

文章编号:1000-8551(2012)02-0306-05

姜辣素对⁶⁰Co γ 辐照小鼠白系细胞 和骨髓细胞 DNA 的保护作用

谢振飞 周 羽 耿艳艳 曾宪垠

(四川农业大学生命理学院原子能农业应用研究室,四川 雅安 625014)

摘要:研究了姜辣素对⁶⁰Co γ 射线损伤小鼠白系细胞和骨髓细胞 DNA 的防护作用。24 只健康雌性昆明小鼠随机分为对照组、给药组、照射组和给药照射组。给药组和给药照射组灌胃姜辣素,连续 5d,第 6 天照射组和给药照射组进行 5Gy ⁶⁰Co γ 射线辐照(剂量率 1.2Gy/min),照射后 48h 所有小鼠采血,取脾脏、肝脏、股骨,进行相关指标测定。给药照射组小鼠脾脏指数极显著高于照射组($P < 0.01$),GRA 和骨髓细胞 DNA 含量显著高于照射组($P < 0.05$),骨髓嗜多染红细胞微核数目($P < 0.01$)和肝脏指数($P < 0.05$)明显低于照射组;与对照组相比,给药组的脾脏指数极显著升高($P < 0.01$),骨髓细胞 DNA 含量有所升高,骨髓嗜多染红细胞微核数目也有所降低。结果表明,姜辣素对⁶⁰Co γ 射线照射造成的小鼠白系细胞和骨髓细胞 DNA 损伤具有防护作用。

关键词:姜辣素;辐射损伤;白系细胞;骨髓细胞;防护

PROTECTIVE EFFECT OF GINGEROL ON LEUCOCYTE AND BONE MARROW DNA OF ⁶⁰Co γ-RAYS IRRADIATED MICE

XIE Zhen-fei ZHOU Yu GENG Yan-yan ZENG Xian-yin

(Isotope research Lab, College of Life science, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014)

Abstract: In this article, the effect of gingerol on peripheral leucocyte and bone marrow DNA of ⁶⁰Co γ-rays irradiated mice was developed. Twenty-four healthy female Kunming mice were randomly divided into 4 groups: control, gingerol, irradiation and gingerol + irradiation group. Gingerol group and gingerol + irradiation group were given gingerol intragastrically once a day for five days. Irradiation group and gingerol + irradiation group were suffered from 5Gy ⁶⁰Co γ-rays irradiation at the rate of 1.2 Gy/min on the 6th day. Blood samples, spleens, livers and thigh bones were collected to be measured after 48h. The results showed that, compared with irradiation group, gingerol + irradiation group had significantly higher spleen index ($p < 0.01$), higher counts of GRA as well as thigh bones DNA ($p < 0.05$), while MN numbers of PCE cells ($p < 0.01$) and liver index ($p < 0.05$) were lower. Compared with control group, the relative spleen index ($p < 0.01$) and DNA content of bone marrow increased, and MN numbers of PCE cells decreased in gingerol group. These findings demonstrated that the gingerol has the protective effects on leucocyte and bone marrow DNA of ⁶⁰Co γ-rays irradiated mice.

Key words: gingerol; irradiation damage; leucocyte; bone cells; protection

随着放射性物质在科学研究、工厂生产、能源勘测 及医学等领域的应用,人们与放射性物质的接触越来越

收稿日期:2011-05-29 接受日期:2011-09-07

基金项目:教育部“长江学者和创新团队发展计划”创新团队项目(IRT0848),四川农业大学大学生科研兴趣培养计划(04050722)

作者简介:谢振飞(1989-),男,湖北应城人。E-mail:shengwu0@yahoo.cn

通讯作者:曾宪垠(1967-),男,江西瑞金人,博士生导师,研究方向为核技术在畜牧兽医上的应用。Tel:0835-2886138; E-mail:xyzeng@sicau.edu.cn

越频繁^[1]。电离辐射会使受照射的生物机体内部分电离,产生大量的活性氧自由基,引发脂质过氧化反应,进而损伤生物膜;更严重的是会对碱基核糖造成损害,导致 DNA 断裂,最终可能引起染色体的畸变,导致机体病变甚至诱发癌症^[2]。

生姜(*Zingiber officinale* Rosc)属姜科姜属植物,是香料家族和药用植物家族的重要成员^[3],是日常生活中一种广泛使用的药食同源性调味剂,其作为药物在临床上使用的历史可以追溯到 2500 年前^[4]。相关研究表明,生姜及其提取物具有抗氧化^[5,6],减轻炎症^[7],抑制癌症发生和癌细胞增殖^[8,9]等多种作用。与常规抗辐射药物如 WR-2721 带来的头痛、恶心和呕吐等副作用相比,生姜在正常食用量下,对人体没有副作用^[10]。在辐照前给小鼠灌胃生姜提取物,能够拮抗辐射引起的胃肠道疾病和死亡,起到一定的保护作用^[11]。本文进一步研究生姜的重要活性成分——姜辣素对辐射损伤小鼠白系细胞和骨髓细胞 DNA 的防护作用,以期开发新型无副作用的抗辐射药物提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂 姜辣素购自西安小草植物科技有限责任公司(批号:XC100510);吉姆萨染液购自南京建成生物工程研究所;小牛血清购自甘肃兰州溶海公司;其他常规试剂均为国产分析纯级。

1.1.2 仪器 血球分析仪(Abaous junior 公司);501A 型超级数显恒温水浴锅(上海浦东荣丰科学仪器公司);紫外分光光度计(上海秦迈仪器公司);CR22F 低温高速离心机(德国 eppendorf 公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物选取、分组及处理 选取 24 只健康雌性昆明小白鼠,体重 22~26g,6~8 周龄,随机分成对照组、给药组、照射组和给药照射组 4 组,每组 6 只,分笼饲养。动物适应性喂养 2 周后开始灌胃,连续灌胃 5d,每天 1 次。给药组和给药照射组灌胃姜辣素(800mg/kg B.W.),对照组和照射组灌胃等体积蒸馏水。灌胃结束后第 2 天照射组和给药照射组进行⁶⁰Co γ 射线照射。

1.2.2 照射方法 照射时,每只小鼠放进 1 个独立的木制容器中,容器规格:长×宽×高(5cm×5cm×12cm)。小鼠进行单次全身⁶⁰Co γ 均匀静态辐照,照射剂量为 5Gy,剂量率为 1.2Gy/min,照射距离为

0.8m。

1.2.3 样本采集 照射后 48h 所有小鼠眼窝内静脉丛采血,所采集血样存放至抗凝管中保存待测;小鼠于采血后颈椎脱臼处死,测定体重,取肝脏、脾脏,并称重;取两侧股骨待测。

1.2.4 外周白系细胞含量测定 所采血样用血球分析仪检测淋巴细胞(LYM)、单核细胞(MID)、中性粒细胞(GRA)的含量。

1.2.5 脏器指数的测定 脏器指数(mg/g) = 脏器重量(mg)/动物体重(g)。

1.2.6 骨髓 DNA 含量的测定 参照田琼等报道的方法^[12]进行测定。取一侧股骨,用 0.005mol/L CaCl₂ 冲洗骨髓至离心管中,4℃ 放置 30min 后,2500r/m 离心 15min,弃上清,用 0.2mol/L HClO₄ 5ml 悬浮沉淀,混匀,90℃ 水浴 15min,流水冷却,3500r/m 离心 10min,于 268nm 处测上清液体的吸光值,0.2mol/L HClO₄ 作空白对照。

1.2.7 骨髓细胞微核数目测定 参照 Ledebur M V 等报道的方法^[13]进行测定。取另一侧股骨,用灭活小牛血清冲洗骨髓至 Ep 管,离心弃上清,留少量液体进行涂片,干燥后立即用甲醇固定保存,吉姆萨染色按试剂盒上说明进行操作。染色后的每只小鼠骨髓细胞涂片于油镜下连续观察 1000 个嗜多染红细胞(PCE),计数具有微核(MN)的 PCE 数目,结果用 1000 个 PCE 中出现 MN 的个数来表示。

1.3 统计学分析

所测数据用平均值±标准差($\bar{X} \pm s, n = 6$)表示,数据的统计学分析采用 SPSS 18.0 统计软件包的 Duncan 法进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 姜辣素对小鼠的脏器指数的影响

由表 1 可以看出,受⁶⁰Co γ 照射后,照射组和给药照射组与对照组相比,小鼠脾脏发生明显萎缩,脾指数极显著下降($P < 0.01$),说明脾脏已经受到辐射的严重损伤。给药组脾指数显著高于对照组($P < 0.01$),表明正常情况下饲喂姜辣素可以改善机体的免疫功能;给药照射组与照射组相比,也能显著降低辐射对脾脏造成的损伤($P < 0.01$)。各组肝指数相比较,照射组肝指数最大,与给药组和给药照射组相比有明显差异($P < 0.05$);而给药组和给药照射组与对照组相比差异不显著($P > 0.05$)。

表 1 不同处理组小鼠的脏器指数
Table 1 The relative organ index of mice in different groups

组别 group	脾指数 spleen index (mg/g)	肝指数 liver index (mg/g)
对照组 control group	3.12 ± 0.46 ^A	47.64 ± 2.71 ^{abA}
给药组 gingerol group	4.61 ± 0.41 ^B	46.60 ± 4.31 ^{aA}
照射组 irradiation group	0.99 ± 0.23 ^C	51.36 ± 2.98 ^{bA}
给药照射组 gingerol + irradiation group	2.69 ± 1.42 ^D	47.31 ± 2.42 ^{aA}

注:表中同一列数据后带有不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著,带有不同大写字母表示在 0.01 水平差异显著,下表同。

Note: The data followed by different small letter within a column indicates a different significance at the level of 0.05, and followed by different capital letter indicates a different significance at the level of 0.01, respectively. The same as following tables.

2.2 姜辣素对小鼠白系细胞含量的影响

表 2 显示,与对照组相比,经⁶⁰Co γ 辐照后,照射组小鼠体内 LYM、MID、GRA 的含量极显著降低($P < 0.01$);给药照射组 LYM 含量降低十分明显($P < 0.01$),MID 含量也显著降低($P < 0.05$),而 GRA 含量与对照组相比差异不显著($P > 0.05$)。给药照射组与照射组相比,体内 GRA 的含量显著升高($P < 0.05$),LYM、MID 含量也有一定程度的提高($P > 0.05$),表明姜辣素具有减轻电离辐射促白系细胞凋亡的作用。

表 2 不同处理组小鼠血液中 LYM、MID、GRA 的含量

Table 2 LYM, MID and GRA numbers in the blood of mice in different groups

组别 group	LYM(× 10 ⁹ /L)	MID(× 10 ⁹ /L)	GRA(× 10 ⁹ /L)
对照组 control group	8.17 ± 2.44 ^{aA}	0.38 ± 0.16 ^{aAB}	1.13 ± 0.25 ^{aA}
给药组 gingerol group	6.11 ± 0.96 ^{aA}	0.29 ± 0.08 ^{aA}	1.35 ± 0.31 ^{aA}
照射组 irradiation group	0.29 ± 0.09 ^{bB}	0.07 ± 0.01 ^{bB}	0.50 ± 0.17 ^{bB}
给药照射组 gingerol + irradiation group	0.93 ± 0.54 ^{bB}	0.12 ± 0.04 ^{bAB}	0.93 ± 0.40 ^{aAB}

2.3 姜辣素对小鼠骨髓细胞 DNA 含量的影响

由图 1 可知,经⁶⁰Co γ 照射后的小鼠,其骨髓细胞 DNA 含量急剧下降,说明骨髓细胞大大减少,与未经辐照的小鼠相比差异极显著($P < 0.01$)。给药照射组 DNA 含量明显高于照射组($P < 0.05$),表明姜辣素对小鼠骨髓细胞辐射损伤具有防护作用。

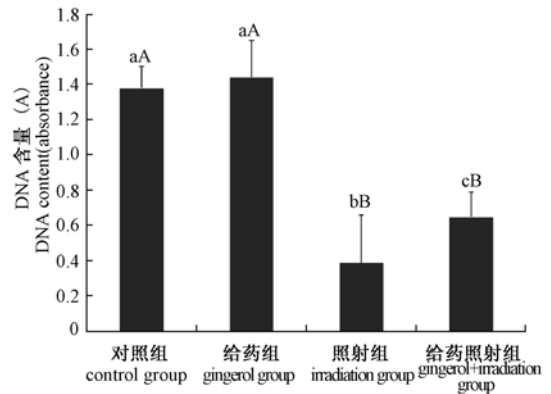


图 1 不同处理组小鼠骨髓细胞的 DNA 含量

Fig. 1 DNA content of bone marrow cells of mice in different groups

图中不同小写字母表示各处理组在 0.05 水平差异显著,不同大写字母表示在 0.01 水平差异显著。图 2 同。

Means followed by different small letter indicate significant differences at 0.05 level, and followed by different capital letter indicates significant differences at 0.01 level, respectively. The same as Figure 2.

2.4 姜辣素对小鼠骨髓 PCE 细胞中微核数目的影响

由图 2 可知,小鼠受⁶⁰Co γ 射线照射后,骨髓中含有 MN 的 PCE 数目显著增多,与对照组和给药组相比差异极显著($P < 0.01$),这是电离辐射导致遗传物质染色体损伤的结果。在小鼠辐照前,每日灌胃姜辣素的给药照射组,辐射诱发产生微核的 PCE 数明显低于未给药的照射组($P < 0.01$),说明姜辣素具有抑制电离辐射诱发微核细胞增加的效应,即具有抗辐射诱变的作用。

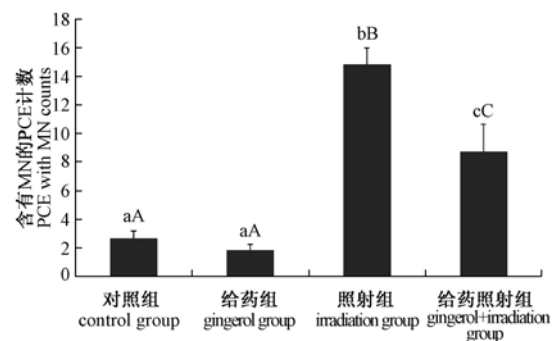


图 2 不同处理组小鼠骨髓 PCE 细胞中 MN 数目

Fig. 2 MN numbers in bone marrow PCE cells of mice in different groups

3 讨论

免疫系统对辐射高度敏感,不同剂量的⁶⁰Co γ 辐照可引起机体不同的免疫应答。低剂量的电离辐射可能引起机体的适应性反应,能够对随后大剂量辐照损伤产生一定的防护作用^[14];而中高剂量的辐射会导致机体免疫细胞的损伤甚至坏死。本实验室前期的研究选用不同剂量的姜辣素对 5Gy ⁶⁰Co γ 射线照射的小鼠实施防护,结果表明 800mg/kg B. W. 的姜辣素可以明显改善机体的抗氧化酶系统。在此基础上,本文进一步研究了姜辣素对 5Gy 辐射损伤小鼠造血系统的防护作用。⁶⁰Co γ 射线照射后,小鼠脾脏明显萎缩,而姜辣素可以显著提高辐射小鼠的脾脏指数,表明姜辣素对辐照后机体造血和免疫功能重建有较好的促进作用。照射组与其他处理组相比,肝脏指数增加比较明显,这与吕影^[15]等的研究结果一致,而姜辣素能够较好的维持辐照小鼠肝脏的形态与功能。这可能是因为辐射可以短期内导致肝脏的急性肿大,而姜辣素良好清除自由基的功能可以减轻辐射的急性应激,保护肝脏免受活性自由基损伤的缘故。

造血组织是电离辐射的敏感组织之一,各系统原始血细胞均源自骨髓造血干细胞,它可以不断自我复制为相同功能的同级细胞和不断增殖分化为特定系统的下级细胞^[16],是维持机体正常造血、保障造血损伤后重建各类血细胞的主导细胞。辐射后,骨髓细胞出现周期抑制,细胞凋亡加快^[17],机体内白系细胞 LYM、MID、GRA 的数量显著下降,导致机体的免疫功能严重受损。灌胃姜辣素可以明显提高辐照小鼠的 GRA 含量,一定程度上提高 LYM 的含量,这可能是因为姜辣素可以通过提高 bcl-2 蛋白和下调 p21 蛋白的表达水平^[18]来缓解⁶⁰Co γ 射线诱发的骨髓细胞周期抑制和细胞凋亡,促进细胞增殖,保护骨髓干细胞免受电离辐射损伤。但姜辣素对短期内 MID 数量的提高作用不显著,这可能与不同细胞自身寿命以及对电离辐射敏感程度不同有关^[19]。电离辐射作为基因毒剂^[20],可以明显诱发敏感骨髓细胞核物质畸变,使得骨髓细胞的再生能力显著下降,辐照后的小鼠含有 MN 的 PCE 数量显著增加,DNA 含量显著下降,细胞坏死严重。姜辣素主要含姜酚、姜醇类物质,具有酚基、羟基或烯链结构,可以作为良好的氢或电子供体,阻断辐射引起的自由基链式反应,促进 DNA 损伤的无差错修复^[1],降低碱基错配和断裂的比率,减少微核数目的形成,从而维持机体正常的代谢功能,起到抗辐

射作用。

对于未受辐照的小鼠,本研究结果显示,给予一定剂量的姜辣素,可以提高正常小鼠的脾脏指数,降低骨髓 PCE 微核率,加强骨髓干细胞的增殖能力,这可能与姜辣素良好的抗氧化功能有关。

4 结论

姜辣素可以显著提高⁶⁰Co γ 辐照损伤小鼠的脾脏指数,血液中 GRA 含量和骨髓细胞 DNA 含量,减轻辐射对肝脏的毒理作用,明显降低辐射引起的骨髓细胞遗传物质的畸变率,对⁶⁰Co γ 射线损伤小鼠白系细胞和骨髓细胞 DNA 具有保护作用。

致谢:感谢四川省农业科学院生物技术核技术研究所试验过程中给予的帮助。

参考文献:

- [1] Jagetia G C. Radioprotective Potential of Plants and Herbs against the Effects of Ionizing Radiation[J]. *Nutr*, 2007, 40: 74 - 81
- [2] Jagetia G C, Venkatesh P, Baliga M S. Evaluation of the radioprotective effect of *Aegle marmelos* (L.) Correa in cultured human peripheral blood lymphocytes exposed to different doses of γ-radiation; a micronucleus study[J]. *Mutagenesis*, 2003, 18(4): 387 - 393
- [3] 刘振伟, 史秀娟, 任清盛, 李立国, 李庆芝, 赵济红. 生姜⁶⁰Co γ 辐射诱变育种研究[J]. *核农学报*, 2010, 24(1): 36 - 40
- [4] Shukla Y, Singh M. Cancer preventive properties of ginger: A brief review[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2007, 45: 683 - 690
- [5] Kota N, Krishna P, Polasa K. Alterations in antioxidant status of rats following intake of ginger through diet[J]. *Food Chemistry*, 2008, 106: 991 - 996
- [6] Stoilova I, Krastanov A, Stoyanova A, Denev P, Gargova S. Antioxidant activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*) [J]. *Food Chemistry*, 2007, 102: 764 - 770
- [7] 李素民, 杨秀岭, 赵智, 樊德厚. 干姜和生姜药理研究进展[J]. *中草药*, 1999, 30(6): 471 - 473
- [8] Manju V, Nalini N. Chemopreventive efficacy of ginger, a naturally occurring anticarcinogen during the initiation, post-initiation stages of 1,2 dimethylhydrazine induced colon cancer[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2005, 358: 60 - 67
- [9] Takada Y, Murakami A, Aggarwal B B. Zerumbone abolishes NF-κB and IκBα kinase activation leading to suppression of antiapoptotic and metastatic gene expression, upregulation of apoptosis, and downregulation of invasion[J]. *Oncogene*, 2005, 24: 6957 - 6969
- [10] Weidner M S, Sigwart K. The safety of a ginger extract in the rat [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2000, 73: 513 - 520
- [11] Jagetia G C, Baliga M S, Venkatesh P, Ulloor J N. Influence of ginger rhizome [*Zingiber officinale* Rosc] on survival, glutathione

- and lipid peroxidation in mice after whole - body exposure to gamma radiation[J]. Radiat Res, 2003, (160): 584 - 592
- [12] 田琼, 杨岚, 张发科. 血小板的四因子对小鼠急性放射损伤的防护作用与机理[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2000, 20(6): 416 - 418
- [13] Ledebur M V, Schmid W. The micronucleus test methodology aspects [J]. Mutres, 1973, 19(1): 109 - 117
- [14] 周平坤. 低剂量辐射效应—辐射防护的基础[J]. 辐射防护通讯, 2005, 25(4): 14 - 16
- [15] 吕影, 黄训端, 夏晨, 闫永婷, 孙小方. 魔芋提取物对受辐射小鼠抗氧化及生精能力的影响[J]. 环境与健康杂志, 2008, 25(2): 164 - 166
- [16] 王东晓, 陈孟莉, 殷建芬, 刘屏. 鸡血藤活性成分 SS8 对骨髓抑制小鼠造血祖细胞增殖的作用[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(2): 152 - 155
- [17] 马增春, 高月, 刘永学, 谭洪玲, 张立, 陶来宝, 陈鹏. 辐射小鼠骨髓 CD34⁺ 细胞的变化及其意义[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2001, 21(1): 12 - 15
- [18] 肖元梅, 曾令福, 王舟. 镉对小鼠骨髓造血细胞辐射损伤影响的研究[J]. 中国公共卫生, 2003, 19(9): 1081 - 1083
- [19] 邓乾春, 陈春艳, 段会珂, 汪兰, 谢笔钧. 白果清蛋白提取物对 γ 射线辐射损伤小鼠的保护作用研究[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2005, 23(6): 359 - 365.
- [20] 朱莉, 韩志武, 于国英. 青紫薯色素对⁶⁰Co 辐射小鼠胸腺淋巴细胞的保护作用及其机制[J]. 齐鲁医学杂志, 2005, 20(5): 380 - 384

(责任编辑 裴颖)



(上接第 261 页)

- [14] Mathur A K, Ganapathy P S, Johri B M. Isolation of sodium chloride - tolerant plantlets of *Kickxia ramosissima* under in vitro conditions [J]. Z Pflanzenphysiol, 1980, 99: 287 - 294
- [15] Bi Jinghua, Liu Yongli, Asghar S. In vitro organogenesis and plant regeneration from leaf explants of *Actinidia latifolia* [J]. Journal of Fruit Science, 2005, 22(4): 405 - 408
- [16] 王妍, 孙清荣, 王元征, 李宪利, 周广芳. 泰山酸枣离体叶片再生体系的建立[J]. 西北植物学报, 2009, 29(10): 2118 - 2122
- [17] Hangarter R P, Stasinopoulos T C. Repression of plant tissue culture growth by light is caused by photochemical change in the culture medium [J]. Plant Science, 1991, 79(2): 253 - 257
- [18] Oulad A M, Suty L, Nan C J, Renaudin J P, Delaserve B T. Cytokinins modulate the steady - state levels of light - dependent and light-independent proteins and mRNAs in tobacco cell suspensions [J]. Plant Science, 1991, 77(1): 29 - 40
- [19] Lercari B, Moscatelli S, Ghirardi E, Niceforor R, Bettrtram L. Photomorphogenic control of shoot regeneration from etiolated and light-grown hypocotyls of tomato [J]. Plant Science, 1999, 140(1): 53 - 62
- [20] Chakravarty T N, Sopory S K. Blue light stimulation of cell proliferation and glyoxalase I activity in callus cultures of *Amaranthus paniculatus* [J]. Plant Science, 1998, 132(1): 63 - 69

(责任编辑 王媛媛)