

胞发生癌变时,胆固醇与磷脂的克分子数比值增加,膜流动性降低,如肝癌细胞。同时,也有人认为晚期和老年肿瘤患者机体的免疫反应性降低,可能与细胞膜中胆固醇含量的改变有关。Roozmond等也发现,效应细胞或靶细胞膜流动性的改变,都会抑制NK细胞介导的细胞毒作用。因此细胞膜中胆固醇含量的改变而引起细胞膜流动性的改变,进而改变正常细胞的功能及机体免疫力,从而促发细胞癌变。本实验表明海藻多糖可以使肿瘤细胞膜流动性恢复正常,进而恢复其正常细胞功能和机体免疫力而达到抗肿瘤作用。海藻多糖恢复细胞膜流动性的作用很可能与海藻多糖中的有效成分对胆固醇的改变有

关。这有待于进一步的工作来证实。

参考文献:

- [1] 丁源,江涛. 海洋药物在祖国医学中的地位和作用[J]. 生物化学与生物物理进展, 1981, 6: 32.
- [2] Yamonoto M, Hawkins W. Drugs from the sea[J]. Marine Natural Products, 1984, 8(5): 402-421.
- [3] Manyamall H. A brief account of the chemical and pharmacological studies of marine alarine alage[J]. 海洋药物, 1983, 3(2): 68-71.
- [4] 季宇彬,张秀娟,袁淑珍,等. 5-Fu 海藻多糖、黄芪多糖复方抗癌制剂抗肿瘤药理作用的研究[J]. 黑龙江商学院学报, 1999, (2): 1-2.
- [5] 林克椿,聂松青,薄惠卿. 用荧光探针 DPH 研究腹水癌细胞膜脂流动性[J]. 生物化学与生物物理进展, 1981, 6: 32.

当归醇沉物及其中性组份体外对巨噬细胞分泌 $\text{TNF-}\alpha$ 和 IL-1 的影响

奚瑾磊,彭仁琇,王智勇*

(武汉大学医学院 药理教研室,湖北 武汉 430071)

摘要: 目的 观察当归醇沉物 (ESA) 及其中性组分 (ESA-1) 体外对小鼠腹腔巨噬细胞分泌 $\text{TNF-}\alpha$ 、 IL-1 的影响。方法 L929细胞株细胞毒法测 $\text{TNF-}\alpha$; L929细胞增殖法测 IL-1 。结果 ESA、ESA-1与小鼠腹腔巨噬细胞 (MP) 共同培养可显著增强其 $\text{TNF-}\alpha$ 、 IL-1 的分泌。在 $5\sim 20\mu\text{g/mL}$ 浓度范围, ESA 的这种作用呈剂量依赖性; ESA-1 虽有明显的作用,但未表现出剂量依赖。结论 当归醇沉物及其中性组分体外可增强小鼠腹腔巨噬细胞分泌 $\text{TNF-}\alpha$ 、 IL-1 。

关键词: 当归醇沉物;巨噬细胞; $\text{TNF-}\alpha$; IL-1

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)05-0437-03

Effects of ethanol sediments from tuber of *Angelica sinensis* and its litmusless component on secreting $\text{TNF-}\alpha$ and IL-1 of macrophages *in vitro*

XI Jin-lei, PENG Ren-xiu, WANG Zhi-yong

(Department of Pharmacology, Medical College of Wuhan University, Wuhan Hubei 430071, China)

Abstract **Object** To investigate the effects of ethanol sediments obtained from the tuber of *Angelica sinensis* (Oliv). Diels (ESA) and its litmusless component (ESA-1) on the secretion of $\text{TNF-}\alpha$ and IL-1 by mice peritoneal macrophages *in vitro*. **Methods** L929 cell line cytotoxicity was used for the assay of $\text{TNF-}\alpha$. The proliferation of L929 cell line was used for the assay of IL-1 . **Results** The secretion of $\text{TNF-}\alpha$ and IL-1 by mice peritoneal macrophages which were co-cultured with ESA or ESA-1 *in vitro* can be significantly promoted. At the concentrations in range of $5\sim 20\mu\text{g/mL}$, there is a dose-dependence in the action of ESA, while there is not the similar effect of ESA-1, even though it showed the marked effect. **Conclusion** ESA and ESA-1 can enhance the secreting $\text{TNF-}\alpha$ and IL-1 of mice peritoneal macrophages *in vitro*.

Key words ethanol sediments from the tuber of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels (ESA); macrophages; $\text{TNF-}\alpha$; IL-1

* 收稿日期: 2001-09-04

作者简介: 奚瑾磊 (1975-), 男, 湖北浠水县人, 助教, 生化药理专业硕士, 现工作于武汉科技大学医学院药理教研室, 研究方向为生化药理、中药药理。Tel (027) 86875504 E-mail frank922@yeah.net

当归醇沉物 [ethanol sediments from tuber of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels, ESA 是临床医院制剂当归注射液制备过程中水煮醇沉后废弃的部分。我们在研究中发现 ESA 具有促进淋巴细胞增殖的效应^[1],对卡介苗加脂多糖所致小鼠免疫性肝损伤有明显的保护作用^[2]。与此同时,我们亦曾观察到将 ESA 继续分离得到的中性组分 (ESA-I) 可以明显增强小鼠单核吞噬细胞功能。本研究通过体外试验来进一步观察了 ESA ESA-I 对细胞因子 TNF-α 和 IL-1 分泌的影响,以求更全面地认识 ESA 的免疫作用。

1 材料

1.1 药品与试剂: 当归醇沉物 (ESA) 为易溶于水的深棕色粉末,含糖量为 65.5%,主要含 D-半乳糖和 D-阿拉伯糖;当归醇沉物中性组分 (ESA-I) 为易溶于水的棕灰色粉末,含糖量为 72.14%,主要含 D-阿拉伯糖和 α-葡萄糖醛酸,本实验室制备^[1]。MTT 放线菌素-D 脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 为 Sigma 产品。RPMI-1640 培养基购自 Gibco 公司。

1.2 L929 细胞株: 购自武汉大学生物标本典藏中心。

1.3 动物: 昆明种雄性小鼠,8 周龄,体重 18~ 22 g,武汉大学医学实验动物中心提供。

1.4 仪器: CO₂ 培养箱 (美国 Forma 公司); DG-3022A 型酶联比色仪 (国营华东电子管厂)。

2 方法和结果

小鼠摘眼球放血,颈椎脱臼处死 ip RPMI-1640,无菌条件下取腹腔巨噬细胞 (MΦ) 悬液,1 000 r/min 离心 10 min 后收集细胞, RPMI-1640 调细胞浓度为 2×10⁶/mL,加入 24 孔板中,每孔 1 mL 5% CO₂ 37℃ 下孵育 2 h 后,洗掉非贴壁细胞,加入 RPMI-1640 完全培养基及 ESA ESA-I (终浓度均为 5, 10, 20 μg/mL) 各 0.5 mL,继续孵育。于 16, 48 h 吸取上清液, -80℃ 保存,分别供检测 TNF-α、IL-1 用。TNF-α 测定用 L929 细胞株细胞毒法^[3,4],检测结果以 A₅₇₀ 值表示,吸光度值越小,表明待测上清液中 TNF-α 含量越高,对 L929 细胞的杀伤作用越强。结果见表 1 IL-1 测定用 L929 细胞增殖法^[4],检测结果亦以 A₅₇₀ 值表示,吸光度值越大,则表明待测上清液中 IL-1 含量越高,促进 L929 细胞增殖的作用越强。结果见表 2。

ESA ESA-I 有显著增强 TNF-α 分泌的作用。在 5~ 20 μg/mL 浓度范围, ESA 增强腹腔 MΦ 分

表 1 ESA ESA-I 体外对小鼠腹腔 MΦ 分泌 TNF-α 的影响 ($\bar{x} \pm s$, n= 3)

组 别	剂 量 (μg /mL)	A ₅₇₀
RPM I-1640	—	0.193± 0.006
ESA	5	0.138± 0.012 *
	10	0.117± 0.011 *
	20	0.088± 0.008 *
ESA-I	5	0.116± 0.005 *
	10	0.119± 0.012 *
	20	0.079± 0.009 *

与 RPM I-1640 比较: ** P < 0.01

表 2 ESA ESA-I 体外对小鼠腹腔 MΦ 分泌 IL-1 的影响 ($\bar{x} \pm s$, n= 3)

组 别	剂 量 (μg /mL)	A ₅₇₀
RPM I-1640	—	0.154± 0.005
LPS	10	0.298± 0.019 *
ESA	5	0.196± 0.015 *
	10	0.232± 0.022 *
	20	0.312± 0.013 *
ESA-I	5	0.192± 0.013 *
	10	0.202± 0.016 *
	20	0.216± 0.019 *

与 RPM I-1640 比较: ** P < 0.01

泌 TNF-α 的作用随浓度增大而增强,并表现出剂量依赖关系 (r= - 0.995 2), 20 μg/mL 时对 L929 细胞的杀伤率达到 54.4%。ESA-I 在 5 和 10 μg/mL 时促进 TNF-α 分泌的作用相近,而 20 μg/mL 时对 L929 细胞的杀伤率可达到 59.1%。

ESA ESA-I 同时具有显著促进腹腔 MΦ 分泌 IL-1 的功能。在 5~ 20 μg/mL 浓度范围, ESA 增强 IL-1 分泌的作用有明显的剂量依赖 (r= 0.999 7); 而在 ESA-I 的各剂量组之间,这种增强作用无显著差异。

3 讨论

当归的免疫药理作用,最终是要通过作用于各种免疫效应细胞,诱生各种细胞因子,并参与机体的神经、体液及免疫调节作用来实现的^[5]。我们曾证明: ESA 能单独或协同 ConA/LPS 发挥促进小鼠脾脏及胸腺 T B 淋巴细胞增殖的作用,尚可对抗氢化泼尼松 (HP) 对 ConA 诱导的脾脏及胸腺 T 淋巴细胞的增殖反应的抑制作用^[1]。ESA 及其分离组分能提高补体 C3 含量,显著增强小鼠单核巨噬细胞功能。TNF-α 和 IL-1 作为活化的巨噬细胞所分泌的细胞因子,在机体免疫监视、抗原呈递、免疫调节中均有重要作用^[6]。而本实验结果表明 ESA ESA-I 可以显著增强腹腔 MΦ 分泌 TNF-α 和 IL-1 的功能。因此我们认为激活巨噬细胞,促进细胞因子分泌来调节机体免疫功能可能是 ESA ESA-I 免疫

活性的一个重要方面

与此同时,我们在实验中亦曾观察到 ESA-1 体内用药无直接促进腹腔 M Φ 分泌 TNF α 的功能,但在给药剂量为 250 mg/kg 时,均可使腹腔 M Φ 在 LPS 刺激下分泌 TNF α 的功能得到显著增强。这种正常腹腔 M Φ 无影响,而对活化的腹腔 M Φ 分泌细胞因子的功能具有增强作用的具体机制有待进一步实验来阐明。

参考文献:

[1] 夏雪雁,彭仁琇. 当归醇沉物对外小鼠脾、胸腺淋巴细胞增

殖的影响[J]. 中草药, 1999, 30(2): 112-115.

[2] 李颖,彭仁琇. 阿魏酸钠和当归醇沉物对免疫性肝损伤的干预作用[J]. 中草药, 2000, 31(4): 274-276.

[3] 胡映辉,林志彬,何云庆,等. 灵芝菌丝体多糖通过增强小鼠巨噬细胞功能诱导 HL-60 细胞凋亡[J]. 中国药理学通报, 1999, 15(1): 27-30.

[4] 孙卫民,王惠琴. 细胞因子研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999.

[5] 柳钟勋,左增艳. 当归的免疫药理作用研究[J]. 中国中西医结合杂志, 1992, 12(6): 378-379.

[6] 龙振洲. 医学免疫学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998.

西红花苷对血管内皮细胞的保护作用研究

绪广林,钱之玉*

(中国药科大学 药理教研室,江苏 南京 210009)

摘要: 目的 研究西红花苷对过氧化氢所致牛内皮细胞(BAEC)损伤的保护作用,并初步探讨其可能的作用机制。方法 利用过氧化氢刺激 BAEC,观察了西红花苷对细胞培养液内 MDA SOD LDH 含量或活性的影响,并对细胞进行流式细胞分析和细胞内钙测定,观察了该药对细胞凋亡及胞内钙的影响。结果 西红花苷可剂量依赖性的减少 MDA 生成,提高 SOD 活性,阻止 LDH 的外漏,还能抑制过氧化氢所致细胞内钙升高,减少细胞凋亡百分率。结论 西红花苷对过氧化氢所致 BAEC 损伤有保护作用,其作用机制可能与其拮抗细胞内钙有关,值得在临床上推广应用治疗心血管疾病。

关键词: 西红花苷-1;牛内皮细胞;凋亡;细胞内钙

中图分类号: R286.2 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)05-0439-04

Protective effect of crocin-1 on bovine aortic endothelial cells

XU Guang-lin, QIAN Zhi-yu

(Department of Pharmacology, Chinese Pharmaceutical University, Nanjing Jiangsu 210009, China)

Key words crocin-1; bovine aortic endothelial cells; apoptosis; intracellular calcium

番红花为鸢尾花科(Iridaceae)番红花属(*Crocus* L.)植物番红花 *C. sativus* L. 的干燥柱头,又名藏红花、西红花。其主要活性成分为胡萝卜苷类化合物(西红花苷),由于它们的结构差异较小,化学方面的研究如提取、分离、鉴定等很多^[1]。同时因为该类化合物有芳香味并呈现亮丽的黄色且较难消退(保存适当),常在食品和化妆品行业用作染料^[2]。众所周知,西红花苷类化合物一个显著特点就是其抗氧化作用^[3],并具有抗高血压、动脉粥样硬化、脑水肿、脊髓损伤、乳头瘤、关节炎作用,还能提高哺乳动物血流氧分压。近年来还发现其有抗肿瘤^[4]和乙醇

所致记忆和学习障碍的作用^[5]。但红花昂贵的价格限制了它的广泛使用,后来从一种来源广泛的植物里面也成功地提取了该类物质^[6]。不过以上研究一般只限于整体动物研究,缺乏其作用机制的探讨。细胞、分子或基因水平的报道也很少见。本实验利用自制的原料单体对过氧化氢所致内皮细胞过氧化脂质生成、酶活性改变及凋亡进行了研究,并探讨其作用机制,以期为临床应用提供可靠的理论依据。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂:西红花苷(西红花酸龙胆二糖基, crocin-1)由本实验室自制(纯度>98%, HPLC法),

* 收稿日期: 2001-10-18

基金项目:江苏省基础研究计划(自然科学基金)BJ98124

作者简介:绪广林(1973-),男,江苏金湖人,1995年毕业于中国药科大学中药制药专业。毕业后一直从事中药新产品开发及中药活性成分筛选等方面的工作。现为中国药科大学药理学在读博士,研究方向为生化药理,并主要致力于中药心血管系统方面的研究与开发。

* 通讯作者 Tel 025-3271322 E-mail xudunlop@263.net