

牛膝精对辐照小鼠造血干细胞和红系造血祖细胞的影响

全宏勋¹, 张宇明², 马素好¹, 冯向功¹, 邓爱民¹, 张海林¹

中图分类号: R811.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-714X(2011)02-0144-02

【摘要】 目的 探讨牛膝精(ABE)对辐照小鼠造血干细胞(以CFU-S表示)和早期红系造血祖细胞[以红系爆式集落形成单位(BFU-E)表示]和晚期红系造血祖细胞[以晚期红系集落形成单位(CFU-E)表示]的影响。方法 采用脾集落形成和造血祖细胞培养技术,观察了牛膝精对辐照小鼠脾重、造血干细胞、早期红系造血祖细胞和晚期红系造血祖细胞的影响。结果 该药能使受照鼠脾重及脾集落数明显提高,但不能刺激早、晚期红系造血祖细胞的活性。结论 牛膝精能刺激造血干细胞的增殖,但对其向红系分化无明显影响。

【关键词】 牛膝精; 造血干细胞; 早期红系造血祖细胞; 晚期红系造血祖细胞; 辐照小鼠

Effects of Extract of *Achynanthis Bidentatae* on CFU-S and Hemopoiesis of BFU-E, CFU-E in Irradiated Mice. QUAN Hong-xun, ZHANG Yu-ming, MA Su-hao, et al. *Zhengzhou Shu Qing Medical College, Zhengzhou 450064 China.*

【Abstract】 Objective To study the Extract of *Achynanthis Bidentatae* (ABE) on colony forming unit-spleen (CFU-S) and hemopoiesis of burst forming unit-erythroid (BFU-E), colony forming unit-erythroid (CFU-E) in irradiated mice. **Methods** Using techniques of CFU-S and cell culture of hemopoietic progenitors in vitro, the authors observed the effects of ABE on weight of spleen, CFU-S, BFU-E and CFU-E. **Results** It is shown the weight of spleen and the number of CFU-S was increased, but there was no stimulation activity on BFU-E and CFU-E. **Conclusion** ABE may stimulate the proliferation of CFU-S, but there was no effect on differentiation of BFU-E and CFU-E.

【Key words】 Extract of *Achynanthis Bidentatae* (ABE); colony forming unit-spleen (CFU-S); burst forming unit-erythroid (BFU-E); colony forming unit-erythroid (CFU-E); Irradiated mouse

我们以往的实验曾证实牛膝精能明显地提高辐照小鼠外周血白细胞(white blood cell, WBC)和骨髓有核细胞(bone marrow cell, BMC)总数,促进骨髓细胞的分裂和粒-单系造血祖细胞(colony forming unit-granulocyte/macrophage, CFU-GM)的增殖与分化^[1]。然而,它能否对因辐照而导致骨髓损伤小鼠的造血干细胞和红系造血功能产生同样的作用?而后,我们采用造血干细胞移植和红系祖细胞体外培养技术就此进行了一系列的观察,现将我们的实验结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 动物 昆明种小鼠,鼠龄8~12周,体重(20±3)g,由河南省实验动物中心提供。

1.2 牛膝精 上海隆海科技实业公司提供,纯度为80%,用前以RIPM1640培养液稀释成50mg/L、100mg/L、200mg/L的浓度,每种浓度均用0.5N的NaOH调正pH值至7.0,超微滤器正压过滤除菌,4℃存放待用。

1.3 骨髓有核细胞的制备 颈椎脱臼处死小鼠,取双侧股骨,以1640培养液冲出骨髓细胞,经反复冲打后,以4#针头滤过成单细胞悬液,计数并调正细胞至所需浓度。

1.4 不同浓度的牛膝精对多向干细胞(colony forming unit-spleen CFU-S)和脾重的影响 给经⁶⁰Co γ 射线8.0Gy致死量照射(吸收剂量率0.78Gy/min)的小鼠尾静脉输注4×10⁴个BMC(单纯BMC组,或称对照组)或输注4×10⁴个BMC加不同浓度的牛膝精。输后9d,杀鼠取脾,称重,Boin液固定,计表面脾结节数。

1.5 不同浓度的牛膝精对早期红系造血祖细胞(burst forming unit-erythroid, BFU-E)和脾重的影响 采用我室改良方法^[2]在早期红系培养体系中加入不同浓度的牛膝精,置37℃,体积分数为5%的CO₂培养箱内培养7d,经二甲苯联苯胺染色

后倒置显微镜下计BFU-E数,并与不加牛膝精(对照组)比较。每组各设15个培养皿作平行对照。

1.6 不同浓度的牛膝精对晚期红系造血祖细胞(colony forming unit-erythroid, CFU-E)的影响 在晚期红系培养体系中加入不同浓度的牛膝精,置37℃,体积分数为5%的CO₂培养箱内培养3d,经二甲苯联苯胺染色后倒置显微镜下计CFU-E数,并与不加牛膝精(对照组)比较。每组也各设15个培养皿作平行对照。

1.7 统计学处理 采用SPSS10.0行单因素方差分析及 q 检验。

2 结果

2.1 牛膝精对CFU-S和脾重的影响 结果见表1。培养体系中加入3个剂量牛膝精组的用药组其脾结节数和脾重均明显高于单纯BMC组,但用药组组间无明显差异。表明一定浓度的牛膝精可促进CFU-S的增殖,相应也使其脾重增加。

表1 牛膝精对CFU-S和脾重的影响

组别	动物数(只)	CFU-S数(个/脾)	脾重(g)
对照组	18	8.9±1.0	0.11±0.01
50 mg/L组	22	13.6±1.1 ¹⁾	0.15±0.02 ¹⁾
100mg/L组	20	13.0±0.9 ¹⁾	0.15±0.01 ¹⁾
100mg/L组	20	13.1±1.1 ¹⁾	0.16±0.01 ¹⁾

注:1) 与对照组比较 $P < 0.01$ 。

2.2 牛膝精对BFU-E和CFU-E的影响 3个不同浓度的牛膝精均未见它们对集落产率有明显影响。结果详见表2。

3 讨论

血细胞发生是指由原始的造血干细胞(多向性干细胞)不断分化成外周血成熟细胞的过程。该过程主要包含造血干细胞(多向干细胞)、造血祖细胞(定向干细胞)、形态可识别的造血前体细胞和外周血成熟细胞四个阶段。本实验的结果显示,牛膝精能刺激造血干细胞的增殖,表现为脾集落数和脾重的增

作者单位:1 郑州澍青医学高等专科学校,河南 郑州 450064;2 河南职工医学院

作者简介:全宏勋,男,教授,医学硕士,研究方向:血细胞发生与调控。

加(与正常对照组比较, $P < 0.01$) 推测可能与它促进静止期(G_0 期)的干细胞向增殖期(G_1 期)干细胞转化有关。增殖后的造血干细胞将进一步分化为造血祖细胞(包括红系造血祖细胞、粒-单系造血祖细胞及巨核系造血祖细胞)。然而本实验的结果并未显示牛膝精能促进造血干细胞向红系造血祖细胞分化的迹象。因为无论是早期红系造血祖细胞或晚期红系造血祖细胞的集落产率均无明显改变(与正常对照比较, $P > 0.05$)。

表 2 牛膝精对 BFU-E 和 CFU-E 的影响

组别	样本数(皿)	BFU-E 集落数 (个/皿)	CFU-E 集落数 (个/皿)
对照组	15	3.2 ± 0.3	42.7 ± 4.7
50 mg/L 组	15	3.2 ± 0.4 ¹⁾	42.9 ± 5.1 ¹⁾
100mg/L 组	15	3.2 ± 0.2 ¹⁾	40.0 ± 4.6 ¹⁾
200mg/L 组	15	3.0 ± 0.3 ¹⁾	41.8 ± 4.4 ¹⁾

注:1) 与对照组比较 $P < 0.01$ 。

有文献报道^[3] 在造血干细胞向造血祖细胞分化的过程中存在竞争抑制现象,即造血干细胞向各系造血祖细胞的分化并不均衡,当它向某系祖细胞分化占优势时,就可能抑制它向另外一些系祖细胞的分化。前期我们报道过的牛膝精能促进造血干细胞向粒-单系造血祖细胞的分化是否就是这一推测的体现,尚待进一步的实验证实。

参考文献:

- [1] 邹丹,张宇明,全宏勋.牛膝对辐照小鼠粒-单系造血功能的影响[J].中国辐射卫生,2008,17(4):407-408.
- [2] 付莉,张宇明,刘建峰,等.不同部位的巨噬细胞对小鼠红系血细胞发生的影响[J].郑州大学学报,2009,44(5):974-976.
- [3] Metcalf D, Nicola NA. Proliferative effects of Purified granulocyte colony-stimulating factors (G-CSF) on normal mouse hemopoietic cells[J]. J cell Physiol. 1983, 116: 198.

(收稿日期:2010-09-25)

(上接第 143 页)

参考文献:

- [1] Nikezic D, Novakovic B, Yu KN. Absorbed fraction of radon progeny in human bronchial airways with bifurcation geometry [J]. Int J Radiat Biol, 2003, 79 (3): 175-180.
- [2] Nikezic D, Lau BMF, Stevanovic, et al. Absorbed dose in target cell nuclei and dose conversion coefficient of radon progeny in the human lung [J]. J Environ Radioact, 2006, 89 (1): 18-29.
- [3] Groves-Kirkby CJ, Denman AR, Phillips PS, et al. Radon mitigation in domestic properties and its health implications - a comparison between during-construction and post-construction radon reduction [J]. Environ Int, 2006, 32 (4): 435-443.
- [4] Samet JM. Residential radon and lung cancer: end of the story? [J] J Toxicol Environ Health A, 2006, 69 (7): 527-531.
- [5] Taeger D, Krahn U, Wiethage T, et al. A study on lung cancer mortality related to radon, quartz, and arsenic exposures in German uranium miners [J]. J Toxicol Environ Health A, 2008, 71(13-14): 859-865.
- [6] 朴春南,田梅,刘建香,等.氡诱发小鼠肺损伤与 p53 和 Bcl

- 2, Bax 蛋白表达的研究 [J]. 中华放射医学与防护杂志, 2009, 29(2): 195-198.
- [7] 傅强. 放射性核素¹⁴⁷Pm 诱发 Molt-4 细胞和 Ana-1 细胞凋亡 [J]. 中华放射医学与防护杂志, 1998, 18(2): 92-96.
- [8] 朱寿彭. 电镜形态和 DNA 断裂研究¹⁵³Sm 内照射诱发骨肉瘤细胞凋亡 [J]. 中华放射医学与防护杂志, 1998, 18(2): 98-100.
- [9] Laperle KM, Blomme EA, Sagartz JE, et al. Epididymal cribriform hyperplasia with nuclear atypia in p53 homozygous knockout mice on a mixed 129/SV-FVB/N background [J]. Comp Med, 2002, 52(6): 568-571.
- [10] Yu X, Kubota H, Wang R, et al. Involvement of Bcl-2 family genes and Fas signaling system in primary and secondary male germ cell apoptosis induced by 2-bromopropane in rat [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2001, 184(1): 35-48.
- [11] 苏旭,张迎春,万虹,等.低剂量辐射对小鼠胸腺细胞成熟、分化、凋亡和激活的影响 [J]. 中华放射医学与防护杂志, 1997, 17(3): 162-165.
- [12] 苏旭,万虹,刘树铮. p53 和 bcl-2/bax 在辐射诱导胸腺细胞凋亡中的作用 [J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 1997, 15(2): 119-122.

(收稿日期:2010-12-02)

论文中法定计量单位的书写要求

本刊法定计量单位实行国务院 1984 年 2 月颁布的《中华人民共和国法定计量单位》,并以单位符号表示。具体使用参照 1991 年中华医学会编辑出版部编辑的《法定计量单位在医学上的应用》一书。正文中时间的表达,凡前面带有具体数据者应用 d、h、min、s,而不用天、小时、分钟、秒。注意单位名称与单位符号不可混合使用,如 $\text{ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{天}^{-1}$ 应改为 $\text{ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$; 组合单位符号中表示相除的斜线多于 1 条时应采用负数幂的形式表示,如 $\text{ng}/\text{kg}/\text{min}$ 应采用 $\text{ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 的形式; 组合单位中斜线和负数幂亦不可混用,如前例不宜采用 $\text{ng}/\text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 的形式。在叙述中,应先列出法定计量单位数值,括号内写旧制单位数值; 但如同一计量单位反复出现,可在首次出现时注出法定计量单位与旧制单位的换算系数,然后只列法定计量单位数值。