

## 论著

文章编号:1000-5404(2012)22-2278-05

### 人参总皂苷对放射所致骨髓造血细胞衰老的保护作用

龙轩<sup>1</sup>, 官涛<sup>1</sup>, 李春莉<sup>2</sup>, 左国伟<sup>3</sup>, 姜蓉<sup>1</sup>, 闫玲玲<sup>1</sup>, 王建伟<sup>1</sup> (400016 重庆, 重庆医科大学: 基础医学院组胚组织与胚胎学教研室<sup>1</sup>, 生命科学院<sup>2</sup>, 临床检验诊断学省部共建教育部重点实验室<sup>3</sup>)

**[摘要]** **目的** 探讨人参总皂苷(total saponins of panax ginseng, TSPG)抗放射(6.5 Gy)所致骨髓造血细胞损伤衰老的作用。**方法** 40只雄性C57BL/6小鼠分为4组(每组10只):对照组、放射(irradiation, IR)组、IR+T50(TSPG 50 mg/kg)组、IR+T200(TSPG 200 mg/kg)组。先给药3 d,然后照射,照射后继续给药7 d,检测外周血的变化情况,计数各组骨髓单个核细胞数、骨髓造血细胞集落生成单位(CFU)的数量,观察形态变化;流式细胞术检测周期变化;回收CFU细胞进行 $\beta$ -半乳糖苷酶衰老(SA- $\beta$ -gal)染色和细胞免疫荧光分析p16<sup>Ink4a</sup>蛋白的表达水平。**结果** 与IR组比较,给药处理后,IR+T200组的白细胞数增加至(2.19±0.87)( $P<0.05$ ),但各组之间红细胞与血小板均无明显变化( $P>0.05$ );IR+T200组的单个核细胞数及集落个数均明显增加( $P<0.05$ );骨髓造血细胞周期G<sub>1</sub>期细胞比例随药物浓度增加有减少的趋势;SA- $\beta$ -gal染色和p16<sup>Ink4a</sup>细胞免疫荧光染色均显示,IR+T200组的CFU中细胞阳性率明显降低( $P<0.05$ )。**结论** 合适剂量的TSPG(200 mg/kg)对放射引起的造血细胞损伤衰老有保护作用。

**[关键词]** 放射;造血细胞损伤与衰老;人参总皂苷

**[中图分类号]** R285.5;R331.2;R818.74

**[文献标志码]** A

### Effect of total saponins of *Panax ginseng* on irradiation-induced bone marrow hematopoietic cell injury and senescence

Long Xuan<sup>1</sup>, Guan Tao<sup>1</sup>, Li Chunli<sup>2</sup>, Zuo Guowei<sup>3</sup>, Jiang Rong<sup>1</sup>, Yan Lingling<sup>1</sup>, Wang Jianwei<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Department of Histology and Embryology; <sup>2</sup>Institute of Life Sciences; <sup>3</sup>Department of Laboratory Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effect of total saponins of *Panax ginseng* (TSPG) on irradiation-induced bone marrow hematopoietic cell injury and senescence. **Methods** Forty male C57BL/6 mice were divided into four groups including a control group, an irradiation (IR) group, an IR + T50 group (TSPG 50 mg/kg) and an IR + T200 group (TSPG 200 mg/kg). The mice were pretreated with TSPG for 3 days, then were irradiated by 6.5 Gy X-ray, and were further treated with TSPG for 7 days. Blood routine examination, bone marrow mononuclear cell (BM-MNC) counting and hematopoietic cell colony forming unit (CFU) counting were performed. The cell cycle of BM-MNC was determined by flow cytometry, and the senescence of cells from CFU was evaluated by senescence-associated  $\beta$ -galactosidase (SA- $\beta$ -gal) staining and the expression of p16<sup>Ink4a</sup> protein. **Results** Compared with the IR group, the numbers of white blood cell (WBC) (2.19 ± 0.87), BM-MNC and CFU significantly increased in the IR + T200 group ( $P < 0.05$ ), but the red blood cells and platelets showed no significant changes. The numbers of the cells at G<sub>1</sub> phase decreased in a dose-dependent manner, and the cells from the CFU of the IR + T200 group exhibited a decreased expression of SA- $\beta$ -gal and p16<sup>Ink4a</sup> ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** TSPG 200 mg/kg may alleviate irradiation-induced bone marrow hematopoietic cell injury and senescence.

**[Key words]** irradiation; hematopoietic cell injury and senescence; total saponins of *Panax ginseng*

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30970872, 81001582); Yuzhong District Commission of Science and Technology of Chongqing (2009). Corresponding author: Wang Jianwei, E-mail: wjwcq@yahoo.com.cn; Yan Lingling, E-mail: 00yanling@163.com; Jiang Rong, E-mail: wanglijiang999@163.com

**[基金项目]** 国家自然科学基金(30970872,81001582);重庆市渝中区科委重点课题(2009)

**[通信作者]** 王建伟, E-mail: wjwcq@yahoo.com.cn;

闫玲玲, E-mail: 00yanling@163.com

姜蓉, E-mail: wanglijiang999@163.com

既往研究<sup>[1]</sup>结果证明,以6.5 Gy 射线照射 C57BL/6 小鼠能够成功建立骨髓造血细胞损伤衰老模型,在此基础上,本实验进一步研究天然草本植物人参总皂苷(total saponins of panax ginseng, TSPG)对射线引起骨髓造血细胞衰老的作用。

目前绝大多数化学合成的骨髓抑制保护剂由于其内在的毒性而限制了临床应用,从天然草本植物如人参中提取的有效活性成分,由于它们明显的保护作用却低毒性而备受关注,成为当今筛选抗骨髓抑制药物的重要来源。动物体内外实验证实:人参皂苷及其某些单体对放射所致骨髓损伤有一定的预防、减缓或治疗效果<sup>[2-3]</sup>,但这些研究大多着眼于对骨髓细胞增殖能力方面的影响,而就其对放射所致骨髓造血细胞的衰老的影响知之甚少。有研究<sup>[4-8]</sup>发现放射所致长期骨髓损伤很大程度上归因于造血干细胞衰老。因此,本研究通过检测 TSPG 对放射引起的骨髓造血细胞衰老的相关分子生物学指标,探讨 TSPG 改善放疗所致骨髓抑制机制,为开发 TSPG 的临床应用提供理论与实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

SPF 级 C57BL/6 小鼠[许可证号:SYXK(渝)2007-0001],6~8 周龄,雄性,体质量 17~20 g,常规饲养,重庆医科大学实验动物中心提供。甲基纤维素培养基(加拿大 Stem Cell Technologies 公司); $\beta$ -半乳糖苷酶衰老染色试剂盒[Senescence  $\beta$ -Galactosidase Staining Kit (Cell Signaling 公司)];RPMI1640 培养基(HyClone 公司);胎牛血清(FBS,美国 MD 公司);淋巴细胞分离液(中国医学科学院生物工程研究所);PBS 磷酸盐缓冲液(北京中杉金桥生物技术有限公司);p16(F-12) mouse monoclonal IgG2a 抗体(Santa Cruz Biotechnology 公司);CY3 标记的山羊抗小鼠 IgG(武汉博士德公司);山羊血清封闭液(北京中杉金桥生物技术有限公司);DAPI 和 Annexin V-FITC 细胞凋亡试剂盒(碧云天生物技术研究所);人参总皂苷(TSPG,吉林宏久生物科技股份有限公司),纯度 80% 以上。

### 1.2 方法

1.2.1 动物分组及处理 取 40 只 C57BL/6 雄性小鼠,分为对照组、6.5 Gy 照射剂量组(IR 组)、TSPG(50 mg/kg) + IR + TSPG(50 mg/kg)(IR + T50 组)、TSPG(200 mg/kg) + IR + TSPG(200 mg/kg)(IR + T200 组),共 4 组,每组 10 只。照射前,对照组与 IR 组以灌胃方式给予蒸馏水,IR + T50 组给予 50 mg/kg TSPG 作为低剂量药物组,IR + T200 组给予 200 mg/kg TSPG 作为高剂量药物组,每天灌胃 1 次。按照 0.1 ml/10 g 剂量灌胃给药 3 d 后,实验组小鼠进行直线加速器全身均匀照射,总剂量 6.5 Gy X 射线,吸收剂量率为 3.76 Gy/min,时间 1.75 min,焦点-鼠距 98 cm,面积 25 cm  $\times$  25 cm。然后继续按照上述剂量灌

胃给药 7 d,用以判断短期应用 TSPG 的抗放射作用。检测外周血单个核细胞(mononuclear cells, MNC)、MNC 个数、集落个数及形态、MNC 细胞周期、集落回收细胞衰老染色、p16<sup>Ink4a</sup> 细胞免疫荧光等指标的变化情况。

1.2.2 骨髓单个核细胞(bone marrow mononuclear cells, BM-MNCs)的提取 颈椎脱臼处死 C57BL/6 小鼠,75% 乙醇浸泡 5 min,无菌条件下取股骨及胫骨,用 7 号针头和含 2%~3% 胎牛血清的 RPMI1640 培养液冲出骨髓,反复冲几次骨髓液后通过 4 号针头制成单细胞悬液,淋巴细胞分离液分离 BM-MNCs,台盼蓝染色检测细胞的活性(活细胞数 > 96%),用含 2%~3% 胎牛血清(FBS)的 RPMI1640 培养液充分洗涤 BM-MNCs 2~3 次,计数细胞。

1.2.3 骨髓造血细胞集落培养及计数 分别取各组 MNCs,计数后调整细胞密度  $1 \times 10^6$ /ml,吸取各管细胞悬液 0.4 ml、同时加入含 2%~3% FBS 的 RPMI1640 培养液,使细胞悬液稀释至 1 ml、细胞密度调整至  $4 \times 10^5$ /ml;再取 0.1 ml 的此细胞悬液加至 1 ml 甲基纤维素中,再次振荡混匀,然后静止 5 min,使气泡溶解。用 16 号针头、1 ml 注射器吸取 0.25 ml 混合甲基纤维素细胞悬液于 24 孔板,每组 3 个复孔,并轻轻摇动使之混匀铺满整个孔底。其余每孔加 1 ml PBS 缓冲液保持湿度。37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 孵箱中培养 7~12 d。倒置显微镜下观察集落的大小、形态,并沿每个孔的一边开始呈“S”型计数每孔集落个数。

1.2.4 细胞周期的检测 收集各组 MNCs,用 PBS 洗 3 次,70% 冰乙醇固定,4  $^{\circ}$ C 过夜。测定前吸除固定液,加入 RNA 酶工作液和碘化丙啶,4  $^{\circ}$ C 染色 30 min,流式细胞仪检测,每个样本测定需  $\geq 3 \times 10^4$  个细胞,经处理分析得出细胞周期各时相比例。

1.2.5  $\beta$ -半乳糖苷酶衰老(SA- $\beta$ -gal)染色 收集各组集落细胞,PBS 洗 3 次,按照 Senescence  $\beta$ -Galactosidase Staining Kit 试剂盒说明进行染色,倒置显微镜下观察并计算细胞阳性率。

1.2.6 细胞免疫荧光分析 p16<sup>Ink4a</sup> 蛋白水平的表达 收集各组集落细胞,PBS 洗 3 次,离心甩片,使每张甩片的细胞数为  $(1 \sim 5) \times 10^4$  个,然后室温下晾干,用 4% 多聚甲醛固定 10~15 min,PBS 洗 3 次;加入 1 滴 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,37  $^{\circ}$ C 孵育 10 min,PBS 洗 3 次;滴 1 滴山羊血清封闭液,37  $^{\circ}$ C 孵育 10~15 min,倾去、勿洗,滴加 1:200 的 p16 抗体,4  $^{\circ}$ C 过夜。第 2 天,室温回温 15 min,PBS 洗 3 次,滴加 1:50 CY3 标记的抗体,避光,37  $^{\circ}$ C 孵育 30 min,PBS 洗 3 次;滴加 100  $\mu$ g/ml 的 DAPI,室温染色 5~10 min,PBS 洗 3 次,50% 甘油封片,每组制作玻片 3~5 张,荧光显微镜下观察。CY3 标记的抗体为红色荧光,DAPI 为蓝色,每张随机计数 500 个细胞,观察和计数阳性细胞的百分比。

### 1.3 统计学分析

所有数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 17.0 统计软件,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 Dunnett-*t* 检验。

## 2 结果

### 2.1 TSPG 对外周血细胞数量变化的影响

与对照组比较,IR 组白细胞数明显减少,红细胞与血小板数量也有所减少,IR + T200 组的白细胞数明显增加( $P <$

0.05), 红细胞与血小板数量恢复到对照组水平。结果表明 TSPG(200 mg/kg) 对照射后外周血细胞数量的减少有改善作用。见表 1。

表 1 各组外周血细胞数量的变化 (n = 10,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	白细胞( $\times 10^9$ )/L	红细胞( $\times 10^{12}$ )/L	血小板( $\times 10^9$ )/L
对照组	2.84 ± 0.17	8.68 ± 0.45	128.14 ± 14.02
IR 组	0.33 ± 0.08	8.21 ± 0.41	118.48 ± 12.83
IR + T50 组	0.35 ± 0.12	8.86 ± 0.29	127.16 ± 17.43
IR + T200 组	2.19 ± 0.87 <sup>a</sup>	9.18 ± 0.67	131.98 ± 16.39

a:  $P < 0.05$ , 与 IR 组比较

## 2.2 TSPG 对 MNC 总数的影响

与对照组比较, IR 组 MNC 细胞数明显减少; 与 IR 组比较, IR + T50 组细胞数增加, 但无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 而 IR + T200 组明显增加 ( $P < 0.05$ ), 提示 TSPG (200 mg/kg) 对放射引起的骨髓造血细胞损伤有保护作用。见表 2。

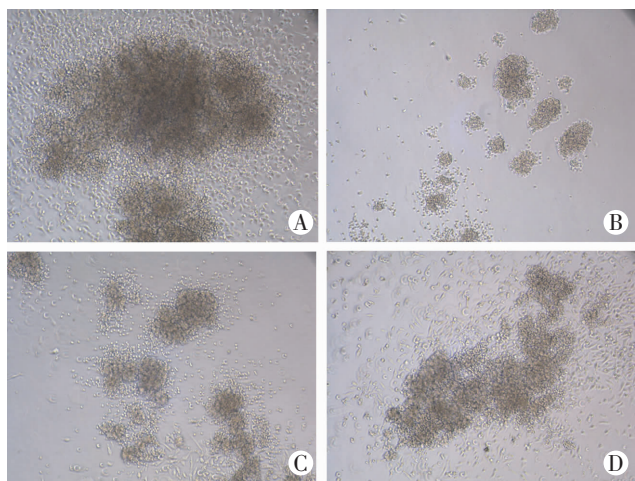
表 2 各组 BM-MNC 数量、集落个数、细胞周期的变化 (n = 10,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	MNCs( $\times 10^6$ )	集落个数(孔)	细胞周期( $G_1$ 期, %)
对照组	1.5 ± 0.13	45.3 ± 2.08	53.3 ± 1.63
IR 组	0.55 ± 0.09	15.67 ± 2.31	72.21 ± 1.32
IR + T50 组	0.63 ± 0.07	21.33 ± 2.08	70.39 ± 0.96
IR + T200 组	0.85 ± 0.13 <sup>a</sup>	30.3 ± 1.53 <sup>a</sup>	65.33 ± 1.24

a:  $P < 0.05$ , 与 IR 组比较

## 2.3 TSPG 对造血细胞形成集落个数及形态的影响

各组细胞经甲基纤维素培养基培养 7 ~ 12 d 后, 倒置显微镜下观察, 见有大量集落形成(图 1), 集落的数量(表 2)结果显示, 对照组形成的造血细胞集落的体积最大、数量最多; IR 组形成集落的体积明显减小, 数量亦明显减少; 与 IR 组比较, 各加药组集落的体积均增大、数量均增加, 以 IR + T200 组最明显, 提示 TSPG 50、200 mg/kg 可提高放射引起的骨髓造血细胞的集落形成能力, 且以 TSPG 200 mg/kg 作用效果较好。

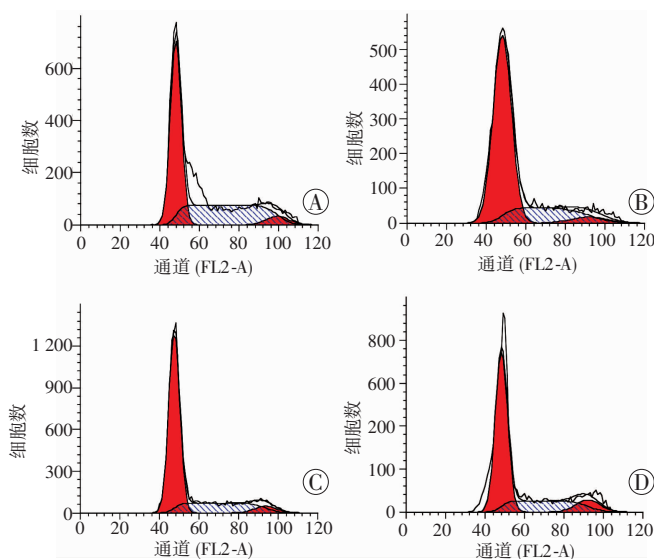


A: 对照组; B: IR 组; C: IR + T50 组; D: IR + T200 组

图 1 倒置显微镜观察各组造血细胞集落 ( $\times 100$ )

## 2.4 TSPG 对造血细胞周期的影响

收集各组细胞, 流式细胞术检测周期结果(表 2, 图 2)显示, 与对照组比较, IR 组  $G_1$  期细胞增加。经放射后的骨髓造血细胞周期  $G_1$  期细胞比例随药物浓度增加有减少的趋势。

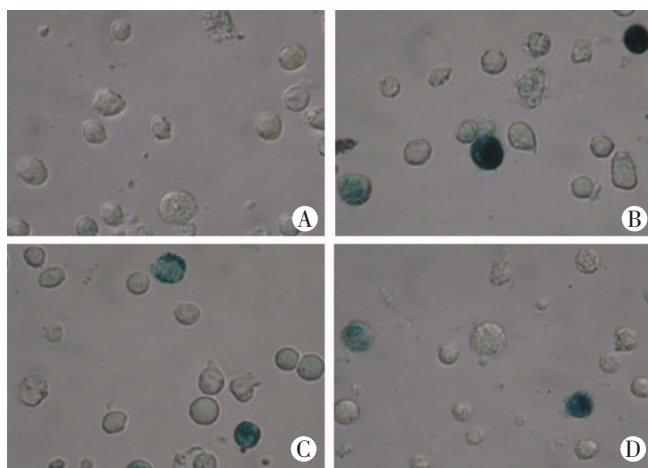


A: 对照组; B: IR 组; C: IR + T50 组; D: IR + T200 组

图 2 流式细胞仪检测各组造血细胞细胞周期的变化

## 2.5 TSPG 对造血细胞 SA- $\beta$ -gal 衰老染色的影响

SA- $\beta$ -gal 染色的阳性细胞着蓝色, 细胞质内可见蓝色颗粒(图 3)。倒置显微镜下计数 500 个细胞, 对照组阳性率为 (2.3 ± 0.3)%, IR 组为 (17.2 ± 1.4)%, IR + T50 组为 (13.2 ± 0.8)%, IR + T200 组为 (6.2 ± 0.6)%. 结果显示, 照射后阳性率升高, 经不同浓度 TSPG 作用后, 阳性率均有下降, 以 IR + T200 组最显著 ( $P < 0.05$ ), 提示 TSPG 50、200 mg/kg 对放射引起的骨髓造血细胞衰老有作用, 且以 TSPG 200 mg/kg 作用效果较好。



A: 对照组; B: IR 组; C: IR + T50 组; D: IR + T200 组

图 3 各组造血细胞  $\beta$ -半乳糖苷酶衰老染色的变化观察 ( $\times 400$ )

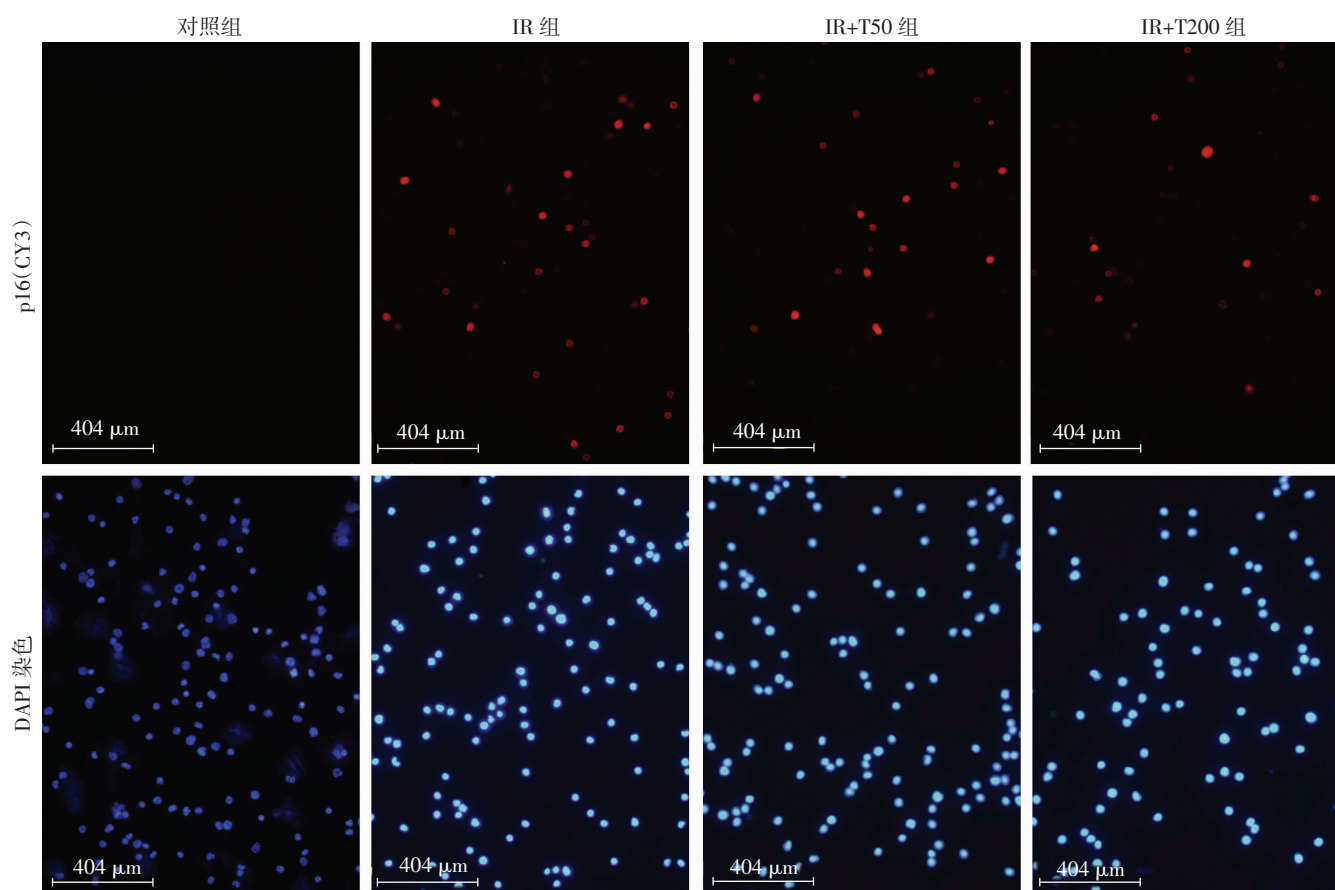


图4 各组骨髓细胞 p16<sup>Ink4a</sup>免疫荧光分析 (×400)

## 2.6 TSPG 对造血细胞中 p16<sup>Ink4a</sup> 蛋白的表达水平的影响

经 CY3-p16 标记的细胞细胞质着红色, DAPI 染细胞核为蓝色(图4)。计数 500 个细胞中 p16<sup>Ink4a</sup> 蛋白表达的阳性率分别为:对照组(4.87 ± 0.45)%, IR 组(27.60 ± 4.65)%, IR + T50 组(21.20 ± 2.34)%, IR + T200 组(14.20 ± 1.97)%。上述结果显示,与对照组比较,IR 组细胞中 p16<sup>Ink4a</sup> 蛋白表达阳性率增高;与 IR 组比较,各 TSPG 组细胞中 p16<sup>Ink4a</sup> 蛋白表达阳性率均下降,以 IR + T200 最显著( $P < 0.05$ ),提示 TSPG 50、200 mg/kg 对放射引起的骨髓造血细胞衰老有缓解作用,且以 TSPG 200 mg/kg 作用效果较好。

## 3 讨论

文献[9-11]报道 TSPG 能促进受辐射小鼠外周血红细胞、血红蛋白及骨髓细胞数的恢复、促进红系祖细胞、粒单系造血祖细胞(CFU-GM)的增殖。本实验结果显示,不同浓度的 TSPG 作用后, TSPG 200 mg/kg 能使 IR 作用后的白细胞数增加,红细胞及血小板数也恢复到正常对照组水平,与文献[9-12]报道相一致。造血干细胞可以增殖分化为造血祖细胞,其中造血祖细胞混合集落体外培养可以反应造血干细胞的早期分

化,即多向分化潜能,是检测造血干细胞功能和衰老的主要指标之一,衰老导致造血干细胞自我更新和多向分化潜能受损,形成混合集落能力下降<sup>[6-7]</sup>。本实验结果显示,与 IR 组相比较,经不同浓度的 TSPG 作用后,集落形态大小、形成集落的数量增加,以 TSPG 200 mg/kg 效果较好,提示 TSPG 200 mg/kg 对放射引起的造血细胞衰老有一定作用。

细胞的生长由不同机制严格调控,细胞分裂增殖是通过细胞周期实现的。细胞周期有两个关键的细胞周期检测点:G<sub>1</sub>/S 和 G<sub>2</sub>/M 检测点; cyclins-CDKs 激酶复合物的有序激活和失活等来实现对细胞周期的调控<sup>[13]</sup>。文献[14]报道,放射对细胞周期的影响主要作用于细胞周期的 G<sub>1</sub> 期,使 DNA 无法合成,不能顺利进入 S 期, G<sub>1</sub> 期细胞比例增加,本实验结果显示,经 IR 作用后 G<sub>1</sub> 期细胞比例增加,与文献报道结果一致。我们既往研究<sup>[10-11]</sup>表明 TSPG 可体外诱导造血干/祖细胞增殖。本实验结果显示, TSPG 50、200 mg/kg 对细胞周期的作用随药物浓度增加有逐渐缓解的趋势。

SA-β-gal 是公认的衰老细胞生物标记, p16<sup>INK4a</sup> 升高与细胞衰老诱导密切相关<sup>[15-18]</sup>。本实验结果显示,

照射后集落形成细胞 SA- $\beta$ -gal 染色的阳性率明显增加,但同时经 TSPG 200 g/kg 处理后染色阳性率较 IR 组降低。p16<sup>INK4a</sup>是细胞受限的关键调控基因,是细胞衰老遗传控制程序中的关键效应物<sup>[19-21]</sup>。目前研究<sup>[4,17,18,22]</sup>发现诱导造血干细胞衰老涉及的通路有2条:一是由 DNA 损伤或端粒缩短激发的 p53-p21 通路;一是由 p38 MAPK 级联反应激活的 p16-Rb 通路。研究<sup>[18,23]</sup>发现随年龄增加,造血干细胞的 p16<sup>INK4a</sup>表达没有明显改变,但在某些应激状态下造血干细胞的 p16<sup>INK4a</sup>表达升高,并出现细胞功能衰退。本实验结果显示,IR 组集落细胞 p16<sup>INK4a</sup>表达明显增加,经 TSPG 200 mg/kg 作用后集落细胞 p16<sup>INK4a</sup>表达显著降低。值得注意的是,本实验采用回收的集落形成细胞来进行衰老标志的检测,由于每个造血细胞集落代表1个造血干祖细胞在体外培养增殖形成的下一代造血细胞,检测他们的衰老状况更能反映辐射以及药物对造血干祖细胞的作用。这些实验结果提示 TSPG 200 mg/kg 对放射所致骨髓造血细胞衰老有一定改善作用。

综上所述,合适剂量的人参总皂苷(TSPG 200 mg/kg)对放射引起的骨髓造血细胞衰老有一定改善作用,这为指导临床合理应用中药治疗提供理论依据和实验基础。

#### 参考文献:

[1] 闫玲玲,姜蓉,李春莉,等. 放射致小鼠骨髓造血细胞损伤与衰老模型的建立[J]. 中国生物制品学杂志, 2012, 25(5): 625-629.  
[2] Lee T K, Wang W, O'Brien K F, et al. Effect of North American ginseng on 137Cs-induced micronuclei in human lymphocytes: a comparison with WR-1065[J]. Phytother Res, 2008, 22(12): 1614-1622.  
[3] 黄干,祝彼得,张淑慎. 人参总皂苷对小鼠血细胞生成的影响[J]. 中华血液学杂志, 1990, 11(2): 66-68.  
[4] Wang Y, Schulte B A, Zhou D. Hematopoietic stem cell senescence and long-term bone marrow injury [J]. Cell Cycle, 2006, 5(1): 35-38.  
[5] 杨薛康,海春旭,梁欣,等. 辐射致急性小鼠衰老模型的建立[J]. 癌变·畸变·突变, 2007, 19(6): 491-493.  
[6] Wang Y, Schulte B A, LaRue A C, et al. Total body irradiation selectively induces murine hematopoietic stem cell senescence[J]. Blood, 2006, 107(1): 358-366.  
[7] Wang Y, Probin V, Zhou D. Cancer therapy-induced residual bone marrow injury-Mechanisms of induction and implication for therapy [J]. Curr Cancer Ther Rev, 2006, 2(3): 271-279.  
[8] Wang Y, Liu L, Pazhanisamy S K, et al. Total body irradiation causes residual bone marrow injury by induction of persistent oxidative stress in

murine hematopoietic stem cells [J]. Free Radic Biol Med, 2010, 48(2): 348-356.  
[9] 李戈. 骨髓抑制防治概况 [J]. 中医药学刊, 2006, 24(5): 888-890.  
[10] 王建伟,李荣,王亚平,等. 人参总皂苷体外诱导 CD34<sup>+</sup>造血干/祖细胞增殖的作用 [J]. 解剖学杂志, 2006, 29(4): 430-432,449.  
[11] 李春莉,王建伟,姜蓉,等. 人参总皂苷诱导红系血细胞增殖的信号转导[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(23): 4568-4572.  
[12] 胡晓舒,黄永,罗春燕,等. 人参总皂苷对 K562 细胞促红细胞生成素受体的作用 [J]. 生物技术, 2009, 19(1): 19-21.  
[13] Noda S, Ichikawa H, Miyoshi H. Hematopoietic stem cell aging is associated with functional decline and delayed cell cycle progression [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 383(2): 210-215.  
[14] Wang Y, Meng A, Lang H, et al. Activation of nuclear factor kappaB In vivo selectively protects the murine small intestine against ionizing radiation-induced damage [J]. Cancer Res, 2004, 64(17): 6240-6246.  
[15] 路晓钦,高月,刘永学,等. 四物汤对辐射小鼠造血功能影响的初步探讨[J]. 中国中医药科技, 2002, 9(4): 216-218.  
[16] 吕慧兰. 扶正颗粒对辐射小鼠造血损伤的影响[J]. 中国辐射卫生, 2005, 14(3): 224.  
[17] Wang Y, Liu L, Zhou D. Inhibition of p38 MAPK attenuates ionizing radiation-induced hematopoietic cell senescence and residual bone marrow injury [J]. Radiat Res, 2011, 176(6): 743-752.  
[18] Carbonneau C L, Despars G, Rojas-Sutterlin S, et al. Ionizing radiation-induced expression of INK4a/ARF in murine bone marrow-derived stromal cell populations interferes with bone marrow homeostasis [J]. Blood, 2012, 119(3): 717-726.  
[19] Chen J. Senescence of hematopoietic stem cells and bone marrow failure [J]. Int J Hematol, 2005, 82(3): 190-195.  
[20] Janzen M, Forkert R, Fleming H E, et al. Stem-cell ageing modified by the cyclin-dependent kinase inhibitor p16INK4a [J]. Nature, 2006, 443(7110): 421-426.  
[21] Stepanova L, Sorrentino B P. A limited role for p16Ink4a and p19Arf in the loss of hematopoietic stem cells during proliferative stress [J]. Blood, 2005, 106(3): 827-832.  
[22] Milyavsky M, Gan O I, Trottier M, et al. A distinctive DNA damage response in human hematopoietic stem cells reveals an apoptosis-independent role for p53 in self-renewal [J]. Cell Stem Cell, 2010, 7(2): 186-197.  
[23] Attema J L, Pronk C J, Norddahl G L, et al. Hematopoietic stem cell ageing is uncoupled from p16INK4A-mediated senescence [J]. Oncogene, 2009, 28(22): 2238-2243.

(收稿:2012-08-02;修回:2012-09-19)

(编辑 吴培红)