

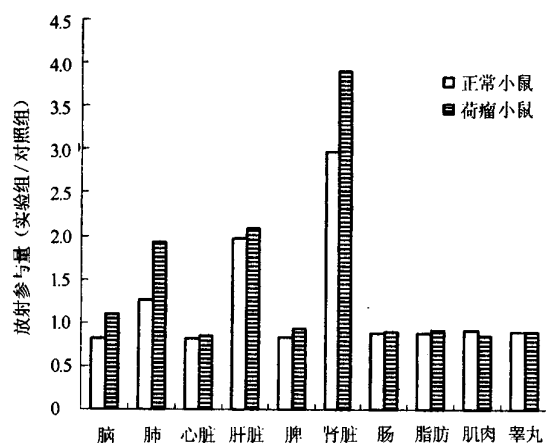


图 3 正常小鼠与荷瘤小鼠 iv ^{125}I -Age 4 h 组织分布比较

Fig. 3 Comparison of tissue distribution in normal and tumor-bearing mice after 4 h by iv ^{125}I -Age

表 3 ^{125}I -Age 在正常小鼠体内排泄 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 3 In vivo excretion of ^{125}I -Age in normal mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

排泄物	给药 2 h cpm			给药 4 h cpm		
	A	B	A/B	A	B	A/B
粪便	0.34 ± 0.03	0.56 ± 0.03	0.61	0.39 ± 0.06	0.78 ± 0.18	0.5
尿液	27.53 ± 2.19	8.98 ± 1.03	3.07^{**}	49.08 ± 1.28	10.02 ± 0.39	4.9^{**}
胆汁	0.58 ± 0.12	0.75 ± 0.09	0.77	0.78 ± 0.13	0.91 ± 0.08	0.8

与粪便或胆汁比较: $^{**}P < 0.01$

$^{**}P < 0.01$ vs dejecta or bile

References:

- [1] Shan B N, Li Q X, Liang W J. Experimental study on anti-tumor effect of *Cortex Acanthopanax Senticosu E* in vivo and in vitro [J]. *Chin J Integr Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 2004, 24(1): 55-58.
- [2] Shan B N, Si C Y, Zhang J Z. The isolation of anti-tumor component of *Acanthopanax gracilistylus* [J]. *Carcinog Teratog Mutag* (癌变·畸变·突变), 2004, 16(4): 203-207.
- [3] Shan B N, Duan J P, Zhang L H. Stimulating activity of *Acanthopanax gracilistylus* anti-tumor component on monocytes [J]. *Chin J Immunol* (中国免疫学杂志), 2003, 19: 490-493.
- [4] Ye W X, Chen Q, Xiao Y L. *Laboratory Nuclear Medical*

Technology (实验室核医学技术) [M]. Changchun: Jilin Science and Technology Publishing House, 1991.

- [5] Zhu L X, Wang Q C, Lin G F. The study of pharmacokinetics of a pure fraction from snake venom with thrombin-like enzyme activity in rabbits [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 1990, 4: 213-219.
- [6] Gunoa K A, Osman O H, Kertesz G. Distribution of ^{125}I -labelled *Biris arietaus* venom in rat [J]. *Toxicon*, 1974, 12: 565.
- [7] Hou L Q, Zhao L N, Lin Z T, et al. Studies on distribution and pharmacokinetics of fraction I isolated from *Naja naja* venom in model animals [J]. *Chin J Med Biol Tech Appl* (中国医学生物技术应用杂志), 2003, 4: 49-52.

补阳还五汤及其有效部位对大鼠脑缺血再灌注后 caspase 表达的影响

张淑萍, 梁 燕, 邓常青*

(湖南中医药大学 中西医结合学院, 湖南 长沙 410007)

摘要:目的 研究补阳还五汤及其有效部位生物碱、苷对大鼠脑缺血再灌注后脑组织 caspase-1、3、8 表达的影响。方法 采用颈内动脉线栓法建立大鼠大脑中动脉阻塞(MCAO)再灌注模型, 以逆转录-聚合酶链反应(RT-

收稿日期: 2005-12-05

基金项目: 国家自然科学基金项目(30171132); 教育部高等学校学术与技术带头人资助计划项目; 湖南省优秀博士论文作者科研项目

作者简介: 张淑萍(1980—), 女, 山东烟台人, 医学硕士, 从事中西医结合心脑血管病防治机制与方剂配伍的物质基础和原理研究。

E-mail: zsp1980sd@126.com

* 通讯作者 邓常青 E-mail: dchangq@sohu.com

PCR) 测定缺血脑组织中 caspase-1、3、8 mRNA 的表达。结果 脑缺血 2 h 再灌注 22 h 后, 模型组 caspase-1、3、8 表达较假手术组均显著增强 ($P < 0.05$)。生物碱组、苷组 caspase-1 表达显著低于模型组 ($P < 0.05$); 补阳还五汤组、生物碱组、苷组、三七总皂苷组 caspase-3 与模型组比较均显著降低 ($P < 0.05$); 生物碱组 caspase-8 表达较模型组显著降低 ($P < 0.05$)。三七总皂苷组 caspase-8 表达较假手术组显著增强 ($P < 0.05$)。结论 补阳还五汤及其有效部位通过抑制缺血后脑组织 caspase-1、3、8 的表达, 从而有可能对抗脑缺血再灌注后神经细胞凋亡, 保护缺血脑组织。

关键词: 补阳还五汤; 脑缺血再灌注; 半胱氨酰天冬氨酸蛋白酶; 逆转录聚合酶链式反应

中图分类号: R286.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)07-1041-05

Effect of Buyang Huanwu Decoction and its active fractions on caspase expression after cerebral ischemia-reperfusion in rats

ZHANG Shu-ping, LIANG Yan, DENG Chang-qing

(College of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hunan College of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of Buyang Huanwu Decoction (BHD) and two kinds of fractions extracted from BHD on expression of caspase-1, caspase-3, and caspase-8 mRNA after cerebral ischemia-reperfusion in rats. **Methods** The model of cerebral ischemia-reperfusion was induced by the middle cerebral artery occlusion (MCAO) in rats, via string ligation of arteria carotis interna. The expression of caspase-1, caspase-3, and caspase-8 mRNA in cerebral ischemic tissues was assessed by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results** The expression of caspase-1, caspase-3, and caspase-8 mRNA in cerebral tissues was significantly increased after 22 h reperfusion following 2 h cerebral ischemia in model group ($P < 0.05$). Compared with model group, the expression of caspase-1 was decreased remarkably in alkaloid group and glycoside group ($P < 0.05$). BHD, alkaloid, glycoside, and *Panax notoginseng* saponins (PNS) could reduce the expression of caspase-3 significantly ($P < 0.05$). The expression of caspase-8 in alkaloid group was decreased compared with the model group ($P < 0.05$). The expression of caspase-8 mRNA in PNS was enhanced when compared with Sham-operated group ($P < 0.05$). **Conclusion** BHD, alkaloid, and glycoside can inhibit the expression of caspase-1, caspase-3, and caspase-8 mRNA after cerebral ischemia-reperfusion injury, then antagonize the nervous cell apoptosis and protect the cerebral ischemic tissues.

Key words: Buyang Huanwu Decoction (BHD); cerebral ischemia-reperfusion; cysteine-aspartate protease (caspase); reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)

半胱氨酰天冬氨酸蛋白酶 (cysteine-aspartate protease, caspase) 是细胞凋亡程序中一类关键的同源半胱氨酸蛋白酶, 是细胞凋亡机制中特异性细胞内信号途径的关键成分。凋亡发生是一个复杂的、由 caspase 家族成员介导的蛋白酶级联反应过程, 即凋亡信号首先活化启动性 caspase, 上游活化的 caspase 进而激活下游的效应性 caspase, 然后作用于底物蛋白, 使其分解引起凋亡。脑缺血再灌注时, 多种 caspase 在神经元凋亡中起重要作用。通过使用 caspase 抑制剂, 可延长脑缺血损害的治疗时间窗^[1]。有研究表明, 补阳还五汤能够抑制局灶性脑缺血后半暗区的 caspase-3 mRNA 表达, 抑制其激发的细胞凋亡, 对脑缺血起保护作用^[2]。前期的研究表明, 补阳还五汤及其有效部位组方可防止沙土鼠脑缺血再灌注后海马 CA1 区神经元密度降低, 抑制神经元凋亡, 对脑缺血后神经元迟发性损伤具有对抗

作用^[3]。对大鼠线栓法局灶性脑缺血模型, 由补阳还五汤中提取的 4 类有效部位可缩小脑梗死体积, 减轻神经功能受损症状, 其中以生物碱和苷两类有效部位的抗缺血性脑损伤作用较强^[4]。这些研究表明补阳还五汤及其主要有效部位具有良好的抗缺血性脑损伤作用。而该方及其有效部位抗缺血性神经元损伤的作用机制尚不清楚。推测该方及其有效部位可能通过干预细胞凋亡的调控机制, 以对抗脑缺血后迟发性神经元损伤。为此, 本实验从 caspase 系统研究了该方及其主要有效部位生物碱和苷对脑缺血后细胞凋亡关键调控因子 caspase 的作用, 以阐明其对抗神经元损伤的可能机制。

1 材料

1.1 动物: SD 大鼠, 清洁级, 雌雄各半, 体重 270~320 g, 由湖南省卫生防疫站实验动物中心提供。

1.2 药物: 补阳还五汤原方由黄芪 60 g、赤芍 9 g、

川芎 6 g、当归 9 g、地龙 9 g、红花 9 g、桃仁 9 g 组成。上述药物由本院药剂科一次性购齐,按该方组成比例制备补阳还五汤原方提取液,含生药 1 g/mL。由原方提取液采用酸碱沉淀、离子交换树脂色谱等方法提取生物碱、苷,质量浓度生物碱为 0.18 g/mL,苷为 0.34 g/mL。两类有效部位分离完全,相互之间无混杂,质量分数在 70% 以上。HPLC 法测得生物碱中含川芎嗪 9.76 mg/g,苷中含黄芪甲苷 2.39 mg/g、苦杏仁苷 17.9 mg/g。使用时调质量浓度,原方为 0.645 g/mL,生物碱 20.88 mg/mL,苷 163.2 mg/mL。血栓通注射液(三七总皂苷),丽珠集团利民制药厂,批号 ZZ—5802,规格 35 g/L,用时以生理盐水配成质量浓度为 2.5 g/L。

1.3 主要试剂:Trizol 核酸提取液为 Gibco BRL 公司产品;逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)试剂盒为 TakaRa RNA PCR Kit (AMV) Ver3.0, DNA 分子量标准为 DL2000,由大连宝生物有限公司生产;琼脂糖、溴化乙锭、溴酚蓝等均为进口分装;氯仿、异丙醇和无水乙醇均为国产分析纯。

1.4 仪器:480 型 PCR 基因扩增仪(美国 PE 公司);Sigma 3K 18 高速冷冻离心机(德国);DY-CP—33A 水平电泳槽(北京六一仪器厂);DU640 核酸/蛋白分析仪(美国 Beckman Coulter);马头牌 CPS 型双极电凝器(上海医用激光仪器厂);Lab-work 3.0 图像分析软件(美国 UVP 公司)。

2 方法

2.1 动物分组、给药及模型制备:大鼠按性别、体重分组,随机分为 6 组,即假手术组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、生物碱组(生物碱 0.21 g/kg)、苷组(1.63 g/kg)、补阳还五汤组(7.25 g/kg)、三七总皂苷组(0.025 g/kg)。均为 ip 给药,给药体积为 10 mg/kg。造模前禁食 12 h,自由饮水。缺血前 5 min 第 1 次给药,然后参照 Longa 方法^[5]采用左侧颈内动脉单尼龙线栓法制备大鼠大脑中动脉阻塞(MCAO)脑缺血模型,并予以改进。即 ip 10% 水合氯醛(0.35 g/kg)麻醉,保留自主呼吸,仰卧位固定。取颈正中切口,分离暴露左侧颈总动脉、颈外动脉、颈内动脉及翼腭动脉,穿线备用。结扎翼腭动脉,在距颈总动脉分叉 1 cm 处结扎颈外动脉,并于颈外动脉结扎处远心端用电凝器灼断,使颈外动脉游离。动脉夹夹闭左颈总动脉,提起颈外动脉游离端使其与颈内动脉成一直线,于颈外动脉结扎处近心端约 0.5 cm 处剪一切口,将尼龙线(长 5 cm,直径 0.26 mm)经颈外动脉切口向颈内动脉插入至有轻

微阻力感停止(18±2 mm),固定线栓,闭阻 2 h 后拔出线栓,进行缺血后再灌注。缝合切口,并于术后 12 h 同前给药 1 次。假手术组大鼠只暴露和分离颈总动脉、颈外动脉、颈内动脉和翼腭动脉,不闭塞大脑中动脉,其余操作与模型组相同。模型成功标准:动物手术清醒后有明显对侧 Horner 征及偏瘫体征(不能完全伸展右前肢,行走时向右侧倾倒或转圈),不成功者予以剔除。各组大鼠均在再灌注 22 h 后麻醉、断头,分离缺血侧大脑,至液氮中速冻,再移入冰箱 -70 ℃ 保存。

2.2 脑组织 caspase mRNA 表达的测定

2.2.1 引物设计:由 Gene Bank 数据库中查得各目的基因的 cDNA 序列,采用软件进行设计。引物由上海生工生物工程公司合成。Caspase-1 引物:上游引物:5'-ataaatggattgctggatga-3', (64~83 bp); 下游引物:5'-agacgtgtacgagtgggtgt-3' (469~488 bp 的互补序列),扩增片段长 425 bp。Caspase-3 引物:上游引物:5'-aaggccgaaactctcatcat-3', (486~505 bp); 下游引物:5'-cactcccagtcattccttta-3' (858~877 bp 的互补序列),扩增片段长 392 bp。Caspase-8 引物:上游引物:5'-cctttctcctccctctgacc-3', (102~121 bp); 下游引物:5'-gcagcctctgaaatagcacc-3' (443~462 bp 的互补序列),扩增片段长 361 bp。 β -肌动蛋白(β -actin)引物:上游引物:5'-ttcagccttcctctctgg-3'; 下游引物:5'-ttgcgctcaggaggagcaat-3',扩增片段长 226 bp。

2.2.2 总 RNA 提取:取 -70 ℃ 冻存组织,置研钵中加液氮研碎,按 1:10 比例加入 Trizol 核酸提取液制成匀浆液,按说明提取总 RNA,测其纯度和量,提取的总 RNA A_{260}/A_{280} 在 1.7~2.0,纯度>90%。

2.2.3 逆转录(RT)反应:于 20 μ L 反应体系中,取 1 μ g 总 RNA,依次加入 $MgCl_2$ (25 mmol/L) 4 μ L, 10 $\times$ RNA PCR 缓冲液 2 μ L, dNTPs (4 种底物各 10 mmol/L) 2 μ L, RNase 抑制物 (40 U/ μ L) 0.5 μ L, AMV 逆转录酶 (5 U/ μ L) 1 μ L, Oligo dT-Adaptor (2.5 pmol/ μ L) 1 μ L, 补去 RNase 水至总体积 20 μ L。RT 条件为 45 ℃、30 min, 99 ℃、5 min, 5 ℃、5 min, 取 RT 产物置 -30 ℃ 保存。

2.2.4 聚合酶链式反应(PCR):取 RT 产物 10 μ L, 依次加入 5 $\times$ PCR 缓冲液 10 μ L, 上下游引物各 0.5 μ L (浓度皆为 50 pmol/ μ L), Tag DNA 聚合酶 0.25 μ L, 加灭菌纯水至 50 μ L, 混匀,进行 PCR 反应。PCR 反应条件为 caspase-1:先 94 ℃ 变性 4 min, 94 ℃、45 s, 57 ℃、45 s, 72 ℃、45 s, 30 个循环,

结束前 72 ℃ 延伸 10 min;caspase-3:先 94 ℃ 变性 4 min,94 ℃、45 s,56 ℃、45 s,72 ℃、45 s,30 个循环,结束前 72 ℃ 延伸 10 min;caspase-8:先 94 ℃ 变性 4 min,94 ℃、45 s,61 ℃、45 s,72 ℃、45 s,33 个循环,结束前 72 ℃ 延伸 10 min;β-肌动蛋白:先 94 ℃ 变性 4 min,94 ℃、45 s,55 ℃、45 s,72 ℃、45 s,30 个循环,结束前 72 ℃ 延伸 10 min。

2.2.5 电泳及分析:PCR 反应结束后,分别取 PCR 产物 10 μL,上样于 2% 琼脂糖凝胶(含溴化乙锭 0.5 μg/mL),0.5×TBE 缓冲液,100 V 电泳 90 min,紫外灯下观察。以凝胶成像分析系统拍照,对凝胶中的特异性条带进行扫描,用凝胶图像分析软件分析,测定其相对吸光度,计算各因子与 β-肌动蛋白的吸光度比值作为半定量指标。因 β-肌动蛋白在各组织中均匀表达,其表达不受机体状态的影响,故常作为保守的内参对照,以 β-肌动蛋白的吸光度值进行标准校正,对特异性条带进行半定量分析,来评价特异性基因的表达情况。

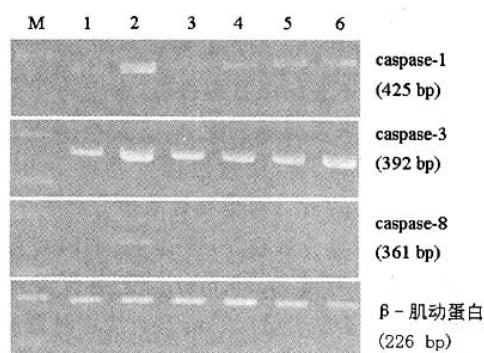
2.3 统计学方法:数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 12.0 统计软件进行统计。多组间比较用单因素方差分析,组间两两比较方差齐时用 LSD 检验,方差不齐时用 Dunnett's T3 检验。

3 结果

电泳图结果见图 1,半定量结果见表 1。模型组 caspase-1 表达较假手术组显著升高 ($P < 0.05$),补阳还五汤组 caspase-1 表达较模型组有所降低,但与假手术组和模型组比较差异无显著性差异 ($P > 0.05$)。生物碱组、苷组 caspase-1 表达较模型组显著降低 ($P < 0.05$),与假手术组比较差异无显著性 ($P > 0.05$)。三七总皂苷组 caspase-1 表达较模型组降低,但差异无显著性 ($P > 0.05$)。

模型组 caspase-3 表达较假手术组显著升高 ($P < 0.05$),补阳还五汤组、生物碱组、苷组、三七总皂苷组 caspase-3 表达较模型组均显著降低 ($P < 0.05$),与假手术组比较差异无显著性 ($P > 0.05$)。

模型组 caspase-8 表达较假手术组显著升高 ($P < 0.05$),补阳还五汤组 caspase-8 表达较模型组有所降低,但与假手术组和模型组比较无显著性差异 ($P > 0.05$)。生物碱组 caspase-8 表达较模型组显著降低 ($P < 0.05$),与假手术组比较差异无显著性 ($P > 0.05$)。苷组 caspase-8 表达与假手术组和模型组比较差异均无显著性 ($P > 0.05$),三七总皂苷组 caspase-8 表达显著高于假手术组 ($P < 0.05$),与模型组比较无显著性差异 ($P > 0.05$)。



M-Marker 1-假手术组 2-模型组 3-生物碱组

4-苷组 5-补阳还五汤组 6-三七总皂苷组

M-Marker 1-Sham group 2-model group 3-alkaloid group

4-glycoside group 5-BHD group 6-PNS group

图 1 各目的基因 RT-PCR 电泳图谱

Fig. 1 RT-PCR Electrophoregram of every gene-targeted groups

表 1 各组 caspase-1、3、8 表达的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of expression of caspase-1, 3, and 8 in every groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	caspase-1	caspase-3	caspase-8
假手术	—	0.85±0.25(n=5)	1.06±0.09(n=4)	0.25±0.30(n=4)
模型	—	1.38±0.31△(n=4)	1.32±0.16△(n=4)	0.63±0.24△(n=5)
补阳还五汤	7.25	1.10±0.27(n=5)	1.00±0.19*(n=4)	0.40±0.25(n=5)
生物碱	0.21	0.98±0.07*(n=4)	1.06±0.15*(n=4)	0.24±0.30*(n=4)
苷	1.63	1.03±0.12*(n=5)	1.10±0.10*(n=5)	0.50±0.39(n=6)
三七总皂苷	0.025	1.10±0.24(n=5)	1.06±0.25*(n=4)	0.66±0.16△(n=6)

与假手术组比较: △ $P < 0.05$; 与模型组比较: * $P < 0.05$

△ $P < 0.05$ vs Sham group; * $P < 0.05$ vs model group

4 讨论

随着对细胞凋亡机制研究的深入,目前认为 Caspase 的激活是细胞凋亡不可逆转的标志^[6]。在哺乳动物中已发现有 14 种 caspase,迄今为止,在脑组织中发现至少有 7 种 caspase,即 caspase-1、2、3、6、8、9、10,在诱导神经元凋亡过程中各自担负着不同的使命^[7]。Caspase 的激活反应类似凝血因子活化的“瀑布效应”^[8],根据 caspase 在其级联反应中的作用位置分为在上游调控其他 caspase 活化的启动 caspase、效应 caspase 和炎性 caspase。Caspase-1 为炎性 caspase,脑缺血后 24 h 明显增加。脑室内注射 caspase-1 抑制剂、caspase-1 基因“敲除”或突变,或应用白细胞介素-1 受体拮抗剂(IL-Ira)^[9]均可减少神经元凋亡,减轻缺血性脑损伤。Caspase-3 在细胞凋亡中具中心效应,处核心位置,凋亡的最后实施通过 caspase-3 激活而实现,是凋亡促进剂^[10]。Caspase-3 在正常细胞中以酶原形式存在,受凋亡刺激因素作用后激活,引起细胞凋亡。

通过脑室内注射广谱的 caspase 抑制剂及 caspase-3 抑制剂可产生对缺血性脑损伤的保护作用^[11]。Caspase-8 是凋亡实施的启动蛋白,当凋亡信号激活 caspase-8 蛋白后,使无活性的 caspase-8 前体蛋白自体水解活化,形成活性 caspase-8,激活其他 caspase,扩增死亡信号发放,从而引发致死性的蛋白分解级联反应^[12]。

本研究表明,脑缺血 2 h 再灌注 22 h 后,缺血脑组织 caspase-1、3、8 mRNA 表达均明显增强,表明缺血后,神经细胞 caspase 表达增强,细胞凋亡程序被激活。补阳还五汤原方主要是对 caspase-3 表达具有抑制作用,表明原方主要是通过抑制效应 caspase,以发挥其抗细胞凋亡作用。有效部位生物碱对 caspase-1、3、8 表达均具有抑制作用,表明生物碱可抑制 caspase 级联反应中多环节因子的表达,发挥其抑制细胞凋亡的作用。昔主要是抑制 caspase-1 和 caspase-3,表明昔主要是对炎性 caspase 和效应 caspase 表达具有抑制作用。三七总皂昔是五加科人参属植物三七的主要有效部位,大量研究发现,三七总皂昔对脑缺血再灌注损伤有明显的保护作用^[13]。在本实验中,三七总皂昔能够降低 caspase-3 的表达,表明三七总皂昔主要通过抑制凋亡的中心环节 caspase-3 的表达从而发挥保护作用。

补阳还五汤及其有效部位通过抑制脑缺血再灌注后 caspase-1、3、8 的表达,抑制神经元凋亡,从而减轻脑缺血后迟发性神经元损伤,原方和主要有效部位对 caspase 系统中不同蛋白表达的作用不同,这可能是补阳还五汤及其有效部位抗缺血性脑损伤的重要的分子机制。

References:

- [1] Schulz J B, Weller M, Matthews R T, et al. Extended therapeutic window for caspase inhibition and synergy with MK-801 in the treatment of cerebral histotoxic hypoxia [J]. *Cell Death Differ*, 1998, 5(10): 845-847.
- [2] Liao C L, Tong L, Chen Y Y. Effect of Buyang Huanwu Tang on the expression of caspase-3 mRNA in the ischemic penumbra of rats with cerebral ischemia [J]. *Chin J Clin Rehab* (中国临床康复), 2004, 8(19): 3821-3823.
- [3] Deng C Q, Wang M, Tang Y H, et al. Effects of Buyang Huanwu Decoction and its available composition combination on neuronal injury hippocampal CA1 area after cerebral ischemic reperfusion in gerbils [J]. *China J Basic Med Tradit Chin Med* (中国中医基础医学杂志), 2001, 7(11): 38-41.
- [4] Tang Y H, Deng C Q, Liu W H, et al. Effect of four kinds of active fractions of Buyang Huanwu Decoction on cerebral infarction volume in focal cerebral ischemia rats [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(2): 236-239.
- [5] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniotomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20: 84-86.
- [6] Zhang X M. The focuses in the researches of apoptosis [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 2000, 14(2): 81-85.
- [7] Song Y, Wei E Q, Chen Z. Caspase and central nervous system disease [J]. *Chin J Cell Biol* (细胞生物学杂志), 2004, 24(3): 227-230.
- [8] Nunez G, Benedict M A, Hu Y, et al. Caspase: the proteases of the apoptotic pathway [J]. *Oncogene*, 1998, 17: 3237-3245.
- [9] Hayashi Y, Jikihara I, Yagi T, et al. Immunohistochemical investigation of caspase-1 and effect of caspase-1 inhibitor in delayed neuronal death after transient cerebral ischemia [J]. *Brain Res*, 2001, 2(1-2): 113-120.
- [10] Srinivasula S M, Fernandes-Alnemri T, Zangrilli J, et al. The ced-3/interleukin 1 beta converting enzyme-like homolog Mch 6 and the laminocleaving enzyme Mch 2 alpha are substrates for the apoptotic mediator cyp32 [J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(43): 27009-27106.
- [11] Reed J C. Apoptosis-based therapies [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2002, 1(2): 111-121.
- [12] Matsushita K, Wu Y Q, Qiu J H, et al. Fas receptor and neuronal cell death after spinal cord ischemia [J]. *J Neurosci*, 2000, 20(18): 6879-6887.
- [13] He W, Zhu Z P. Effect of *Panax notoginseng* saponins on the content of IL-8 in serum after cerebral ischemia-reperfusion in rat [J]. *J Radioimmunol* (放射免疫学杂志), 2002, 15(5): 267-268.

前荷叶碱对血管紧张素 II 诱导人脐静脉内皮细胞凋亡的影响

陈爱华, 肖 华, 李志梁, 吴金家, 季爱民*

(南方医科大学珠江医院, 广东 广州 510282)

摘 要:目的 观察前荷叶碱对血管紧张素 I (Ang I) 诱导人脐静脉内皮细胞 (HUVECs) 凋亡的影响, 探讨其对 HUVECs 的保护作用机制。方法 体外培养 HUVECs 细胞系 ECV304, 以 10 $\mu\text{mol/L}$ 卡托普利或 10、1、0.1、0.01 $\mu\text{mol/L}$ 前荷叶碱作用于 HUVECs, 30 min 后再加入 Ang I 1 $\mu\text{mol/L}$, 光镜下观察细胞形态, MTT 法观察前

收稿日期: 2005-11-25

基金项目: 广东省科技计划项目 (粤科计字[2004]115 号)

作者简介: 陈爱华 (1956—), 男, 湖南祁东人, 南方医科大学珠江医院心血管内科主任医师、教授、博士、硕士生导师, 担任第一军医大学学报编委, 中华内科杂志、解放军医学杂志编审, 长期从事血管内皮系统损伤的机制及其防治研究, 已发表论文 40 余篇, 参与 3 部心血管病专著的编写。Tel: (020) 61643005 Fax: (020) 61643010 E-mail: chenaha@21cn.com

* 通讯作者 季爱民 Tel: (020) 61643555 E-mail: aiminji@163.com