

# 油菜花粉酶解肽对<sup>60</sup>Co γ 辐射损伤小鼠造血功能的影响

胡筱波<sup>1,2</sup>, 温成荣<sup>1</sup>, 庞杰<sup>1</sup>, 陈绍军<sup>1</sup>

(1. 福建农林大学食品科学学院, 福建福州 350002) (2. 华中农业大学食品科技学院, 湖北武汉 430070)

**摘要:** 探讨油菜花粉酶解肽对 8 Gy 的<sup>60</sup>Coγ 辐射损伤小鼠造血功能的影响, 为开发安全无毒有效的抗辐射药物和提高花粉附加值提供依据。小鼠随机分为空白组、照射对照组、油菜花粉酶解肽低、中、高剂量组, 样品采用灌胃方式给予实验小鼠, 连续灌胃 30 d 后, 接受 8 Gy<sup>60</sup>Coγ 射线一次性辐射, 照射后定期对小鼠尾静脉取血并做血象分析; 辐射后 20 d, 测定骨髓细胞微核率及 DNA 含量、肝脏 SOD 活性、血清 MDA 值。与对照组比较, 油菜花粉酶解肽能一定程度上改善外周血象指标(白细胞、红细胞、血小板数、血红蛋白), 降低骨髓细胞微核率, 提高小鼠骨髓细胞 DNA 含量、提高 SOD 的酶活和降低血清 MDA 含量, 且在各剂量组中高剂量组效果较好。油菜花粉酶解肽对辐射损伤小鼠的造血功能具有一定的防护作用。

**关键词:** 油菜花粉酶解肽; 辐射; 造血功能; 影响

文章编号: 1673-9078(2013)2-219-222

## Effects of Peptide from Rape Pollen Glutelin on Hemopoietic Function Promotion of Mice Irradiated by<sup>60</sup>Coγ

HU Xiao-bo<sup>1,2</sup>, WEN Cheng-rong<sup>1</sup>, PANG Jie<sup>1</sup>, Chen Shao-jun<sup>1</sup>

(1. College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

(2. College of Food Science and technology, Huazhong Agriculture University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** To evaluate the protective effects of peptide from rape pollen glutelin on hemopoietic function promotion of irradiated mice in<sup>60</sup>Coγ, and to provide theoretical evidence for developing the safe and harmless antiradiation medicine and improving added value of pollen. The mice were divided into normal control group, irradiating control group, low, medium, and high dose group. For 30 days of being intragastrically administrated, all mice were irradiated by 8 Gy<sup>60</sup>Co-γ-ray except normal control group. Then the peripheral blood WBC, RBC, PLT and HGB of mice were analyzed on fixed days. 20 days of radiation later, the activity of SOD in hepatic tissue and MDA content in serum were studied, and the DNA content of bone marrow, the rate of nucleated bone marrow cell were detected. Comparing with the model group, the mice of PRPG peripheral blood WBC, RBC, PLT and HGB were higher. The rate of nucleated bone marrow cell was decreased. The DNA content of bone marrow and the activities of SOD in liver were increased, and MDA in serum were decreased. And the 100 mg/kg bw dose group was found to be the best. PRPG had protective effects on hemopoietic function promotion of irradiated mice in<sup>60</sup>Coγ.

**Key words:** peptide from rape pollen glutelin (PRPG); radiation; hemopoietic function; influence

随着人类现代科学技术的飞跃发展, 人们接触的放射性因素也不断增加, 辐射所引起的人体内各系统和器官机能的损伤也不断增加<sup>[1,2]</sup>。因此, 寻求安全无毒有效的辐射防护剂一直是国内外辐射防护研究的热点问题。近年来, 人们将辐射防护剂的研究逐渐从以往的化学药品拓展到抗辐射天然药物及功能食品的研究方面<sup>[3]</sup>。花粉是种子植物的传宗接代的物质, 营养丰富,

收稿日期: 2012-10-22

作者简介: 胡筱波 (1974-), 女, 副教授, 研究方向天然产物化学

通讯作者: 陈绍军 (1952-), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向农产品贮藏与加工

还含有多种活性物质, 因此被誉为“完全的营养品”<sup>[4]</sup>, 具有免疫调节作用、抗疲劳作用、抑制肿瘤作用、消除自由基作用、抑制前列腺增生、护肝作用、促进神经系统功能作用、抗辐射效应等功效<sup>[5,6]</sup>。油菜蜂花粉中含有 18 中氨基酸 (包括 8 中人体必需氨基酸)、11 种维生素、25 种矿物质元素以及糖类、脂类、酶和激素等多种营养物质, 具有清除自由基、抗氧化、抑制前列腺增生等作用<sup>[7]</sup>。近 20 年来, 国内外的学者、医学家都在不断深入研究花粉中的多糖、维生素以及微量元素等活性成分对人体健康的药理作用和疗效, 但对油菜蜂花粉功效研究却报道很少, 就油菜花粉酶解

肽(PRPG)对高剂量辐射的保护作用研究尚未见文献报道。本文就油菜花粉酶解肽对高剂量辐射造血功能的影响进行了系统研究,以期为开发安全无毒有效的抗辐射药物提供依据,为油菜蜂花粉的利用开辟一条新的途径。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 实验样品

油菜花粉:由武汉市小蜜蜂公司提供。

PRPG 样品:参考文献<sup>[8]</sup>方法制备,实验时用蒸馏水配成所需浓度。

#### 1.1.2 实验动物

昆明种小鼠,雄性,7周龄,体重 $20\pm 2$  g。购自湖北省疾病预防控制中心实验动物中心。

#### 1.1.3 主要试剂

抗坏血酸(分析纯),中国湘中地质实验研究所;牛血清白蛋白(生化试剂),北京双旋微生物培养基制品厂;考马斯亮蓝 G-250(生化试剂),南京建成生物工程研究所;SOD 测试盒(生化试剂),南京建成生物工程研究所;MDA 测定试剂盒(生化试剂),南京建成生物工程研究所;伊红染液(生物染色剂),中国湘中地质实验研究所;EDTA- $\text{Na}_2$ (分析纯),湖北省医药公司。

#### 1.1.4 主要仪器

TDL-5A 型离心机,上海安亭科学仪器厂;TOLEDO 分析天平,METTLER;岛津 UV-265FW 紫外可见分光光度计,Shimadzu. Co. Japan; J-E 高速冷冻离心机,BECKMAN, USA; MEK-6318K 日本光电全自动血球计数仪,上海东湖仪器试剂科技有限责任公司;DFC300FX 倒置荧光显微镜,上海徕卡显微系统有限公司;GSY-II 型电热恒温水浴锅,北京医疗设备厂。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 实验动物分组及处理

选用雄性昆明种小鼠 72 只,体重  $20\pm 2$  g,适应喂养 1 d 后,随机分为空白组、辐射对照组、油菜花粉酶解肽低(50 mg/kg·bw)、中(100 mg/kg·bw)和高(150 mg/kg·bw)剂量组,每组 12 只,对照组和照射对照组每天以生理盐水灌胃,每组每天灌胃并给予充足的标准饲料。连续喂养 20 d 后,除空白对照组外,其它各组均进行<sup>60</sup>Co $\gamma$ 射线辐照 8 min,剂量为 8 Gy。

### 1.2.2 辐射小鼠的外周血象测定<sup>[9]</sup>

辐射后各组取 5 只小鼠于第 1、3、5、7、9、12、16、20 d 进行尾静脉采血,检测小鼠外周血白细胞

(WBC)、红细胞(RBC)、血小板(PLT)、血红蛋白(HGB)的含量。

### 1.2.3 辐射小鼠骨髓细胞微核率

参考文献<sup>[10]</sup>的方法。

### 1.2.4 骨髓 DNA 含量测定<sup>[11]</sup>

每个实验剂量组小鼠颈椎脱臼处死后解剖取老鼠股骨,除净肌肉组织,用 Hank's 液 5mL 通过注射器(6.5 号针头)冲出股骨中的全部骨髓细胞,在 260nm 处测定光密度值 OD 值。

### 1.2.5 辐射小鼠超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定

参考文献<sup>[12]</sup>的方法。

### 1.2.6 辐射小鼠 MDA 含量的测定

参考文献<sup>[13]</sup>的方法。

## 2 结果与分析

### 2.1 PRPG 对辐射小鼠外周血象的影响

骨髓造血系统对辐射敏感,电离辐射对造血系统造成的损伤主要表现在干细胞受损,造血功能低下或衰竭。一定剂量的辐射作用于机体后,引起骨髓造血功能的变化,反映在外周血象中各类细胞急剧下降,其中白细胞数可代表血液系统受损伤的情况。本实验检测了小鼠外周血象中白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、血小板(PLT)、血红蛋白(HGB)的含量。

#### 2.1.1 PRPG 对辐射小鼠白细胞(WBC)的影响

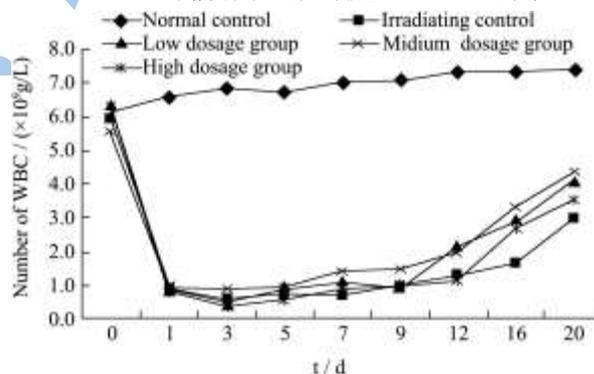


图1 油菜花粉酶解肽对辐射小鼠白细胞(WBC)的影响

Fig.1 Effect of PRPG on WBC of mice

图1表明,辐射后,小鼠白细胞计数明显降低,第3 d 降到最低,辐射后第5 d 开始缓慢回升,且有所波动,其中PRPG中剂量组与空白辐射对照组相比有显著性差异( $p<0.05$ )。辐射后第20 d,PRPG中、高剂量组与空白辐射对照组相比有显著性差异( $p<0.05$ ),灌胃PRPG的各组小鼠白细胞计数都有较大回升,其中中剂量组回升最大,但都没有达到正常小鼠水平,表明油菜花粉酶解肽能明显提高辐射小鼠的白细胞数量。

#### 2.1.2 PRPG 对辐射小鼠红细胞(RBC)的影响

图2表明,辐射后,各组小鼠红细胞计数持续下降,下降的速度不一致,其中辐射对照组下降最快。在辐射后第7d,各组小鼠红细胞计数降到最低,而后开始回升。辐射后第9d,PRPG中、高剂量组与空白辐射对照组相比有显著性差异( $p<0.05$ )。辐射后第20d,PRPG各剂量组小鼠红细胞数都有明显回升,且与辐射对照组相比有显著性差异( $p<0.05$ ),其中中剂量组回升最多,与其它各剂量组相比也有显著性差异( $p<0.05$ )。表明油菜花粉酶解肽可以一定程度提高辐射小鼠的红细胞数量。

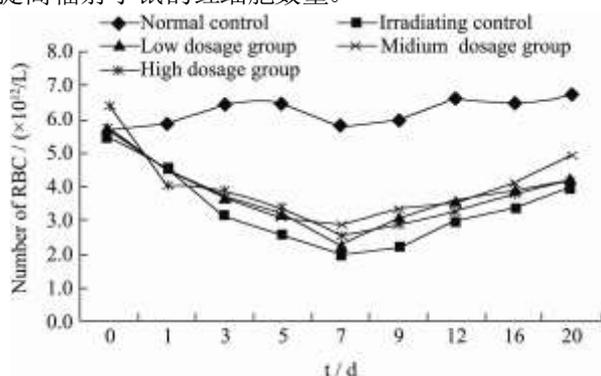


图2 油菜花粉酶解肽对辐射小鼠红细胞(RBC)的影响  
Fig.2 Effect of PRPG on RBC of mice

2.1.3 PRPG对辐射小鼠血小板(PLT)的影响

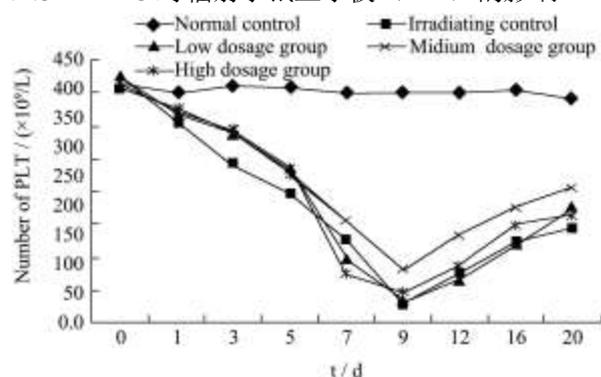


图3 油菜花粉酶解肽对辐射小鼠血小板(PLT)的影响  
Fig.3 Effect of PRPG on PLT of mice

图3表明,辐射后各组小鼠血小板计数持续下降,辐射对照组下降最快。辐射后第9d,PRPG各剂量组与辐射对照组相比有显著性差异( $p<0.05$ ),各组小鼠血小板计数下降到最低点,而辐射对照组计数点最低,而后开始缓慢回升。辐射后第20d,各组小鼠血小板计数都恢复到一定的水平,但都没有恢复到正常水平,PRPG中剂量组与空白辐射对照组相比有显著性差异( $p<0.05$ )。表明油菜花粉酶解肽可以一定程度提高辐射小鼠血小板计数。

2.1.4 PRPG对辐射小鼠血红蛋白(HGB)的影响

图4表明,辐射后,各组小鼠血红蛋白含量持续下降,空白辐射组下降最快,在辐射后第9d下降到

最低点,而后开始缓慢回升,其中中剂量组回升最快,辐射后第20d,PRPG中、高剂量组与辐射对照组相比有显著性差异( $p<0.05$ )。小鼠血红蛋白含量有一定的提高,但都没有恢复到正常水平。表明油菜花粉酶解肽可以一定程度提高辐射小鼠血红蛋白含量。

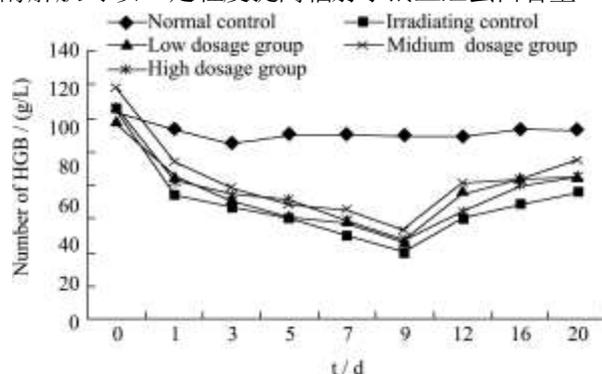


图4 油菜花粉酶解肽对辐射小鼠血红蛋白(HGB)的影响  
Fig.4 Effect of PRPG on HGB of mice

综上所述,各辐射组小鼠的WBC含量在辐射后第3d下降到最低,而RBC、HGB和PLT含量降低到最低点的时间比WBC要迟,说明白细胞对辐射最为敏感。辐射后第20d,各剂量组辐射小鼠的WBC、RBC、PLT和HGB含量虽然都没有恢复到正常水平,但是与辐射对照组相比已经有了一定水平的提高。

2.2 PRPG对辐射小鼠骨髓细胞微核率的影响

表1 油菜花粉酶解肽对辐射小鼠骨髓细胞微核率和骨髓DNA的影响

Table 1 Effect of PRPG on marrow cell microkernel rate and DNA in mice			
Group	CPRP dosage / (mg/kg bw)	Microkernel rate/%	DNA contents (A <sub>260nm</sub> )
Normal control	0	2.84±2.00d	0.351±0.040a
Irradiating control	0	32.25±4.81a	0.236±0.087a
Low dosage Group	50	9.35±1.43b	0.243±0.034a
Medium dosage Group	100	8.19±1.73b	0.271±0.065a
High dosage Group	150	9.23±0.97b	0.318±0.037a

注:不相同字母表示有显著性差异( $p<0.05$ ),相同字母表示无显著性差异( $p>0.05$ )。

由表1可知,辐射后,小鼠遗传物质染色体损伤,各辐射组小鼠的微核率普遍增大,都高于空白对照组小鼠的微核率。在PRPG各组中,中剂量组小鼠的微核率最低。PRPG各剂量组与辐射对照组相比有显著性差异( $p<0.05$ ),与空白对照组相比也有显著性差异( $p<0.05$ ),PRPG可以降低辐射小鼠的微核率,但是微核率没有达到正常小鼠水平。表明,油菜花粉酶解肽可以一定程度降低辐射小鼠的微核率,减少辐射引起的小鼠遗传物质染色体的损伤。

### 2.3 PRPG 对辐射小鼠骨髓 DNA 含量的影响

由于 DNA 分子具有遗传、启动细胞分裂及控制蛋白质生物合成等极为重要的生理功能,因此 DNA 的辐射损伤被认为是生物大分子损伤的首要问题。油菜花粉酶解肽对辐射小鼠骨髓 DNA 含量的影响如表 1 所示,辐射后,经口给予油菜花粉酶解肽的各组小鼠 DNA 含量都高于辐射对照组小鼠,但是没有达到显著性差异水平 ( $p>0.05$ )。表明油菜花粉酶解肽对辐射引起的小鼠骨髓 DNA 含量的下降有保护作用。

### 2.4 PRPG 对辐射小鼠超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的影响

表 2 油菜花粉酶解肽对辐射小鼠超氧化物歧化酶 (SOD) 活性和 MDA 含量的影响

Table 2 Effect of PRPG on SOD activity and MDA content of mice

Group	CPRP dosage (/mg/kg·bw)	SOD/ (U/mg·prot)	MDA (/nmol/mL)
Normal control	0	91.121±6.584c	6.388±0.552b
Irradiating control	0	52.478±4.605b	11.882±0.830a
Low dosage Group	50	67.781±2.977a	9.939±2.834b
Medium dosage Group	100	76.235±2.122a	6.798±2.111b
High dosage Group	150	66.693±8.985a	7.468±1.191b

注:不相同字母表示有显著性差异 ( $p<0.05$ ),相同字母表示无显著性差异 ( $p>0.05$ )。

SOD 是天然的自由基清除剂,其活性高低反映了机体清除自由基能力的大小。由表 2 可知,灌以一定剂量的油菜花粉酶解肽的小鼠,辐射后,肝组织中的 SOD 活性高于辐射对照组。PRPG 各剂量组与辐射对照相比有显著性差异 ( $p<0.05$ )。表明油菜花粉酶解肽能有效提高组织 SOD 活性,具有良好的抗氧化活性。

### 2.5 PRPG 对辐射小鼠 MDA 含量的影响

MDA 是自由基攻击生物膜引发脂质过氧化作用,并形成脂质过氧化终产物,该值的升降反映了脂质过氧化程度的强弱及机体受自由基攻击的程度。由表 2 可知,辐射后,经口给予一定剂量的油菜花粉酶解肽,小鼠血清中 MDA 含量显著降低,其中中剂量组的 MDA 含量是辐射对照组的 57.21%。PRPG 各剂量组与辐射对照相比有显著性差异 ( $p<0.05$ )。表明油菜花粉酶解肽能显著降低辐射小鼠脂质过氧化程度,减少机体受自由基攻击,具有很好的抗氧化活性。

## 3 讨论

造血组织是辐射高敏感组织,辐射攻击的主要靶器官为各系造血干细胞。辐射常造成白细胞下降、骨髓抑制、造血微环境破坏、DNA 破坏、SOD 活性降

低及 MDA 含量增加等损伤<sup>[4]</sup>,活性肽、低聚糖、微量元素等具有生物活性物质可能是通过机体调节造血相关细胞因子分泌,促进造血系统的恢复;同时增加了机体对自由基的清除能力,减轻造血组织的损伤,从而达到抗辐射的作用<sup>[3]</sup>。

机体受到照射造血系统损伤后,造血功能低下或衰竭,外周血中白细胞、红细胞和血小板数明显减少,从而诱发感染、贫血、出血等并发症<sup>[5]</sup>。本实验结果表明,以 PRPG 灌胃的辐射小鼠外周血白细胞、红细胞和血小板总数水平比辐射对照小鼠的各项水平显著增加,这与陈红漫等报道的醇溶性玉米功能肽可以使辐射小鼠的白细胞、血小板数量显著的提高相同,说明 PRPG 能在一定程度上减少辐射对小鼠外周血像的损伤。

实验结果显示,PRPG 能降低辐射小鼠骨髓细胞微核率,提高细胞 DNA 含量。微核是在细胞有丝分裂后期染色体有规律地进入子细胞单独形成一个或几个规则的次核,由于比细胞核小得多故称微核。骨髓细胞微核率增加是辐射引起小鼠损伤的细胞遗传学主要指标之一,在一定范围内,照射剂量与骨髓细胞微核率成正比,恢复时间骨髓细胞微核率成反比,骨髓细胞微核数可以代表机体染色体受损的状况<sup>[12]</sup>。PRPG 灌胃组小鼠的骨髓细胞微核率低于辐射对照组小鼠,这说明 PRPG 对照射损伤的染色体具有一定的修复作用。

SOD 是天然的自由基清除剂,活性越高清除自由基的能力越强;MDA 是辐射引起氧化的重要中间产物,含量越低,辐射损伤越弱。PRPG 可以提高辐射小鼠的肝脏 SOD 活性并显著降低血清中 MDA 的含量,表明其可以很好的抑制辐射引起的小鼠机体氧化损伤,也就减少辐射对小鼠造血系统的危害。

## 4 结论

PRPG 可提高一次性 8Gy 急性辐射小鼠的外周血象(白细胞、红细胞、血小板数、血红蛋白)指数;可降低辐射小鼠的骨髓细胞微核率,提高辐射小鼠的骨髓 DNA 含量,保护骨髓造血系统;可以提高辐射小鼠的肝脏 SOD 活性并降低血清中 MDA 的含量,提高小鼠的抗氧化能力,减少辐射对小鼠造血系统的危害。综上所述,油菜花粉酶解肽对 8 Gy 急性辐射损伤小鼠造血功能具有保护作用,但具体的作用机理还不明确,需要今后继续的深入研究。

## 参考文献

- [1] 张学光,强亦忠.对辐射免疫学的几点思考[J].中华放射医

- 学与防护杂志,2004,24(2):180-183
- [2] Ishikawa F, Nakano H, Seo A, et al. Irradiation up-regulates CD80 expression through induction of tumor necrosis factor alpha and CD40 ligand expression on B lymphoma cells [J]. Immunology, 2002, 106: 354-362
- [3] 黄德娟,黄德超,廖晓峰,等.天然抗辐射物质抗损伤作用研究进展[J].中国辐射卫生,2008,12(4):511-512
- [4] 周小鹭.花粉的药理及应用研究[J].黑龙江医药,2009,22(2):152-155
- [5] 陈术华.花粉的各种保健功能[J].中国保健食品,2002,15(6):33-34
- [6] Maria G Campos, Rosemary F Webby, Kenneth R Markham. Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2003, 51: 742-745
- [7] 孙丽萍,朱晓丽,张智武,等.酶解油菜蜂花粉抑制超氧阴离子自由基的研究[J].中国农学通报,2007,23(9):144-148
- [8] 胡筱波,罗祖友,吴谋成.油菜花粉中谷蛋白的最佳提取工艺研究[J].食品科学,2006,27(10):354-359
- [9] 苗千里,朱莉,陈雪红,等.扇贝多肽对<sup>60</sup>CO 辐射损伤小鼠的保护作用[J].中国海洋药物杂志,2005,24(1):28-32
- [10] 李德远,周韞珍,余应利,等.银杏叶黄酮抗辐射效应研究[J].营养学报,2004,26(3):120-122
- [11] 颜燕,徐建华,杨非.大豆多肽对辐射的保护功能[J].中国公共卫生,2004,20(5):564-565
- [12] 中华人民共和国卫生部.保健食品检验与评价技术规范[S].2003:02-14
- [13] 刘彬.家蝇幼虫提取物的抗辐射功能研究[D].华中农业大学硕士学位论文,2006
- [14] Seyed Jalal Hosseini. Foundation review: Trends in the development of radioprotective agents [J]. Drug Discovery Today, 2007, 12 (19/20): 794-805
- [15] 陈红漫,姜大威,阚国仕.醇溶性玉米功能肽对小鼠辐射的防护作用研究[J].食品研究与开发,2008,29(6):8-10