

作中的一个关键。

当前从传统中药中提取有效单一成分,已越来越受到人们的关注。然而本文所观察到的是当归水煮醇沉物的免疫活性,它从另一个侧面提示了在反映中药的药理活性中,应全面认识其不同组分的综合作用的结果。

参考文献

- 1 柳钟勋,等. 中国中西医结合杂志,1992,12(6):378
- 2 周金黄,等主编. 中药免疫药理学. 北京:人民军医出版社,1994:365

- 3 周道洪,等. 中国免疫学杂志,1986,2(1):39
- 4 Kumazawa Y, et al. Immunol, 1982, 47:75
- 5 Kumazawa Y, et al. 国外医学-中医中药分册, 1986, 8(3):22
- 6 李宁丽,等. 上海免疫学杂志, 1994, 14(1):59
- 7 时玉舫,等. 上海免疫学杂志, 1997, 17(4):197
- 8 方积年,等. 药学报, 1986, 21(12):944
- 9 胡国俊,等. 中国免疫学杂志, 1995, 11(2):163

(1998-04-20 收稿)

Effects of Chinese Angelica Tuber (*Angelica sinensis*) Ethanol Sediments on Mice Spleen and Thymus Lymphocytes Proliferation *in vitro*

Xia Xueyan and Peng Renxiu (Department of Pharmacology, Hubei University of Medical Science, Wuhan 430071)

Abstract Sediment (ESA) obtained from the alcoholic precipitate of extract of tuber of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels in the preparation of Angelica injection was considered as a waste product. Its effect on lymphocyte proliferation of mice spleen and thymus was tested *in vitro* by MTT colorimetry. Results showed that at concentrations in the range of 0.16 ~ 2.50 mg/mL. ESA significantly promoted T, B lymphocyte proliferation either alone or with ConA/LPS, and can also antagonize hydroprednisone induced suppression of T lymphocyte proliferation *in vitro*.

Key words ethanol sediments from tuber of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels lymphocyte proliferation MTT colorimetry hydroprednisone

极大螺旋藻胞内多糖对人血癌细胞生长的影响

南京大学医学院 (210093) 刘宇峰* 张成武** 沈海雁*** 李恒 魏海燕

摘要 应用半固体琼脂培养法和 MTT 法研究了极大螺旋藻胞内多糖对人血癌细胞 U937 和 HL-60 的影响。实验结果显示,对体外生长的 U937 细胞有促进生长的作用,而对体外生长的 HL-60 细胞有抑制生长的作用。提示极大螺旋藻胞内多糖对人的血癌细胞的生长有明显的影。

关键词 极大螺旋藻胞内多糖 半固体琼脂培养法 MTT 法 U937 HL-60

多糖不仅是所有生物有机体的重要结构成分,而且也是一种重要的信号或信息分子的受体,参与分子识别、细胞粘着及细胞的防御机制^[1]。近年来,随着糖科学和糖技术的发展,藻类多糖与其它多糖一样,在作为医药产品方面已日益为人们所重视^[2]。钝顶螺旋藻

Spirulina platensis 多糖能够提高机体免疫功能^[3],能够增强小鼠骨髓细胞增殖能力,减轻小鼠骨髓细胞的辐射遗传损伤^[4,5],并能明显抑制体内移植性癌细胞的增殖^[6]。

极大螺旋藻 *Spirulina maxima* 来源于美国 Texas 大学藻种保藏中心,其胞内多糖

* Address: Liu Yufeng, Medical College of Nanjing University, Nanjing

刘宇峰 34 岁,1986 年南京大学生物系本科毕业,1991 年南京大学生物系研究生毕业,获硕士学位。1991 年至今任南京大学医学院讲师。专业研究方向为细胞和分子生物学及肿瘤免疫学。近年来主要从事螺旋藻蛋白及多糖对小鼠免疫功能及人肿瘤细胞生长影响的研究,已在《中国海洋药物》发表论 1 篇(嗜盐隐杆藻胞外多糖对小鼠免疫功能的影响)。

** 南京化工大学生物技术与科学系

*** 南京大学生物科学与技术系

分子量为 1.3×10^6 , 主要由葡萄糖 (67.7%)、岩藻糖 (16.8%)、葡萄糖醛酸 (15.5%) 组成, 并含 9 种氨基酸, 其糖苷键构型为 α 型。为了研究该多糖是否能够作为肿瘤抑制药物的可能性, 我们研究了极大螺旋藻胞内多糖对人血癌细胞的影响。

1 材料

极大螺旋藻胞内多糖: 南京化工大学生物技术与科学系张成武提供; RPMI1640 培养液: 美国 Gibco 公司产品; Hepes: 美国 Sigma 公司产品; 小牛血清: 杭州四季青生物材料研究所产品; 琼脂糖: 上海化学试剂采购站经销产品; MTT: 美国 Sigma 公司产品; 肿瘤细胞株 (U937、HL-60): 中科院上海细胞所提供。

2 方法

2.1 半固体琼脂培养法^[7]: 下层琼脂糖浓度为 0.5%, 含 16% RPMI 1640 (4X)、20% 小牛血清。上层琼脂糖浓度为 0.3%, 除含与下层相同浓度的 RPMI 1640 和小牛血清外, 还含有肿瘤细胞 4×10^3 /mL、不同浓度的极大螺旋藻多糖 (共设 60、15、3.8、0.96 和 0.24

nmol/L 5 个浓度组, 每组设 10 个相同样本), 对照则不加多糖。在 37℃、5%CO₂ 浓度条件下培养第 4、6、8、10 日, 计数各样本的细胞集落数 (大于 20 个细胞的细胞团为一个集落)。
2.2 MTT 法^[8]: 将肿瘤细胞悬液 1 mL 加到 24 孔培养板中 (2×10^4 /mL), 加入不同浓度的极大螺旋藻多糖 (设 60、15、3.8、0.96 和 0.24 nmol/L 5 个浓度组, 每个浓度设 6 个相同样本), 置 37℃、5%CO₂ 条件下培养至第 4、6、8、10、12 日, 从每孔取 100 μ L 细胞悬液, 加到另一 96 孔培养板中, 每孔加 25 μ L MTT (5 mg/mL), 置 37℃ 继续培养 4 h, 每孔加 100 μ L 溶解液终止反应, 置 37℃ 过夜, 第 2 日于波长 570 nm 处测 OD 值。

3 结果

3.1 对 U937 细胞集落的影响: 见表 1。第 8 日 60 和 15 nmol/L 浓度组的集落数与对照组间存在显著差异, 第 10 日则存在极显著的差异, 第 10 日 3.8 nmol/L 浓度组与对照组间也存在着极显著的差异, 其它实验组与对照组间无显著差异。

表 1 极大螺旋藻胞内多糖对 U937 细胞集落数的影响 (n=10)

多糖浓度 (nmol/L)	培养天数(d)			
	4	6	8	10
对照	9.7±0.95	9.9±1.79	7.9±1.52	5.9±1.73
0.24	9.4±2.01	8.5±1.08	8.0±1.89	6.4±1.43
0.96	9.8±1.55	9.6±1.65	8.3±2.31	7.4±1.07
3.8	10.0±1.15	10.3±1.49	7.9±1.45	8.9±2.02**
15	11.4±1.90	10.7±1.34	10.1±2.02*	10.3±2.16**
60	10.8±2.10	11.8±1.87	9.9±1.73*	9.9±2.42**

与对照组比较: *P<0.05 **P<0.01(下同)

3.2 对 U937 细胞 MTT OD 值的影响: 见表 2。60 nmol/L 浓度组在第 6、8、10、12 日与对照组间都存着极显著的差异, 15 nmol/L 浓度组在第 6、12 日与对照组间存在显著差异, 而第 8、10 日则存在极显著的差异, 3.8 nmol/L 浓度组在第 8 日与对照组间存在显著差异, 第 10 日则存在非常显著差异, 其它实验组与相应对照组之间没有差异。

表 2 与表 1 相比较, 二者的结果总的来说是一致的, 实验组 60 和 15 nmol/L 浓度组与对照组间差异极显著, 且在一时间范围内,

多糖对 U937 细胞的影响随着培养时间延长而增强。

3.3 对 HL-60 集落形成的影响, 见表 3。60、15、3.8 nmol/L 浓度组在第 4、6、8、10 日与对照组间都存在极显著的差异, 0.96 nmol/L 浓度组在第 4、6 日与对照组间存在显著差异, 而在第 8、10 日则存在极显著差异, 0.24 nmol/L 浓度组在第 10 日也与对照组间存在极显著差异。

3.4 对 HL-60 细胞 MTT OD 值的影响: 见表 4。60 nmol/L 浓度组在第 6、8、10、12 日与

对照组间存在极显著的差异,15 nmol/L 浓度组在第 6 日存在显著差异,而在第 8、10、12 日都存在极显著的差异,3.8 nmol/L 浓

度组在第 8、10、12 日都存在极显著的差异,0.96 和 0.24nmol/L 浓度组则在第 10 日分别存在极显著差异和显著差异。

表 2 极大螺旋藻胞内多糖对 U937 细胞 MTT OD 值的影响(OD×100)(n=6)

多糖浓度 (nmol/L)	培养天数(d)				
	4	6	8	10	12
对照	23.50±1.69	33.22±2.10	35.38±2.92	40.62±3.26	42.50±4.77
0.24	20.88±1.64	29.10±1.60	30.13±2.70	39.78±3.78	48.38±5.63
0.96	22.75±3.69	29.25±1.58	38.25±3.77	44.27±3.28	47.13±4.17
3.8	24.75±2.92	34.00±5.13	42.38±3.60*	53.13±5.10**	50.38±6.27
15	19.38±1.66	39.16±3.16*	45.88±3.36**	65.38±5.13**	51.75±5.47*
60	18.63±1.16	42.62±3.63**	52.63±4.67**	92.75±7.23**	59.38±5.20**

表 3 极大螺旋藻胞内多糖对 HL-60 细胞集落形成的影响(n=10)

多糖浓度 (nmol/L)	培养天数(d)			
	4	6	8	10
对照	5.7±1.06	6.4±1.51	7.7±1.16	9.6±2.01
0.24	5.4±0.84	5.8±0.92	7.0±0.94	7.5±1.65**
0.96	4.6±1.07*	5.3±0.82*	5.5±0.97**	6.4±1.17**
3.8	4.6±1.26**	4.9±1.10**	4.2±1.23**	5.6±0.97**
15	4.0±0.94**	3.8±1.14**	4.5±1.08**	4.0±0.82**
60	2.1±0.88**	1.8±0.79**	2.2±0.79**	1.5±0.53**

表 4 极大螺旋藻胞内多糖对 HL-60 细胞 MTT OD 值的影响(OD×100)(n=6)

多糖浓度 (nmol/L)	培养天数(d)				
	4	6	8	10	12
对照	20.25±1.96	92.75±4.15	132.25±2.49	107.00±3.94	57.03±1.71
0.24	20.50±1.91	93.50±2.60	134.85±2.17	97.25±5.58*	58.33±5.22
0.96	20.00±2.45	92.75±3.11	127.25±4.44	86.50±3.23**	56.25±2.17
3.8	21.75±3.40	88.13±1.23	125.75±2.49**	86.00±4.53**	52.04±1.22**
15	21.25±2.63	86.73±1.79*	121.50±3.20**	78.75±4.97**	51.03±2.01**
60	18.75±3.77	80.76±1.10**	108.43±2.51**	85.24±3.77**	50.51±4.50**

表 4 与表 3 相比,该多糖对 HL-60 的影响总的来说也是一致的,即 60 和 15 nmol/L 浓度组影响十分明显,在一定培养时间内,这种影响随着时间的延长而增强。

4 讨论

多糖具有广泛的生物学活性^[9],将多糖作为抗肿瘤药物,可以克服肿瘤病人化疗和放疗过程中在杀死肿瘤细胞的同时造成的对机体正常细胞的损伤。尤其多糖与一些抗癌药如 5-FU、环磷酰胺等合用,可恢复由化疗所导致的免疫功能低下,增强抗肿瘤的作^[10]。加上多糖的其它特征,如可作免疫调节剂,毒副作用少,来源广等^[9],多糖在肿瘤治疗上具较广的应用前景^[10]。本文运用半固体琼脂培养法和 MTT 法研究了极大螺旋藻多糖对血癌细胞 U937 和 HL-60 的影响,该多糖对 U937 细胞的生长有明显促进作用,60 和 15 nmol/L 浓度组的作用尤其明显,从表 1、2 可以看出,该多糖对 U937 的促进作

用具时效性,第 10 日作用最明显。

极大螺旋藻多糖对 HL-60 细胞的生长具有明显的抑制作用。从表 3、4 可以看出,该多糖对 HL-60 的抑制也具有浓度效应和时间效应,60 和 15 nmol/L 浓度组的抑制作用非常明显。另外从时间上来看,该多糖对 HL-60 细胞的抑制作用在第 10 日前随培养时间延长而增强,至第 10 日这种作用达到最强,随后这种抑制作用逐渐减弱。

至于极大螺旋藻胞内多糖促进 U937 细胞生长及抑制 HL-60 生长的机制,目前还不十分清楚。有文献报道,多糖的抗肿瘤作用与其诱导大分子合成有关,尤其与诱生细胞因子有密切的关系^[9],多糖抑制癌细胞增殖的分子机制主要是通过抑制 DNA 的合成起作用的^[6]。螺旋藻多糖因不能损伤癌细胞的复制模板而不能直接杀伤癌细胞,其对移植肿瘤的抑制机制主要属于代谢性抑制,随多糖的除去,肿瘤 DNA 合成速率会逐渐恢复^[7]。

极大螺旋藻多糖对 HL-60 的抑制具有时效性,结果与报道相一致。极大螺旋藻具体通过何种机制来抑制 HL-60 细胞生长而促进 U937 细胞的生长,还有待于进一步研究。

参考文献

- 1 王克夷. 生命的化学,1994,14(5):4
- 2 王维通. 生物工程进展,1993,13(6):30
- 3 刘力生,等. 海洋科学,1991,6:44

- 4 庞启深,等. 遗传学报,1988,15(5):374
- 5 Pang Q H, et al. Toxicology Letters,1989,48:165
- 6 刘力生,等. 海洋科学,1991,5:33
- 7 方福德,等. 现代医学实验技巧全书. 北京:北医大、协和医科大联合出版,1995:446
- 8 Morten B H, et al. J Immunol methods,1989,119:302
- 9 周世文,等. 中国生化药物杂志,1994,15(2):143
- 10 田庚元,等. 化学进展,1994,6(2):1114

(1998-02-03 收稿)

Effects of Intracellular Polysaccharide from *Spirulina maxima* on the Growth of the Human Leukemia Cells

Liu Yufeng, Zhang Chengwu, Shen Haiyan, et al. (Medical College of Nanjing University, Nanjing 210093)

Abstract The effects of polysaccharides from *Spirulina maxima* on the growth of human leukemia cells were studied by semi-solid agar culture and MTT staining. The results showed that the polysaccharides could significantly promote the growth of U937 cells and retard the growth of HL-60 cells, especially at concentrations of 60 and 15 nmol/L, which suggested that the polysaccharides from *Spirulina maxima* could obviously affect the growth of human leukemia cells.

Key words polysaccharides from *Spirulina maxima* semi-solid agar culture MTT staining human leukemia HL-60 and U937

肉苁蓉总苷对大鼠心肌缺血的保护作用

新疆医科大学基础部药理教研室(乌鲁木齐 830054) 毛新民* 王晓雯 李琳琳 王雪飞

摘要 采用结扎冠状动脉造成大鼠心肌缺血模型,研究了肉苁蓉总苷(GC)对缺血心肌的保护作用。结扎冠状动脉后,心肌中 SOD、CPK 活性降低,MDA 含量升高,心电图表现为 S-T 段升高,大鼠静脉给予 GC,5 min 后再结扎冠脉,结果 GC 能明显改善缺血心电图,减小心肌梗死面积,提高心肌组织中的 CPK 活力,但对 SOD 和 MDA 无显著影响,提示 GC 具有保护缺血心肌作用。

关键词 肉苁蓉总苷 结扎冠脉 心肌缺血

肉苁蓉又名大芸,是一传统中药,具有补中益气、补肾益精等功效。据文献报道肉苁蓉可增强机体免疫力^[1]、延缓衰老^[2]等作用;李巧茹^[3]等发现其粗制剂可增加小鼠红细胞 SOD 活性,降低心肌脂褐质含量。肉苁蓉总苷(glycosides of cistanche, GC)对异丙肾上腺素诱发的小鼠急性心肌缺血有保护作用^[4],并具有抗脂质过氧化和抗辐射作用^[5]。

本文旨在研究 GC 对结扎大鼠冠脉所致心肌缺血的影响。

1 材料

1.1 药品与试剂:肉苁蓉总苷由新疆医学院药学系植物化学室按日本文献(公开特许公报(A)昭 63-198627)方法,从北疆产盐生肉苁蓉中提得,主要成分是苯乙醇苷类。三氯甲烷为分析纯,邻苯三酚、硫化巴比妥酸。复方

* Address: Mao Xinmin, Department of Pharmacology, Xinjinan University of Medical Sciences, Wulumuqi

毛新民 男,37岁,1984年获医学学士学位,1988年获药理学硕士学位。现为新疆医科大学药理室副主任、副教授,硕士生导师。曾于1994年赴法国留学一年,从事《寻找并鉴别新的微管蛋白》的研究工作。现主要从事心血管药理和中药民族药的研究,1993年获新疆维吾尔自治区科技进步二等奖,1996年获国家级成果奖,并于1996年和1998年连续两届荣获新疆医科大学优秀科技工作者称号。