

天给药 2 次,连续 9 d,第 9 天剪尾,取血推片,瑞氏染色,油镜下计数 100 个淋巴细胞中淋巴母细胞及过渡态细胞数,计算它们分别占的百分率,结果见表 4。肝得宁片大、中剂量组可使小鼠对 PHA 刺激的转化反应增强,淋巴母细胞百分率与对照组比有显著提高,说明肝得宁片能提高淋巴细胞的转化程度,提高 T 细胞免疫和细胞免疫功能。

表 4 肝得宁片对小鼠淋巴细胞转化反应的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	动物数 (只)	淋巴母细胞 (%)	过渡态细胞 (%)
对照组	-	10	15.9 ± 7.8	28.1 ± 8.2
护肝片	0.8	10	25.4 ± 8.5*	34.2 ± 8.3
肝得宁	8	10	26.3 ± 8.0**	35.7 ± 7.6*
	4	10	23.1 ± 6.9*	32.9 ± 8.0
	2	10	22.0 ± 5.2	33.3 ± 6.4
左旋咪唑	0.04	10	31.7 ± 6.9**	36.3 ± 7.9*

与模型对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

3 讨论

乙型肝炎的临床表现与机体免疫功能状态密切相关。乙肝易导致慢性迁延性过程,一个重要的原因是机体免疫功能不足。祖国医学在肝炎的中药治疗过程中,充分发挥其保肝降酶、抗病毒作用的同时,非常注意提高机体的抗病能力,减轻致病因素对机体的损伤。

本研究采用不同的免疫功能低下动物模型来评价肝得宁片对免疫功能的影响,旨在通过胃肠道吸

收后观察其对免疫系统的作用,了解肝得宁片对乙型肝炎的疗效与其增强免疫功能的相互关系,从而探讨肝得宁片在治疗乙型肝炎中的免疫药理效应。试验结果表明,肝得宁片可使 BCG+ LPS 诱导升高的小鼠血清转氨酶明显降低,表明肝得宁对小鼠免疫性肝损伤有明显的保护作用。在碳粒廓清法实验中,肝得宁片可提高廓清率 K 值,提高小鼠单核吞噬细胞的吞噬指数和吞噬活性,说明肝得宁片对网状内皮系统吞噬功能具有明显的激活、增强作用。提示肝得宁片对小鼠非特异性免疫功能具有增强作用。并且,肝得宁片可明显改善环磷酸胺所致的小鼠血清溶血素含量降低,提高小鼠半数溶血素含量。可使小鼠对 PHA 刺激的转化反应增强,提高淋巴细胞的转化率。提示肝得宁片亦可提高小鼠特异性体液免疫和细胞免疫功能。

本实验通过观察肝得宁片对多项免疫指标的影响,证明肝得宁片可增强小鼠的体液免疫和细胞免疫,提高机体免疫机能,并呈一定的剂量依赖关系,提示肝得宁片具有较好的免疫功能增强作用。

参考文献:

- [1] 王明宇,刘 强,车庆明,等. 灵芝三萜类对 3 种小鼠肝损伤模型的影响[J]. 药学报, 2000, 35(5): 326-328.
- [2] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991.
- [3] 陈 奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993.

百草降糖片降血糖作用机制研究

茅彩萍,徐乃玉,顾振纶

(苏州大学医学院 药学系药理教研室、苏州中药研究所,江苏 苏州 215007)

摘要: 目的 探讨百草降糖片的降血糖作用机制。方法 观察了百草降糖片对正常小鼠血糖、血清胰岛素、胰高血糖素、肝糖原、肌糖原的影响,并且观察了百草降糖片对糖尿病大鼠的血清胰岛素、C 肽、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化脂质(LPO)的影响。结果 百草降糖片在降糖的同时能刺激胰岛素的分泌,降低胰高血糖素的含量,而且能增加肝糖原、肌糖原的含量;对四氧嘧啶糖尿病大鼠在降糖的同时也能增加胰岛素、C 肽水平,而且能显著增加血清 SOD 的活性,降低 LPO 含量。结论 百草降糖片的降血糖作用可能是既通过影响糖代谢,又通过改善胰岛功能,促进胰岛素分泌来实现的。

关键词: 百草降糖片;作用机制;血糖

中图分类号: R286.72

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2002)02-0149-03

Studies on hypoglycemic mechanism of BAICAO JIANGTANG TABLET*

MAO Cai-ping, XU Nai-yu, GU Zhen-lun

(Department of Pharmacy, Medical College of Suzhou University, Suzhou Institute of TCM, Suzhou Jiangsu 215007, China)

收稿日期: 2001-08-11

基金项目: 江苏中医药管理局资助项目, 编号 9948

作者简介: 茅彩萍(1968-),女,江苏苏州人,现苏州大学攻读心血管内科学博士学位,讲师。研究方向: 中药药理学及生药学。主持省级课题 2 项,发表科研论文 10 篇。Tel: 0512-5125270 E-mail: szys@public.sz.js.cn.

Key words: BAICAO JIANGTANG TABLET; hypoglycemic mechanism; serum glucose

* BAICAO JIANGTANG TABLET is a Chinese herbal preparation with the function of hypoglycemia.

前文^[1]报道了百草降糖片的降血糖作用,为进一步探讨其作用机制,本研究以正常小鼠为模型观察了百草降糖片的作用环节,并且以糖尿病大鼠为模型,观察了百草降糖片对糖尿病大鼠的血清胰岛素、C 肽、LPO 的含量和 SOD 活性的影响。

1 材料

1.1 动物:昆明种小鼠,雌雄兼有,分笼饲养,体重为 18~22 g;Wistar 大鼠,雄性,体重 180~230 g,均由苏州大学医学院实验动物中心提供。

1.2 药物:百草降糖片,苏州中药研究所自行研制,由黄芪、黄连、魔芋及丹参等配伍组成的复方中药制剂,药材购于苏州药材公司,实验室制成每 1 mL 药液含 1 g 药材的水煎液。金芪降糖片为天津市中药制药厂产品;葡萄糖氧化酶试剂盒为卫生部上海生物制品研究所产品;胰岛素放射免疫药盒为中国原子能科学研究所产品;SOD 试剂盒为南京聚力生物工程研究所产品;LPO 试剂盒为四川省卫生管理干

部学院医学科技服务部产品;四氧嘧啶为 Sigma 公司产品;其它试剂均为国产分析纯。

1.3 仪器:SN-682 型放射免疫 γ 计数器为上海核福光电仪器有限公司制造。

2 实验方法与结果

2.1 百草降糖片对正常小鼠血糖、血清胰岛素、胰高血糖素、肝糖原、肌糖原的影响:正常小鼠 50 只,随机均分为对照组,金芪降糖片组 (1.80 g/kg),百草降糖片 0.75, 1.50, 3.00 g/kg 3 个剂量组,每天 ig 1 次,连续 14 d,末次给药后 2 h,眼眶静脉取血用葡萄糖氧化酶法^[2]测血糖、用放射免疫法按试剂盒说明书测定血清胰岛素、胰高血糖素,并取肝脏、膈肌用改良的蒽酮法^[3]测定糖原含量。结果:百草降糖片 1.5, 3.00 g/kg 两个剂量组能显著降低正常小鼠血糖,增加肝糖原和减少胰高血糖素的含量,促进胰岛素的分泌(表 1)。

2.2 百草降糖片对四氧嘧啶糖尿病大鼠胰岛素、C

表 1 百草降糖片对正常小鼠血糖、血清胰岛素、胰高血糖素、肝糖原、肌糖原的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	血糖 (mmol/L)	胰岛素 (mU/mL)	胰高血糖素 (pg/mL)	肝糖原 (mg/g 肝重)	肌糖原 (mg/g 膈肌)
对照	-	7.52 ± 1.31	23.72 ± 4.62	350.72 ± 53.28	7.32 ± 0.72	1.46 ± 1.04
金芪降糖片	1.80	6.41 ± 0.82*	27.35 ± 2.81*	295.15 ± 58.31*	8.23 ± 0.64*	2.14 ± 0.73
百草降糖片	0.75	7.08 ± 1.09	23.92 ± 3.14	301.54 ± 62.72	7.94 ± 0.59	1.45 ± 1.27
	1.50	6.34 ± 1.17*	24.89 ± 2.37	286.52 ± 71.31*	8.52 ± 0.89*	1.62 ± 0.89
	3.00	6.03 ± 0.87*	28.01 ± 4.25*	215.01 ± 57.24*	8.79 ± 0.73*	1.98 ± 1.17

与对照组比较: * $P < 0.05$

肽、LPO 的含量和 SOD 活性的影响:Wistar 大鼠,尾 iv 四氧嘧啶 65 mg/kg, 72 h 后眼眶取血测空腹血糖,选取血糖值 > 13.88 mmol/L 大鼠 27 只用于实验,随机分成 4 组(组间平均血糖值 < 0.62 mmol/L),分别设糖尿病模型组,金芪降糖片组 (1.80 g/kg),百草降糖片 1.50, 3.00 g/kg 组,另取 10 只相同重量的正常雄性 Wistar 大鼠为生理盐水对照组。所有动物每日 1 次 ig 1 mL/100 g 相应药物,连续 4 周。末次给药后 2 h,麻醉,腹主动脉取血

测血糖、用放射免疫法测定血清胰岛素、C 肽的含量,用黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 活性^[4],用硫代巴比妥酸比色法^[5]测定 LPO 含量。结果与模型组相比,百草降糖片能显著降低糖尿病大鼠的血糖,升高 SOD 活性,降低 LPO 的含量,并且大剂量组能明显促进胰岛素分泌和增加 C 肽的含量(表 2)。

3 讨论

糖尿病是胰岛功能受损,胰岛素分泌不足而引起的代谢紊乱的一种内分泌疾病,一般认为降血糖

表 2 百草降糖片对糖尿病大鼠血糖、胰岛素、C 肽、LPO 的含量和 SOD 活性的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	动物数 (只)	血糖 (mmol/L)	胰岛素 (mU/mL)	C 肽 (ng/mL)	SOD (nU/mL)	LPO (mmol/mL)
对照	-	10	5.59 ± 0.56	9.54 ± 0.58	1.23 ± 0.37	145.21 ± 2.82	0.92 ± 0.19
模型	-	8	19.29 ± 2.02	4.83 ± 0.42	0.79 ± 0.48	83.14 ± 3.52	1.78 ± 0.31
金芪降糖片	1.80	6	14.12 ± 1.46*	5.31 ± 0.47*	1.05 ± 0.32*	103.24 ± 2.97	1.19 ± 0.29**
百草降糖片	1.50	7	13.87 ± 1.34*	5.27 ± 0.62	0.92 ± 0.41	119.74 ± 4.28*	1.09 ± 0.15**
	3.00	6	11.20 ± 1.31**	5.94 ± 0.51*	1.10 ± 0.29*	127.49 ± 3.86**	0.89 ± 0.32**

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

的作用机制主要涉及两个方面^[6], 一是促进胰岛素的分泌和释放或是抑制胰高血糖素的分泌; 二是影响胰岛素受体后代谢的某些环节, 主要是抑制肝脏的糖异生作用, 其目的均是降低并控制血糖。本研究从胰岛素水平、C 肽、胰岛素受体后效应探讨了百草降糖片降低血糖的作用机制。

四氧嘧啶是一种特异性的 β 细胞毒剂, 能选择性地破坏胰岛 β 细胞, 引起实验性糖尿病^[7]。结果显示百草降糖片对四氧嘧啶所致的血糖升高有明显的抑制作用, 这表明百草降糖片可减弱四氧嘧啶对胰岛 β 细胞的损伤或改善受损伤的 β 细胞的功能。

胰高血糖素能促进糖异生作用而使肝糖原输出增多, 百草降糖片能对抗这种作用。百草降糖片能增加肝糖原、肌糖原的含量, 另外降糖的同时, 也能促进正常小鼠和糖尿病大鼠胰岛素的分泌和增加 C 肽的含量。由此可说明百草降糖片降血糖作用机制可能是一方面通过防止葡萄糖在肠道吸收, 另一方面通过改善胰岛功能, 促进胰岛素分泌来降低血糖的。

糖尿病对机体氧化应急增加, 自由基及其产物的产生和清除障碍与糖尿病, 尤其是大血管、微血管、神经并发症的发病有关, 受自由基的作用, 体内生物膜中的多价不饱和脂肪酸发生过氧化反应, 生成 LPO, 糖尿病患者中 LPO 明显增高, 测定 LPO 含量可反映机体脂质过氧化的速率和强度^[8]。SOD 是机体清除氧自由基的一种重要酶, 其活力的高低

与衰老、肿瘤及血液、心血管、内分泌系统等疾病有着十分密切的关系, 也可反映机体清除自由基能力的高低。已有较多资料表明, 糖尿病模型及临床型、型糖尿病, 均存在着氧自由基代谢紊乱, SOD 活性降低, LPO 增高^[9]。本实验结果表明, 百草降糖片能显著升高 SOD 水平, 降低 LPO 含量, 从而说明百草降糖片具有明显的抗氧化作用和清除氧自由基的能力, 故百草降糖片对糖尿病并发症的发生也可起到一定的预防和治疗作用。

参考文献:

- [1] 茅彩萍, 徐乃玉, 顾振纶. 百草降糖片降血糖作用的实验研究[J]. 中草药, 2001, 32(12): 1111-1113.
- [2] 周序开. 葡萄糖氧化酶法测定血糖含量[J]. 中华医学检验杂志, 1982, 5: 56.
- [3] 尹义存, 邹大进, 鲁瑾. 水飞蓟宾对高脂饮食大鼠胰岛素敏感性的影响[J]. 第二军医大学学报, 1999, 20(4): 231-233.
- [4] 袁勤生, 陈浩, 周刚宏, 等. 超氧化物歧化酶测活方法的比较[J]. 中国药理学杂志, 1994, 29(1): 679-681.
- [5] 向荣, 王鼎年. 过氧化脂质硫代巴比妥酸分光光度法的改进[J]. 生物化学与生物物理进展, 1990, 17(3): 241-242.
- [6] Groop L, Groop P H, Stenman S, et al. Comparison of pharmacokinetics, metabolic effects and mechanisms of action glyburide and glipizide during Long-term treatment[J]. Diabetes Care, 1987, 10: 671-678.
- [7] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 1991.
- [8] 金晖, 唐尧. 糖尿病中的氧化与抗氧化损伤[J]. 医学综述, 1996, 2(2): 49-51.
- [9] 田浩明, 梁慈忠, 张翔迅. 糖尿病病人红细胞超氧化物歧化酶和血浆过氧化脂质的变化[J]. 中华内分泌代谢杂志, 1990, 6: 146-147.

蟾蜍灵诱导白血病 HL-60 细胞分化及相关基因表达

徐瑞成¹, 陈小义¹, 陈莉¹, 呼文亮¹, 钱进²

(1. 武警医学院, 天津 300162; 2. 天津药物研究院, 天津 300193)

摘要:目的 研究中药蟾酥中蟾毒成分蟾蜍灵 (bufalin) 的抗癌机制。方法 以早幼粒白血病 HL-60 细胞为靶细胞, 应用电镜技术观察 bufalin 诱导的细胞分化, 免疫组化方法检测增殖细胞核抗原 (PCNA) 和细胞周期素依赖性蛋白激酶抑制因子 p21^{WAF1} 的表达。结果 0.001 $\mu\text{mol/L}$ bufalin 作用 HL-60 细胞, 细胞向粒细胞方向分化, p21^{WAF1} 表达显著升高, 而 PCNA 表达显著下降, 二者呈显著负相关 ($P < 0.01$)。结论 bufalin 诱导 HL-60 细胞分化, 与其上调 p21^{WAF1} 的表达、下调 PCNA 表达有关。

关键词: 蟾蜍灵; HL-60 细胞; 细胞分化; p21^{WAF1}; 增殖细胞核抗原; 基因表达

中图分类号: R286.91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2002)02-0151-03