11.26△	93.82±19.14	98.13±16.12
BFU-E	5	66.51±6.25	88.62±5.18△	10.76±5.21△△	19.19±6.72*
(0.5×10^5BMC)	10	62.25±7.23	85.81±7.21△	18.12±6.82△△	39.87±8.43**
	15	65.53±7.15	85.49±7.82△	63.12±9.98	65.92±7.17
CFU-S	5	12.85±5.61	15.78±5.27△△	6.51±5.23△△	9.72±4.19**
(1×10^5BMC)	10	13.11±6.82	15.93±4.04△△	8.82±4.81△△	12.67±6.24**
	15	13.15±4.77	15.52±5.15△△	13.49±5.62	13.55±4.63

△: $P<0.05$, △△: $P<0.01$ *vs* Control; *: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* Combined injury

3 讨论

本实验采用 5 Gy 全身照射复合 15% Ⅲ度烧伤模型，结合既往研究[7,8]，判定本模型属重度偏轻放烧复合伤伤情。实验发现 SPP 虽对正常小鼠外周血 Hb、WBC 和 PLT 无明显影响；但对放烧复合伤小鼠 WBC 的恢复有促进作用，尤其能显著提高骨髓 BMC、粒系 CFU-GM 和红系 CFU-E、BFU-E 的数量。提示 SPP 对血细胞生成的影响，主要是作用于造血祖细胞和造血干细胞阶段，对外周血细胞的作用较小，但对处于病理状态的放烧复合伤小鼠血细胞的生成有较大影响。对正常小鼠应用 SPP 时，可明显提高粒系和红系集落的数量；而脾集落计数显示，伤后 5 和 10 d，无论是正常小鼠或者放烧复合伤小鼠，应用 SPP 后 CFU-S 的数量均比相应对照组明显提高；由于本模型属重度偏轻放烧复合伤伤情，伤后 15 d 处于放射病恢复期，应用 SPP 后，CFU-GM、CFU-E 和 BFU-E 等指标的恢复仍快于相应的对照组。这进一步证明 SPP 对放烧复合伤有一定的保护和促进造血恢复的作用，其作用机制可能是通过加强造血干细胞(CFU-S)的更新和向祖细胞分化而实现的，SPP 能促进造血细胞的增殖与分化，参与造血祖细胞和造血干细胞的直接或间接的调控活动，这也可能是 SPP 具有抗辐射作用的主要原因之一。

参考文献：

[1] 罗成基，裴雪涛 主编. 造血微环境-基础与临床[M]. 江苏：世界医药出版社，2001. 146—164.

[2] Pang Q S, Guo B j, Kolman A. Radioprotective effect of extract from spirulina platensis in mouse bone marrow cells studied by using the micronucleus test[J]. Toxicology, 1989, 48(2): 165—169.

[3] 郭朝华，张成武，施 炎，等. 钝顶螺旋藻多糖对正常小鼠骨髓造血干细胞和粒单系祖细胞的影响[J]. 中华血液学杂志，1996, 17(1): 32—33.

[4] 唐佩弦，杨天楹，主编. 造血细胞培养技术[M]. 西安：陕西科技出版社，1985. 97—98.

[5] 刘秀珍. 造血干细胞培养技术实验手册[M]. 北京：北京出版社，1993. 46—49.

[6] 郭朝华，周燕虹，邹仲敏，等. E_{838}对放烧复合体造血功能防护效应的实验观察[J]. 第三军医大学学报，2001, 23(6): 627—629.

[7] 郭朝华，罗成基，孔佩艳，等. 放烧复合伤小鼠骨髓基质细胞对粒-巨噬系祖细胞生长的影响[J]. 中国实验血液学杂志，1999, 7(1): 65—68.

[8] 冉新泽，阎永堂，魏书庆，等. 输不同血液对放烧复合伤大鼠异体植皮后免疫反应的影响[J]. 中华放射医学与防护杂志，1993, 13(3): 182—186.

(编辑 潘式文)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net