

辐射防护药物的优化组合研究

邵 帅, 谭洪玲, 肖成荣, 洪 倩, 霍 超, 王宇光, 梁乾德, 马增春, 高 月

[摘要] 目的 选择目前已有的辐射防护药物(包括化学药物、中药复方及细胞因子),研究联合用药的辐射防护活性,筛选最佳药物组合,为新的急性放射损伤治疗方案提供实验依据。方法 试验分为模型对照组, E0703 + rhG-CSF + 新型四物合用组(组合 I), E0703 + rhIL-11 + 刺白胶囊合用组(组合 II), E0703 + rhG-CSF + 新型四物合用组(组合 III), E0703 + rhIL-11 + 刺白胶囊合用组(组合 IV), 523 + rhG-CSF + 新型四物合用组(组合 V), 523 + rhIL-11 + 刺白胶囊合用组(组合 VI), 523 + rhG-CSF + 刺白胶囊合用组(组合 VII), 523 + rhIL-11 + 刺白胶囊合用组(组合 VIII), 共 9 组药物组合。⁶⁰Co γ 射线 7.5 Gy 照射造模,照射前 24 h 按组分别给予化学药物预防,照射后皮下注射细胞因子,并灌胃给予中药。照射前、照射后 1、4、7、10、13、16、22 d 检测小鼠外周血象。照射后第 7 天进行祖细胞集落培养实验。结果 与模型对照组比较,除组合 VII 外,其余各组合对外周血液成分在不同时间点呈现不同程度的促进恢复作用;而对各造血祖细胞集落的生长,组合 I、III 的作用最为显著;其中,组合 III 尚有促外周血白细胞、红细胞、血红蛋白值恢复的作用;组合 V 也有加速外周血液成分恢复和促进粒系生长的作用。结论 综合比较,组合 III 对促进外周血液各成分恢复和造血祖细胞生长均有较好效果。

[关键词] 辐射;联合用药;化学药物;细胞因子;中药复方

[中图分类号] R965.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-9926(2012)01-015-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1008-9926.2012.01.04

Screen of Combination of Radioprotective Agents

SHAO Shuai, TAN Hong-ling, XIAO Chen-rong, HONG Qian, HUO Chao,

WANG Yu-guang, LIANG Qian-de, MA Zeng-chun, GAO Yue

Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China

[Abstract] **Objective** To screen the best combination of radioprotectors by pretreating and curing cobalt-60 gamma irradiated mice with combined. **Methods** Synthetic compounds (E0703, 523) were used as preventive agents, cytokine (rhG-CSF, rhIL-11) was used to cure early acute radiation damage, and traditional Chinese medicine formulas (new si-wu capsules, ci-bai capsules) were used to reverse late radiation damage. Ninety mice were irradiated at a dose of 7.5 Gy using cobalt-60 gamma resources. Blood samples were collected from the tail end and the number of peripheral blood cells was counted on day 0, 1, 4, 7, 10, 13, 16 and 22 using a microcell counter. Hematopoietic progenitor colony-forming cell assays were used to assess the reconstitution of bone marrow after radiation-induced myelosuppression. **Results** Compared with control, white blood cells, red blood cells, hemoglobin and platelets were all increased in drug-treated groups, except for group VII. Group I and group III significantly increased the formation of hematopoietic progenitor colony-forming cell assays. Group III also accelerated blood cell recovery. Group V led to a significant increase in the formation of colony-forming unit-granulocyte macrophage and circulating blood cells. **Conclusion** Group III is the best combination of radioprotectors.

[Key words] radiation; drug combination; estrogen; cytokine; Chinese medicine formula

抗辐射药物的研制面临较多难题。虽经国内外

众多机构几十年的努力,发现了一些有效药物,但作为实用还有许多不足之处。含硫类辐射预防药中,WR-2721(DRF 值约为 2.5)效价最强,却毒性较大^[1];雌激素类辐射损伤防治药物作用与含硫类辐射预防药的效价相当,但其有效剂量却为生理浓度的上千倍,长期使用副作用不易克服^[2];中草药类辐射损伤治疗药物疗效肯定,但系复方,有效单体的结构不明确。随着抗辐射理论从经典的

基金项目:军队医药卫生“十一五”科研项目基金科技攻关项目, No. 08G144

作者简介:邵 帅,硕士。研究方向:中药药理。Tel: (010) 66931233

作者单位:100850 北京,军事医学科学院放射与辐射医学研究所

通讯作者:高 月, E-mail: gaoyue@yahoo.com; 马增春, E-mail: mazengchun2004@yahoo.com.cn

化学防理论发展到现代的分子调控防治理论, 辐射防护剂也从单一的化学防护剂发展到化学预防药、激素防治药、造血生长因子、免疫调节剂及中药有效成分等各种结构和不同作用途径的药物。辐射引起的相关疾病是一种多基因疾病, 病理情况复杂多样, 很难用一种药物达到最佳的治疗效果, 因此有必要根据放射病的特点, 结合辐射防护药物的作用机理, 选择不同的药物组合应用以达到辐射防护的最佳效果^[3]。

本文选择已有的辐射防护药物, 采用早期化学药物, 早中期细胞因子治疗和晚期中药逆转的治疗策略, 对辐射防护药物组合进行较系统的研究, 试图发现辐射防护的最佳药物组合。

1 材料和方法

1.1 试剂与仪器 E0703 (由本所合成, 10 mg E0703 加 10 ml 0.5% 的羧甲基纤维素钠 (CMC-Na) 溶液, 配成 1 mg/ml 的悬浊液)。523 (由本所合成, 10 mg 523 加 10 ml 0.5% 的 CMC-Na 溶液, 配成 1 mg/ml 的悬浊液)。rhG-CSF (北京双鹭药业股份有限公司, 批号: 20100201)。rhIL-11 (齐鲁制药有限公司, 批号: 20120312)。溶血素 (血细胞分析仪用, 批号: C9011); 稀释液 (批号: C9134); 清洗液 (批号: C9008) (均由山东兰桥科技有限公司生产)。F-820 微细胞计数仪 (日本 Sysmex 公司); QT-3 型 γ 剂量辐射检测控制仪 (军事医学科学院); CO₂ 培养箱 (美国 Thermo 公司); 洁净工作台 (北京昌平长城空气净化工程公司); 倒置显微镜 (重庆光学仪器厂)。

1.2 动物 昆明种小鼠, 二级, δ 6~8 周龄, 体重 18~22 g (购自军事医学科学院实验动物中心, 动物合格证号: 医动字 SCXK-(军) 007-004)。饲养于军事医学科学院 SPF 级动物房, 室内温度: 20~24℃, 相对湿度: 30%~40%, 各组小鼠喂常规饲料, 自由饮水, 动物实验设施许可证号: SYXK-(军) 2007-004。

1.3 中药复方制备 新型四物胶囊和刺白胶囊按文献[4]方法制备, 复方组成药物均购自同仁堂, 由本所九室马百平教授鉴定, 符合《中国药典》2010 年版规定。将药材按比例混合浸泡, 置于回流加热装置中, 第一次加入约 8 倍量蒸馏水, 浸泡 1 h, 武火煮沸后, 文火 (保持微沸状态) 煎 30 min; 以 3 层纱布滤出药液, 药材再加约 5 倍量蒸馏水, 煎 20 min。合并两煎药液, 旋转蒸发浓缩至 1 g/ml。

1.4 分组与给药 实验动物按体质量随机分组。实验共分 9 个组, 模型对照组, E0703 + rhG-CSF + 新型四物合用组 (组合 I), E0703 + rhIL-11 + 刺白胶囊合用组 (组合 II), E0703 + rhG-CSF + 新型四物胶囊合用组 (组合 III), E0703 + rhIL-11 + 刺白胶囊合用组 (组合 IV), 523 + rhG-CSF + 新型四物胶囊合用组 (组合 V), 523 + rhIL-11 + 刺白胶囊合用组 (组合 VI), 523 + rhG-CSF + 刺白胶囊合用组 (组合 VII), 523 + rhIL-11 + 刺白胶囊合用组 (组合 VIII)。照射前 24 h, 按组分别灌胃给予 E0703 悬浊液 10 mg/(kg·d) 和 523 悬浊液 10 mg/(kg·d), 模型组给予 0.5% CMC-Na 溶液 0.2 ml/只。经⁶⁰Co γ 射线全身一次照射, 剂量为 7.5 Gy, 照射距离 4 m, 照射剂量率为 214 cGy/min。照射后 1 h 内, 按组分别皮下注射早期治疗药 rhG-CSF 30 μ g/(kg·d) 和 rhIL-11 200 μ g/(kg·d), 模型组皮下注射生理氯化钠溶液, 0.2 ml/只; 同时, 于照射后 2 h 内, 按组分别灌胃给予新型四物胶囊溶液 10 g 生药/(kg·d) 和刺白胶囊溶液 30 g 生药/(kg·d), 模型组灌胃给予蒸馏水, 0.3 ml/只; 细胞因子连续给药 7 d, 中药复方连续给药 14 d, 两者均为 1 次/d。

1.5 外周血象检测 在照前、照后 1、4、7、10、13、16、22 d, 每只实验小鼠尾静脉取血 20 μ l, 用血球计数仪检测外周血象。

1.6 造血祖细胞集落培养和造血祖细胞集落生成能力的检测 γ 射线照射后第 7 天, 每组处死 3 只小鼠取股骨, 按本室先前报道的方法进行集落培养, 检测粒系 (CFU-GM)、红系 (BFU-E, CFU-E)、混合系 (CFU-mix) 造血祖细胞^[4]。

1.7 数据处理及统计 采用 SPSS 13.0 统计各组实验数据, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间的差异显著性用 t 检验分析。

2 结果

2.1 组合用药对 7.5 Gy ⁶⁰Co γ 射线照射小鼠外周血白细胞影响 照射后 1 d 即可检测到小鼠外周血白细胞值降低, 照后 4 d 的小鼠外周血白细胞值降至最低, 各组与其照前值比较均有显著性差异 ($P < 0.01$), 显示造模成功。模型组小鼠的外周血白细胞值降至最低时, 各给药组的检测值均高于模型组, 尤以组合 III、组合 IV、组合 V 升高白细胞作用显著 ($P < 0.05$)。至照射后第 16 天, 除组合 VII 外, 各个给药组的检测值与照前值已无统计学差异, 而显著高于模型组 ($P < 0.05$), 除组合

VII 外,各组均有加速白细胞值恢复的作用;其中,组合 I、组合 III、组合 IV、组合 V 的作用更为显著 ($P < 0.01$)。结果见表 1。

2.2 组合用药对 7.5 Gy⁶⁰Co γ 射线照射小鼠外周血红细胞影响 7.5 Gy⁶⁰Co γ 射线照射后小鼠外周血红细胞值在照射后第 10 天开始降低,第 13 天降至最低,之后开始回升。第 16 天,给药组中组合 III、组合 V、组合 VI、组合 VIII 4 种组合的红细胞值与模型组有显著差异 ($P < 0.05$),说明这 4 种组合有促进 7.5 Gy⁶⁰Co γ 射线照射小鼠外周血红细胞恢复的

作用。结果见表 2。

2.3 组合用药对 7.5 Gy⁶⁰Co γ 射线照射小鼠外周血血红蛋白含量的影响 小鼠外周血血红蛋白值于照射后第 10 天开始降低,至第 13 天模型组血红蛋白值降至最低,之后开始恢复。组合 II 和组合 IV 在照射后第 16 天才降至最低值,说明这两组有延缓 7.5 Gy⁶⁰Co γ 射线照射小鼠外周血血红蛋白值降低的作用。照射后第 10 天~第 22 天,组合 V、组合 VI、组合 VIII 可以显著抑制外周血血红蛋白值降低并加速其恢复 ($P < 0.05$)。结果见表 3。

表 1 组合用药对 7.5 Gy⁶⁰Co γ 射线照射小鼠外周血白细胞的影响

组别	白细胞计数 ($\times 10^9/L$)							
	照射前	1	4	7	10	13	16	22(d)
模型对照	6.59 $\pm$ 1.00	1.29 $\pm$ 0.46 ^e	0.65 $\pm$ 0.15 ^e	0.94 $\pm$ 0.43 ^c	1.43 $\pm$ 0.45 ^c	1.97 $\pm$ 0.94 ^c	2.48 $\pm$ 1.90 ^c	8.75 $\pm$ 4.04 ^c
组合 I	6.38 $\pm$ 0.95	2.10 $\pm$ 1.31 ^e	0.70 $\pm$ 0.17 ^e	0.90 $\pm$ 0.29 ^c	2.15 $\pm$ 1.87 ^c	4.21 $\pm$ 2.79 ^c	7.43 $\pm$ 3.97 ^g	12.64 $\pm$ 3.28 ^c
组合 II	7.17 $\pm$ 1.66	3.00 $\pm$ 0.71 ^{ef}	0.88 $\pm$ 0.29 ^c	1.89 $\pm$ 1.43 ^c	1.94 $\pm$ 1.07 ^c	4.17 $\pm$ 2.64 ^c	6.07 $\pm$ 3.74 ^f	8.60 $\pm$ 4.59
组合 III	7.02 $\pm$ 2.09	4.53 $\pm$ 1.45 ^{ef}	0.93 $\pm$ 0.37 ^{ef}	1.63 $\pm$ 1.24 ^c	1.64 $\pm$ 0.74 ^c	3.59 $\pm$ 1.72 ^c	6.96 $\pm$ 1.98 ^g	9.09 $\pm$ 2.61 ^c
组合 IV	6.78 $\pm$ 1.39	4.89 $\pm$ 1.41 ^f	0.97 $\pm$ 0.41 ^{ef}	5.33 $\pm$ 4.55 ^f	2.30 $\pm$ 1.63 ^c	3.92 $\pm$ 3.44 ^b	7.53 $\pm$ 4.74 ^g	10.80 $\pm$ 2.21 ^c
组合 V	6.32 $\pm$ 1.15	2.88 $\pm$ 1.47 ^{ef}	0.92 $\pm$ 0.39 ^{ef}	2.27 $\pm$ 1.50 ^c	2.77 $\pm$ 1.92 ^c	3.89 $\pm$ 2.48 ^c	8.22 $\pm$ 3.07 ^g	7.84 $\pm$ 3.09
组合 VI	6.19 $\pm$ 1.46	3.68 $\pm$ 1.97 ^{ef}	0.64 $\pm$ 0.15 ^c	2.41 $\pm$ 1.47 ^c	1.90 $\pm$ 0.91 ^c	2.46 $\pm$ 1.92 ^c	6.02 $\pm$ 3.89 ^f	9.58 $\pm$ 5.50 ^c
组合 VII	6.73 $\pm$ 1.30	8.78 $\pm$ 2.88 ^f	0.79 $\pm$ 0.17 ^c	3.80 $\pm$ 2.75 ^{ef}	2.80 $\pm$ 3.55 ^c	1.58 $\pm$ 0.76 ^c	1.97 $\pm$ 0.91 ^c	10.05 $\pm$ 6.22 ^c
组合 VIII	6.80 $\pm$ 1.85	5.05 $\pm$ 1.28 ^f	0.80 $\pm$ 0.17 ^c	3.69 $\pm$ 3.11 ^{ef}	2.49 $\pm$ 1.58 ^c	3.65 $\pm$ 2.10 ^c	5.74 $\pm$ 1.96 ^f	8.38 $\pm$ 3.23

注:与照射前比较,^b $P < 0.05$,^c $P < 0.01$;与模型组比较,^f $P < 0.05$,^g $P < 0.01$ 。

表 2 组合用药对 7.5 Gy⁶⁰Co γ 射线照射小鼠外周血红细胞的影响

组别	红细胞计数 ($\times 10^{12}/L$)							
	照射前	1	4	7	10	13	16	22(d)
模型对照	8.38 $\pm$ 2.56	7.81 $\pm$ 0.61	7.62 $\pm$ 0.57	8.18 $\pm$ 1.25	6.68 $\pm$ 0.79 ^c	6.03 $\pm$ 1.20 ^c	6.09 $\pm$ 1.48 ^c	8.44 $\pm$ 1.01
组合 I	7.68 $\pm$ 1.80	6.92 $\pm$ 0.60 ^f	7.62 $\pm$ 0.83	8.14 $\pm$ 0.59	6.41 $\pm$ 0.54	5.90 $\pm$ 1.76 ^b	6.49 $\pm$ 1.97	8.26 $\pm$ 1.83
组合 II	7.62 $\pm$ 0.76	7.19 $\pm$ 0.31	8.15 $\pm$ 0.92	8.25 $\pm$ 0.60	7.47 $\pm$ 1.07	7.79 $\pm$ 1.44 ^f	7.30 $\pm$ 1.59	8.26 $\pm$ 0.75
组合 III	7.30 $\pm$ 0.98	6.92 $\pm$ 0.48 ^f	8.14 $\pm$ 0.47	8.36 $\pm$ 0.45 ^b	6.73 $\pm$ 1.10	7.10 $\pm$ 1.98	7.51 $\pm$ 0.76 ^f	8.45 $\pm$ 1.16 ^b
组合 IV	7.56 $\pm$ 1.18	7.35 $\pm$ 1.05	7.77 $\pm$ 1.26	8.64 $\pm$ 0.72 ^b	8.14 $\pm$ 1.02 ^f	8.53 $\pm$ 1.52 ^g	7.11 $\pm$ 1.32	8.67 $\pm$ 1.7
组合 V	7.34 $\pm$ 1.67	7.26 $\pm$ 0.50	7.52 $\pm$ 0.78	7.22 $\pm$ 1.90 ^f	6.84 $\pm$ 0.64	7.64 $\pm$ 1.08 ^f	8.31 $\pm$ 0.99 ^g	9.00 $\pm$ 1.17 ^b
组合 VI	8.12 $\pm$ 1.79	7.72 $\pm$ 0.58	7.30 $\pm$ 0.63	7.55 $\pm$ 0.97	6.74 $\pm$ 0.41 ^b	7.91 $\pm$ 1.06 ^f	7.76 $\pm$ 0.12 ^f	8.18 $\pm$ 0.48
组合 VII	7.69 $\pm$ 1.54	7.56 $\pm$ 0.91	8.59 $\pm$ 0.68 ^f	8.26 $\pm$ 0.98	8.38 $\pm$ 0.92 ^f	7.70 $\pm$ 0.78 ^f	7.33 $\pm$ 1.10	9.12 $\pm$ 0.87 ^c
组合 VIII	9.19 $\pm$ 2.92	6.74 $\pm$ 0.68 ^{ef}	8.13 $\pm$ 0.93	7.02 $\pm$ 1.03 ^{ef}	7.80 $\pm$ 0.56 ^f	8.61 $\pm$ 1.39 ^g	7.75 $\pm$ 0.46 ^f	8.61 $\pm$ 0.58

注:与照射前比较,^b $P < 0.05$,^c $P < 0.01$;与模型组比较,^f $P < 0.05$,^g $P < 0.01$ 。

表 3 组合用药对 7.5 Gy $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线照射小鼠外周血血红蛋白含量的影响

组别	血红蛋白计数 (g/L)							
	照射前	1	4	7	10	13	16	22(d)
模型对照	124.3 ± 3.3	127.7 ± 8.2	140.7 ± 10.3 ^b	149.2 ± 16.7 ^c	117.6 ± 11.0	91.3 ± 18.1 ^c	95.3 ± 23.8 ^c	120.2 ± 17.6
组合 I	118.4 ± 8.7	117.7 ± 10.8	128.8 ± 19.9	141.4 ± 11.9 ^b	106.7 ± 8.7	95.5 ± 26.9 ^b	106.7 ± 32.0	125.0 ± 24.0
组合 II	125.3 ± 4.2	122.7 ± 6.0	146.6 ± 20.8 ^c	152.0 ± 11.4 ^c	124.4 ± 27.2	117.3 ± 19.7 ^f	115.7 ± 23.6 ^f	134.5 ± 13.5
组合 III	120.5 ± 8.8	118.2 ± 7.3	158.0 ± 11.3 ^{cf}	153.2 ± 9.9 ^c	114.5 ± 15.3	112.3 ± 36.0	124.9 ± 14.6 ^g	128.9 ± 15.7
组合 IV	117.3 ± 8.3	125.2 ± 15.9	152.1 ± 21.2 ^c	165.2 ± 11.5 ^c	136.5 ± 19.9 ^{bf}	125.5 ± 22.6 ^g	114.8 ± 9.9	123.5 ± 6.1
组合 V	119.8 ± 6.9	122.7 ± 8.7	131.2 ± 12.4	128.2 ± 35.7 ^f	114.4 ± 12.6	113.7 ± 19.0 ^f	135.1 ± 18.4 ^f	128.1 ± 14.1
组合 VI	128.7 ± 20.9	124.5 ± 12.7	130.4 ± 17.2	142.9 ± 18.8	114.8 ± 4.0	121.2 ± 11.0 ^f	126.2 ± 5.7 ^g	125.0 ± 13.3
组合 VII	124.5 ± 9.8	139.1 ± 21.9 ^{bf}	150.3 ± 11.1 ^c	150.0 ± 19.5 ^c	133.7 ± 11.5 ^f	112.2 ± 16.3	117.3 ± 12.3 ^f	129.3 ± 13.0
组合 VIII	121.6 ± 7.2	133.0 ± 12.7 ^b	154.6 ± 13.0 ^c	136.4 ± 20.7 ^b	127.6 ± 6.2	130.2 ± 24.0 ^g	129.5 ± 5.2 ^g	120.5 ± 9.0

注: 与照射前比较 ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$; 与模型组比较 ^f $P < 0.05$, ^g $P < 0.01$ 。

2.4 组合用药对 7.5 Gy $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线照射小鼠外周血血小板计数影响 7.5 Gy $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线照射小鼠外周血血小板值在照射后 7 d 急剧下降, 第 10 天降至最低, 之后开始回升。第 10 天到第 16 天的组合 VIII 组检测值均高于模型组, 且有显著性差异 ($P < 0.05$), 表明该组合可抑制照射后小鼠外周血血小板值降低并加速使其恢复。组合 V 组在照射后第 13 天的外周血血小板统计值亦高于模型组, 有显著性差异 ($P < 0.05$), 并且较之第 10 天该组的统计值已有上升, 表明该组合具有促进受照小鼠血小板值恢复的作用。结果见表 4。

2.5 组合用药对 7.5 Gy $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线照射小鼠骨髓造血祖细胞集落生成能力的影响 7.5 Gy $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线

照射后, 模型组小鼠骨髓红系 (BFU-E、CFU-E)、粒系 (CFU-GM)、混合系 (CFU-mix) 造血祖细胞集落数较正常小鼠明显减少^[5]。组合 I 对于骨髓造血祖细胞各类集落数增加均有非常明显的作用 ($P < 0.01$)。组合 III 对于骨髓造血祖细胞各类集落数增加也有较好的作用 ($P < 0.05$)。组合 II 仅对早期红系造血 BFU-E 集落数的增加有效果 ($P < 0.05$)。组合 V 对 CFU-GM 的增加作用明显 ($P < 0.01$)。组合 VI 对 BFU-E 和 CFU-GM 集落数的增加有显著作用 ($P < 0.05$)。组合 VII 对 CFU-E、CFU-GM、CFU-mix 均有非常显著的促进作用 ($P < 0.01$)。此外, 从表 5 中可以看到, 组合 I、III、V、VII 晚期采用相同中药, 其粒系造血祖细胞集落数普遍明显增多 ($P < 0.01$)。结果见表 5。

表 4 组合用药对 7.5 Gy $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线照射小鼠外周血血小板计数的影响

组别	血小板计数 ($\times 10^{12}/\text{L}$)							
	照射前	1	4	7	10	13	16	22(d)
模型对照	1030.9 ± 182.8	993.1 ± 74.5	860.0 ± 129.5 ^b	164.3 ± 61.8 ^c	70.3 ± 57.1 ^c	116.8 ± 77.7 ^c	309.8 ± 272.9 ^c	727.0 ± 239.2 ^c
组合 I	861.6 ± 82.5	903.3 ± 173.0	701.7 ± 133.6	104.6 ± 25.4 ^{cf}	63.7 ± 32.2 ^c	210.2 ± 305.7 ^c	404.5 ± 459.4 ^c	802.3 ± 473.2
组合 II	874.7 ± 75.4	901.9 ± 96.1	816.6 ± 215.2	154.1 ± 64.3 ^c	73.8 ± 59.7 ^c	285.3 ± 203.1 ^c	368.7 ± 345.4 ^c	514.0 ± 237.6 ^c
组合 III	838.6 ± 129.5	832 ± 145.4 ^f	777.6 ± 175.9	109.5 ± 56.9 ^{cf}	93.6 ± 49.2 ^c	266.4 ± 196.1 ^c	518.9 ± 234.6 ^c	872.1 ± 365.5
组合 IV	853.4 ± 143.6	940.2 ± 206.9	859.7 ± 153.2	189.8 ± 65.7 ^c	95.2 ± 59.8 ^c	249.2 ± 221.4 ^c	459.8 ± 382.0 ^c	905.3 ± 399.5
组合 V	879.5 ± 132.8	983.5 ± 188.4	851.0 ± 143.1	147.1 ± 77.5 ^c	119.4 ± 52.2 ^c	393.4 ± 295.3 ^{cf}	630.7 ± 316.6 ^b	816.7 ± 294.8
组合 VI	873.1 ± 143.0	820.2 ± 139.3 ^f	730.4 ± 149.1	113.4 ± 54.0 ^c	79.2 ± 47.6 ^c	273.0 ± 199.2 ^c	558.8 ± 394.5 ^c	924.6 ± 390.7
组合 VII	877.8 ± 178.8	999.9 ± 118.1	887.4 ± 157.2	160.4 ± 38.2 ^c	51.4 ± 9.72 ^c	89.8 ± 36.8 ^c	155.0 ± 74.2 ^c	803.3 ± 370.8
组合 VIII	885.6 ± 221.5	888.5 ± 67.1	611.3 ± 109.9 ^c	127.1 ± 55.1 ^c	153.7 ± 105.4 ^{cg}	444.2 ± 232.7 ^{cg}	676.8 ± 304.4 ^{bf}	583.5 ± 279.8 ^c

注: 与照射前比较 ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$; 与模型组比较 ^f $P < 0.05$, ^g $P < 0.01$ 。

表 5 组合用药对 7.5 Gy $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线照射小鼠骨髓造血祖细胞集落生成能力影响

组别	集落数($\times 10^5$ /MNC)			
	BFU-E	CFU-E	CFU-GM	CFU-mix
模型对照	6.0 $\pm$ 2.4	3.5 $\pm$ 1.3	3.8 $\pm$ 1.3	2.0 $\pm$ 0.8
组合 I	113 $\pm$ 18.7 ^c	33.8 $\pm$ 10.1 ^c	36.0 $\pm$ 5.7 ^c	10.0 $\pm$ 2.2 ^c
组合 II	19.8 $\pm$ 5.9 ^b	7.3 $\pm$ 2.2	7.3 $\pm$ 2.9	2.3 $\pm$ 1.0
组合 III	70.8 $\pm$ 12.3 ^c	12.3 $\pm$ 7.7 ^b	38.8 $\pm$ 6.2 ^c	4.3 $\pm$ 1.5 ^b
组合 IV	9.0 $\pm$ 3.4	4.0 $\pm$ 1.6	3.0 $\pm$ 1.4	1.3 $\pm$ 1.0
组合 V	6.8 $\pm$ 2.4	8.3 $\pm$ 2.9	61.3 $\pm$ 8.7 ^c	3.0 $\pm$ 0.8
组合 VI	19.0 $\pm$ 3.2 ^b	6.5 $\pm$ 2.6	17.3 $\pm$ 3.0 ^c	2.0 $\pm$ 1.4
组合 VII	12.5 $\pm$ 3.7	19.3 $\pm$ 4.9 ^c	24.3 $\pm$ 9.3 ^c	5.3 $\pm$ 2.8 ^c
组合 VIII	13.3 $\pm$ 4.6	4.5 $\pm$ 1.3	7.5 $\pm$ 3.9	2.5 $\pm$ 1.3

注: 与模型组比较, ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$ 。

3 讨论

虽然现有辐射防治药物种类较多,但目前尚未发现对于重度尤其是极重度放射损伤有效的药物^[3]。多数防治药物作用单一,很多中重度急性辐射损伤(Acute Radiation Injury, ARI)患者在度过急性期后,仍会出现出血、感染等严重并发症,最终导致死亡^[6]。因此,规避单一用药,坚持指征救治,参考现有药物的特点和应用时机,采用早期化学药物预防,早中期细胞因子治疗和晚期中药逆转的组合治疗策略,可能为 ARI 提供一条更好的治疗方案。

本实验用 7.5 Gy $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线全身一次性照射^[4,5,7],造成重度骨髓型放射病小鼠模型,观察各组合对造模后小鼠血液成分动态改变及造血祖细胞生长的影响。结果显示:与模型对照组比较,组合 III、V、VI、VIII 对促进外周血各成分恢复效果更为明显,组合 I、III 对促进各造血祖细胞集落的生长作用最为显著。其中组合 III 作用相对更为显著和广泛,组合 III 对于各白细胞、红细胞、血红蛋白值的恢复和各系造血祖细胞集落的生成均有显著的促进作用。

早期研究^[8,9]发现, E0703 和 523 照前 24 h 预防给药,可以缓解辐射所引起小鼠造血损伤,抑制照射后各外周血象值早期降低。辐射损伤后早期给予 rhG-CSF 和 rhIL-11,可明显提高极期时外周白细胞和血小板数的最低值,促进外周血象恢复,降低出血和感染并发症的危险性,缓解贫血程度,缩短辐射损伤所致全血细胞严重低下的持续时间^[10]。细胞因子停药后外周血象值可能迅速下降^[11],采用早期化学药物预防,早中期细胞因子治疗和晚期中药逆转的组合治疗策略可以缓解这种停药反应。

中医理论认为辐射损伤表现为热毒炽盛、气血两虚和阴阳失调等症状,所采用的治法多为清热解毒、活血化瘀和补益气血^[12],实验中所选用的新型

四物和刺白胶囊依上述原则组方,经本实验室前期实验验证,他们对辐射损伤所致的小鼠血虚证有较好效果,但对 7.5 Gy $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线所致小鼠损伤逆转效果不明显^[7]。而在本实验造血祖细胞培养的结果显示早期化药预防和早中期细胞因子治疗为中药复方的指征救治奠定了基础并赢得了时间,中药复方逆转辐射损伤、挽救造血系统的效果有所显现。可见,本方案对促进急性辐射损伤患者康复、提高临床救治成功率具有重要的现实意义。

本文采用早期化学药物预防,早中期细胞因子治疗和晚期中药逆转的治疗策略,针对急性放射病不同时期的发病特点进行组合用药防护。综合比较发现组合 III 对促进外周血液各成分恢复和造血祖细胞生长均有较好效果。组合用药与单药应用的疗效比较,各药之间的关系及合用后抗辐射、调控造血的机理尚在进一步研究。

[参考文献]

- [1] Brenner B, Wasserman L, Beery E, et al. Variable cytotoxicity of amifostine in malignant and non-malignant cell lines [J]. *Oncol Rep*, 2003, 10(5): 1609-1613
- [2] Widyarini S, Domanski D, Painter N, et al. Estrogen receptor signaling protects against immune suppression by UV radiation exposure [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(34): 12837-12842
- [3] 高月, 马增春. 辐射损伤防治药物发展历史与展望 [J]. 辐射防护通讯, 2009, 29(5): 30-35
- [4] 马增春, 高月, 刘永学, 等. 四物汤对 γ 射线照射致血虚证小鼠造血细胞作用的研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(3): 41-44
- [5] 马增春, 高月, 刘永学, 等. 辐射小鼠骨髓中 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
- [6] Simonnet AJ, Nehmé J, Vaigot P, et al. Phenotypic and functional changes induced in hematopoietic stem/progenitor cells after gamma-ray radiation exposure [J]. *Stem Cells*, 2009, 27(6): 1400-1409
- [7] 高月. 血虚证实质及四物汤反证研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2003, 9(4): 58-60
- [8] 夏贞彪, 建国, 邢瑞云, 等. “523” 药物对受照小鼠造血系统的影响 [J]. 中华放射医学与防护杂志, 1994, 14(5): 322-325
- [9] 张立群, 马增春, 王宇光, 等. E0703 对 AHH-1 细胞的辐射防护作用及相关机制研究 [J]. 中华放射医学与防护杂志, 2008, 28(3): 231-234
- [10] Bentzen SM. Preventing or reducing late side effects of radiation therapy: radiobiology meets molecular pathology [J]. *Nature reviews Cancer*, 2006, 6(9): 702-712
- [11] Dainiak N. Rationale and recommendations for treatment of radiation injury with cytokines [J]. *Health Physics*, 2010, 98(6): 838-842
- [12] 王宁, 李应东, 刘凯. 当归、黄芪及其有效成分抗辐射作用研究概况 [J]. 中国辐射卫生, 2008, 17(1): 121-122

(收稿日期: 2011-05-04; 修回日期: 2011-10-08)

(本文编辑 魏 萍)