

文章编号: 1007-4627(2012)03-0285-05

酵母 β -葡聚糖对 C 离子辐射损伤小鼠免疫系统 的防护作用

王颖^{1,2}, 陆栋², 魏巍², 荆西刚², 王菊芳², 李文建²

(1. 兰州大学, 甘肃 兰州 730000;

2. 中国科学院近代物理研究所, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 用 $^{12}C^{6+}$ 离子束对小鼠进行一次性全身辐照, 检测不同剂量的酵母 β -葡聚糖对 $^{12}C^{6+}$ 辐射损伤小鼠免疫系统的防护作用。辐照后观察小鼠的体重、毛色及行为变化, 照后第 2 天和第 7 天检测小鼠外周血中白细胞含量, 照后第 8 天检测小鼠胸腺和脾脏内 SOD, GSH-PX 活性和 MDA 含量。实验结果表明, 给予酵母 β -葡聚糖能减缓辐照引起的小鼠体重急剧下降, 增加小鼠外周血中白细胞含量, 不同程度地恢复胸腺和脾脏 SOD 和 GSH-PX 活性, 降低胸腺和脾脏 MDA 含量。表明酵母 β -葡聚糖对 $^{12}C^{6+}$ 引起的小鼠辐射损伤具有防护作用。

关键词: 酵母 β -葡聚糖; $^{12}C^{6+}$ 离子; 辐射防护

中图分类号: Q345+.7 **文献标志码:** A

1 引言

大量的研究表明, 从自然界提取的大部分多糖具有显著的免疫调节作用, 且具有来源广泛、毒副作用低、无致癌作用、安全性高和免疫增强功能广泛等优点, 是理想的免疫增强剂。1957 年, Benacerarf 和 Sebestyn 发现静脉注射来自酵母细胞壁的 zymysno(酵母聚糖), 可提高巨噬细胞的吞噬活性, 诱导肝、肺和脾脏中巨噬细胞的增殖^[1]。1961 年, Riggi 最终确证其中的活性成分为 β -葡聚糖, 这是第一个被发现具有免疫活性的 β -葡聚糖, 它开创了葡聚糖作为免疫活性物质研究的新纪元^[2]。随着研究的不断深入, 进一步发现酵母 β -葡聚糖具有消炎、抗肿瘤、抗病毒、抗辐射和增强机体免疫功能等生物活性, 是一种具有活性强、毒副作用低的高效生物应答物 (Biological Response Modifiers, 简称 BRMS)^[3-7]。动物试验表明, 用酵母 β -葡聚糖治疗, 有助于辐照后的恢复, 改善骨髓和脾的功能。Ross 曾报道酵母聚糖能减轻受照动物的辐射损伤。Pathchen 等的研究表明, 水溶性葡聚糖能够增强由 ^{60}Co 诱导辐射损伤的快速痊愈。用 β -(1, 3)-D 葡

聚糖治疗经辐射的小鼠, 可以增强小鼠恢复的能力, 并能够提高骨髓活力使白细胞数量增加, 同时增强脾脏能力^[8-10]。此外, β -葡聚糖还具有良好的持水性、保温、成膜和无刺激性等性质, 能广泛应用于医药、食品、化妆品以及建筑等行业之中, 是当前研究的最多的一类活性多糖^[11]。但酵母 β -葡聚糖对重离子辐射损伤是否有明显的预防作用也是值得研究的。

自由基可损伤细胞, 正常情况下, 体内存在的抗氧化体系可消除多余的自由基, 以维持机体的正常生理作用。而强电离辐射通过直接和间接作用产生大量自由基, 不能被完全清除, 就会对机体产生氧化损伤。SOD 是组织细胞内主要的抗氧化酶, SOD 活性的高低反映了组织细胞清除 O_2^- 的能力。GSH-PX 是机体内广泛存在的一种重要的催化过氧化氢分解的酶。它特异性地催化还原型谷胱甘肽对过氧化氢的还原反应, 可以起到保护细胞膜结构和功能完整的作用。链式反应的终产物 MDA 有很强的细胞毒性, 可引起蛋白质在分子内和分子间交联, 使多种酶失活。MDA 的含量可以反映组织细

收稿日期: 2011-12-20; 修改日期: 2012-03-08

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KJXC2-EW-N05-3); 甘肃省自然科学基金资助项目(1107RJZA270)

作者简介: 王颖(1985—), 女, 河北保定人, 硕士, 从事辐射生物学研究; E-mail: wying09@impcas.ac.cn

通信作者: 李文建, E-mail: wjli@impcas.ac.cn

胞脂质过氧化的程度^[12-14]。辐射对胸腺和脾脏的影响会直接影响到机体的免疫状态。实验采用小鼠为研究对象,用¹²C⁶⁺离子进行辐照,通过检测辐照后小鼠的表观变化,外周血白细胞数变化,及体内的SOD, GSH-PX和MDA的变化,以研究酵母 β -葡聚糖对¹²C⁶⁺离子辐射损伤小鼠的防护作用。

2 材料和方法

2.1 实验动物

昆明小鼠,雌性,体重(20±2)g,购于甘肃省中医学院实验动物中心。将小鼠随机分为5组,每组10只。分别为正常对照组(A)、¹²C⁶⁺辐射模型组(B)、低剂量酵母 β -葡聚糖组(C)、中剂量酵母 β -葡聚糖组(D)和高剂量酵母 β -葡聚糖组(E)。

2.2 实验材料

酵母 β -葡聚糖由本实验室提供。

2.3 给药方法

C, D和E3组每天通过灌胃给予低、中、高不同剂量酵母 β -葡聚糖。其余2组灌以等量的生理盐水。2周后B, C, D和E4组均给予2.0 Gy ¹²C⁶⁺离子束一次性全身照射。辐照后C, D和E3组继续灌给酵母 β -葡聚糖,其余2组灌给等量的生理盐水,持续1周。

2.4 辐照条件

¹²C⁶⁺离子由中国科学院近代物理研究所的兰州重离子研究装置(HIRFL)提供,能量为80 MeV/u。将B, C, D和E4组小鼠固定后,对其进行一次性全身照射,剂量为2.0 Gy,剂量率为1.0 Gy/min,对照组小鼠不进行任何处理。

2.5 观察指标

(1)观察并记录各组小鼠的体重、毛色及行为变化。

(2)辐照后第2天与第7天小鼠尾静脉取血,在中国人民解放军第一医院检验科测定小鼠外周血中白细胞数。

(3)辐照后第8天处死小鼠,取脾脏和胸腺制成10%的组织匀浆。按南京建成科技公司提供的总超氧化物歧化酶(T-SOD)测试盒、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)测试盒和丙二醛(MDA)测定试剂

盒中的方法测定匀浆中SOD活性、GSH-PX活性及MDA含量。

3 结果和分析

3.1 小鼠毛色及行为变化

照后第4天B组小鼠毛色暗淡,行动迟缓。给予酵母 β -葡聚糖的三组小鼠均没有出现上述变化。

3.2 酵母 β -葡聚糖对¹²C⁶⁺离子辐照小鼠体重的影响

图1给出了辐照后各组小鼠体重变化。由图可知,照后B组小鼠体重下降幅度最大(3.5 g),C和E2组小鼠体重虽也有下降趋势,但下降幅度不大。D组小鼠体重反而有上升趋势。表明酵母 β -葡聚糖可以减缓由¹²C⁶⁺辐照引起的小鼠体重急剧下降。

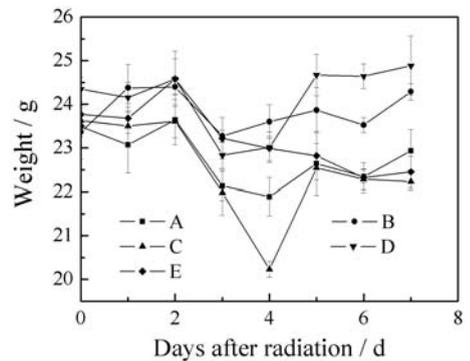


图1 小鼠体重变化

3.3 酵母 β -葡聚糖对¹²C⁶⁺离子辐照小鼠外周血白细胞数的影响

图2给出了小鼠外周血白细胞数。由图可知,照后第2天B组白细胞数显著下降,表明¹²C⁶⁺离子对小鼠造血功能造成了严重损伤。C组和E组下降幅度不大,说明低剂量和高剂量的酵母 β -葡聚糖

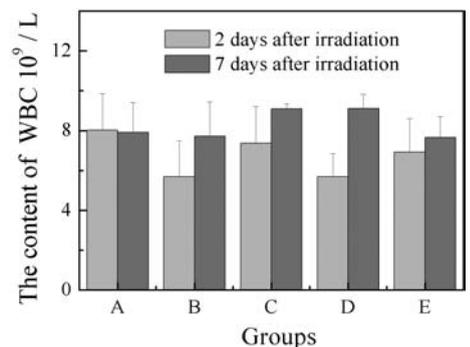


图2 小鼠外周血白细胞含量

能促进机体免疫反应, 增加受照小鼠血液中的白细胞数, 或者减缓 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子对小鼠造血功能造成的损伤。照后第7天 B, C, D 和 E 4 组小鼠血液中白细胞数均恢复, 说明酵母 β -葡聚糖可有效抑制 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐射所致的小鼠外周血白细胞数的下降, 且低中剂量效果最为显著。

3.4 酵母 β -葡聚糖对受照小鼠胸腺及脾脏 SOD 活性的影响

图 3 给出了胸腺及脾脏 SOD 活性。从图中可以看出, 照后 B 组小鼠胸腺及脾脏 SOD 活性均显著降低, C, D 和 E 3 组小鼠胸腺 SOD 活性与 A 组相比均无明显差别, C 组和 D 组小鼠脾脏 SOD 活性低于 A 组但高于 B 组, E 组小鼠脾脏 SOD 活性最低, 原因还需进一步探讨。说明酵母 β -葡聚糖能促进受照小鼠胸腺组织中 SOD 活性, 提高胸腺抗氧化能力, 降低自由基对胸腺细胞的损伤。但不同剂量酵母 β -葡聚糖对脾脏组织中 SOD 活性的影响并不明显, 且高剂量组脾脏组织中 SOD 活性还有降低趋势, 出现这种现象的原因还有待进一步的实验验证。

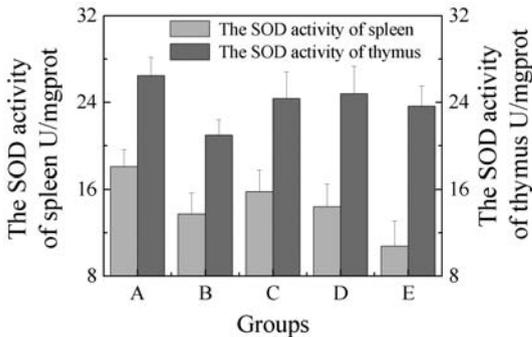


图 3 小鼠胸腺及脾脏组织中 SOD 活性

3.5 酵母 β -葡聚糖对受照小鼠胸腺及脾脏 GSH-PX 活性的影响

图 4 给出了小鼠胸腺 GSH-PX 活性。从图中可以看出, 辐照后 B 组小鼠胸腺及脾脏 GSH-PX 活性均显著降低。与 B 组相比, C, D 和 E 3 组小鼠胸腺 GSH-PX 活性无显著差别, 而脾脏 GSH-PX 活性较 B 组高, D 组最高。说明 C 离子能使小鼠胸腺和脾脏的 GSH-PX 活性降低, 酵母 β -葡聚糖对 C 离子辐射所致的氧化损伤具有保护作用。

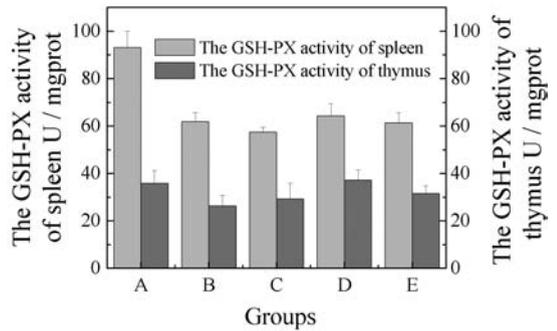


图 4 小鼠胸腺 GSH-PX 活性

3.6 酵母 β -葡聚糖对受照小鼠脾脏及胸腺 MDA 含量的影响

图 5 给出了小鼠脾脏及胸腺 MDA 含量, 由图可知, 辐照后 B 组小鼠脾脏中 MDA 含量显著增加, 说明辐射可产生大量自由基, C, D 和 E 3 组 MDA 含量较 B 组有所下降, 且下降幅度较大, 说明酵母 β -葡聚糖能提升机体清除自由基的能力。辐照后 B 组小鼠胸腺中 MDA 含量增加, 但增幅较小, C, D 和 E 3 组与 B 组相比 MDA 含量基本相当, 无显著差异。

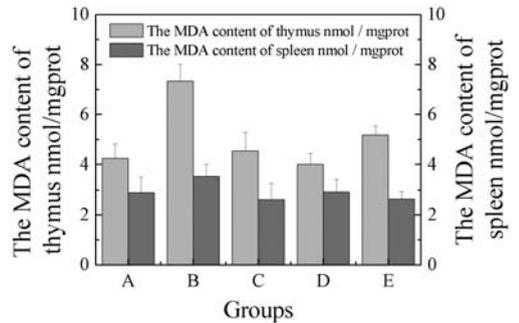


图 5 小鼠脾脏及胸腺 MDA 含量

4 讨论

现实生活环境中的人们, 例如天然高辐射地区生活的居民、经常接触射线的工作人员和肿瘤患者等经常会受到各种各样的辐射损伤。因此, 辐射损伤防护药物的研究成为热点^[12]。辐射损伤是指生物机体受到放射线辐照而引起的一系列病理生理、生化和组织结构的变化, 而辐射所导致的造血功能障碍是其中一个方面。血液系统对辐射非常敏感, 一定剂量射线作用后, 造血组织受到损伤, 造血干细胞不仅数量减少, 而且增殖功能发生障碍, 使外周血中成熟血细胞来源匮乏, 进而白细胞、血小板、

淋巴细胞数均呈不同程度的降低,引起不同程度的外周血象的变化。酵母 β -葡聚糖是具有非特异性的免疫促进作用的天然多糖,能增加受辐照小鼠损坏的内源多效造血干细胞的数量^[15-16]。

本实验结果表明,受¹²C⁶⁺离子辐照的小鼠外周血白细胞明显低于正常对照组,各剂量酵母 β -葡聚糖组的白细胞数均较辐射模型组(B组)的高,其中低、中剂量效果较显著。说明低、中剂量酵母 β -葡聚糖能有效减轻辐射对白细胞和淋巴细胞的杀伤,能促进白细胞和淋巴细胞再生。同时我们在实验中还观察到酵母 β -葡聚糖能有效减缓¹²C⁶⁺离子辐照引起的小鼠体重急剧降低,可能是由于酵母 β -葡聚糖能增强小鼠各器官的免疫功能,具体原因还需进一步的实验验证。不同剂量的酵母 β -葡聚糖均能促进自由基清除,恢复 SOD 及 GSH-PX 活性,减少 MDA 含量。综合来看,低、中剂量效果最为显著,能有效抑制辐射所致的组织细胞的脂质过氧化,提高机体抗氧化能力。酵母 β -葡聚糖对辐射损伤小鼠有一定的防护作用,且低、中剂量效果最为显著。下一步的实验可以对酵母 β -葡聚糖对小鼠抗辐射作用的途径进行研究,进一步揭示酵母 β -葡聚糖对生物体的辐射防护作用机理。

参考文献 (References):

- [1] BENACERRAF B, SEBESTYEN M M. Federation proceedings, 1957, **16**: 860.
- [2] RIGGI S J, DI L N R. American Journal of Physiology, 1961, **200**(2): 297.
- [3] HAKAN K M, FATIH O, SERDAR K, *et al.* Neurosurgical Review, 2005, **28**: 298.
- [4] DARINA S, JURAJ L, LIVIA K. Cancer Letters, 2003, **198**: 153.
- [5] PETRUCZENKO A. Actaphysiologica Polonica, 1984, **35**(3): 231.
- [6] THOMPSON I M, SILENCE C R, LAMM D L. The American journal of the medical sciences, 1987, **294**(5): 294.
- [7] YANG Tianjiao, SUN Yingfeng, WANG Yingzhen, *et al.* Progress in Veterinary Medicine, 2008, **29**(11): 92 (in Chinese).
(杨天骄, 孙英峰, 王英珍, 等. 动物医学进展, 2008, **29**(11): 92.)
- [8] ROSS O A. Fed Proc, 1973, **14**: 50.
- [9] PATHCHEN M L, PETRUCZENKO A. Acta Physiologica Polonica, 1984, **35**(3): 23.
- [10] HOFER M, POSPISIL M. International Immunopharmacology, 1997, **19**: 607.
- [11] WANG Jinghang, WANG Qiang, YU Bing. Journal of Medical Molecular Biology, 1997, **19**(4): 183 (in Chinese).
(王京杭, 王强, 余冰. 国外医学分子生物学分册, 1997, **19**(4): 183.)
- [12] FANG Yunzhong, LI Wenjie. Free radicals and Enzymes. Beijing: Science Press, 1987: 251-259 (in Chinese).
(方允中, 李文杰. 自由基与酶. 北京: 科学出版社, 1987: 251-259.)
- [13] GRAY J I. Measurement of Lipid Oxidation: A Review. Journal of the American Oil Chemistry Society. 1978, **55**(6): 539.
- [14] YANG Hailing, NIE Lijia, ZHU Shengeng, *et al.* Chengdu University (Nature Science), 2006, **25**(1): 19 (in Chinese).
(杨海灵, 聂力嘉, 朱圣庚, 等. 成都大学学报(自然科学), 2006, **25**(1): 19.)
- [15] HONG Yan, LIU Yumin, XIONG Xiaohong, *et al.* Journal of Clinical Research, 2002, **19**(1): 31 (in Chinese).
(洪艳, 刘煜敏, 熊小红, 等. 医学临床研究, 2002, **19**(1): 31.)
- [16] DING Guirong, GUO Guozhen. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 2007, **25**(6): 321 (in Chinese).
(丁桂荣, 郭国祯. 辐射研究与辐射工艺学报, 2007, **25**(6): 321.)

Protective Effect of Yeast β -glucan on Immune System of Mice Irradiated by Carbon Ions

WANG Ying^{1, 2}, LU Dong², WEI Wei², JING Xi-gang², WANG Ju-fang², LI Wen-jian²

(1. Lanzhou University, Lanzhou 730000, China;

2. Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

Abstract: To detect Yeast β -glucan's protective effect on mice's immune system after C ion beam radiation, mice were used as the test model. We observed the weight, hair color and behavior of mice everyday within a 7 d period of time after irradiation. Meanwhile, the content of white blood cell, on the 2nd and 7th day after irradiation was detected. We detected the thymus and spleen SOD, GSH-PX activity and MDA content of the mice on the 8th day. The results showed that yeast β -glucan could reduce the rapid weight loss of mice, increase white blood cell content, increase thymus and spleen SOD, GSH-PX activity, decrease MDA content of thymus and spleen. These results indicate that yeast β -glucan can protect mice's immune system against C ion beam radiation damage.

Key words: Yeast β -glucan; $^{12}\text{C}^{6+}$ ion; radiation protection

Received date: 20 Dec. 2011; **Revised date:** 8 Mar. 2012

Foundation item: Main Direction Program of Knowledge Innovation Project of Chinese Academy of Sciences(KJCX2-EW-N05-3); Natural Science Fund project of Gansu Province(1107RJZA270)

Corresponding author: LI Wen-jian, E-mail: wjli@impcas.ac.cn