

基因与细胞治疗

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.000072

当归多糖对急性辐射损伤小鼠骨髓基质细胞及血管内皮生长因子的影响

陈凤鸣, 关雪晶, 吴 宏, 姜 蓉

(重庆医科大学基础医学院组织胚胎学教研室, 干细胞与组织工程研究室, 重庆 40016)

【摘要】目的:研究当归多糖(angelic polysaccharides, APS)对辐射损伤小鼠骨髓基质细胞(bone marrow stromal cell, BMSC)及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的保护作用。**方法:**直线加速器一次性全身均匀 X 射线(4.0 Gy)照射 BALB/c 小鼠,照射后腹腔注射不同剂量的 APS 或生理盐水,并于照射后第 7、14、21 天处死小鼠,取外周血进行常规检查;观察 BMSC 贴壁情况、细胞 80%贴壁时间;流式细胞仪检测细胞周期和凋亡率;RT-PCR 法检测 VEGF mRNA 的表达水平。**结果:**与正常组相比,辐射第 7、14、21 天外周血白细胞及血小板计数明显减少;BMSC 贴壁细胞数少且折光性差,达 80%贴壁时间明显延长;G0/G1 期细胞比例及细胞凋亡率升高;VEGF mRNA 的表达降低。辐射 APS 高剂量组和辐射 APS 低剂量组均能增加外周血各指标计数,BMSC 贴壁细胞数增多且折光性变好,达 80%贴壁时间缩短,G0/G1 期细胞比例及细胞凋亡率均显著降低,VEGF mRNA 的表达显著增加。**结论:**APS 可能通过增强 VEGF 的表达,提高 BMSC 的增殖能力,减少其凋亡,从而加速机体造血功能的恢复。

【关键词】辐射损伤;当归多糖;血管内皮生长因子;骨髓基质细胞

【中图分类号】R285.5

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-06-25

Effects of angelica polysaccharides on bone marrow vascular endothelial growth factor in acute radiation injured mice

Chen Fengming, Guan Xuejing, Wu Hong, Jiang Rong

(Teaching and Research Section of Histology and Embryology, College of Basic Medicine,
Laboratory of Stem Cell and Tissue Engineering, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To research the protection of angelica polysaccharides (APS) on bone marrow stromal cell (BMSC) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in radiation injured mice. **Methods:** BALB/c mice was irradiated by linear accelerator with one-time X ray (4.0 Gy). Then mice were given different dosages of APS or normal saline by intraperitoneal injection. These mice were killed and the peripheral blood cells were achieved to do routine test at the 7th, 14th, 21st d after the injection. Adherent situation of BMSC was observed and time of 80% adherent BMSC was recorded. Cell cycle and apoptosis ratio were detected by flow cytometry. VEGF mRNA expression of BMSC was detected by RT-PCR assay. **Results:** Compared with those in normal group, numbers of peripheral leukocytes and platelet were decreased significantly, adherent cells of BMSC were fewer and refractivity was poorer, time of 80% adherent BMSC was extended significantly, percentage of G0/G1 phase and apoptosis rate were increased significantly and VEGF mRNA expression was decreased significantly in radiation group at the 7th, 14th, 21st d after the radiation. **Conclusions:** APS may promote the recovery of hematopoietic of mice bone marrow probably by enhancing expression of VEGF mRNA, then increasing proliferation ability of BMSC and reducing its apoptosis.

【Key words】 radiation injury; angelica polysaccharides; vascular endothelial growth factor; bone marrow stromal cell

随着电离辐射应用到工业、生产及医药等越来越多的领域,人们在生产及生活环境中面临着辐射损害的威胁。骨髓基质细胞(bone marrow stromal

作者介绍:陈凤鸣, Email: chfmllove@163.com,

研究方向:中药药理学与干细胞生物学。

通信作者:吴 宏, Email: wuhong6368@126.com。

基金项目:重庆市渝中区科技计划资助项目(编号:20110321)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyxh.000072.html>

cell, BMSC)是一类定居于骨髓、对血细胞发生有支持、调控作用的细胞群体。有研究发现,电离辐射可抑制 BMSC 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达,导致骨髓微环境损伤。当归多糖(angelic polysaccharides, APS)是当归主要水溶性成分,主要是由葡萄糖和半乳糖构成^[1],很多研究发现它对辐射损伤有明显的保护作用,但其

具体作用机制并不十分清楚。本实验通过研究 BMSC 及 VEGF mRNA 的表达水平,来探讨 APS 可能的抗辐射机制。

1 材料与方法

1.1 材料

健康成年 BALB/c 小鼠,雌雄各半,6~8 周龄,体质量 (20 ± 2) g,购自重庆医科大学实验动物中心。APS(当归产地:甘肃岷县)由重庆医科大学药学院药物化学教研室分离、提纯(纯度>950 mg/g)。淋巴细胞分离液(灏洋生物公司)。胎牛血清。DMEM/F12 培养基(Hyclone 公司)。磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒(碧云天生物技术研究所)。RT-PCR 试剂盒(TaKaRa 公司)。所用设备:超净工作台、倒置显微镜、流式细胞仪、离心机、CO₂ 细胞培养恒温箱、电热恒温水浴箱、25 cm² 细胞培养瓶、培养板、梯度 PCR 仪、电泳稳压电源、台式高速低温离心机、垂直凝胶电泳槽、紫外可见分光光度计。

1.2 方法

1.2.1 实验分组 BALB/c 小鼠,180 只,按随机数字法分为 4 组,每组 45 只:正常组(不作任何处理)、辐射组(照射后注射生理盐水)、辐射 APS 低剂量组(照射后注射 2 mg/kg APS)和辐射 APS 高剂量组(照射后注射 8 mg/kg APS),用于各组各时间点外周血检测、BMSC 生长状况及达 80%贴壁时间的观察 6 只,BMSC 细胞周期、细胞凋亡率检测 6 只,VEGF mRNA 检测 3 只,后 3 组小鼠一次性全身均匀照射 X 射线 4.0 Gy^[2],时间 1.33 min,全身吸收剂量率为 3 Gy/min,有效面积为 25 cm × 25 cm,焦点-鼠距为 98 cm。照射后于 2 h 内分别腹腔注射生理盐水、2 mg/kg APS 和 8 mg/kg APS,每次注射剂量按小鼠体质量计算,每天 1 次。采用重复测量实验设计方案,分别于照射后第 7、14、21 天 3 个时间点眼眶取血后处死小鼠,并取其骨髓。

1.2.2 外周血检测指标计数 取眼眶血按常规方法进行白细胞、红细胞、血小板计数。

1.2.3 BMSC 的培养 小鼠颈椎脱臼处死后,无菌条件下分离双侧股骨和胫骨,PBS 冲洗骨髓腔,制成细胞悬液,参照 Dexter^[3]的方法进行 BMSC 的培养。

1.2.4 BMSC 生长状况及达 80%贴壁时间的观察 各组分别于第 7、14、21 天颈椎脱臼处死小鼠,按上述方法调整细胞密度为 5×10^6 个/ml,并以此密度接种于 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,37 °C、50 ml/L CO₂ 常规培养,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 调骨髓细胞密度为 1×10^7 个/ml 接种于 25 cm² 培养瓶,培养 10 d 后,胰酶消化收集 BMSC,预冷 70%乙醇 4 °C 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 °C 水浴箱孵育 30 min,之后加入碘化丙啶染色液(50 μg/ml)反应 30 min(避光),用流式细胞仪检测,Multicycle 软件(日本 PHENIX 公司)分析。

1.2.6 BMSC 细胞凋亡率的检测 胰酶消化收集 BMSC,PBS 充分洗涤,70%冰乙醇固定,置 4 °C 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 °C 保存 30 min,流式细胞仪检测。

1.2.7 半定量 RT-PCR 检测 VEGF mRNA 的表达 (1)BMSC 细胞总 RNA 提取:按照 Trizol 说明书提供的方法提取 BMSC 总 RNA,-80 °C 保存,全程佩戴帽子口罩,勤换手套,注意防止 RNase 的污染。(2)RT 合成 cDNA:按 RT 试剂盒说明书冰上操作,依次加入反应液,逆转录条件为:37 °C 15 min(反转录反应);85 °C 5 s(反转录酶的失活反应)。合成的 cDNA 放在-20 °C 保存。(3)PCR 反应:以 β-actin 作内参照 β-actin 序列(扩增产物长度 600 bp):上游引物:5'-GACCCAGATCAT-GTTTGAGACC-3';下游引物:5'-GCTAGGAGCCAGAGCAG-TAATCT-3';VEGF 序列(扩增产物长度 329 bp):上游引物:5'-CAGTCTTGAGGTGCTGTTGCC-3';下游引物:5'-ACTG-AGCAGGGATAGGTGGTG-3';PCR 反应条件为:预变性:94 °C 5 min;94 °C 变性 30 s,59 °C 复性 30 s,72 °C 延伸 40 s,32 个循环;72 °C 继续延伸 8 min。(4)PCR 产物经 2% 的含 1 μl Gold-view 的琼脂糖凝胶电泳后,凝胶成像系统中扫描分析。

1.3 统计学处理

所有实验数据均经 SPSS 17.0 统计软件进行分析。实验数据均以均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用重复测量设计的方差分析,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 APS 对放射损伤小鼠外周血的影响

外周血各指标分析结果见表 1。对白细胞的影响:统计分析 4 组白细胞水平的差异,差异具有统计学意义($F=1157.566, P=0.000$)。两两比较结果显示认为,与正常组相比,辐射组及辐射 APS 低剂量组白细胞在各个时间点均明显较低,辐射 APS 高剂量组在 7、14 d 较低,但在第 21 天恢复正常;辐射 APS 高剂量组的白细胞在 7 d 与辐射 APS 低剂量组无明显差异,但第 14、21 天辐射 APS 高剂量组白细胞比辐射 APS 低剂量组恢复快。对血小板的影响:统计分析 4 组血小板的差异,差异具有统计学意义($F=373.164, P=0.000$)。两两比较结果显示认为,与正常组相比,辐射组及辐射 APS 低剂量组血小板在各个时间点均明显较低,辐射 APS 高剂量组在 7、14 d 较低,但在第 21 天恢复正常。对红细胞的影响: $F=105.263, P=0.000$,差异具有统计学意义,两两比较结果显示认为,与正常组相比,辐射组及辐射 APS 低剂量组红细胞在各个时间点有所降低,但下降幅度不是很大,辐射 APS 高剂量组在 7、14 d 降低,21 d 恢复正常。

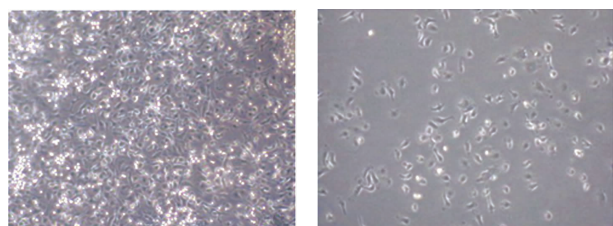
表 1 APS 对辐射损伤小鼠外周血各指标的影响 ($n=5, \bar{x} \pm s$)Tab.1 Effects of APS on peripheral blood cells of radiation injured mice ($n=5, \bar{x} \pm s$)

组别	白细胞 ($\times 10^9$ 个/L)			红细胞 ($\times 10^{12}$ 个/L)			血小板 ($\times 10^9$ 个/L)		
	7 d	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d
正常组	10.20 $\pm$ 0.49	10.39 $\pm$ 0.43	10.20 $\pm$ 0.62	10.85 $\pm$ 0.07	10.82 $\pm$ 0.08	10.86 $\pm$ 0.09	118.50 $\pm$ 84.45	1041.00 $\pm$ 55.29	1065.00 $\pm$ 101.80
辐射组	0.91 $\pm$ 0.13 ^a	2.03 $\pm$ 0.20 ^a	3.68 $\pm$ 0.35 ^a	10.40 $\pm$ 0.23 ^a	10.20 $\pm$ 0.38 ^a	9.54 $\pm$ 0.11 ^a	275.00 $\pm$ 11.24 ^a	337.00 $\pm$ 26.88 ^a	578.00 $\pm$ 36.11 ^a
辐射 APS 低剂量组	1.93 $\pm$ 0.24 ^{ab}	3.58 $\pm$ 0.31 ^{ab}	6.99 $\pm$ 0.61 ^{ab}	9.76 $\pm$ 0.06 ^a	9.20 $\pm$ 0.08 ^a	10.42 $\pm$ 0.26 ^a	422.33 $\pm$ 31.96 ^{ab}	554.33 $\pm$ 27.14 ^{ab}	867.50 $\pm$ 36.75 ^{ab}
辐射 APS 高剂量组	2.26 $\pm$ 0.33 ^{ab}	4.21 $\pm$ 0.57 ^{abc}	10.08 $\pm$ 0.43 ^{bc}	9.69 $\pm$ 0.03 ^a	10.34 $\pm$ 0.07 ^a	10.70 $\pm$ 0.18	443.83 $\pm$ 33.60 ^{ab}	588.00 $\pm$ 19.32 ^{ab}	1092.83 $\pm$ 69.80 ^{bc}
$F_{\text{处理值}}, P$ 值	$F=157.566, P=0.000$			$F=105.263, P=0.000$			$F=373.164, P=0.000$		
$F_{\text{时间值}}, P$ 值	$F=420.509, P=0.000$			$F=20.306, P=0.000$			$F=260.792, P=0.000$		
$F_{\text{处理与时间交互值}}, P$ 值	$F=79.701, P=0.000$			$F=44.629, P=0.000$			$F=46.893, P=0.000$		

注: a, 与正常组相比, $P < 0.05$; b, 与辐射组相比, $P < 0.05$; c, 与辐射 APS 低剂量组相比, $P < 0.05$

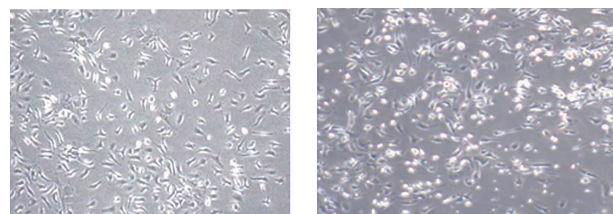
2.2 BMSC 生长状况及达 80%贴壁时间的观察

正常组在培养的第 5~6 天细胞全部贴壁, 梭形为主, 细胞胞质丰富, 折光性好, 第 8~10 天开始形成小集落。辐射组在培养的前 5 d 细胞多呈圆形且胞体较小, 贴壁细胞数少, 少部分细胞胞质崩解, 折光性差, 在第 2 周时形成少量集落。第 7、14 天 APS 各剂量组在培养的前 5 d 细胞仍多以圆形为主, 但随着时间的延长, 贴壁细胞数较同时间点辐射组增多且以梭形细胞为主; 第 21 天 APS 各剂量组细胞形态和贴壁情况均恢复正常(图 1)。



A. 正常组 BMSC 培养第 10 天
(未染色, 100 $\times$)

B. 第 7 天辐射组 BMSC 培养
第 10 天(未染色, 100 $\times$)



C. 第 7 天辐射 APS 低剂量组
BMSC 培养第 10 天
(未染色, 100 $\times$)

D. 第 7 天辐射 APS 高剂量组
BMSC 培养第 10 天
(未染色, 100 $\times$)

图 1 APS 对放射损伤小鼠 BMSC 生长状况的影响

Fig.1 Effects of APS on BMSC growth condition of radiation injured mice

80%贴壁时间分析结果见表 2, 统计分析 4 组贴壁时间, 差异具有统计学意义($F=197.902, P=0.000$)。两两比较结果认为, 照射后各时间点辐射组 BMSC 比正常组贴壁时间明显延长, 同一时间点 APS 组比辐射组贴壁时间缩短, 但 APS

组不同浓度之间差异并不明显, 第 21 天 APS 组已恢复正常贴壁能力, 与正常组无明显差异。

表 2 各组小鼠达 80%贴壁时间的比较 ($n=6, \bar{x} \pm s, d$)Tab.2 Comparison on time of 80% adherent BMSC in each group ($n=6, \bar{x} \pm s, d$)

组别	7	14	21
正常组	5.33 $\pm$ 0.51	5.08 $\pm$ 0.38	5.25 $\pm$ 0.52
辐射组	13.33 $\pm$ 0.51 ^a	10.33 $\pm$ 0.52 ^a	7.16 $\pm$ 0.40 ^a
辐射 APS 低剂量组	11.50 $\pm$ 0.54 ^{ab}	8.33 $\pm$ 0.52 ^{ab}	5.67 $\pm$ 0.51 ^b
辐射 APS 高剂量组	11.00 $\pm$ 0.63 ^{ab}	8.16 $\pm$ 0.41 ^{ab}	5.50 $\pm$ 0.54 ^b
$F_{\text{处理值}}, P$ 值	$F=197.902, P=0.000$		
$F_{\text{时间值}}, P$ 值	$F=664.628, P=0.000$		
$F_{\text{处理与时间交互值}}, P$ 值	$F=69.907, P=0.000$		

注: a, 与正常组相比, $P < 0.05$; b, 与辐射组相比, $P < 0.05$

2.3 APS 对放射损伤小鼠 BMSC 细胞周期及凋亡率的影响

周期分析结果见表 3, 统计分析 4 组细胞周期, 差异具有统计学意义($F=55.070, P=0.000$)。两两比较结果认为, 与正常组相比, 辐射组 BMSC 停滞在 G0/G1 期, 随时间变化 G0/G1 期细胞比例呈由高到低的变化, 在第 21 天仍未恢复正常。14、21 d 辐射 APS 高剂量组较辐射 APS 低剂量组和辐射组 G0/G1 期细胞比例明显下降, 21 d 辐射 APS 高剂量组 G0/G1 期细胞比例恢复正常。

凋亡分析结果见表 3, 统计分析 4 组凋亡率, 差异具有统计学意义($F=681.885, P=0.000$)。两两比较结果认为, 与正常组相比, 辐射组的凋亡率明显增高。而同一时间点 APS 组较辐射组细胞凋亡明显减少且 APS 组间无明显差异, 21 d APS 组细胞凋亡已恢复至正常水平。

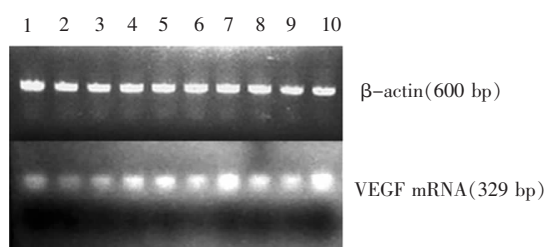
2.4 APS 对放射损伤小鼠 BMSC VEGF mRNA 表达的影响

4 组 VEGF mRNA 的表达见图 2, 统计分析 4 组 VEGF mRNA 表达水平, 差异具有统计学意义($F=4.831, P=0.033$)。两两比较结果认为照射后的辐射组 BMSC VEGF mRNA 在各时间点均较正常组明显降低, 同一时间点 APS 组 VEGF mRNA 均明显高于辐射组, 辐射 APS 高剂量组与辐射 APS 低剂量组之间差异不明显, 第 21 天 APS 组已恢复至正常(图 2、图 3)。

表 3 各组小鼠 BMSC 细胞周期及细胞凋亡率的比较 ($n=6, \bar{x} \pm s$)Tab.3 Comparison on BMSC cell cycle and apoptosis rate in each group ($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	G0/G1 期 (%)			凋亡率 (%)		
	7 d	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d
正常组	79.20 $\pm$ 0.89	78.43 $\pm$ 0.70	79.10 $\pm$ 0.82	3.79 $\pm$ 0.51	4.73 $\pm$ 0.42	3.99 $\pm$ 0.64
辐射组	93.02 $\pm$ 0.41 ^a	92.86 $\pm$ 0.46 ^a	91.03 $\pm$ 0.32 ^a	17.69 $\pm$ 1.09 ^a	12.45 $\pm$ 0.97 ^a	6.58 $\pm$ 0.54 ^a
辐射 APS 低剂量组	92.92 $\pm$ 0.23 ^a	92.39 $\pm$ 0.43 ^a	87.75 $\pm$ 0.45 ^{ab}	15.22 $\pm$ 0.45 ^{ab}	9.03 $\pm$ 0.61 ^{ab}	3.95 $\pm$ 0.64 ^b
辐射 APS 高剂量组	92.64 $\pm$ 0.44 ^a	90.48 $\pm$ 0.71 ^{abc}	78.86 $\pm$ 0.76 ^{bc}	15.06 $\pm$ 0.41 ^{ab}	8.64 $\pm$ 0.53 ^{ab}	3.83 $\pm$ 0.63 ^b
$F_{\text{处理值}}, P$ 值	$F=55.070, P=0.000$			$F=683.773, P=0.000$		
$F_{\text{时间值}}, P$ 值	$F=12.308, P=0.002$			$F=858.314, P=0.000$		
$F_{\text{处理与时间交互值}}, P$ 值	$F=4.152, P=0.019$			$F=102.380, P=0.000$		

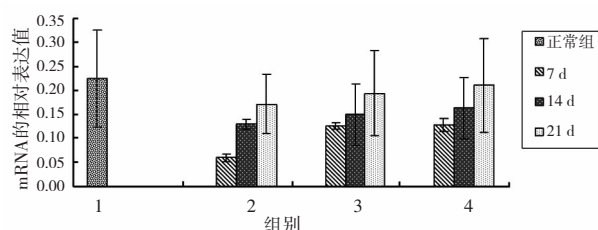
注: a, 与正常组相比, $P < 0.05$; b, 与辐射组相比, $P < 0.05$; c, 与辐射 APS 低剂量组相比, $P < 0.05$



1. 正常组; 2. 7 d 辐射组; 3. 7 d 辐射 APS 低剂量组; 4. 7 d 辐射 APS 高剂量组; 5. 14 d 辐射组; 6. 14 d 辐射 APS 低剂量组; 7. 14 d 辐射 APS 高剂量组; 8. 21 d 辐射组; 9. 21 d 辐射 APS 低剂量组; 10. 21 d 辐射 APS 高剂量组

图 2 各组 BMSC VEGF mRNA 凝胶电泳图

Fig.2 Electrophoresis of VEGF mRNA expression of BMSC in each group



1. 正常组; 2. 辐射组; 3. 辐射 APS 低剂量组; 4. 辐射 APS 高剂量组

图 3 APS 对辐射损伤小鼠 BMSC VEGF mRNA 表达的影响

Fig.3 Effects of APS on VEGF mRNA expression of BMSC in radiation injured mice

3 讨 论

APS 是我国传统中药当归的主要水溶性成分, 主要包括葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖、木糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸等。研究发现, APS 由 APS-1、APS-2、APS-3 3 种亚组分组成, 其中 APS-1、APS-2、APS-3 由不同分子量的多糖组成, 其分子量的范围在 $5.1 \times 10^3 \sim 7.4 \times 10^5$ D 之间不等。研究发现, APS 有较好的

抗肿瘤的作用, 可增强机体免疫系统的功能, 对造血系统也有良好的作用。近年来研究发现, 其对抗辐射损伤有积极的作用^[4-5], 但其具体的抗辐射机制并不十分清楚, 本实验通过 BMSC 及 VEGF 的水平, 来探讨其可能的抗辐射机制。

射线可导致机体各个系统的损伤, 其中尤以骨髓造血系统最为敏感。而射线对造血系统的损伤主要表现为造血功能的破坏和抑制。本实验结果显示: 与正常组相比, 照射后第 7、14、21 天的辐射组白细胞、血小板均显著下降, 红细胞下降幅度不大, 提示放射损伤小鼠的模型建立成功。与同时时间点的辐射组相比较, APS 各组外周血指标恢复速度快, 在 21 d 时 APS 高剂量组已恢复正常, 均提示 APS 有明显的抗辐射作用, 其促进造血功能的恢复, 与以往的研究结果一致^[4-8]。

造血微环境是由 BMSC、细胞因子及微血管系统组成, 是造血干细胞赖以生存的场所。其中 BMSC 又包含血管内皮细胞、成纤维细胞、巨噬细胞等等, 是造血微环境中重要的组成部分之一, 它通过与造血细胞密切接触, 分泌多种细胞因子和细胞外基质调控机体造血, 其结构和功能的完整性对于稳定机体正常造血尤其是应激状态下的造血有着举足轻重的作用。而辐射在影响骨髓造血干细胞的同时, 也可损伤造血微环境, 尤其是 BMSC。研究报道 BMSC 只有贴壁后才有增殖能力^[9]。本研究结果显示, 与正常组相比较, 辐射组的 BMSC 悬浮多呈圆形, 达 80% 的贴壁时间明显延长; 而与辐射组相比较, 相同时间点的 APS 组的 BMSC 贴壁数增多, 达 80% 的贴壁时间明显缩短, 21 d 时 APS 组已与正常小鼠无明显差异。细胞周期是测定细胞增殖动力学一种经典的方法, 本研究结果显示, 与正常组相比较, BMSC 停滞

在 G0/G1 期,周期受阻,细胞增殖能力减低,凋亡率升高。而与辐射组相比较,APS 组周期受阻程度降低,BMSC 细胞增殖能力加强,细胞凋亡率降低,以上结果提示辐射可使 BMSC 的增殖能力减低,凋亡率升高,导致骨髓造血微环境的损害,而 APS 可提高 BMSC 的增殖能力,降低凋亡率,加速造血微环境的恢复。

VEGF 是内皮细胞分泌的一种具有高度生物活性的功能性细胞因子。首先,VEGF 主要作用于血管内皮细胞,参与内皮细胞的增殖和迁移过程,刺激血管的生成,进而维持造血微环境的稳定;其次,VEGF 可促进内皮细胞分泌造血刺激因子^[10],它与其它细胞因子一起组成造血调控网络,以自分泌或旁分泌的形式参加造血调控过程^[11],促进血细胞的发生;第三,VEGF 可降低放射损伤引起的细胞凋亡以及增强 DNA 的修复,有研究表明:VEGF 可抑制由化疗和放疗引起的造血细胞凋亡,主要通过诱导抗凋亡基因 MCL1 和 ZK7 的表达实现^[12]。体内外研究证明^[13-14],辐射可降低血管内皮细胞的分化和发育能力,引起内皮细胞功能障碍,导致血管硬化,进而导致造血微环境的破坏;同时,电离辐射还可直接抑制 BMSC VEGF 的表达,二者均使造血干细胞失去了微血管系统的营养支持作用,从而损害造血系统。本实验的研究结果显示,与正常组相比,辐射组各个时间点的 BMSC VEGF mRNA 的表达降低,与辐射组相比,APS 组 VEGF mRNA 的表达明显增高,至第 21 天 APS 组已恢复正常。这一结果与 BMSC 的增殖能力和细胞凋亡率结果一致。由此可推测 APS 可增强辐射后 BMSC VEGF mRNA 的表达,进而抑制细胞凋亡,促进 BMSC 的增生,从而加快机体造血功能的恢复。这可能是由于 VEGF 促进血管内皮细胞增殖,骨髓内形成新生血管,恢复血供,为造血干/祖细胞增殖、分化、成熟提供营养,使得骨髓恢复正常造血功能。

参 考 文 献

- [1] 温悦,傅正毅,赖艳,等.当归多糖的药理作用研究进展[J].中国医药导报,2012,9(30):27-29.
- [2] Marusyk A, Casús-Selves M, Henry CJ, et al. Irradiation alters selection for oncogenic mutations in hematopoietic progenitors[J]. Cancer Res, 2009, 69(18):7262-7269.
- [3] Dexter TM. Stromal cell associated haemopoiesis[J]. J Cell Physiol Suppl, 1982, 1:87-94.
- [4] 何晓莉,张雁,吴宏,等.当归多糖对辐射损伤小鼠造血系统保护作用的研究[J].重庆医学,2012,41(35):3734-3736.
- [5] 聂小燕,陈青,李祝.当归多糖药理活性研究新进展[J].现代农业科学,2008,15(10):36-37.
- [6] 王改琴,贾书花,吴宏.当归多糖对小鼠骨髓基质细胞增殖、细胞周期及细胞凋亡的影响[J].四川解剖学杂志,2009,17(1):6-8.
- [7] 张雁,吴宏,关雪晶,等.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[J].重庆医科大学学报,2010,35(7):965-969.
- [8] 张雁,关雪晶,吴宏,等.当归多糖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].中国组织化学与细胞化学杂志,2010,19(6):587-592.
- [9] 关雪晶,吴宏,何晓莉,等.当归多糖对辐射损伤小鼠骨髓基质细胞的影响[J].第三军医大学学报,2012,35(8):779-782.
- [10] Bautz F, Rafii S, Kanz L, et al. Expression and secretion of vascular endothelial growth factor-A by cytokine-stimulated hematopoietic progenitor cells. Possible role in the hematopoietic microenvironment[J]. Exp Hematol, 2000, 28(6):700-706.
- [11] Gerber HP, Ferrara N. The role of VEGF in normal and neoplastic hematopoiesis[J]. J Mol Med (Berl), 2003, 81(1):20-31.
- [12] Kuramoto K, Uesaka T, Kimura A, et al. ZK7, a novel zinc finger gene, is induced by vascular endothelial growth factor and inhibits apoptotic death in hematopoietic cells[J]. Cancer Res, 2000, 60(2):425-430.
- [13] Soucy KG, Attarzadeh DO, Ramachandran R, et al. Single exposure to radiation produces early anti-angiogenic effects in mouse aorta[J]. Radiat Environ Biophys, 2010, 49(3):397-404.
- [14] Soucy KG, Lim HK, Benjo A, et al. Single exposure gamma-irradiation amplifies xanthine oxidase activity and induces endothelial dysfunction in rat aorta[J]. Radiat Environ Biophys, 2007, 46(2):179-186.

(责任编辑:关蕴良)