

References:

- [1] Xin H L, Bi J, Liu M, *et al.* Experimental study on anti-inflammatory and immuno-regulating effect of kirenol [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(6): 866-870.
- [2] Vogel H G, Vogel W H. *Guidebook of Pharmacological Experiment—Drug Discovery and Evaluation—Pharmacological Assays* (药理学实验指南——新药发现和药理学评价) [M]. Beijing: Science Press, 2001.
- [3] Liu J W. *Methodology in Pharmacological Experiment—New Technology and Method* (药理实验方法学——新技术与新方法) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2003.
- [4] Wang X L. *Applied Molecular Pharmacology* (应用分子药理学) [M]. Beijing: Peking Union Medical College Press, 2005.
- [5] Jiang M X. *Newly Compiled Practical Materia Medica* (新编实用药理学) [M]. Beijing: Science Press, 2005.
- [6] Liu W, Li S X. Research progression on apoptosis of RA fibroblast-like synoviocytes [J]. *Chin J Rheumatol* (中华风湿病学杂志), 2005, 9(10): 620-622.
- [7] Masahiko T, Weronika R, Ewa K, *et al.* Fibroblast-like synoviocytes from rheumatoid arthritis patients express functional IL-15 receptor complex; Endogenous IL-15 in autocrine fashion enhances cell proliferation and expression of Bcl-xL and Bcl-2 [J]. *J Immunol*, 2002, 1760-1767.
- [8] Masahiko T, Katsumi E, Atsushi K, *et al.* FAS Antigen expression on synovial cells was down-regulated by interleukin 1 β [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, 218: 280-285.

苦参碱抑制人大肠癌 HT29 细胞增殖及诱导凋亡作用与机制

黄 建¹, 陈康杰², 张 卧¹, 朱永良³

(1. 浙江大学医学院附属第二医院 肿瘤科, 浙江 杭州 310009; 2. 温州医学院附属第二医院 普外科, 浙江 温州 325000; 3. 浙江大学医学院附属第二医院 消化科, 浙江 杭州 310009)

摘要:目的 探讨苦参碱对人大肠癌 HT29 细胞增殖抑制和凋亡诱导作用及其可能机制。方法 分别采用 MTT 法检测细胞增殖活性、流式细胞仪检测细胞周期及凋亡、透射电镜观察细胞结构变化、基因芯片检测细胞基因表达改变。结果 0.062 5~0.5 mg/mL 苦参碱处理 48 h 后, 细胞增殖明显受抑制; 但 1 mg/mL 时增殖抑制率降低而凋亡诱导作用明显增强; 苦参碱对细胞 G₂/M 和 G₁/S 期均有阻滞作用; 电镜下可见凋亡的形态学变化; 基因芯片检测发现苦参碱影响细胞增殖、周期和凋亡相关基因的表达。结论 苦参碱通过影响 HT29 细胞一些与增殖、周期和凋亡相关基因的表达发挥增殖抑制和凋亡诱导作用, 且与苦参碱质量浓度相关。

关键词:苦参碱; 增殖; 凋亡; 基因芯片

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)08-1210-05

Effect of matrine on inhibiting proliferation and inducing apoptosis of human intestinum crassum carcinoma HT29 cells

HUANG Jian¹, CHEN Kang-jie², ZHANG Wo¹, ZHU Yong-liang³

(1. Department of Oncology, Second Affiliated Hospital of Medical School, Zhejiang University, Hangzhou 310009, China; 2. Department of Surgery, Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical School, Wenzhou 325000, China; 3. Department of Gastroenterology, Second Affiliated Hospital of Medical School, Zhejiang University, Hangzhou 310009, China)

Abstract: Objective To explore the anti-proliferation and apoptosis-induced effects of matrine on HT29 cell and their possible mechanism. **Methods** HT29 Cell proliferative activity was measured by MTT assay; Cell cycle and apoptosis were analyzed by Flow Cytometry; Alteration of cellular skeleton was observed by transmission electron microscopy (TEM); Global gene expression profiles were scanned by gene chip. **Results** After exposure to matrine at concentrations from 0.062 5 to 0.5 mg/mL for 48 h, cellular proliferation was inhibited with increasing the concentration, but this inhibitory effect attenuated at 1 mg/mL and the apoptosis was up-regulated significantly. G₂/M and G₁/S phases of cell cycle were, to some extent, arrested. Under TEM, the morphological changes could be found. Gene chip showed that matrine could alter a large number of genes, which related to the cell proliferation, cell cycle, and apoptosis. **Conclusion** The anti-proliferation and apoptosis-induced effects of matrine on HT29 cells are concentration-dependent through changing of many genes involved in proliferation, cell cycle, and

收稿日期: 2007-01-05

基金项目: 浙江省自然科学基金青年人才专项基金资助项目 (R01055); 浙江省中医药管理局资助课题 (2003C094, 2006Z012)

作者简介: 黄 建 (1964—), 男, 浙江人, 主任医师, 博士, 从事中药抗肿瘤的临床与基础研究。

Tel: (0571) 87784556 E-mail: hjys@zju.edu.cn

apoptosis.

Key words: matrine; proliferation; apoptosis; gene chip

苦参碱 (matrine) 是苦参 *Sophora flavescens* Ait. 的主要成分之一,能在体外诱导 K562 等血液肿瘤细胞和乳腺癌、肝癌等实体瘤细胞分化和凋亡^[1~3],在体内也具有较强烈的抗肿瘤作用^[4]。相关苦参碱对大肠癌细胞的作用未见报道。为此,本实验从细胞形态、细胞周期、基因表达谱分析等多方面来研究苦参碱对人大肠癌 HT29 细胞的增殖抑制及凋亡诱导作用并探讨其可能机制。

1 材料

人大肠癌 HT29 细胞 (浙江大学肿瘤研究所保存),苦参碱 (质量分数 99.9%,中国药品生物制品检定所),细胞培养液 McCoy 5A (美国 Sigma 公司),噻唑蓝 (MTT,美国 Sigma 公司),RNAeasy Column 总 RNA 提取试剂盒 (德国 Qiagen 公司),U133A 基因芯片 (美国 Affymetrix 公司)。

2 方法

2.1 细胞增殖活性测定:采用 MTT 比色法。对数生长期 HT29 细胞以 $2 \times 10^5/L$ 浓度接种 96 孔板,每孔 0.1 mL,置 0~1.0 mg/mL 不同质量浓度苦参碱 (设 3 个复孔) 于 5% CO₂,37 °C 培养,48 h 后每孔加 50 μ L 2 mg/mL MTT 液继续培养 4 h,离心后加 200 μ L 二甲基亚砷溶解,酶标仪测定 570 nm 波长处吸光度 (A) 值,以 A 值间接反映存活细胞数量,计算细胞增殖抑制率。

$$\text{增殖抑制率} = (1 - A_{\text{给药}} / A_{\text{对照}}) \times 100\%$$

2.2 细胞周期分析及凋亡的形态学检测:5 mL 对数生长期 HT29 细胞以 $2.5 \times 10^6/L$ 浓度分别接种于 6 个 50 mL 培养瓶中,加入苦参碱,使各瓶终质量浓度分别为 0、0.062 5、0.125、0.25、0.5、1.0 mg/mL,48 h 后收集细胞,0.01 mol/L PBS (pH 7.0) 洗涤。部分细胞以 70% 乙醇固定,然后用 0.01 mol/L PBS (pH 7.0) 再洗涤 3 次,1 mg/mL RNA 酶 37 °C 消化 15 min,50 mg/mL 碘化丙锭染色 30 min,行流式细胞仪 (FCM) 检测,计数 1×10^4 个细胞。部分细胞戊二醛固定,常规脱水、包埋、超薄切片、铀铅染色,行透射电镜观察细胞结构和细胞核变化。

2.3 基因表达谱检测和分析:分别收集 0、0.5、1.0 mg/mL 苦参碱处理组细胞,按 RNeasy mini extract 试剂盒说明抽提总 RNA。以 T7-T24 为引物,用 supertranscriptase 逆转录酶将 10 μ g 总

RNA 逆转录为 dcDNA,苯酚-氯仿-异戊醇 (25 : 24 : 1) 抽提纯化,再以 dcDNA 为模板由 Mega transcriptase 酶将其转录为带生物素标记的 cRNA,由 RNeasy mini extract 试剂盒纯化后行片段化处理,最后与 Affymetrix U133A 基因表达芯片 (20K) 杂交。Argon-ion 激光扫描仪在 $\lambda=570$ nm 扫描芯片,用 Gene Chip 软件分析结果。样本资料分析用单侧或双侧 ANOVA 统计比较。芯片检测特异性为 1/100 000 拷贝。筛选比值大于 1.5 或小于 0.66 的数据代表基因在与芯片杂交时表现出显著的差异。错误基因信息来自 <http://masker.nci.nih.gov/ev>;基因分析资料来源除文献注明外,均来源于 GenBank database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 或 Gene cards database (<http://bioinf.weizmann.ac.il/cards/index.html>) 并经 Affymetrix 测试芯片验证比较。

2.4 统计学处理:采用 SPSS 统计软件包 (10.0) 分析。经频数分布图发现数据呈正态分布,故组间比较用配对 *t* 检验。

3 结果

3.1 苦参碱抑制 HT29 细胞增殖:随药物质量浓度 0~0.5 mg/mL 倍增,细胞的增殖抑制率逐渐上升,且与苦参碱质量浓度呈正相关 ($r=0.938$, $P<0.05$),0.5 mg/mL 时达最大值,增殖抑制率为 $(86.69 \pm 2.38)\%$ (图 1),以抑制率对质量浓度作直线回归,求得苦参碱对 HT29 的 IC₅₀ 为 0.23 mg/mL;但 1.0 mg/mL 时抑制率反而略有降低,表明苦参碱对 HT29 细胞有明显的增殖抑制作用,在一定范围内呈质量浓度依赖性。

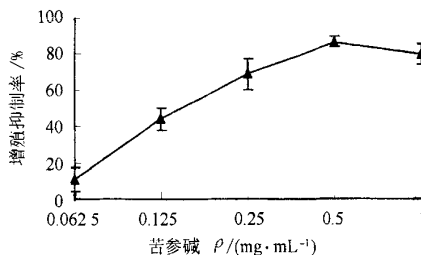


图 1 苦参碱对 HT29 细胞的增殖抑制作用 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 1 Inhibition of matrine on proliferation of HT29 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

3.2 苦参碱影响细胞周期并诱导凋亡:随药物质量浓度 0~0.5 mg/mL 倍增,S 期和 G₂/M 期则逐渐

降低,且相关系数 r 分别为 0.906 和 0.972, $P < 0.05$,但凋亡诱导作用均不显著,而 1.0 mg/mL 时细胞凋亡明显增加,凋亡率达 $(27.46 \pm 4.39)\%$ (表 1),提示苦参碱对 S 期和 G_2/M 期细胞都有阻滞作用;质量浓度 ≤ 0.5 mg/mL 时对细胞增殖产生明显抑制,而 1.0 mg/mL 时凋亡诱导作用明显增强。

表 1 苦参碱对 HT29 细胞的细胞周期及凋亡的影响
($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Effect of matrine on cell cycle and apoptosis of HT29 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

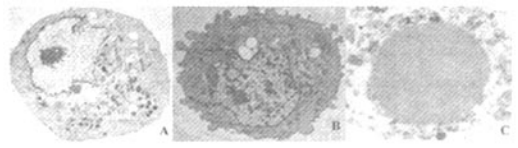
组别	$\rho/$ (mg · mL ⁻¹)	细胞周期/%				凋亡率/%
		G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M		
对照	0	64.07±6.24	19.77±4.06	15.60±2.49		1.30±0.23
苦参碱	0.062 5	69.90±5.08	15.10±4.29	13.59±0.73		1.12±0.45
	0.125	69.93±4.42	14.38±1.22	13.05±1.68		2.08±0.76
	0.25	73.78±4.42*	12.43±4.33*	12.34±3.15		2.22±0.64
	0.50	77.70±4.88**	9.95±4.51**	9.41±2.24**		2.98±0.03
	1.0	52.55±6.09*	10.17±3.16**	8.41±1.77*		27.46±4.39**

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

3.3 苦参碱诱导细胞凋亡形态学观察:1.0 mg/mL 苦参碱作用于 HT29 细胞 48 h 后,电镜下可见多数细胞膜完整,胞浆致密,胞体缩小,染色质浓集成块,附在核膜周边,并有凋亡小体形成(图 2)。

3.4 苦参碱改变细胞增殖及凋亡相关基因的表达:为探讨苦参碱抑制增殖和诱导凋亡作用的机制,本研究采用基因芯片检测苦参碱处理后细胞基因表达变化情况。在 22 216 个基因中,0.5 mg/mL 苦参碱组表达上升或下调的基因占总基因数的 8.01%,1.0 mg/mL 苦参碱组占总数的 10.04%,两组表达



A-对照细胞 B-染色质浓聚 C-凋亡小体

A-control cells B-chromatin concentration C-apoptotic body

图 2 苦参碱处理 48 h 后电镜下凋亡 HT29 细胞

Fig. 2 Electron microscope of HT29 cells

after exposure to matrine for 48 h

均显著增加的有 98 个基因,减少的有 80 个,主要为:①增殖、细胞周期相关:如 cyclin A2、cyclin B1、cyclin B1、CDC2、PCNA、PLK1 等;②凋亡相关:如 BIRC5、GADD34 等;③信号转导相关:如 NF- κ B 抑制蛋白 α (NFKBIA 或 IkBa)、G 蛋白信号转导调节子 2 (RGS2) 和 10 (RGS10) 等;④转录调节相关:如 GATA 结合蛋白 1 (GATA1)、晶状体上皮源性生长因子 (LEDGF) 等;⑤免疫调节相关:如 IL-8、 β 2-微球蛋白等;⑥代谢相关:如醛脱氢酶 (ALDH1)、羊毛脂醇合成酶 (LSS) 等;⑦未知功能:如 SEC13L1、PRO2275 等。表 2 和表 3 列出部分细胞增殖、周期和凋亡相关的基因。但总体上 1.0 mg/mL 组改变比 0.5 mg/mL 组显著。此外,一些凋亡相关基因在 0.5 mg/mL 组表达没有改变而在 1.0 mg/mL 组却发生显著改变(表 3)。

4 讨论

以往研究表明苦参碱能抑制肿瘤细胞增殖、诱导分化和促进凋亡,但其分子机制尚未阐明。通过对药物作用后人大肠癌 HT29 细胞基因表达谱的分

表 2 基因芯片检测与细胞增殖和周期相关基因

Table 2 Detection of genes related to cell proliferation and cell cycle using gene chip

基因库	基因名称	基因代号	苦参碱 $\rho/$ (mg · mL ⁻¹)	
			0.5	1.0
NM_001237.1	cyclin A2	CCNA2	0.467	0.154
BE407516	cyclin B1	CCNB1	0.406	0.218
NM_004701.2	cyclin B2	CCNB1	0.406	0.203
AL524035	cell division cycle 2 G ₁ to S and G ₂ to M	CDC2	0.467	0.218
NM_002592.1	proliferating cell nuclear antigen	PCNA	0.536	0.308
NM_001255.1	CDC20 cell division cycle 20 homolog	CDC20	0.536	0.189
BG105365	S-phase kinase-associated protein 2	SKP2	0.536	0.268
NM_005030.1	polo-like kinase	PLK1	0.536	0.134
AF279900.1	MCM7 minichromosome maintenance deficient 7	MCM7	0.574	0.467
NM_004526.1	MCM2 minichromosome maintenance deficient 2 mitotin	MCM2	0.500	0.146
AF043294.2	BUB1 budding uninhibited by benzimidazoles 1 homolog	BUB1	0.467	0.063
NM_001211.2	BUB1 budding uninhibited by benzimidazoles 1 homolog beta	BUB1B	0.500	0.054
NM_002358.2	MAD2 mitotic arrest deficient-like 1	MAD2L1	0.406	0.379

* 为 0.5、1.0 mg/mL 苦参碱组与对照组比较,基因表达改变比值;凡小于 0.660 者表示该基因较对照组下降大于 1.5 倍

* odds of changes for gene expression between matrine groups (0.5 and 1.0 mg/mL) and control group; decreasing of gene is over 1.5 times vs control group while its odds is under 0.660

表 3 基因芯片检测与凋亡相关基因
Table 3 Detection of genes related to cell apoptosis using gene chip

基因库	基因名称	基因代号	苦参碱 $\rho/(mg \cdot mL^{-1})$	
			0.5	1.0
NM_014330.2	growth arrest and DNA-damage-inducible 34	GADD34	2.000	5.278
AI078167	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor alpha	NFKBIA	1.866	7.464
NM_021975.1	v-rel reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A	p65	NC**	3.482
BC002646.1	v-jun sarcoma virus 17 oncogene homolog	AP1	NC**	14.929
BC000305.1	caspase 6 apoptosis-related cysteine protease	CASP6	NC**	0.379
NM_002467.1	v-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog	MYC	0.660	0.268
AB028869.1	Homo sapiens mRNA for survivin-beta	BIRC5	0.467	0.406

* 为 0.5、1.0 mg/mL 苦参碱组与对照组比较,基因表达改变比值;凡小于 1.500 或小于 0.660 者表示该基因较对照组上升或下降大于 1.5 倍

** NC:无变化

* odds of changes for gene expression between matrine groups (0.5 and 1.0 mg/kg) and control group; increasing or decreasing of gene is over 1.5 times vs control group while its odds is under 1.500 or 0.660

** NC: no change

析,提示苦参碱能通过阻滞细胞周期进程来抑制结肠癌细胞生长,但对各周期的影响不同:①G₂/M 期过渡可能是主要靶点:细胞由 G₂期向 M 期过渡主要是由促成成熟因子(MPF)来调节的,而组成 MPF 的 cyclin B 和 CDC2 蛋白的基因表达均显著降低;cyclin A2 与 CDC2 结合对 G₂/M 期过渡起一定抑制作用;PLK1 能促成 MPF 的激活,其表达下调也与 G₂/M 期停滞相关。②S 期是另一个重要靶点:PCNA 是 DNA 聚合酶 δ 复合物的一个亚基,直接参与 DNA 的复制和修复,还对 DNA 多聚酶 ϵ 活性也有影响;MCM7、MCM2 和 cyclin A 的表达产物均参与复制叉形成,这些基因表达降低提示苦参碱对 S 期有很强抑制作用。但苦参碱对 G₁/S 期过渡抑制相对较弱,因为控制细胞通过 G₁期的主要是 cyclin D/CDK4、cyclin D/CDK6 和 cyclin E/CDK2 复合体,而这些酶的基因表达均无改变,这可能与 HT29 细胞本身 P53 突变相关,因为 P53 是 DNA 损伤诱导 G₁/S 期检查点停滞的关键机制。③苦参碱可以通过下调与调控纺锤体检查点相关基因 BUB1、BUB1B 和 MAD2L1 的表达^[5]来实现对 M 期的抑制。

抗肿瘤药物的作用除了与特定药物性质有关外,还与药物浓度和作用时间有关,并且不同的肿瘤细胞对同种抗癌药物的反应不一。如 HepG2 细胞:苦参碱小于 0.3 mg/mL 时无抑制作用;0.8 mg/mL 以诱导分化为主;1.5 mg/mL 以诱导凋亡为主;大于 3.0 mg/mL 以细胞坏死为主^[3]。本研究显示小于 0.5 mg/mL 苦参碱对 HT29 细胞以生长抑制为主,而 1.0 mg/mL 以凋亡诱导为主。由表 3 可

知,0.5 mg/mL 的苦参碱对凋亡相关基因的影响不是很明显,而 1.0 mg/mL 苦参碱能使多个凋亡相关基因的表达改变。GADD34 与细胞周期停滞和凋亡相关;p65 是 NF- κ B 最重要亚基之一;IkB α 是 NF- κ B 的抑制蛋白,能抑制 NF- κ B 的活性促进细胞凋亡;转录因子 AP1 是细胞内 JNK/SAPK 作用的重要靶点,在细胞增殖、分化、转化、凋亡及细胞外基质积聚中发挥重要作用^[6];Caspase-6 参与细胞凋亡的执行并降低凋亡信号诱导细胞死亡的域值^[7];原癌基因 c-myc 在调控细胞生长、增殖、分化和凋亡方面起关键作用;BIRC5 表达产物 Survivin 属于凋亡抑制家族,能结合并抑制凋亡效应子 caspase-3、caspase-7 的活性并参与 G₂/M 期的调控^[8]。此外,苦参碱对基因转录、机体免疫和细胞代谢都有一定影响。因此,苦参碱抑制 HT29 细胞增殖及诱导凋亡作用是一个多基因共同参与、协调作用的过程,深入研究这些差异表达基因,并研究它们之间的关系可以揭示其分子机制,从而为苦参碱更好用于临床提供理论依据。

References:

[1] Zhang L P, Jiang J K, Tan R A. Effect of matrine on telomerase activity and cell cycle in K562 cell [J]. *Chin J Oncol* (中华肿瘤杂志), 1998, 20: 328-329.
[2] Zhou B G, Shun J Z, Fan Y Z. Apoptosis of human breast cancer MCF-7 cells induced by oxymatrine [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2002, 18: 689-691.
[3] Si W K, Chen A, Li P. Study on apoptosis of human hepatoma cell line HepG2 induced by matrine [J]. *Acta Acad Med Mil Tert* (第三军医大学学报), 2001, 23: 816-820.
[4] Ma L D, Wen S H, Zhang Y. Inhibition of tumor growth in tumor-bearing mice treated with matrine [J]. *Chin J Oncol* (中华肿瘤杂志), 2005, 27: 339-341.

- [5] Hartwell L H, Kastan M B. Cell cycle control and cancer [J]. *Science*, 1994, 266: 1821-1828.
- [6] Karin M. The regulation of AP-1 activity by mitogen-activated protein kinases [J]. *J Biol Chem*, 1995, 270: 16483-16486.
- [7] MacLachlan T, El-Deiry W. Apoptotic threshold is lowered by p53 transactivation of aspace-6 [J]. *PNAS*, 2002, 99: 9492-9497.
- [8] Carter B, Wang R, Schober W, et al. Targeting survivin expression induces cell proliferation defect and subsequent cell death involving mitochondrial pathway in myeloid leukemic cells [J]. *Cell Cycle*, 2003, 2: 488-493.

芦荟凝胶对大鼠缺血再灌注损伤肾脏的保护作用

崔 桅, 肖 彬, 王 磊*, 高 洁, 孟庆杰

(天津市人民医院, 天津 300121)

摘要:目的 观察大鼠肾脏缺血再灌注损伤 (IRI) 时芦荟凝胶对肾组织的保护作用。方法 建立大鼠 IRI 模型; 将实验动物分成 IRI 模型组、芦荟凝胶高、低剂量 (300、100 mg/kg) 组及假手术组, 分别采用酶速率法、酶终点法和比色法测定各组大量血清尿素氮 (BUN)、肌酐 (Cr) 水平及肾组织匀浆中丙二醛 (MDA) 水平, 并对肾组织进行病理学比较。结果 芦荟凝胶高剂量组和低剂量组在术后不同时间 BUN、Cr 水平均低于 IRI 组, 且随着时间的延长这种差异更为明显; 不同组别大鼠肾组织局部 MDA 水平在不同时间内的差异亦有显著性, 芦荟凝胶高剂量组和低剂量组 MDA 水平均呈较明显的下降趋势; 组织病理切片显示, 芦荟凝胶可明显改善肾小球、肾小管的充血、肿胀等现象。结论 芦荟凝胶对大鼠肾 IRI 后肾组织具有一定的保护作用, 该作用与药物剂量呈现正相关。

关键词: 芦荟凝胶; 缺血再灌注损伤 (IRI); 尿素氮; 肌酐

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)08-1214-03

Protection of aloe gel on kidney of ischemia-reperfusion injured rats

CUI Wei, XIAO Bin, WANG Lei, GAO Jie, MENG Qing-jie

(Tianjin People's Hospital, Tianjin 300121, China)

Key words: aloe gel; ischemia-reperfusion injury (IRI); ureanitrogen (BUN); creatinine (Cr)

组织经过一段时间的缺血后恢复血流供应, 可能出现缺血性损伤进一步加重的现象, 即缺血再灌注损伤 (ischemia reperfusion injury, IRI)。IRI 常发生于医疗过程中, 可直接或间接地引起再灌注心律失常、心肌舒缩功能障碍以及脑功能、肾功能、肠功能等多脏器损伤, 成为影响缺血治疗效果的一个重要因素。由于 IRI 所致的病死率多年来一直居高不下, 且临床至今尚缺乏可靠的治疗方案, 因此, 对其发病机制的探讨和防治的研究日益受到业内人士的普遍关注。芦荟的抗自由基损伤的作用已有研究和报道^[1]。芦荟提取物能提高机体抗自由基氧化的能力、抑制细胞膜的脂质过氧化作用, 减轻肝脾细胞 DNA 损伤的程度, 从而可起到延缓衰老的作用^[2,3]。芦荟凝胶是芦荟提取物中的重要成分, 可明显提高免疫低下小鼠的胸腺、脾脏质量及溶血素抗体水平, 提高其巨噬细胞的吞噬功能, 增加自然杀伤细胞 (NK) 的活性, 使白细胞介素-2 (IL-2) 维持在正常

水平, 并可明显提高荷瘤小鼠的肿瘤坏死因子 (TNF) 水平, 从而显示出一定的调节免疫和抗肿瘤的作用^[4]。笔者从前期的实验中观察到, 对于内毒素血症大鼠, 芦荟可通过保护血管内皮细胞, 降低由内毒素诱发的有害活性介质在血清中的水平, 从而起到对肾组织的保护作用^[5]。本实验拟探讨芦荟凝胶对肾 IRI 后自由基损伤的防治作用, 以期研制开发治疗 IRI 药物提供部分实验依据。

1 材料

1.1 动物: 雄性 Wistar 大鼠, 体重 200~220 g, 购自军事医学科学院实验中心, 合格证号 SCXK-(军) 2002-001。

1.2 药物与试剂: 库拉索芦荟凝胶冻干粉 (含糖 ≥12%) 由云南万绿集团提供。丙二醛 (MDA) 试剂盒、考马斯亮蓝测试盒均购自南京建成生物研究所; 尿素氮 (BUN) 试剂盒由日本协合公司提供; 肌酐 (Cr) 试剂盒由罗氏公司提供。