

stressed endoplasmic reticulum induce C/EBP-homologous protein (CHOP/GADD 153) [J]. *Mol Cell Biol*, 1996, 16: 4273-4280.

[8] Hiebert S W, Chellappen S P, Horowitz J M, et al. The interaction of RB with E2F coincides with inhibition of the transcriptional activity of E2F [J]. *Genes Develop*, 1992, 6: 177-185.

[9] Kiyokawa H, Koff A. Roles of cyclin-dependent kinase in-

hibitors: Lessons from knockout mice [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 1998, 227: 105-120.

[10] Waga S, Hannon G L, Beach D, et al. The p21 inhibitor of cyclin-dependent kinases controls DNA replication by interaction with PCNA [J]. *Nature*, 1994, 369: 574-578.

[11] Tanner F C, Yang Z Y, Duckers E, et al. Expression of cyclin dependent kinase inhibitors in vascular disease [J]. *Circul Res*, 1998, 82: 396-403.

沙苑子黄酮对 S₁₈₀小鼠的抑瘤作用及其免疫功能的影响

张 熠, 韦翠萍, 刘春宇, 顾振纶

(苏州大学医学院 药理学教研室、苏州中药研究所, 江苏 苏州 215007)

沙苑子为豆科植物扁茎黄芪 *Astragalus complanatus* R. Br. 干燥成熟的种子, 具有温补肝肾、固精、益肝明目的功能。沙苑子黄酮 (flavonoids of *Astragali Complanali*, FAC) 是从扁茎黄芪干燥成熟种子中提取的一种有效部位。先前实验证实 FAC 具有明显的保肝和抗脂质过氧化作用^[1]。本实验探讨 FAC ig 给药后对小鼠 S₁₈₀肉瘤生长的抑制作用, 并初步观察其对荷瘤小鼠免疫功能的影响。

1 材料

1.1 药品和试剂: FAC, 质量分数 80%, 苏州中药研究所植化室提供; FT-207 (Tegafur, 替加氟) 济南制药厂生产, 批号 991204; 肉瘤 S₁₈₀由中国科学院上海药物研究所提供; MTT (Amerso 分装); ConA (刀豆素 A) Sigma 公司产品。

1.2 动物: 昆明种小鼠, 雄性, SPF 级, 18~22 g, 由苏州大学实验动物中心提供 (实验动物生产许可证号 XCYK (苏): 2002-0008, 实验动物使用许可证号: SYXK (苏) 2002-0037)。

2 实验方法

2.1 对 S₁₈₀肉瘤小鼠的抑瘤作用^[2]: 无菌条件下, 抽取小鼠腹腔内连续传代的 S₁₈₀细胞, 调整细胞浓度至 1×10¹⁰/L, 小鼠右腋下接种 0.2 mL, 接种后随机分组, 每组 10 只。接种次日 FAC 高、中、低剂量组 (300、150、70 mg/kg), 模型对照组 (NS), 阳性对照组 (FT-207, 250 mg/kg), 连续 ig 给药 10 d。停药 24 h 后处死小鼠, 剥取瘤块称质量, 计算抑瘤率。

抑瘤率 = (空白对照组瘤质量 - 给药组瘤质量) / 空白对照组瘤质量 × 100%

2.2 对免疫应答效应的影响^[3]: 在 S₁₈₀小鼠体内抑瘤试验结束后处死各组小鼠, 解剖、剥离瘤块同时, 取胸腺、脾, 分别计算胸腺指数 [胸腺指数 = 胸腺质量 (mg) / 体重 (g)] 和脾指数 [脾指数 = 脾质量 (mg) / 体重 (g)]。

2.3 对荷瘤小鼠存活期的影响^[2]: 按 2.1 方法造模、给药, 连续给药 10 d 后, 停止给药, 正常饲养, 直到自然死亡, 逐日记录荷瘤小鼠存活状况, 计算各组平均生存期和生命延长率。

2.4 对荷瘤小鼠巨噬细胞功能的影响^[4]: 在 S₁₈₀小鼠体内抑瘤试验处死小鼠前, 尾 iv 1:7 的墨汁, 分别在注射后 1 min (t₁) 和 6 min (t₂) 从眼球后静脉丛取血 20 mL, 溶于 0.1% 碳酸钠溶液 2 mL 中, 混匀, 于 680 nm 处测吸光度 (A) 值, 计算碳粒廓清指数 K。[K = (lgA₁ - lgA₂) / (t₂ - t₁)]

2.5 对荷瘤小鼠淋巴细胞转化功能的影响^[5]: 操作同前, 于第 10 天无菌取脾制备脾细胞悬液 (2×10⁶/mL), 于 96 孔板每孔加脾细胞 200 μL, 再加入 ConA 使其终质量浓度 8 μg/mL, 置 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 72 h, 每孔加 MTT (5 mg/kg) 10 μL, 继续培养 4 h, 离心, 弃上清液, 每孔加 DMSO 150 μL, 振荡 5 min, 于酶标仪上 570 nm 处测 A 值。

3 结果

3.1 对 S₁₈₀肉瘤小鼠的影响: 见表 1。FAC 对 S₁₈₀肉瘤的抑制率为 34.1%~76.5%, 且呈现剂量依赖关系, 与模型组比较, FAC 高、中剂量组抑瘤率差异显著 (P < 0.01)。

3.2 对 S₁₈₀肉瘤小鼠免疫应答效应的影响: 见表 2。与模型组比较, FAC 高、中剂量组能明显增加小鼠

表 1 FAC 对 S₁₈₀ 肉瘤小鼠的抑瘤作用 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Antitumor effect of FAC on S₁₈₀ mice

($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	瘤质量/g	抑瘤率/%
模型	—	1.32±0.51	—
FAC	75	0.87±0.28	34.1
	150	0.45±0.17**	65.9
	300	0.31±0.13**	76.5
FT-207	250	0.29±0.07**	78.0

与模型组比较: **P<0.01

**P<0.01 vs model group

表 2 FAC 对 S₁₈₀ 肉瘤小鼠胸腺指数和脾指数的影响

($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effect of FAC on thymus index and spleen

index of S₁₈₀ mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	胸腺指数/(mg·g ⁻¹)	脾指数/(mg·g ⁻¹)
模型	—	2.07±0.11	6.05±0.83
FAC	75	2.22±0.14	6.87±0.53
	150	2.98±0.07**	9.53±0.58**
	300	3.43±0.15**	11.19±0.41**
FT-207	250	2.34±0.19**	6.31±0.74

与模型组比较: **P<0.01

**P<0.01 vs model group

胸腺指数和脾指数 (P<0.01)。

3.3 对 S₁₈₀ 肉瘤小鼠存活期的影响: 见表 3。FAC 对 S₁₈₀ 肉瘤小鼠的生命延长率为 28.2%~66.9%, 且呈剂量依赖关系, 与模型组比较, FAC 高、中剂量组的平均生存期延长 10 d 左右, 差异非常显著 (P<0.01)。

表 3 FAC 对 S₁₈₀ 肉瘤小鼠存活期的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effect of FAC on life-span of S₁₈₀ mice

($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	生存期/d	生命延长率/%
模型	—	16.3±3.1	—
FAC	75	20.9±2.6	28.2
	150	26.5±2.2**	62.6
	300	27.2±2.2**	66.9
FT-207	250	14.3±1.7	-12.3

与模型组比较: **P<0.01

**P<0.01 vs model group

3.4 对 S₁₈₀ 肉瘤小鼠巨噬细胞吞噬功能和淋巴细胞转化功能的影响: 见表 4。FAC 高、中剂量可不同程度提高荷瘤小鼠碳粒廓清指数, 提示 FAC 可增强荷瘤小鼠巨噬细胞吞噬功能, 对非特异性免疫功能有增强作用; 同时 FAC 高、中剂量组可显著促进 ConA 诱导的荷瘤小鼠 T 淋巴细胞转化增殖反应 (P<0.01), 提示 FAC 对细胞免疫功能有增强作用。

4 讨论

沙苑子药理作用广泛, 具有改善血流变、解热、

表 4 FAC 对 S₁₈₀ 肉瘤小鼠免疫系统的影响

($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 4 Effect of FAC on immune system of S₁₈₀ mice

($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	K	A
正常	—	0.104 1±0.030 6	0.642±0.091
模型	—	0.052 7±0.010 4 $\Delta\Delta$	0.376±0.042 $\Delta\Delta$
FAC	75	0.062 7±0.021 6	0.408±0.121
	150	0.078 5±0.024 1*	0.497±0.057*
	300	0.097 4±0.019 6**	0.559±0.062*

与正常组比较: $\Delta\Delta$ P<0.01

与模型组比较: *P<0.05 **P<0.01

$\Delta\Delta$ P<0.01 vs normal group

*P<0.05 **P<0.01 vs model group

镇痛、抗炎、保肝、降脂等作用, 但对 FAC 的抗肿瘤作用尚未见有关报道。故本实验以 S₁₈₀ 肉瘤小鼠为模型, 研究 FAC 的抗肿瘤作用。从实验可以看出, FAC 对 S₁₈₀ 肉瘤具有明显的抑制作用, 抑瘤率 34.1%~76.5%, 且呈现剂量依赖趋势, 同时从小鼠的一般状况可以看出, 在改善存活率方面作用也非常明显, 生命延长率为 28.2%~66.9%, 与模型组比较, 平均生存期延后 10 d 左右。

肿瘤的病因、病机十分复杂。机体的免疫状态影响着肿瘤的发生、发展, 当机体的免疫功能低下或受抑制时, 不能清除突变细胞, 从而有利于肿瘤的生长。中药治疗恶性肿瘤是肿瘤治疗的一大特色, 其对肿瘤发生、发展的主要阻断机制: 一是直接抑制癌细胞的生长; 二是通过调节机体免疫功能间接抑制或杀伤细胞^[6]。为此本实验选取主要反应机体免疫功能的一些指标, 观察 FAC 的抑瘤作用与机体免疫功能的关系。实验结果表明 FAC 可以明显增强荷瘤小鼠巨噬细胞的吞噬功能, 其碳粒廓清指数明显高于模型组, 促进 ConA 诱导的荷瘤小鼠的淋巴细胞增殖转化反应指数也明显高于模型组; 同时还能增强荷瘤小鼠脾脏、胸腺指数。提示通过增加吞噬细胞的活性, 增加淋巴细胞增殖转化反应, 提高宿主的机体免疫功能, 从而达到抑瘤作用。由此可见, 提高机体的自身抗癌免疫功能是 FAC 抗肿瘤作用的一个重要机制。

References:

[1] Liu C Y, Gu Z L, Han R, et al. Protective effect of extract in seed of *Astragalus complanatus* on acute hepatic injury induced by carbon tetrachloride in mice [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(12): 1104-1106.
 [2] Wan C X, Xu H Y, Xue F, et al. Antitumor effects of a refined glycoprotein isolated from *Tricholoma matsutake* mycelium on sarcoma₁₈₀ in mice [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2003, 19(12): 1439-1440.
 [3] Li Y K. *Methodology in Pharmacological Experiment of Chi-*

nese *Materia Medica* (中药药理实验方法学) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1991.

[4] Xu S Y. *Methodology in Pharmacological Experiment* (药理实验方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1982.

[5] Zhang J T. *Methodology in Modern Pharmacological Experiment* (现代药理学实验方法) [M]. Beijing: Beijing Medical

University and Peking Union Medical College United Press, 1998.

[6] Zhou D Z, Chen W, Liu Y H, et al. The influence of the prescription of the reinforcing Qiandenriching blood for keeping the original Qi to the expression for PCNA, P53 protein in the cell lung cancer [J]. *J Xi'an Med Univ* (西安医科大学学报), 2002, 21(1): 22-23.

刺五加冻干粉针对急性缺氧和缺糖心肌细胞损伤的保护作用

刘淑杰¹, 吕文伟², 王秋静², 刘芬², 康劲松^{2*}

(1. 白求恩医科大学制药厂, 吉林 长春 130012; 2. 吉林大学基础医学院, 吉林 长春 130021)

刺五加为五加科植物刺五加 *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harm 的干燥根及茎根, 具有益气健脾、补肾安神之功效。其茎叶已制成刺五加注射液 (ASHI) 并在临床广泛应用^[1]。本实验将刺五加注射液经水提、醇沉、大孔树脂处理成冻干粉针剂, 采用在整体水平以麻醉开胸犬结扎左前降支和在细胞水平制作急性心肌梗死模型, 观察刺五加冻干粉针剂对心肌酶学指标的影响, 并与刺五加注射液进行对照, 观察在剂型转换后其疗效是否会受到影响。

1 材料与与方法

1.1 动物: 健康成年杂种犬, 体重 (17.85±2) kg, 雌雄兼用; Wistar 大鼠, 雌雄不拘, 0~3 日龄乳鼠, 由吉林大学实验动物部提供。

1.2 药品与试剂: 刺五加冻干粉针剂, 由哈尔滨中药二厂研制, 批号 990322; 刺五加注射液, 由黑龙江省完达山制药厂生产, 批号 9804290; 肌酸激酶 (CK)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、乳酸脱氢酶 (LDH)、游离脂肪酸 (FFA)、乳过氧化物酶 (LPO)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 试剂盒由中生北控生物科技股份有限公司生产。K-H 营养液, 各成分均为国产分析纯试剂, 以蒸馏水配制; 胰酶, 由上海化学试剂二厂生产; D-Hanks 液 (Na₂HPO₄ 0.9 mmol/L, NaHCO₃ 6.0 mmol/L, CaCl₂ 1.8 mmol/L, MgSO₄ 1.2 mmol/L, 乳酸钠 40 mmol/L, HEPES 20 mmol/L, NaCl 98.5 mmol/L, KCl 10.0 mmol/L, pH 6.8, 37℃); 新生小牛血清, 由长春卫生防疫站提供。

1.3 仪器: RM-6000 型多道生理记录仪, 日本光

电公司生产; HL-2 型恒速输液泵, 上海精科公司生产; WH-2 型人工呼吸机, 天津医疗器械厂生产; 6100 型二氧化碳培养箱, 日本三洋公司生产; CDS-1 型倒置显微镜, 重庆光学仪器厂生产; SW-CJ-IF 型无菌超净工作台, 苏州净化设备厂生产; CX7 型全自动生化分析仪, 美国贝克曼公司生产。

1.4 方法

1.4.1 心肌缺血模型制备: 杂种犬 30 只, 随机分为 5 组, 每组 6 只。对照组给予等体积注射用生理盐水, 阳性药组给予 ASHI 4 g/kg, 实验组分为刺五加冻干粉针剂 (ASHFI, 临用前以注射用生理盐水配成所需浓度) 2、4、8 g/kg 3 个剂量组, 各组均采用缓慢 iv 给药。将犬 iv 戊巴比妥 30 mg/kg 麻醉。背位固定, 颈部皮肤切开, 气管插管, 连接人工呼吸机。于左侧第四肋间施开胸术, 暴露心脏, 剪开心包, 做心包术, 分离冠状动脉左前降支主干中下 1/3 交界处, 穿线以备结扎, 于左侧股静脉切开, 插入聚乙烯导管连恒速输液泵, 以备给药。术毕, 稳定 15 min。结扎冠状动脉造成心肌梗死模型, 经股静脉按 3 mL/min 用恒速输液泵 iv 给药, 360 min 后, 从静脉取血, 分离血清, 用全自动生化分析仪测血清中 CK、AST、LDH 活性, 根据试剂盒方法测血清 LPO 水平及 SOD、GSH-Px 活性, 按一次提取比色法 FFA 水平。

1.4.2 缺氧、缺糖心肌细胞模型的建立及实验分组: 无菌操作取出生 3 d 内大鼠心脏的心尖, 立即放在无菌 D-Hanks 液中, 用眼科剪剪成约 1 mm³ 大小碎块, 用 D-Hanks 液洗涤, 0.25% 胰蛋白酶反复消

收稿日期: 2006-01-10

作者简介: 刘淑杰 (1964—), 女, 吉林省长春市人, 高级工程师, 主要从事药物学研究。

* 通讯作者 康劲松 Tel: (0431) 5619485 E-mail: Kangjs@jlu.edu.cn