

·论著·

DHEA 对放、化疗损伤造血功能保护作用的实验研究

闫玉军 叶翔 宋娜玲 王月英 李德冠 路璐 孟爱民 吴红英

【摘要】目的 研究17 α -D-高炔雌二醇-3-乙酯(DHEA)对 ^{137}Cs γ 射线和环磷酰胺(CTX)所致小鼠造血及免疫功能损伤的保护作用。**方法** 分别用 8.0 Gy ^{137}Cs γ 射线和 CTX 建立 C57BL/6 小鼠动物模型,观察 DHEA 低、中、高 3 个剂量对两个模型小鼠的造血干细胞脾结节形成细胞(CFU-S)数、外周血 WBC、骨髓有核细胞数、脾脏指数的影响。**结果** DHEA 各组对小鼠 ^{137}Cs γ 射线照射所致的外周血 WBC、CFU-S 数、骨髓有核细胞数的降低具有保护作用,并增大了脾脏指数。DHEA 各组对环磷酰胺引起的小鼠 WBC、CFU-S 数、骨髓有核细胞数降低有抑制作用。**结论** DHEA 能减轻辐射和环磷酰胺对小鼠造血系统的损伤。

【关键词】 γ 射线; 环磷酰胺; 造血功能; 17 α -D-高炔雌二醇-3-乙酯

Study on the protective function of DHEA on hematopoietic induced by radiotherapy and chemotherapy Yan Yujun*, Ye Xiang, Song Naling, Wang Yueying, Li Deguan, Lu Lu, Meng Aimin, Wu Hongying. *Tianjin Key Laboratory of Radiation Medicine and Molecular Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300192, China

Corresponding author: Wu Hongying, Email: why999@irm-cams.ac.cn

【Abstract】Objective To observe the protective function of dehydroepiandrosterone (DHEA) on hematopoietic in C57BL/6 mouse induced by radiotherapy and chemotherapy. **Methods** Constructing the animal models with hematopoietic injury by 8.0 Gy ^{137}Cs γ ray and cyclophosphamide respectively. Observe the changes of colony-forming unit-spleen(CFU-S), populations of peripheral WBC and bone marrow nucleated cells and index of spleen in all DHEA treated groups. **Results** DHEA can reduce injury of ^{137}Cs γ ray and cyclophosphamide induced hematopoietic function injury of C57BL/6 mouse. Compared with the blank control group, the DHEA group can significantly increase the number of peripheral blood leukocyte, bone marrow nucleated cells and CFU-S, and there is statistically difference between DHEA treated group and the blank control group. Index of spleen in the high dose group is higher than that in the blank control group. **Conclusion** DHEA have protection function on hematopoietic in C57BL/6 mouse induced by radiotherapy and chemotherapy.

【Key words】 Gama rays; Cyclophosphamide; Hematopoietic function; Dehydroepiandrosterone

造血系统和免疫系统对辐射最为敏感,机体受照后其造血和免疫功能明显受到抑制。骨髓抑制及白细胞总数下降等临床症状也是化疗药物最常见的

限制性不良反应之一,所以造血功能和免疫功能的恢复是预后的关键因素,WBC、骨髓有核细胞(bone marrow nucleated cell, BMNC)数、脾结节形成细胞(colony-forming unit-spleen, CFU-S)数和脾脏指数等指标代表机体造血功能和免疫功能恢复的程度。17 α -D-高炔雌二醇-3-乙酯(dehydroepiandrosterone, DHEA)是新型雌激素类化合物,具有放射防护效价高的特点^[1],本研究以造血功能和免疫功能为指标来观察 DHEA 对辐射和环磷酰胺(cyclophosphamide, CTX)所致小鼠造血功能和免疫功能损伤的保护作用。

DOI: 10. 3760 / cma. j. issn. 1673-4114. 2014. 03. 006

基金项目: 国家 973 重大专项(2011CB964800-G); 国家自然科学基金(81072237, 81372928); 天津市重点基金(11JCZD-JC19100); 中国医学科学院放射医学研究所发展基金(SF1104, SF0826, SF1419)

作者单位: 300192 天津, 中国医学科学院放射医学研究所, 天津市放射医学与分子核医学重点实验室(闫玉军, 宋娜玲, 王月英, 李德冠, 路璐, 孟爱民, 吴红英); 300384, 天津迈达医学科技有限公司(叶翔)

通信作者: 吴红英(Email: why999@irm-cams.ac.cn)

1 材料与方法

1.1 试剂

CTX 为上海华联制药有限公司生产, 批号 050110, 茜草双酯由山东方明制药有限公司生产, 批号 040421, DHEA 是由中国医学科学院放射医学研究所合成的雌激素类辐射防护剂, 白色粉末, 无味。尼尔雌醇由军事医学科学院提供。

1.2 主要仪器

^{137}Cs γ 射线辐射源由加拿大原子能有限公司提供, pocH-100i 全自动血液分析仪由日本希森美康提供。

1.3 实验动物

C57BL/6 小鼠, 雄性, 共 110 只, 体重 20~22 g。由中国医学科学院实验动物研究所提供, 许可证号: SCXK(2009-0004)。

1.4 动物分组和放疗模型的建立

取 60 只 C57BL/6 小鼠, 随机分为 6 组, 每组 10 只, 分别为: 空白对照组、 ^{137}Cs γ 射线照射组、DHEA 低剂量组(5 mg/kg)、中剂量组(7.5 mg/kg)、高剂量组(10 mg/kg)和尼尔雌醇组(5 mg/kg)。其中, DHEA 低、中、高 3 个剂量组于腹腔注射给药, 每日 1 次, 连续 3 d, 0.2 ml/只, 尼尔雌醇组照射前于第 3 日和第 7 日分 2 次给药, 0.2 ml/只, 除空白对照组外, 其余 5 组在第 4 日给予 8.0 Gy ^{137}Cs γ 射线全身一次性照射, 剂量率为 0.87 Gy/min。

1.5 动物分组和化疗模型的建立

另取 50 只 C57BL/6 小鼠, 随机分为 5 组, 每组 10 只, 分别为: CTX 组(100 mg/kg)、DHEA 低剂量组(5 mg/kg)、中剂量组(7.5 mg/kg)、高剂量组(10 mg/kg)、茜草双酯组(2.5 mg/kg)。CTX 组于腹腔注射给药, 每日 1 次, 连续 3 d, 0.2 ml/只; DHEA 3 个剂量组和茜草双酯组于腹腔注射给药, 每日 1 次, 连续 5 d, 0.2 ml/只, 并于给药第 3 日开始腹腔注射 CTX, 每日 1 次, 0.2 ml/只, 连续 3 d^[2]。

1.6 检测指标

放疗模型小鼠在照射后第 9 日、化疗模型小鼠在末次给药后第 3 日, 分别于眼窝静脉取血, 以乙二胺四乙酸三钾抗

凝, 用自动血细胞计数仪测定外周血 WBC, 随后处死小鼠, 取 1 侧股骨, 用白细胞稀释液冲洗骨髓腔, 收集骨髓细胞, 测定 BMNC 数, 同时取出脾脏称重, 按公式计算脾脏指数。脾脏指数=脾脏质量(mg)/鼠体质量(g), 并将脾脏放入 Bouin 液内, 24 h 后计数每个脾脏表面生成的 CFU-S 数。

1.7 统计学方法

数据统计结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DHEA 对受照小鼠造血功能及免疫功能的作用结果

DHEA 对受照小鼠造血功能及免疫功能的作用结果见表 1。DHEA 低、中、高剂量各组及尼尔雌醇组的 WBC 与 ^{137}Cs γ 射线照射组比较差异有统计学意义($t=7.121$ 、 12.875 、 9.522 、 12.063 , P 均 < 0.001), DHEA 中剂量组的 WBC 与尼尔雌醇组比较差异有统计学意义($t=4.735$, $P < 0.001$)。DHEA 低、中、高剂量各组及尼尔雌醇组的 BMNC 数与 ^{137}Cs γ 射线照射组比较, 差异有统计学意义($t=4.722$ 、 8.997 、 7.013 、 3.458 , P 均 < 0.01), DHEA 中、高剂量组的 BMNC 数与空白对照组比较, 差异有统计学意义($t=4.292$ 、 2.433 , P 均 < 0.05), DHEA 中、高剂量组的 BMNC 数与尼尔雌醇组比较, 差异有统计学意义($t=10.521$ 、 6.178 , P 均 < 0.001)。DHEA 低、中、高剂量各组及尼尔雌醇组的 CFU-S 数与 ^{137}Cs γ 射线照射组比较, 差异有统计学意义($t=9.379$ 、 15.590 、 16.078 、 4.504 , P 均 < 0.001), DHEA 低、中、高剂量各组及尼尔雌醇组的 CFU-S 数与空白对照组比较差异有统计学意义($t=14.396$ 、 21.598 、 24.139 、 7.577 , P 均 < 0.001),

表 1 DHEA 对受照小鼠造血功能的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Influence of dehydroepiandrosterone combined with γ ray on hematopoiesis of mice($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	WBC ($\times 10^9$ 个/L)	BMNC ($\times 10^6$ 个/股骨)	CFU-S (个/脾)	脾脏指数 (mg/g)
空白对照组	10	8.69 \pm 0.89	10.10 \pm 2.12	1.44 \pm 1.34	2.35 \pm 0.21
^{137}Cs γ 射线照射组	10	1.26 \pm 0.66	5.12 \pm 2.65	4.40 \pm 1.89	1.02 \pm 0.22
DHEA 低剂量组	10	5.81 \pm 1.91	9.83 \pm 1.71	12.78 \pm 2.10	2.13 \pm 0.31
DHEA 中剂量组	10	8.42 \pm 1.63	13.42 \pm 1.22	18.11 \pm 2.04	2.49 \pm 0.65
DHEA 高剂量组	10	6.25 \pm 1.52	12.25 \pm 1.82	16.51 \pm 1.45	2.35 \pm 0.84
尼尔雌醇组	10	5.61 \pm 0.93	8.21 \pm 0.98	9.62 \pm 3.14	1.36 \pm 0.45

注: 表中, DHEA: 17 α -D-高炔雌二醇-3-乙酯; BMNC: 骨髓有核细胞; CFU-S: 脾结节形成细胞。

DHEA 低、中、高剂量各组的 CFU-S 数与尼尔雌醇组比较差异有统计学意义($t=2.645$ 、 7.169 、 6.299 , P 均 <0.05)。DHEA 低、中、高剂量各组及尼尔雌醇组的脾脏指数与 ^{137}Cs γ 射线照射组比较, 差异有统计学意义 ($t=9.234$ 、 6.774 、 4.843 、 2.146 , P 均 <0.05), DHEA 低、中、高剂量各组的脾脏指数与尼尔雌醇组比较, 差异有统计学意义($t=4.456$ 、 4.520 、 3.285 , P 均 <0.01)。

2.2 DHEA 对化疗所致小鼠造血功能的影响

DHEA 对化疗所致小鼠造血功能的影响结果见表 2。DHEA 中剂量组的 WBC 高于空白对照组, 但两者之间的差异无统计学意义 ($t=1.821$, $P>0.05$)。DHEA 低、中、高剂量各组及茜草双酯组的 WBC 与 CTX 组比较, 差异有统计学意义($t=6.553$ 、 14.660 、 11.244 、 4.425 , P 均 <0.001), DHEA 低、中、高剂量各组的 WBC 与茜草双酯组比较, 差异有统计学意义($t=3.771$ 、 10.919 、 7.288 , P 均 <0.001)。DHEA 低、中、高剂量各组及茜草双酯组的 BMNC 数均高于空白对照组, 但只有 DHEA 中剂量组的 BMNC 数与空白对照组比较, 差异有统计学意义 ($t=3.340$, $P<0.01$), DHEA 低、中、高剂量各组及茜草双酯组的 BMNC 数与 CTX 组比较, 差异有统计学意义($t=6.945$ 、 9.520 、 8.006 、 10.445 , P 均 <0.001), DHEA 中剂量组的 BMNC 数与茜草双酯组比较, 差异有统计学意义($t=2.799$, $P<0.05$)。DHEA 中、高剂量组及茜草双酯组的 CFU-S 数与空白对照组比较, 差异有统计学意义($t=5.271$ 、 7.501 、 4.732 , P 均 <0.001), DHEA 中、高剂量组及茜草双酯组的 CFU-S 数与 CTX 组比较, 差异有统计学意义($t=5.561$ 、 7.781 、 4.969 , P 均 <0.001), DHEA 高剂量组的

CFU-S 数与茜草双酯组比较, 差异有统计学意义 ($t=2.473$, $P<0.05$), DHEA 低、中、高剂量各组的脾脏指数均高于 CTX 组, 其中低、高剂量组与 CTX 组比较, 差异有统计学意义 ($t=2.534$ 、 3.117 , P 均 <0.05), DHEA 低、中、高剂量各组的脾脏指数与茜草双酯组比较, 差异有统计学意义($t=3.800$ 、 2.640 、 4.722 , P 均 <0.05)。

3 讨论

随着放射性核素工业应用及电离辐射医学应用的发展, 辐射损伤的防治显得尤为重要^[3], 国内外对辐射防护剂的研究热情重新高涨, 现有抗辐射损伤药物, 如雌激素类衍生物, 效果明显, 但毒性较大, 实际使用受限制^[4]。有目的地寻找毒性低、疗效高的抗辐射新药, 是当今辐射防护中的研究热点^[5]。辐射损伤后, 造血功能和免疫功能的恢复是预后的关键因素。CFU-S 系代表一类多向性的造血干细胞群, 是促进造血恢复的主要成分, 具有自我更新和向骨髓红系、粒系和巨核细胞分化的能力。而 CFU-S 和 BMNC 的变化代表机体造血组织恢复的能力, 脾脏指数代表免疫功能恢复的程度。从本研究可以看出, DHEA 对辐射引起的造血组织损伤具有预防作用。DHEA 中剂量组的 WBC 与尼尔雌醇组比较, 差异有统计学意义; DHEA 中、高剂量组的 BMNC 数及 CFU-S 数与尼尔雌醇组比较差异有统计学意义。中剂量给药组对造血系统和脏器系数的影响都呈现出更好的效果。本研究结果提示, DHEA 可明显减弱辐射损伤所引起的脾脏缩小的作用, 并能明显提高辐射损伤后 BMNC 数、WBC 和 CFU-S 数。化疗的主要不良反应是抑制免疫及造血

功能^[6], 在对造血系统恶性肿瘤的治疗过程中, 常因骨髓造血抑制而限制化疗药物的剂量, 直接影响对肿瘤的治疗效果。化疗可直接损伤骨髓造血微环境, 从而影响对化疗极为敏感的造血干细胞的修复, 最终导致造血障碍^[7]。本研究结果表明, DHEA 不仅能明显提高化疗损伤小鼠的脾脏指数, 还能增加化疗损伤小鼠外周血

表 2 DHEA 对化疗所致小鼠造血功能的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Influence of dehydroepiandrosterone combined with cyclaphosphamide on hematopoiesis of mice($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数 (只)	WBC ($\times 10^9$ 个/L)	BMNC ($\times 10^6$ 个/股骨)	CFU-S (个/脾)	脾脏指数 (mg/g)
空白对照组	10	8.69 \pm 0.89	10.10 \pm 2.12	1.44 \pm 1.34	2.35 \pm 0.21
CTX 组	10	3.13 \pm 0.66	4.56 \pm 1.63	1.33 \pm 1.25	1.61 \pm 0.45
DHEA 低剂量组	10	6.64 \pm 1.56	10.86 \pm 2.26	2.44 \pm 1.38	2.12 \pm 0.45
DHEA 中剂量组	10	9.56 \pm 1.22	13.57 \pm 2.51	4.54 \pm 1.29	2.24 \pm 0.91
DHEA 高剂量组	10	7.63 \pm 1.08	11.33 \pm 2.12	7.47 \pm 2.16	2.16 \pm 0.33
茜草双酯组	10	4.56 \pm 0.78	11.13 \pm 1.14	5.31 \pm 2.07	1.42 \pm 0.37

注: 表中, DHEA: 17 α -D-高炔雌二醇-3-乙酯; CTX: 环磷酰胺; BMNC: 骨髓有核细胞; CFU-S: 脾结节形成细胞。

- [3] Ben-Haim S, Kacperski K, Hain S, et al. Simultaneous dual-radionuclide myocardial perfusion imaging with a solid-state dedicated cardiac camera[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2010, 37(9): 1710-1721.
- [4] Madsen MT. Recent advances in SPECT imaging[J]. J Nucl Med, 2007, 48(4): 661-673.
- [5] Patton JA, Slomka PJ, Germano G, et al. Recent technologic advances in nuclear cardiology[J]. J Nucl Cardiol, 2007, 14(4): 501-513.
- [6] Buechel RR, Pazhenkottil AP, Herzog BA, et al. Real-time breath-hold triggering of myocardial perfusion imaging with a novel cadmium-zinc-telluride detector gamma camera[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2010, 37(10): 1903-1908.
- [7] Buechel RR, Herzog BA, Husmann L, et al. Ultrafast nuclear myocardial perfusion imaging on a new gamma camera with semiconductor detector technique: first clinical validation[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2010, 37(4): 773-778.
- [8] Hesse B, Tägil K, Cuocolo A, et al. EANM/ESC procedural guidelines for myocardial perfusion imaging in nuclear cardiology[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2005, 32(7): 855-897.
- [9] Esteves FP, Raggi P, Folks RD, et al. Novel solid-state-detector dedicated cardiac camera for fast myocardial perfusion imaging: multicenter comparison with standard dual detector cameras[J]. J Nucl Cardiol, 2009, 16(6): 927-934.
- [10] Herzog BA, Buechel RR, Katz R, et al. Nuclear myocardial perfusion imaging with a cadmium-zinc-telluride detector technique: optimized protocol for scan time reduction[J]. J Nucl Med, 2010, 51(1): 46-51.
- [11] Gimelli A, Bottai M, Genovesi D, et al. High diagnostic accuracy of low-dose gated-SPECT with solid-state ultrafast detectors: preliminary clinical results[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2012, 39(1): 83-90.
- [12] Berman DS, Kang X, Tamarappoo B, et al. Stress thallium-201/rest technetium-99m sequential dual isotope high-speed myocardial perfusion imaging[J]. JACC Cardiovasc Imaging, 2009, 2(3): 273-282.
- [13] Sheikine Y, Berman DS, Di Carli MF. Technetium-99m-sestamibi redistribution after exercise stress test identified by a novel cardiac gamma camera: two case reports[J]. Clin Cardiol, 2010, 33(4): E39-45.

(收稿日期: 2014-01-06)

(上接第 166 页)

WBC, 增加 BMNC 数, 提高 CFU-S 的形成能力, 促进骨髓的造血细胞及造血组织结构的恢复, 说明 DHEA 在一定程度上具有增强免疫和改善造血系统的作用。

参 考 文 献

- [1] 王月英, 王汝勤, 赵忠萍. E838 对小鼠辐射防护作用的观察[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2005, 24(1): 39-40.
- [2] 中华人民共和国卫生部药政局. 新药(西药)临床前研究指导原则汇编[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 103.
- [3] 李佳, 王月英, 邢志伟, 等. 角质细胞生长因子对受照小鼠的遗传保护作用[J]. 国际放射医学核医学杂志, 2013, 37(4): 196-198, 220.
- [4] 徐冰心, 肖成荣, 郑思新, 等. 辐射防护剂研究进展[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2002, 22(11): 64-67.
- [5] Henderson MA, Valluri S, Garrett J, et al. Effects of estrogen and gender on cataractogenesis induced by high-LET radiation[J]. Radiat Res, 2010, 173(2): 191-196.
- [6] 李墨林, 李传刚, 舒晓宏, 等. 化疗治愈荷瘤小鼠模型的建立及氟尿嘧啶抑瘤作用的免疫机制[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2007, 23(11): 1010-1013.
- [7] 宋国丽, 季百苗, 张小云. 旋转恒定磁场对化疗损伤小鼠造血功能保护作用的研究[J]. 中国康复理论与实践, 2006, 12(3): 213-216.

(收稿日期: 2014-01-22)