

苦参诱导 K562 细胞分化的研究

第三军医大学临床检验教研室(重庆 630038)

司维柯* 秦建平** 蒋纪恺***

王霞文*** 魏明竞

摘要 K562 细胞属于人红白血病细胞株,是骨髓多能干细胞。以苦参作诱导分化剂,可使 K562 细胞有分化现象并向多方向分化,这为临床探索中药非杀伤性治疗白血病打下了良好的基础。

关键词 苦参 K562 细胞 诱导 细胞分化 白血病治疗

苦参属豆科植物,其根作为药用,具有清热、燥湿、利尿、祛风、杀虫等多种功能,其药理作用有抗病原体、平喘、抗心律不齐、抗过敏、抗肿瘤、升高白细胞等,故被广泛应用于临床各科^[1~4]。近年来苦参的抗肿瘤作用日益受到重视。早在 1970 年,Ryohei 等就报道了山豆根中的苦参碱在体内外均有抗鼠艾氏腹水瘤的作用,氧化苦参碱有抗 S₁₈₀ 肉瘤的作用。苦参的醇提取物对鼠肺癌也有明显抑制作用^[5]。80 年代我国李先荣等也得出同样的结论^[6]。除此之外,苦参还有治疗宫颈癌、膀胱癌、大肠癌、恶性淋巴瘤的作用^[7,8]。我们将报道苦参诱导 K562 细胞分化的研究。

1 K562 细胞分化方向与诱导剂的关系

自 Sachs 等 1978 年发现恶性肿瘤细胞可逐渐转化为较成熟的细胞以来,有关白血病诱导分化的机理和治疗研究开始受到重视^[9]。K562 细胞是 1975 年由 Lozzio 等^[10]从慢性髓性白血病急变期的病人胸水中获得并建株的。Andersson 等^[11]认为该细胞起源于骨髓未分化细胞系的未成熟细胞株,具有多向分化的潜能,在体内急变期时可向多方向分化,在体外研究中发现它分化的方向与诱导剂种类有关。如以佛波酯(TPA)作诱导剂,K562 细胞主要向巨核系分化;以氯化血红素(hemin)诱导,可向粒系分化;以六亚甲基双乙酰胺(HMBA)和丁酸钠作诱导剂均

可向粒-巨噬系统分化;人参皂甙作诱导剂主要向红系分化^[12]。

2 苦参诱导 K562 细胞分化的研究

以苦参煎液作诱导剂,经诱导后发现 K562 细胞有向红系和粒-巨噬系统分化的现象。秦建平等^[13]发现苦参在 8~12 g/L 浓度范围为有效促分化浓度,12 g/L 为最佳诱导浓度,4 g/L 浓度对 K562 细胞无诱导分化作用,大于 16 g/L 时,K562 细胞主要表现为细胞毒性作用。在含苦参 12 g/L 的 RPMI-1640 培养液中培养细胞 1~5 d,观察细胞的生长状况、计数、细胞 MTT 法的光密度值、电镜下形态、细胞中的血红蛋白和乳酸脱氢酶的含量等指标。发现加药后,有效作用时间为 2 d,与对照组相比,加药组细胞数减少,细胞增殖减弱。电镜下有类似原始、早、中和晚幼红细胞和幼稚单核细胞及幼稚粒细胞的细胞存在,而对照组细胞分化极差,无法确定其细胞类型。经测定细胞内乳酸脱氢酶和血红蛋白含量,发现前者第 1~2 天活性降低,第 3 天酶活性开始回升,提示 K562 细胞内乳酸脱氢酶活性变化与 K562 细胞分化进程相关。血红蛋白含量,对照组为 0 μg/10⁸ 细胞,加药组为 450 μg/10⁸ 细胞,证实苦参可诱导 K562 细胞沿红系分化。在连续加药及追加药的实验中,发现苦参液在 K562 细胞内有一定的累积效应。本文作者在同样的实验条

* Address: Si Weike, Department of Clinical Control, Third Military Medical College, Chongqing

** 成都军区总医院血液室

*** 重庆医科大学临床生化教研室

件下观察了 K562 细胞在加药 1~3 d 后细胞瑞氏-姬姆萨染色结果,与对照组相比较,发现加药后细胞形态发生变化,并随培养时间延长,形态变化越明显,特别是核形态变化明显。而对照组细胞基本无变化。若将这些核有变化的细胞作为分化细胞,它们占整个细胞的百分率作为分化率,则培养 1~3 d 分化率分别为 18%,26%和 58%。可见随培养时间延长,分化率增加,细胞分化加强。细胞化学染色中,加药组髓过氧化物酶(MPO)、糖原(PAS)均为阳性,并随培养时间延长,阳性程度增强,第 3 天 MPO 均为强阳性的细胞占 100%,PAS 占 33%。而对照组均为阴性。非特异性酯酶(NAE),对照组和加药组均为阴性,反映了 K562 细胞受苦参诱导后有分化现象,并有向粒系分化的证据,NAE 阴性,说明细胞化学染色上无向单核细胞分化的证据。在对 K562 细胞分化现象和机制的研究中,针对不同的分化方向,还检测了其特异的表达物质^[14],并可检查细胞染色体在细胞分化后的改变。

3 存在问题及研究方向

目前对苦参诱导 K562 细胞分化的研究尚处在初期阶段,许多问题尚需深入研究,特别需注重以下两方面:

3.1 研究对 K562 细胞起诱导分化作用的苦参有效成分。目前的实验均建立在以苦参煎液作诱导剂,因煎液中成分复杂,难以确定起诱导作用的是苦参中的单一成分,还是多种成分共同作用的结果。这种单一或多种成分到底是哪些,尚有待确定。

3.2 苦参有效成分对 K562 细胞诱导分化

机理的研究。如前所述,K562 细胞具有多向分化的潜能,向何系分化和诱导剂种类有关。苦参对 HL-60 及 K562 细胞均有诱导分化作用,说明两株细胞的调控机制可能有相似之处,但详细的分化调控机制有待进一步研究。以具有多向分化潜能的 K562 细胞作实验模型的诱导分化研究,可导出不同分化系统调控机制的差异的研究,有利于筛选不同诱导方向和机理的诱导剂,为临床诱导治疗白血病的研究提供更有价值的信息。目前对白血病的治疗主要采用化疗和骨髓移植,但疗效不十分满意。苦参为常用中药,毒副作用小,且能升高白细胞,这是其它化疗药物不具备的优点。苦参诱导 K562 细胞分化的研究为临床探索中药非杀伤性治疗白血病打下了良好的基础,今后有待更深入的研究与探讨。

参 考 文 献

- 1 刘桂荣,等. 特产研究,1993,(4):35
- 2 苗道仁,等. 新中医,1988,20(10):47
- 3 候阿丽,等. 中医药学报,1994,(3):48
- 4 胡 烈. 南京中医学院学报,1994,10(3):59
- 5 Ryohei K, et al. Chem Pharm Bull, 1970, 18(12):2555
- 6 李先荣. 中西医结合杂志,1982,2(1):42
- 7 肖诗鹰. 实用中西医结合杂志,1991,4(9):564
- 8 黄光中. 中成药研究,1979,1(2):40
- 9 王振义,等. 中华血液学杂志,1994,15(2):105
- 10 Lozzio C B, et al. Blood, 1975, 45(3):321
- 11 Andersson L C, et al. Int J Cancer, 1979, 23(2):143
- 12 姜绪荣,等. 大连医学院学报,1991,13(4):22
- 13 秦建平,等. 重庆医科大学学报,1994,19(2):150
- 14 朱元晓,等. 生物工程学报,1993,9(1):21

(1996-07-05 收稿)

1996-12-02 修回)

安徽省高校科技函授部总部中医函授面向全国招生

省教委办学许可证 0192005 号

为给广大中医爱好者开辟自学成才、自谋职业之路,以解决晋升、开业和应聘的需要,本专业继续面向全国常年招生。本部建校十年,已有丰富的教学经验和完善的师资队伍。开设十二门中西医课程,各科均由专家教授全面辅导教学。选用《全国高等中医院校函授教材》,与高等教育中医自学考试紧密配合,确保大专水平。凡初中以上文化程度者均可报名,汇款 5 元至“236000 安徽阜阳高函办公室”即寄简章。电话:0558-2318260。