

网络出版时间:2023-05-17 16:04:53 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1073.R.20230517.0849.011.html

人参粗提物对肠道辐射损伤的保护作用

张杰¹, 张桐¹, 梁臣^{1,2}, 汤婷婷^{1,2}, 魏亮^{1,2}

摘要: **目的** 探讨人参粗提物对辐射导致急性肠道损伤的保护作用。**方法** 利用小动物 X 射线辐照仪诱导小鼠急性肠道损伤,检测小鼠辐射损伤后的生存时间。小肠组织切片行 HE 染色,光镜下观察肠上皮组织病理学改变。BrdU 掺入实验检测肠隐窝细胞增殖与再生;应用免疫荧光染色、qRT-PCR 和 Western blot 法检测肠细胞凋亡和 DNA 损伤;运用 qRT-PCR 检测肠细胞中细胞因子表达水平。**结果** 在 X 射线诱导小鼠急性肠道损伤模型中,人参粗提物(200 mg/kg)明显延长小鼠辐射损伤后的生存期(由 6 天延长至 7 天),并改善肠上皮组织病理状况。人参粗提物明显提高肠隐窝细胞损伤后增殖修复水平(再生隐窝数由 17.1 个增加到 25.3 个),抑制 p53-PUMA 介导的细胞凋亡(凋亡细胞数由 1.2 个下降到 0.7 个),减少 DNA 损伤累积,促进修复相关细胞因子、抑制损伤相关细胞因子的 mRNA 表达。**结论** 人参粗提物对 X 射线诱导的小鼠急性肠道损伤具有保护作用,其与抑制细胞凋亡、减少 DNA 损伤累积和调节相关细胞因子表达有关。

关键词: 人参粗提物;肠道放射损伤;细胞凋亡;DNA 损伤

中图分类号: R 730.55 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-7399(2023)05-0570-07

doi:10.13315/j.cnki.cjcep.2023.05.011

放射治疗是目前应用最广泛的临床肿瘤治疗方案,盆腹腔肿瘤放疗引发肠道损伤等不良反应,已成为提高临床放疗剂量的主要限制因素。由于缺少有效药物,患者在接受盆腹腔放疗后一般会出现急性肠炎,多数患者会出现慢性肠道疾病^[1-3]。有研究显示肠上皮细胞死亡是肠道辐射损伤的主要原因^[4-5],辐射诱发肠上皮细胞 DNA 断裂,进而迅速发生细胞凋亡,其凋亡活动受 p53 信号调控^[6]。人参作为我国传统的中药材,在天然产物中具有重要的地位,其化学成分复杂,药理活性独特。已有多篇文献报道人参在体外具有抑制细胞凋亡、促进细胞增殖等作用^[7-10],但人参在体内对肠道放射性损伤的保护作用尚不明确。本文采用小鼠动物模型分析人参粗提物对 X 射线诱导的小鼠急性肠道损伤的保护作用,为临床放疗引起肠道损伤提供有效的治疗方法。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 6 周龄 C57BL/6J 小鼠 36 只(24

只雄性、12 只雌性),购自江苏集萃药康公司。5 只小鼠同笼饲养于徐州医科大学 SPF 级实验动物中心,自由进食饮水,约 1 周后进行实验处理。

1.1.2 仪器 多光谱高通量免疫组化扫描系统(VS120,日本奥林巴斯公司);激光共聚焦显微镜(LSM880,德国蔡司公司);小动物 X 射线辐照仪(X-RAD 225XL,美国 PXI 公司);实时荧光定量 PCR 仪(LightCycler96,瑞士罗氏公司)。

1.1.3 试剂 BrdU 购自 MedChemExpress 公司;Cleaved-Caspase3 抗体购自 Cell Signaling 公司;p53 抗体购自 Santa Cruz 公司;GAPDH、Bax、PUMA 抗体,均购自 Proteintech 公司;Bak、 γ -H2AX 抗体购自 Abclonal 公司。二抗均购自北京博奥龙公司。引物序列详见表 1。

1.2 方法

1.2.1 人参粗提物提取 称取 400 g 干燥的人参加入 4 L 蒸馏水中浸泡过夜,料液比 1:10。加热至 100 ℃ 提取 1 h,滤渣加入 3.2 L 蒸馏水继续加热 100 ℃ 提取 1 h,重复 1 次。合并 3 次滤液,加热浓缩后置于乙醇中,终浓度为 75%,沉淀 12 h。加入 1.5 L 无水乙醇进行搅拌,使醇含量达 75%,静置 12 h,过滤,收集上清液。使用旋转蒸发仪除去乙醇后,向浓缩液中加入等体积的乙酸乙酯萃取 4 次。使用旋转蒸发仪浓缩去除乙酸乙酯后,用真空干燥箱干燥,获得人参粗提物。

1.2.2 辐射诱导小鼠肠道损伤模型 野生型 C57BL/6J 小鼠随机分为 4 组($n \geq 3$):未处理组

接受日期:2023-03-20

基金项目:江苏省高等学校基础科学研究重大项目(22KJA320009)

作者单位:¹ 徐州医科大学肿瘤研究所,徐州 221004

² 徐州医科大学附属医院肿瘤中心,徐州 221004

作者简介:张杰,男,硕士研究生。E-mail: 394645004@qq.com

魏亮,男,博士,教授,博士生导师,通讯作者。E-mail:

weiliang@xzhmu.edu.cn

表1 qRT-PCR 检测基因引物序列

基因名称	引物序列(5'-3')
GAPDH	上游:CTCTGAAAGCTGTGGCGTGATG
	下游:ATGCCAGTGAGCTTCCCCTTCAG
p53	上游:TGAACGCGGACCTATCCTTA
	下游:GGCACAAACGAACTCAAA
PUMA	上游:ATGGCGGACGACCTCAAC
	下游:AGTCCCATGAAGAGATTGTACATGAC
Bax	上游:GGATCCAAGACCAGGTGG
	下游:TGAGGACTCCAGCCACAAAG
Bak	上游:ATATTAACCGGCGTACGAC
	下游:AGGCGATCTTGGTGAAGAGT
TNF	上游:CCCTCACACTCACAAACCAC
	下游:ACAAGGTACAACCCATCGGC
IL-6	上游:TGATGGATGCTACCAAACTGGA
	下游:GTGACTCCAGCTTATCTCTTGG
IL-18	上游:CCTTTGAGGCATCCAGGACAA
	下游:CACACCACAGGGGAGAACTG
VEGF	上游:GGAGTCTGTGCTCTGGGATT
	下游:AGAACCAACCTCCTCAAACCG
TGF-β	上游:CTGATACGCCTGAGTGGCTG
	下游:TTTGGGGCTGATCCCGTTG

(0 h)、人参粗提物处理未经辐射组(0 h)、对照组(4、24、48、72、96 h)和人参粗提物处理组即人参组(4、24、48、72、96 h)。辐射前 24、0.5 h 和辐射后 0.5 h 分别于胃中灌人参粗提物溶液(200 mg/kg)或等体积 PBS 溶剂。小鼠接受 15 Gy 剂量 X 射线全身辐射(PXI X-RAD 225)后,置于实验动物中心继续饲养,小鼠于特定时间点处死,收取完整小肠组织,均分成 3 段,分别用于组织石蜡包埋、RNA 和蛋白提取。

1.2.3 BrdU 染色 小鼠处死前 2 h 腹腔注射 BrdU(100 mg/kg),切片经脱蜡,复水,PBS 冲洗 3 次。于 2 mol/L HCl 中孵育 1 h,PBS 冲洗 3 次,10% 羊血清中封闭 30 min,一抗(稀释比 1 : 100)4 ℃ 过夜,PBS 冲洗 3 次。二抗(稀释比 1 : 100)孵育 1 h,PBS 冲洗 3 次,封固,荧光显微镜下观察。

1.2.4 免疫荧光染色 切片经脱蜡,复水,PBS 冲洗 3 次,置于抗原修复液中。高压锅中煮沸 3 min,冷却至室温,PBS 冲洗 3 次,20% 羊血清封闭 1 h,一抗(根据相应抗体选择合适稀释比)4 ℃ 过夜,PBS 冲洗 3 次。二抗(1 : 200 ~ 1 : 400)室温孵育 1 h,PBS 冲洗 3 次,封固,荧光显微镜下观察。

1.2.5 RNA 提取及 qRT-PCR 检测 用 TRIzol(购自美国赛默飞公司)从刮取的肠黏膜中提取 RNA,HisScript Q RT SuperMix for PCR(+ gDNA wiper)(购自南京诺唯赞公司)逆转录获得 cDNA,随后用 ChamQ SYBR qPCR Master Mix(购自南京诺唯赞公

司)和实时荧光定量 PCR 仪(LightCycle96)定量检测基因转录水平(表 2)。统计结果以 GAPDH 作为内参基因,采用 $\Delta\Delta C_t$ 法,各组基因的相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 表示, $\Delta C_t = C_{t_{目的基因}} - C_{t_{内参基因}}$, $\Delta\Delta C_t = \Delta C_{t_{实验组}} - \Delta C_{t_{对照组}}$ 。

表2 qRT-PCR 的扩增程序

阶段	程序	循环数	温度	时间
1	预热	1	95 ℃	10 s
2	3 步法扩增	40	95 ℃	10 s
			57 ℃	30 s
			72 ℃	30 s
3	溶解	1	95 ℃	10 s
			65 ℃	60 s
			97 ℃	1 s
4	冷却	1	37 ℃	30 s

1.2.6 蛋白提取及 Western blot 法 RIPA 强裂解液(购自上海碧云天公司)裂解刮取的肠黏膜提取蛋白,将蛋白裂解物与 5 × 上样缓冲液按比例混合后,采用金属浴 100 ℃ 8 min,将等量蛋白在 SDS-PAGE 中电泳分离并转移至 PVDF 膜。5% 奶粉室温摇床封闭 1 h,加入一抗 p53(稀释比 1 : 500)、PUMA(稀释比 1 : 1 000)、Bax(稀释比 1 : 4 000)、Bak(稀释比 1 : 1 000)、Cleaved-Caspase3(稀释比 1 : 1 000)及 GAPDH(稀释比 1 : 10 000),4 ℃ 孵育过夜。TBST 洗膜,二抗室温孵育 1 h(稀释比 1 : 10 000),TBST 洗膜,曝光成像。

1.2.7 小肠组织包埋 将收集的小肠组织大致分为 3 段,去除十二指肠部分(连接胃部 1 ~ 2 cm),其中上段小肠(靠近十二指肠一侧)用于石蜡包埋。使用刀片将上段小肠大致均分为 7 ~ 8 小段,每段约 1 cm,用透气胶布将分割好的小肠使用 Bundle 法粘在一起,置于塑料包埋盒中并做标记,浸泡于组织固定液中过夜,脱水,透明,浸蜡,包埋。

1.2.8 绒毛长度、隐窝深度及再生隐窝测量 小肠组织石蜡包埋切片行 HE 染色、拍照,利用 ImageJ 软件测量。绒毛长度使用 ImageJ 软件测量绒毛顶端到下方隐窝顶端的长度;隐窝深度使用 ImageJ 软件测量隐窝顶端到隐窝底部的距离;再生隐窝通过 BrdU 荧光染色界定。再生隐窝的定义为具有隐窝结构、隐窝细胞数量 > 10 个,且 BrdU 阳性隐窝细胞数百分比 ≥ 75% 的隐窝^[11]。

1.3 统计学分析 采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计学分析及绘制统计图,数据分析采用 *t* 检验进行两样本均数的比较,以 *P* < 0.05 为差异有统

计学意义。

2 结果

2.1 人参粗提物对辐射损伤小鼠生存期及体重的影响 本组为分析人参粗提物对辐射损伤小鼠是否有保护作用,检测了 15 Gy 剂量辐射小鼠的生存时间。人参粗提物在辐射前(24、0.5 h)给药 2 次,辐射后(0.5 h)给药 1 次(图 1)。对照组小鼠辐射后 5~7 天内均死亡,中位生存期为 6 天;而人参组小鼠的中位生存期延长至第 7 天(图 2)。辐射后 4 天,对照组和人参组小鼠体重均明显降低;其中,对照组小鼠体重平均减少 27.2%,人参组小鼠体重平均减少 22.2%(图 3)。

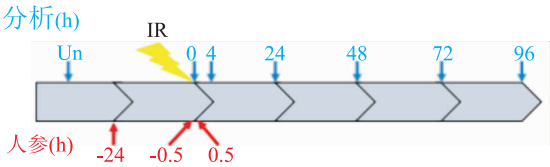


图 1 人参粗提物给药时间点及实验分析

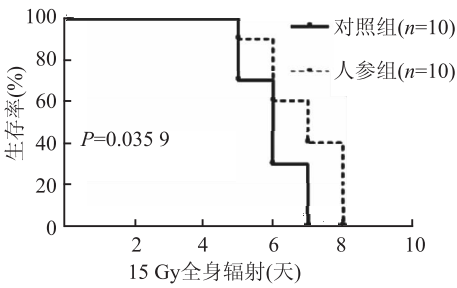


图 2 辐射后对照组和人参组小鼠生存分析

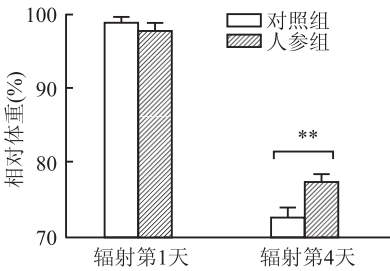


图 3 辐射后对照组和人参组小鼠相对体重分析: ** $P < 0.01$

2.2 人参粗提物对辐射损伤小鼠肠道上皮组织结构的影响 HE 染色显示,未处理组(0 h)和人参粗提物处理未经辐射组(0 h)小鼠的肠道结构正常,差异无统计学意义。辐射后 96 h 两组小鼠肠道上皮组织结构均发生破坏;但与对照组比较,人参组小肠绒毛更长,隐窝深度更短,存活隐窝数量更多。

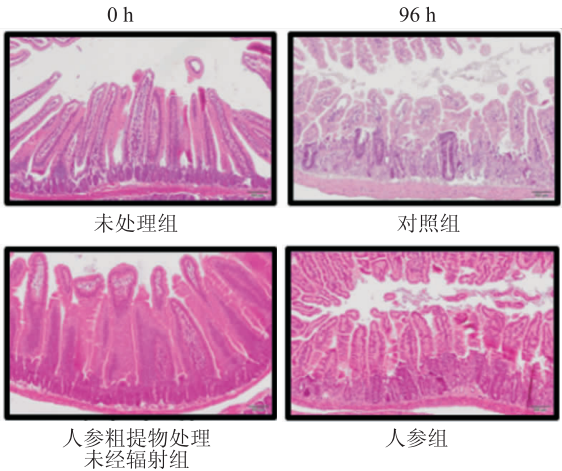


图 4 未处理组(0 h)和人参粗提物处理未经辐射组(0 h)小鼠肠道结构正常,辐射后 96 h 对照组和人参组小鼠肠道上皮组织结构均发生破坏

如:96 h 时平均绒毛长度由对照组的 257.1 μm 增长到人参组的 290.2 μm ;96 h 时平均隐窝深度由对照组的 98.7 μm 降低至 85.2 μm ;96 h 时平均存活的隐窝数由对照组的 30 个增长至 43.9 个(图 4、5)。BrdU 掺入实验显示人参组小鼠的再生隐窝数量显著增加,96 h 时的平均再生隐窝数由 17.1 个增加至 25.3 个(图 6)。

2.3 人参粗提物对辐射诱导肠道细胞凋亡的影响

荧光染色显示辐射后 4 h,对照组和人参组小鼠肠道隐窝细胞的凋亡相关蛋白活化水平明显升高,与对照组相比,人参组小鼠 Cleaved-Caspase3 阳性隐窝细胞数由 1.2 个下降至 0.7 个(图 7)。qRT-PCR 结果显示辐射损伤后 4 h,人参组 p53、PUMA 和 Bax 基因表达降低[辐射后 p53 mRNA 下降为对照组的 0.77 倍;PUMA mRNA 下降为对照组的 0.58 倍;Bax mRNA 下降为对照组的 0.57 倍],而 Bak 基因表达未受明显影响(图 8)。Western blot 结果显示辐射后 p53、PUMA、Bax 和 Cleaved-Caspase3 等蛋白表达升高,而人参组中上述细胞凋亡相关蛋白的表达水平降低(图 9)。

2.4 人参粗提物对辐射诱导肠隐窝细胞 DNA 损伤修复的影响

对照组和人参组小鼠与未辐射小鼠相比,辐射后 4 h 隐窝细胞 DNA 损伤水平均明显升高,且对照组与人参组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。辐射后 24 h 人参组小鼠隐窝细胞内 DNA 损伤灶点($\gamma\text{H2AX foci}$)数量由 3 个减少到 1.7 个(图 10)。

2.5 人参粗提物对辐射诱导肠道炎症因子及修复因子表达的影响

qRT-PCR 结果显示:辐射后对照

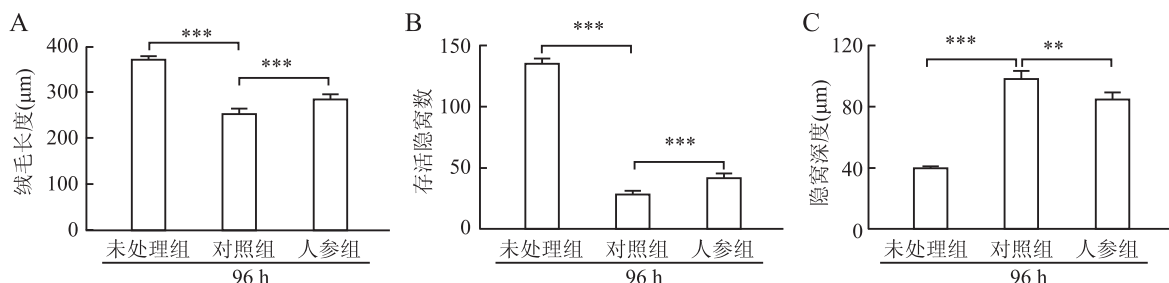


图5 各组中肠道结构分析:A. 辐射后 96 h 绒毛长度;B. 辐射后 96 h 存活隐窝数量;C. 隐窝深度;*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$

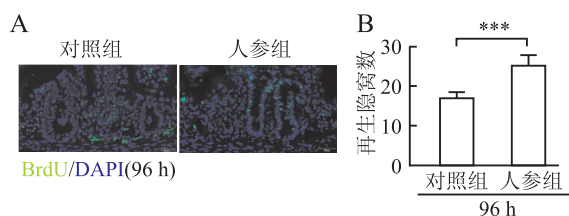


图6 辐射后 96 h 各组中再生隐窝数量:A. BrdU 荧光染色检测辐射后 96 h 对照组和人参组小鼠肠道再生隐窝数;B. 辐射后 96 h 对照组和人参组小鼠肠道再生隐窝数;*** $P < 0.001$

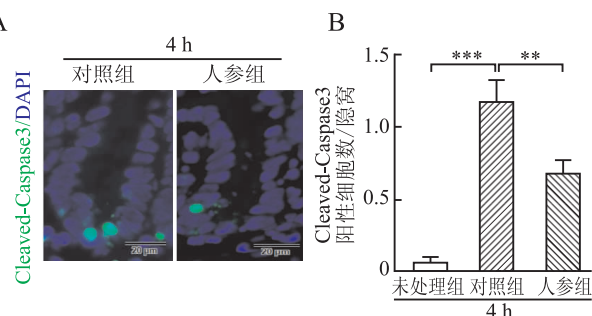


图7 荧光染色检测人参粗提物对肠道细胞凋亡的影响:A. 辐射后 4 h 对照组和人参组小鼠肠道隐窝内 Cleaved-Caspase3 荧光染色;B. 辐射后 4 h 各组中肠道隐窝内 Cleaved-Caspase3 阳性细胞数;*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$

组小鼠肠道中 TNF 等促炎因子 mRNA 表达水平明显升高。与对照组相比,人参组小鼠辐射后 4 h 时, TNF mRNA 下降为对照组的 0.56 倍;IL-18 mRNA 下降为对照组的 0.88 倍;辐射后 24 h 时,IL-6 mRNA

NA 下降为对照组的 0.78 倍(图 11A ~ C)。此外,辐射后对照组小鼠肠道中 VEGF、TGF- β 等促修复因子 mRNA 表达水平降低。与对照组相比,人参组 VEGF、TGF- β mRNA 表达分别上升为 1.2 倍和 1.17 倍(图 11D、E)。

3 讨论

目前,放疗是广泛使用的肿瘤治疗方案之一,但并发症限制其临床应用。盆腹腔肿瘤靶向放疗可引发肠道放射性损伤,导致临床无法进一步提高剂量,且无有效的保护药物。人参作为药食同源类中药,已有研究报道其在体外具有促进细胞增殖、抑制细胞凋亡、抑制氧化应激等作用^[7-10]。

本实验首次运用小鼠肠道损伤致死剂量辐射模型,在小鼠体内研究人参粗提物对肠道组织的保护作用。15 Gy 剂量全身辐射小鼠 7 天内发生死亡,且无法通过骨髓移植挽救,是分析肠道辐射损伤的理想模型。本组结果显示,人参粗提物处理接受 15 Gy 剂量辐射的小鼠,其中位生存期明显延长,小鼠体重降低减缓,肠上皮结构维持完整性,小肠绒毛更长,隐窝深度更短,存活隐窝数量更多,表明人参粗提物具有缓解辐射小鼠损伤的作用;机制可能是通过 p53/PUMA 信号抑制肠上皮细胞凋亡;促进 DNA 修复,减少 DNA 损伤的累积;抑制 TNF 等炎症因子的表达。

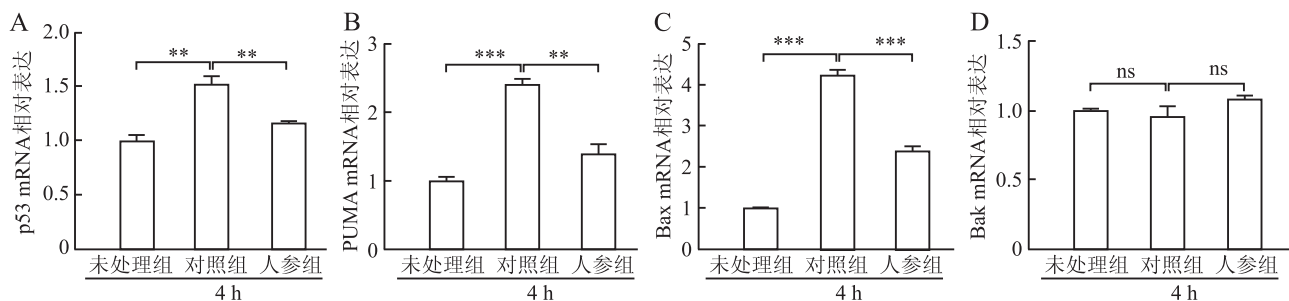


图8 辐射后 4 h 各组中凋亡相关基因的表达:A. p53 mRNA 的表达量;B. PUMA mRNA 的表达量;C. Bax mRNA 的表达量;D. Bak mRNA 的表达量;*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, ns. 差异无统计学意义

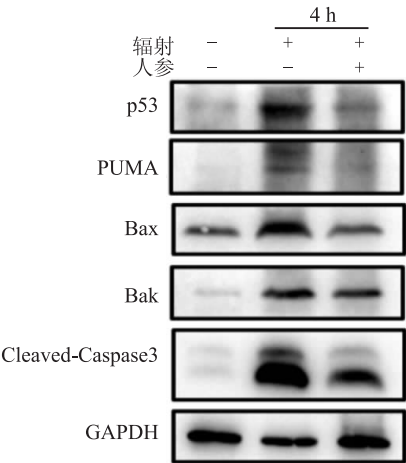


图9 Western blot 法检测辐射4 h 各组中小鼠肠细胞相关蛋白的表达水平

人参粗提物对肠道辐射损伤小鼠的保护作用, 可能通过抑制肠上皮细胞死亡来实现。研究显示上皮细胞凋亡是肠道辐射损伤的重要原因, 辐射通过 p53 及其下游促凋亡基因 PUMA 诱导肠上皮细胞迅速发生凋亡, 抑制隐窝细胞凋亡可促进肠上皮组织再生与修复^[4,12-13]。文献报道, 细胞凋亡是辐射后细胞死亡的主要机制。本组小鼠体内实验结果显示人参粗提物明显抑制肠上皮细胞凋亡, 与已报道的体外研究结果一致。体外研究聚焦于凋亡相关 AKT/GSK3 β 及 NF- κ B 等通路^[7,14], 但体内发现人参粗提物通过调控 p53 信号抑制细胞凋亡。在肠上皮细胞辐射损伤后的命运调控机制中, p53 具有双重作用, 一方面通过 PUMA、Noxa 等基因表达促进细胞凋亡, 另一方面通过 p21 等细胞周期蛋白调控细胞周期进程, 促进DNA损伤修复。本组结果显示,

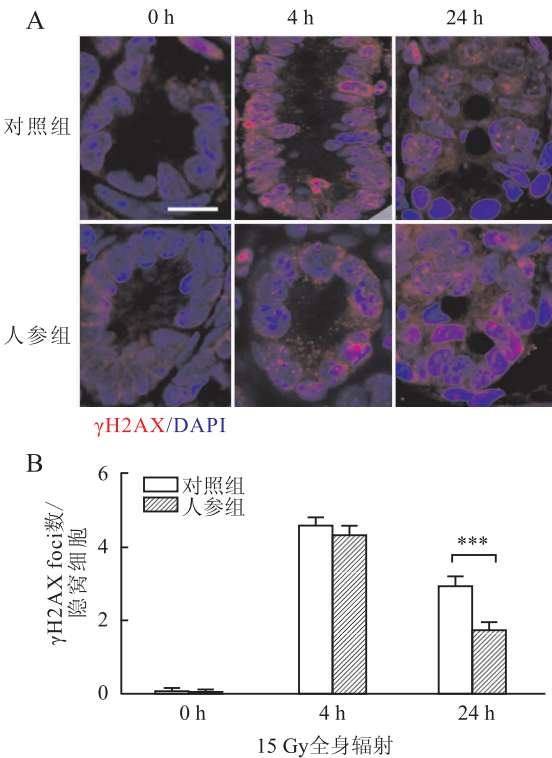


图10 荧光染色检测人参粗提物对辐射诱导肠隐窝细胞 DNA 损伤的影响: A. 辐射后各组中小鼠隐窝细胞内 γ H2AX 荧光染色; B. 辐射后各组中小鼠每个隐窝细胞内 DNA 损伤灶点 (γ H2AX foci) 数; *** $P < 0.001$

人参粗提物通过降低 p53 和 PUMA 基因表达抑制细胞凋亡, 对于维持隐窝结构和数量具有促进作用。肠隐窝细胞具有快速自我更新的特点, 对辐射诱发的DNA损伤敏感, 以双链断裂(DNA double-strand breaks)为主的 DNA 损伤修复失败引发细胞凋亡^[15-16], 辐射后24 h的 γ H2AX染色提示, 人参

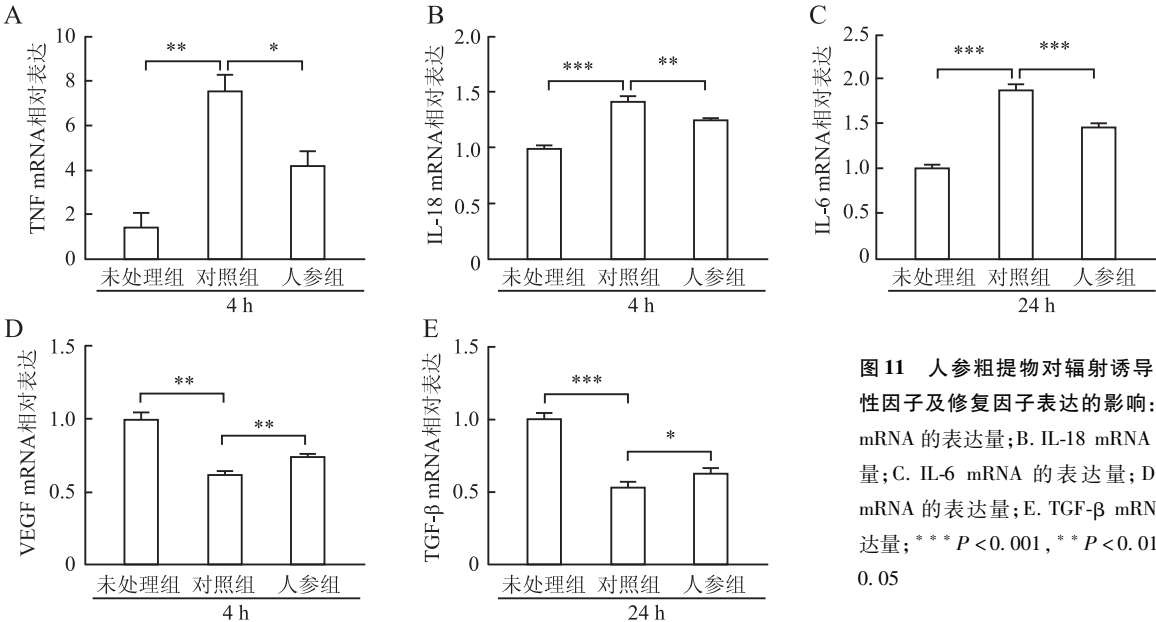


图11 人参粗提物对辐射诱导肠道炎症因子及修复因子表达的影响: A. TNF mRNA 的表达量; B. IL-18 mRNA 的表达量; C. IL-6 mRNA 的表达量; D. VEGF mRNA 的表达量; E. TGF- β mRNA 的表达量; *** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$

粗提物具有促进 DNA 修复,减少 DNA 损伤累积的作用。因此,p53 及其下游基因 p21 是否参与人参粗提物调控 DNA 损伤修复作用有待进一步分析。

辐射后肠道内产生的促炎因子引起肠上皮细胞受损,造成肠道黏液层变薄,导致肠黏膜更易受到损害,进一步加重肠道损伤^[17]。已有研究报道辐射后肠道内转录因子的激活,可上调 TNF- α 、IL-1 β 等前炎因子的活性,参与肠道黏膜损伤与炎症反应^[18]。同时,一些炎性因子具有促进巨噬细胞等免疫细胞募集的作用,有研究发现巨噬细胞可通过调控 Wnt 信号促进肠道再生^[19]。本组结果显示,辐射后肠道内促炎因子和修复因子表达受人参调控,人参粗提物是否可以通过调控相关因子,影响免疫细胞的肠道募集,结果需要进一步证实。同时,其与肠上皮再生的相关性需要深入分析。

本实验通过小鼠体内模型证实人参粗提物具有抑制细胞凋亡,促进 DNA 损伤修复,调控肠道内炎性因子的表达,初步证实其对致死性肠道损伤具有保护作用,阐述了人参作为肠道辐射损伤保护药物的可能性,为进一步探讨其作用机制提供基础。

参考文献:

- [1] Sun Y W, Zhang Y Y, Ke X J, *et al.* Pirfenidone prevents radiation-induced intestinal fibrosis in rats by inhibiting fibroblast proliferation and differentiation and suppressing the TGF- β 1/Smad/CTGF signaling pathway[J]. *Eur J Pharmacol*, 2018,822;199–206.
- [2] Kim B H, Jung H W, Seo S H, *et al.* Synergistic actions of FGF2 and bone marrow transplantation mitigate radiation-induced intestinal injury[J]. *Cell Death Dis*, 2018,9(3):383.
- [3] Riehl T E, Alvarado D, Ee X, *et al.* Lactobacillus rhamnosus GG protects the intestinal epithelium from radiation injury through release of lipoteichoic acid, macrophage activation and the migration of mesenchymal stem cells[J]. *Gut*, 2019,68(6):1003–1013.
- [4] Leibowitz B J, Wei L, Zhang L, *et al.* Ionizing irradiation induces acute haematopoietic syndrome and gastrointestinal syndrome independently in mice[J]. *Nat Commun*, 2014,5;3494.
- [5] 夏 霖,张 梅. 放射性诱导肠损伤发病机制及中医病因病机探讨[J]. *安徽中医药大学学报*, 2020,39(4):93–96.
- [6] Yu J. Intestinal stem cell injury and protection during cancer therapy[J]. *Transl Cancer Res*, 2013,2(5):384–396.
- [7] Jiang R, Xu X H, Wang K, *et al.* Ethyl acetate extract from pa-

nax ginseng C. A. Meyer and its main constituents inhibit α -melanocyte-stimulating hormone-induced melanogenesis by suppressing oxidative stress in B16 mouse melanoma cells[J]. *J Ethnopharmacol*, 2017,208;149–156.

- [8] Tang C Z, Li K R, Yu Q, *et al.* Activation of Nrf2 by ginsenoside Rh3 protects retinal pigment epithelium cells and retinal ganglion cells from UV[J]. *Free Radic Biol Med*, 2018,117:238–246.
- [9] Jiang R, Xu X, Sun Z, *et al.* Protective effects of ginseng proteins on photoaging of mouse fibroblasts induced by UVA[J]. *Photochem Photobiol*, 2020,96(1):113–123.
- [10] Luo Y, Wang B, Liu J, *et al.* Ginsenoside RG1 enhances the paracrine effects of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on radiation induced intestinal injury[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020,13(1):1132–1152.
- [11] Wei L, Leibowitz B J, Wang X, *et al.* Inhibition of CDK4/6 protects against radiation-induced intestinal injury in mice[J]. *J Clin Invest*, 2016,126(11):4076–4087.
- [12] Li W, Lin Y, Luo Y, *et al.* Vitamin D receptor protects against radiation-induced intestinal injury in mice via inhibition of intestinal crypt stem/progenitor cell apoptosis[J]. *Nutrients*, 2021,13(9):2910.
- [13] Liu Z, Tian H, Jiang J, *et al.* β -arrestin-2 modulates radiation-induced intestinal crypt progenitor/stem cell injury[J]. *Cell Death Differ*, 2016,23(9):1529–1541.
- [14] Li W, Yan M H, Liu Y, *et al.* Ginsenoside Rg5 ameliorates cisplatin-induced nephrotoxicity in mice through inhibition of inflammation, oxidative stress, and apoptosis[J]. *Nutrients*, 2016,8(9):566.
- [15] Xie L W, Cai S, Zhao T S, *et al.* Green tea derivative (–)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) confers protection against ionizing radiation-induced intestinal epithelial cell death both *in vitro* and *in vivo*[J]. *Free Radic Biol Med*, 2020,161:175–186.
- [16] Li C, Liu W, Wang F, *et al.* DNA damage-triggered activation of cGAS-STING pathway induces apoptosis in human keratinocyte HaCaT cells[J]. *Mol Immunol*, 2021,131:180–190.
- [17] Wells J M, Brummer R J, Derrien M, *et al.* Homeostasis of the gut barrier and potential biomarkers[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2017,312(3):G171–G193.
- [18] 郑 跃,马发鑫,李金亮,等. 炎症预激活骨髓间充质干细胞条件培养基调控急性辐射损伤小肠炎症反应的作用[J]. *中国组织工程研究*, 2019,23(13):1969–1974.
- [19] Saha S, Aranda E, Hayakawa Y, *et al.* Macrophage-derived extracellular vesicle-packaged WNTs rescue intestinal stem cells and enhance survival after radiation injury[J]. *Nat Commun*, 2016,7:13096.

Protective effects of ginseng extract on radiation-induced intestinal injury in mice

ZHANG Jie¹, ZHANG Tong¹, LIANG Chen^{1,2}, TANG Ting-ting^{1,2}, WEI Liang^{1,2}

(¹Cancer Institute, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004, China; ²Cancer Center of

Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004, China)

ABSTRACT Purpose To study the protective effects of gin-

seng extract on the radiation-induced intestinal acute injury in

网络出版时间:2023-05-17 15:39:19 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1073.R.20230517.0849.012.html

婴儿色素性神经外胚层瘤 7 例临床病理观察

姜楠¹, 陈卫坚¹, 张楠², 周峥珍¹, 文容¹, 郑台青¹, 何乐健²

摘要: **目的** 探讨婴儿色素性神经外胚层瘤(melanotic neuroectodermal tumour of infancy, MNTI)的临床病理特征、诊断及鉴别诊断。**方法** 收集 7 例 MNTI 临床资料,行形态学观察、免疫组化、FISH 以及电镜检测;分析其临床病理特征并复习相关文献。**结果** 7 例 MNTI 患儿平均发病年龄 3 个月,发生部位:头面部骨 4 例,附睾 3 例。临床表现为迅速增大的无痛性肿块;影像学检查无特异性。6 例肿瘤细胞呈腺泡状排列,位于中心的是原始小神经元细胞,部分病例细胞间可见神经纤维丝连接;腺泡周边为富含黑色素颗粒的上皮样细胞,呈卵圆形或梭形,边界不清;1 例穿刺组织显示巢、片状排列的原始小细胞,未见黑色素颗粒。免疫表型:原始小神经元细胞表达 Syn(7/7)、NSE(4/7)、CD99(4/7)、FLI-1(4/7)、CgA(3/7)和 CD56(2/7),富含黑色素的上皮样细胞表达 CK(AE1/AE3)(7/7)、HMB-45(7/7)、Melan-A(2/7)和 EMA(1/7)。FISH 检测:7 例均未检测到 EWSR1 基因断裂。电镜:2 例可见细胞连接及黑色素颗粒。5 例获得随访资料,随访时间 34~56 个月,有 3 例患儿局部复发,5 例患儿均无瘤生存。**结论** MNTI 是具有恶性潜能的交界性肿瘤,肿瘤由原始的小神经元细胞及富含黑色素颗粒的上皮样细胞构成,需与腺泡状横纹肌肉瘤、淋巴瘤等鉴别。

关键词: 婴儿色素性神经外胚层瘤;病理学特征;电镜;免疫组织化学

中图分类号: R 726 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-7399(2023)05-0576-05

doi:10.13315/j.cnki.cjcep.2023.05.012

婴儿色素性神经外胚层瘤(melanotic neuroectodermal tumour of infancy, MNTI)是一种罕见的交界性肿瘤,通常发生于 1 岁以内婴幼儿的头面部骨,具有独特的病理组织形态及复发、转移潜能。目前, MNTI 文献报道约 500 例^[1],国内仅有个案报道。本文收集 7 例 MNTI 临床资料,分析其临床病理特

征、诊断及鉴别诊断,以提高临床与病理医师对其的认识水平。

1 材料与方法

1.1 材料 收集 2009 年 9 月~2019 年 11 月首都医科大学附属北京儿童医院 6 例 MNTI,其中 1 例为穿刺组织;另收集 2015 年 8 月~2019 年 11 月湖南省儿童医院 1 例 MNTI。其中男婴 5 例,女婴 2 例;平均发病年龄 3 个月。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化法 标本均经 10% 中性福尔马林固定,常规脱水,石蜡包埋,4 μm 厚切片,采用 HE、免疫组化 EnVision 两步法染色,光镜下观察。一抗

接受日期:2023-03-20

作者单位:¹ 湖南省儿童医院病理科,长沙 410007

² 首都医科大学附属北京儿童医院病理科,北京 100045

作者简介:姜楠,女,硕士,主治医师。E-mail: jiangnan_0316@163.com

何乐健,男,主任医师,通讯作者。E-mail: lejianhe@sina.com

mice. **Methods** The total body radiation-induced intestinal acute injury was induced by X-ray irradiator. The survival times for all radiated mice were detected. HE-stained small intestine tissue sections were examined under a light microscope. The proliferation of crypt cells and crypt regeneration were examined by BrdU incorporation assay. Immunofluorescence staining, Western blot and qRT-PCR were proceeded to detect apoptosis and DNA damage after radiation injury and induced cytokines expression. **Results** Ginseng extract treatments (200 mg/kg) significantly prolonged the survival times (extended from 6 days to 7 days) and maintained more intact intestinal architecture of radiated mice compared to the control group. Meanwhile, gin-

seng extract treatments also improved the level of proliferation and repair of intestinal crypt cells (the number of regenerated recesses increased from 17.1 to 25.3), blocked intestinal cell apoptosis induced by p53/PUMA signals (the number of apoptotic cells decreased from 1.2 to 0.7), decreased DNA damage accumulation in crypt cells and regulated expression of cytokines responded to the radiation injury. **Conclusion** Ginseng extract protects against intestinal injury in mice through blocking apoptosis and decreasing DNA damage accumulation and injury-induced cytokine expression.

Key words: ginseng extract; radiation-induced intestinal injury; apoptosis; DNA damage