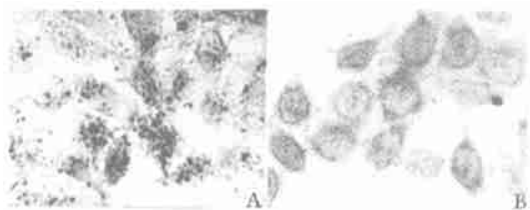


A对照组: p21蛋白表达约有 85% 以上的细胞定位于细胞浆; B-SCP作用 24 h, p21表达增强,约有 40% 以上细胞定位于细胞核

图 2 SMMC7721细胞经消化后制成细胞涂片, p21 SABC-AP免疫细胞化学染色



A对照组: PCNA表达定位于整个细胞,呈大小不等的颗粒状; B-SCP作用 24 h, PCNA在细胞核内表达明显减弱

图 2 SMMC7721细胞爬片 PCNA SABC-AP免疫细胞化学染色

995可通过抑制胶原酶的活性,而抑制血管的生成,因此抑制肿瘤组织生长^[2]。沈先荣等人报道,SCP能使 HeLa 细胞骨架发生凝聚并刺激小鼠脾脏和胸腺淋巴细胞的生长^[4]。在此基础上,我们进一步证实 SCP可有效抑制肝癌细胞的生长,并能诱导其凋亡。在荧光显微镜下可见核碎裂,琼脂糖凝胶电泳得到典型的由 180~ 200 bp 及其倍数的 DNA 片段组

成的梯形条带,这是细胞凋亡的重要指标

细胞凋亡是细胞死亡的一种生理途径,人类肿瘤的凋亡受 3 个主基因 (master genes) 的调控: p53 bcl-2 和 c-myc,这 3 个肿瘤凋亡主基因的平衡支配着人类肿瘤的预后^[8]。p21^{WAF1} 是 1993 年发现的一种新基因位于 p53 的下游,可通过抑制细胞周期蛋白 (Cyclin) 和 PCNA 的活性,阻止细胞进入 S 期,从而抑制细胞增殖^[9]。PCNA 是一种分子量 36 000 的细胞核多肽,是 DNA 多聚酶 δ 的辅助蛋白,是 DNA 复制所必需的物质,在 DNA 合成及细胞增生中起着重要的调节作用^[10]。本研究通过用 SABC 方法检测细胞内 p21^{WAF1} 和 PCNA 的表达证明 SMMC7721 细胞经 SCP 处理后,在诱导其凋亡同时上调 p21^{WAF1} 基因表达,而抑制了 PCNA 的表达,这一结果进一步阐明了 SCP 抑制肿瘤细胞生长的作用机制

参考文献

- 1 Dupont E, Savant P E, Jourdain C, *et al.* Cutant Med Surg, 1998, 2(3): 146
- 2 Sheu J R, Fu C C, Tsai M L, *et al.* Anticancer Res, 1998, 18(6): 4435
- 3 Miller D R, Anderson G T, Stark J J, *et al.* J Clin Oncol, 1998, 16(11): 3649
- 4 沈先荣,贾福星,于志洁,等. 中国生化药物杂志, 1997, 18(3): 123
- 5 徐瑞成,陈小义,陈莉,等. 中华血液学杂志, 2000, 21(7): 359
- 6 元放,张宝泉,徐炎,等. 中华医学杂志, 1999, 79(4): 298
- 7 McGire T R, Kazakoff P W, Hoie E B, *et al.* Pharmacotherapy, 1996, 16(2): 237
- 8 王申五,武沙沙. 中华肿瘤杂志, 1999, 21(4): 308
- 9 周辉,代建新. 国外医学-遗传学分册, 1995, (4): 194
- 10 Jaskulski D, Deriel J K, Mercer M E, *et al.* Science, 1988, 240(4858): 1544.

(2000-04-04收稿)

桑叶延年益寿的药理学研究[△]

浙江大学医学院国家医药管理局新药 (杭州 310006) 唐法娣* 王砚 卞如濂
研究管理中心浙江呼吸药物实验室

摘要 观察桑叶延年益寿的新功效。采用抗应激、抗疲劳试验、老年大鼠 SOD 和脂褐质测定,以及果蝇寿命试验。研究表明桑叶能提高小鼠的耐高温能力和防止由于应激刺激引起的大鼠肾上腺 Vit C 含量降低;能延长小鼠游泳及转棒时间,增强机体耐力作用;能延长果蝇的寿命,提高老年大鼠红细胞内 SOD 和降低大脑、脊髓组织脂褐质含量。提示桑叶能调节机体对应激刺激的反应能力,增强机体耐受能力和延缓衰老作用。

关键词 桑叶 抗应激 抗疲劳 延缓衰老 脂褐质 果蝇寿命试验 超氧化物歧化酶

桑叶为桑科植物桑 *Morus alba* L. 的叶,桑叶的功用有祛风清热、凉血明目,主治风温发热、头痛、

* Address: Tang Fadi, Medical College of Zhejiang University, Hangzhou
[△]该研究获浙江省科学技术进步三等奖

目赤、口渴、肺热咳嗽、风痹。《本草经疏》桑叶性味苦甘、寒,甘所以益血,寒所以凉血,甘寒相合,故下气而益阴,又能明目而止咳,有补益之功。《本草图经》桑叶可常服,煎以代茶饮,令人聪明。《本草纲目》桑叶乃手足阳明之药,汁煎代茗,能止消渴,明目长发。《寿世保元》以桑叶为主的扶桑至宝丹“久服不以自登上寿”。张寿颐:桑叶以老而经霜者为佳,欲其气之全、力之厚也,故入药用冬桑叶,即霜桑叶。《白华子本草》桑叶“暖、无毒”。现代研究桑叶对四氧嘧啶性糖尿病、肾上腺素高血糖有拮抗作用,体外有抗钩端螺旋体作用,可治疗下肢象皮肿^[1]等,但对桑叶在延年益寿方面的药理学研究尚未见报道,因此,本文进行了桑叶的抗应激、抗疲劳、延缓衰老等药理学研究。

1 材料

- 1.1 药物:桑叶为冬桑叶,经霜后采摘,制成水提液每毫升含生药量 1.6 g,由浙江省处洲制药厂提供。
- 1.2 动物:NIH小鼠,体重 18~ 22 g,♀♂各半;Wistar大鼠由本校实验动物中心提供。黑腹野生型果蝇,从浙江大学生命科学院遗传室引种,繁殖供实验用。

2 方法与结果

2.1 抗应激作用

2.1.1 对小鼠耐高温能力的影响:小鼠 ig 给药,每天 1 次,用药 14 d 后将小鼠放在恒温培养箱内,温度维持在 45℃,观察死亡时间。结果桑叶 8 g/kg 组能明显延长小鼠的耐高温时间(表 1),表明桑叶能提高小鼠的耐热能力。

表 1 桑叶对小鼠耐受高温能力的影响

组别	剂量 (g/kg)	n	耐高温时间 (min)
对照组	—	16	20.1± 4.14
桑叶	2	16	22.35± 4.55
	4	16	20.32± 1.89
	8	16	24.85± 5.18*

与对照组比较: ** P < 0.01

2.1.2 对大鼠肾上腺内 Vit C 含量的影响:Wister 大鼠,体重:♂ (326.3± 36.1) g,♀ (228.5± 33.4) g 设 5 组,各组每天 1 次 ig 给药,3 周后将大鼠置

表 3 桑叶对地塞米松引起小鼠“耗竭”现象的影响

组别	肾上腺重量		耐高温时间		体重增减数	
	n(♂)	(mg/10 g 体重)	n(♀♂)	(min)	n(♀♂)	(g)
生理盐水 对照组	12	2.05± 0.57	23	18.87± 2.87	23	0.38± 0.88
地塞米松 对照组	11	1.25± 0.41 ^{###}	24	17.4± 1.64 [#]	24	- 1.57± 0.96
地塞米松 桑叶组	18	2.02± 0.38 ^{**}	34	19.85± 2.85 ^{**}	34	- 1.3± 0.94

与生理盐水对照组比较: # P < 0.05 ### P < 0.001; 与地塞米松对照组比较: *** P < 0.001

46℃恒温培养箱内 30 min,取出放血处死,取肾上腺称重,置匀浆器内制成匀浆,按方法^[2]实验,在分光光度计 580 nm 波长记录吸光度。根据 Vit C 标准曲线求各样品吸光度值所相当的肾上腺内 Vit C 含量。计算每 100 g 肾上腺所含 VitC 的 mg 数。结果见表 2,大鼠在高温刺激下引起肾上腺内 Vit C 含量降低,肾上腺内 Vit C 含量的降低反映肾上腺皮质的分泌功能低下。桑叶 8 g/kg 能防止高温引起的肾上腺 Vit C 含量的降低,这表明在应激状况下,桑叶能防止由于应激反应引起的肾上腺功能低下。

表 2 桑叶对大鼠肾上腺 Vit C 含量的影响

组别	剂量 (g/kg)	n	温度 (℃)	肾上腺 Vit C 含量 (mg/100 g 肾上腺)
对照组	—	7	46	264.85± 53.53 ^{###}
桑叶	2	10	46	257.60± 42.20
	4	9	46	270.60± 50.90
	8	8	46	400.89± 147.51*
室温对照组	—	9	27	454.66± 49.47

与室温对照组比: ### P < 0.001; 与对照组比: * P < 0.05

2.1.3 对地塞米松引起小鼠“耗竭”现象的影响:取小鼠,桑叶 8 g/kg 组每天 1 次 ig 给药,用药 2 周后同时每天 im 地塞米松 15 mg/kg,连用 7 d,将小鼠置 45℃培养箱内进行高温刺激试验,然后将肾上腺取出称重。结果见表 3 地塞米松对照组的小鼠肾上腺重量比桑叶组低,桑叶组与生理盐水对照组相近,桑叶组小鼠耐高温时间延长。实验表明,注射地塞米松小鼠,一般状态较差,体重、肾上腺重量、抗热能力均低于生理盐水对照组,呈现了地塞米松引起的“耗竭”现象,桑叶能减轻这种“耗竭”现象的发生,对肾上腺衰竭具有保护作用。

2.2 抗疲劳作用

2.2.1 对小鼠游泳试验的影响:小鼠每天 1 次 ig,14 d 后开始实验,室温 (27℃),小鼠尾部加负荷 2.5 g/10 g,以开始放入水中至死亡的时间为游泳时间。结果见表 4 桑叶能延长小鼠游泳时间。

2.2.2 对小鼠转棒试验的影响^[2]:各组小鼠每天 1 次 ig,2 周后,咖啡因 40 mg/kg× 1 次 sc,用 ZBH 型小鼠转棒测试机(浙江大学医学院医疗仪器厂),

表 4 桑叶对小鼠游泳时间的影响

组 别	剂 量	n	游泳时间 (min)
对照组	—	10	6.66±3.0
桑叶	2	10	7.9±6.49
	4	10	8.02±4.04
	8	10	10.2±4.03*

与对照组比较: * $P < 0.05$

转速 8 r/min 进行耐力试验 将小鼠放置正在转动的转棒上,开始记时,观察小鼠至放上转棒到从转棒上跌下的时间。结果见表 5 桑叶能延长小鼠在转棒上的活动时间,说明桑叶能提高小鼠的耐力。

表 5 桑叶对小鼠转棒试验的影响

组 别	剂 量 (g/kg)	n	转棒上活动时间 (s)
对照组	—	20	29.8±21.2
桑叶	2	20	32.5±32.9
	4	19	33.0±26.2
	8	19	60.4±51.4
咖啡因	0.04	20	78.4±54.9***

与对照组比: * $P < 0.05$ *** $P < 0.001$

2.3 对老年大鼠 SOD 和脂褐质含量的影响^[3~5]

老年 Wistar 大鼠, ♂, 18 月龄, 体重 (503.0±57.8) g, 设对照组 (饮水) 桑叶 16, 3.2 g/L 组, 配好后代水饮, 用药 3 个月, 干饲料同常规饲喂 青年大鼠, ♂, 体重 (252.9±23.1) g, 3 月龄。取大鼠血测红细胞内 SOD 量。然后, 大鼠放血处死, 取大脑、脊髓称重后剪碎放入冰的氯仿-甲醇 (1:2) 液中, 置玻璃匀浆器中制组织匀浆。匀浆液 40℃ 温育 5 min, 1 500 g 离心 10 min, 上清液在 F-4000 荧光分光光度计测定脂褐质含量, 激发波长 435 nm, 狭缝 10 nm, 0.1 μg/mL (0.1 mol/L 硫酸配制) 喹宁为荧光基准物质。结果桑叶 16 g/L 组 SOD 含量明显高于老年大鼠对照组, 桑叶 3.2 g/L 组与老年大鼠对照组比较无显著差异, 老年大鼠对照组与青年对照组比较无显著差异, 表明桑叶 16 g/L 组能提高老年大鼠红细胞内 SOD 量 (表 6) 桑叶 16 g/L 组大脑、脊髓中脂褐质含量与对照组比较均下降, 桑叶 3.2 g/L 组大脑中脂褐质含量与对照组比较有降低。老年大鼠对照组的大脑、脊髓中脂褐质含量比青年大鼠对照组显著增高 表明桑叶有降低老年大鼠大脑、脊髓组织脂褐质作用 (表 7)

2.4 对果蝇寿命的影响: 黑腹野生型果蝇, 25℃ 恒温生化培养箱中饲养, 基础培养基: 蔗糖 13 g, 琼脂 1.5 g 加水 90 mL 煮沸待琼脂融化, 玉米粉 17 g, 酵母粉 1.4 g 加水 90 mL 煮沸, 两者合一加丙酸 2 mL 将含有桑叶 0.1% 的桑叶溶液、含有生晒参 0.05% 的生晒参水煎剂代替水配培养剂 成蝇用基

表 6 桑叶对老年大鼠红细胞内 SOD 含量的影响

组 别	n	SOD (U/g·Hb)
老年大鼠 对照组	8	783.3±42.7
桑叶 (3.2 g/L)	5	799.2±42.4
桑叶 (16 g/L)	6	898.9±41.0**
青年大鼠 对照组	7	779.1±21.5

与老年大鼠对照组比: *** $P < 0.001$

表 7 桑叶对老年大鼠大脑、脊髓组织脂褐质含量的影响

组 别	n	脂褐质 (μg/g 组织)	
		大脑	脊髓
老年大鼠 对照组	8	1.66±0.17#	1.32±0.28###
桑叶 (3.2 g/L)	5	1.38±0.27	1.02±0.20
桑叶 (16 g/L)	7	1.34±0.21*	1.05±0.15
青年大鼠 对照组	7	1.27±0.30	0.8±0.16

与老年大鼠对照组比: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

与青年大鼠对照组比: ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$

础培养基喂养 30 d, 再给予含有桑叶或生晒参的培养基喂养, 直至死亡。桑叶对果蝇寿命的影响见表 8, 结果表明桑叶能延长果蝇的寿命。

表 8 桑叶对果蝇寿命的影响

组别	n	最高寿命 (d)	最高寿命延长 (%)	平均寿命 (d)	平均寿命延长 (%)
对照组	♀ 49	75		51.6±9.6	
	♂ 41	73		60.2±9.6	
0.05% 生晒参	♀ 37	77	2.6	63.1±9.7**	22.3
	♂ 45	83	13.7	66.9±6.1###	11.1
0.1% 桑叶	♀ 40	76	1.3	58.5±10.3*	13.4
	♂ 47	78	6.8	65.6±15.9	9.0

与对照组 ♂ 比: ### $P < 0.001$

与对照组 ♀ 比: ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

3 讨论

研究表明桑叶能提高小鼠对高温刺激的耐受能力和防止由于应激刺激引起的大鼠肾上腺皮质分泌功能低下, 而当肾上腺功能低下时, 桑叶可使之恢复正常。用地塞米松使小鼠产生“耗竭”, 桑叶则可减轻此现象的发生。桑叶能延长小鼠游泳及转棒时间, 具有增强肌体耐力作用。桑叶能延长果蝇的寿命, 能提高老年大鼠红细胞内 SOD 含量, 从而能有效地清除生物氧化产生的超氧阴离子, 并能降低老年大鼠大脑、脊髓组织脂褐质含量, 表明具有延缓衰老作用。另有研究表明桑叶无中枢神经系统安定作用, 对免疫功能无影响, 无促进生长及性激素样作用。

在桑叶研究的基础上, 组成以桑叶为主的制剂——东方至宝口服液, 由桑叶、桑椹、蚕沙等多味中药组成, 药理及临床研究有较好的抗衰保健作用, 以清补为其特色, 尤宜于中老年人服用, 本研究为中老年保健用药和利用蚕桑药源开拓了一条新路。

参 考 文 献

1 江苏新医学院编. 中药大辞典. 上海: 上海人民出版社, 1977 1963
2 徐叔云,等主编. 药理实验方法学. 北京: 人民卫生出版社, 1982 469, 970

3 范盘生. 中国药理学与毒理学杂志, 1988, 2(4): 257
4 Sohal R S. Gerontol, 1979, 34(4): 489
5 陈淑英. 中华老年杂志, 1986, 5(2): 117

(1999-09-13收稿)

地骨皮的镇痛作用

开封医学高等专科学校 (475001) 卫琮玲* 闫杏莲 柏 李

摘 要 观察地骨皮的镇痛作用,采用扭体法、热板法和齿髓致痛法动物实验模型。结果表明:地骨皮可明显抑制小鼠扭体反应次数,提高小鼠热致痛及家兔电刺激致痛痛阈值。提示地骨皮具有镇痛作用。
关键词 地骨皮 镇痛作用 扭体反应 痛阈值

地骨皮是传统的清热凉血中药,具有降压、降血脂、降血糖及解热等作用^[1]。临床用地骨皮治疗牙髓炎疼痛有明显效果,但其镇痛作用未见文献报道。

1 材料

1. 1 药品:地骨皮购自河南省药材公司,经开封医专中药室李钦副教授鉴定为茄科植物枸杞 *Lycium chinense* Mill. 的根皮,以 70% 乙醇渗漉法提取,提取液含生药 0. 4 g /mL 颅通定,四川什邡制药厂生产,批号 970812
1. 2 动物:昆明种小鼠,体重 (20± 2) g; SD大鼠,体重 (180± 20) g;新西兰长毛白兔;体重 (2. 0± 0. 5) kg,均由河南省实验动物中心提供

2 方法与结果

2. 1 对 HAc 致小鼠扭体反应的影响^[2]:取小鼠 50 只,雌雄各半,随机分成 5 组,各组小鼠分别 ig 生理盐水、颅通定或地骨皮不同剂量,给药后 30 min 每鼠 ip 0. 6% HAc 溶液 0. 2 mL,观察注射 HAc 后 5~ 15 min 内小鼠出现扭体反应的次数。

结果(表 1)表明,地骨皮 4. 0 及 8. 0 g /kg 剂量组 ig 给药,与对照组相比,能明显抑制小鼠扭体反

应次数

表 1 地骨皮对 HAc 所致小鼠扭体反应的影响 ($\bar{x} \pm s$)				
组别	剂量 (g /kg)	动物数 (只)	出现扭体次数 (次 /15 min)	抑制率 (%)
生理盐水	—	10	61. 12± 9. 13	
颅通定	0. 06	10	11. 52± 8. 44 ^{**}	81. 15
地骨皮	8. 0	10	33. 16± 10. 03 [*]	45. 75
	4. 0	10	38. 62± 9. 41 ^f	37. 40
	2. 0	10	45. 81± 9. 36	25. 05

与生理盐水组比较: ^{*} $P < 0. 05$ ^{**} $P < 0. 01$ ^{***} $P < 0. 001$

2. 2 对小鼠热板致痛作用的影响^[2]:取雌性小鼠,调节恒温水浴水温 (55± 0. 5) °C,预热 10 min 后,将小鼠置热板上至出现舔后足所需时间为该鼠痛阈值。选用痛阈值 5~ 30 s 小鼠 50 只,随机分成 5 组。各鼠测 2 次痛阈,取均值作为基础痛阈,然后各组小鼠分别 ig 生理盐水、颅通定或地骨皮不同剂量,给药后 30, 60, 90, 120, 180 min 分别测小鼠痛阈值。

结果(表 2)表明,地骨皮 ig 给药后,8. 0 g /kg 组 30~ 120 min,4. 0 g /kg 组 60~ 90 min,2. 0 g /kg 组 90 min,与生理盐水组比较,可明显提高小鼠痛阈值。

表 2 地骨皮对小鼠热板致痛作用的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	剂量 (g /kg)	动物数 (只)	痛阈值 (s)					
			药前	药后 30 min	60 min	90 min	120 min	180 min
生理盐水	—	10	18. 7± 5. 2	21. 4± 6. 7	18. 2± 5. 7	17. 6± 4. 1	21. 8± 7. 2	22. 3± 5. 8
颅痛定	0. 06	10	20. 2± 4. 8	44. 2± 7. 6 [*]	49. 3± 10. 1 ^f	42. 7± 6. 6 [*]	41. 4± 5. 7 [*]	36. 7± 7. 1 ^f
地骨皮	8. 0	10	19. 1± 5. 6	36. 2± 5. 4	41. 3± 7. 2	38. 5± 5. 6	36. 3± 4. 6	26. 7± 3. 9
	4. 0	10	21. 2± 6. 1	30. 3± 4. 8	37. 6± 6. 3	34. 2± 4. 9	31. 2± 4. 8	24. 3± 4. 1
	2. 0	10	19. 4± 5. 2	24. 2± 3. 6	27. 3± 5. 2	30. 3± 3. 1 ^f	26. 1± 3. 2	26. 3± 3. 3

与生理盐水组比较: ^{*} $P < 0. 05$ ^{**} $P < 0. 01$

Address Wei Congling, Kaifeng Junior College of Medicine, Kaifeng
卫琮玲 女,1977年 9 月毕业于河南医科大学医疗系。1993 年 12 月被评为副教授职称。从事生理学教学科研工作。脊髓背表面电位研究获河南省教委科技进步 3 等奖;血小板激活因子在冠心病发病学意义研究获河南省卫生厅 2 等奖。