

害宿主细胞的高度选择性的抗病毒药物,且其临床疗效又较突出的为数很少。我国古代医书中早就有“疫”、“风寒”、“伤风”及“时行感冒”等记载。这些记载中可能有些指的就是流感或包括流感在内。呼吸道感染属中医学“风温肺热病”范畴,其临床表现与“感冒、外感咳嗽、淫气喘息”等中医病名有关^[4]。近年来,“双黄连”等中药在治疗病毒感染疾病中取得了甚好的临床疗效。说明从中药宝库中寻找抗病毒药物是很有开发前景的。

由于组织培养法的实验条件较易控制,方法规范,因此我们采用 MDCK 细胞培养法进行 ACT 抗流感病毒作用的实验研究。结果提示:ACT 能直接抑制或灭活流感病毒,使其产生较强的体外抗甲 1 流感病毒作用。其通过何种方式和机制而抗甲 1 流感病毒及在体内的抗流感病毒活性如何,有待进一步研究和探讨。

牛蒡子提取物对 EBV,在浓度相同时有与已知强抗 EBV 药维甲酸相似的抑制作用^[5],尚有抗 HIV^[6]、抗细菌^[7]和真菌^[8]的作用。我们的另外实验研究结果证实:ACT 对多种细菌和真菌有较强的抑

制或杀灭作用(待发表)。ACT 能抗流感病毒等病原体,进一步为确认 ACT 是牛蒡子解表功能的有效成分,对其进行含量测定作为牛蒡子质量标准的定量指标提供了实验依据,为进行深入研究和开发应用奠定了基础。

参考文献:

- [1] Gao Y, Kang T G, Zhang X Y. Studies on calcium antagonist action of arctigenin. 中草药, 2000, 31(10): 758-762.
- [2] 郭元吉,程小雯. 流行性感冒病毒及其实验技术 [M]. 北京:中国三峡出版社, 1997.
- [3] 陈忠斌,王升启,朱宝珍,等. 硫代反义寡核苷酸在细胞培养内抗甲型流感病毒活性 [J]. 病毒学报, 1998, 14(3): 193-197.
- [4] 欧敏,杜怀堂,郭元吉,等. 清肺饮抗小鼠流感病毒性肺炎的实验研究 [J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 1996, 10(4): 381-384.
- [5] 陈铁宏,黄迪. 牛蒡子对 Epstein-Barr 病毒抗原表达的抑制作用 [J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 1994, 8(4): 323-327.
- [6] Yao X J, Mark A, Wainberg, *et al.* Mechanism of inhibition of HIV-1 infection in vitro by purified extract of *Prunella vulgaris* [J]. Virology, 1992, 187: 56-58.
- [7] Hasegawa M, Takeda S, Hosoya H, *et al.* Abstracts of the Pharmaceutical Society of Japan [M]. Sapporo, 1990.
- [8] 曹仁烈,孙在原,王仲德,等. 中药水浸剂在试管内抗皮肤真菌的观察 [J]. 中华皮肤科杂志, 1957, 5(4): 286-290.

调肝导浊中药对氧化修饰低密度脂蛋白含量影响的实验研究

张柏丽,陆一竹,范英昌*

(天津中医学院,天津 300193)

摘要:目的 探讨调肝导浊中药防治动脉粥样硬化(AS)的机制。方法 运用高脂血症小鼠模型和体外培养技术以不同培养基培养小鼠腹腔巨噬细胞和大鼠肝细胞,检测血清和细胞培养液中氧化修饰低密度脂蛋白(OX-LDL)。结果 调肝导浊中药可明显降低血清和细胞培养液中 OX-LDL 的含量并抑制 OX-LDL 生成。结论 调肝导浊中药通过降低、阻止 OX-LDL 形成而防止和延缓 AS 的发生。

关键词:调肝导浊中药;氧化修饰低密度脂蛋白;动脉粥样硬化;单核细胞;巨噬细胞

中图分类号: R286.26

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2002)08-0726-03

Effects of Chinese medicine TIAOGAN DAOZHUO* on content of oxidized low density lipoprotein

ZHANG Bai-li, LU Yi-zhu, FAN Ying-chang

(Tianjin College of TCM, Tianjin 300193, China)

Key words Chinese medicine TIAOGAN DAOZHUO; oxidized low density lipoprotein; atherosclerosis; mononuclear cell; macrophage

* TIAOGAN DAOZHUO is a Chinese herb prescription with the function of regulating the disorder of *qi* and removing turbid *qi*.

收稿日期: 2001-11-01

基金项目: 天津市自然科学基金资助项目(003607911)

作者简介: 张柏丽(1949-),女,天津中医学院生化教研室副教授,主要从事中药对脂代谢调控的研究。

氧化修饰低密度脂蛋白 (OX-LDL) 不仅促使单核细胞 (MC) 对内皮细胞 (EC) 的粘附,而且促使其向巨噬细胞 (MΦ) 分化,造成 MΦ 内胆固醇酯大量聚集,最终导致动脉粥样硬化 (AS) 的发生^[1]。本实验用高脂血症小鼠模型和体外高脂条件下的细胞培养技术观察了调肝导浊中药对小鼠血清及细胞培养液中 OX-LDL 含量的影响,从分子水平探讨中药防治 AS 的机制。

1 材料

1.1 药品和试剂:胆固醇 (购自天津化学试剂批发公司);胎牛血清 (购自中国医学科学院血液病研究所);基础培养基:进口 DMEM-F12 培养基 (GIBCO 公司产品);调肝导浊中药 (购自天津中医学院中医研究所);OX-LDL (购自中国协和医科大学基础医学研究所);OX-LDL 检测试剂盒 (购自南京聚力生物技术有限公司);兔高脂血清:本院制备,血清内含胆固醇 20.02 mmol/L 甘油三酯 1.102 mmol/L

1.2 仪器:酶标仪 (Σ 960,台湾产)。

2 方法

2.1 小鼠的喂养和分组:健康昆明小鼠 40 只,雌雄不限,体重 20~30 g,随机分为 4 组:正常组正常饮食;中药组 ig 中药药液,高脂组 ig 高脂药液 (按 3 g 胆固醇/100 mL 植物油比例溶解),高脂加中药组 ig 两种药液各 1 mL,每日 1 次,连续 12 d,实验结束后,内眦取血,离心取血清,测定 OX-LDL 含量

2.2 大鼠肝细胞培养及分组

2.2.1 细胞培养:选用健康 Wistar 大鼠,雄性,80~100 g (购自天津医学实验动物研究所)。无菌条件下打开腹腔,行门静脉及下腔静脉插管,固定门静脉灌注 D-Hanks 液约 150 mL 冲洗肝脏后,换用 37℃、0.03% IV 型胶原酶灌注 60~80 mL,至肝脏变软,迅速取下肝脏,除去被膜及结缔组织,把肝脏剪成 1 mm³左右的小块,采用贴壁培养法贴在玻片上。少量血清 37℃ 孵育 2~3 h 后,加入正常培养液,37℃、5% CO₂ 培养箱培养

2.2.2 培养细胞分组:待细胞呈现分布均匀而密布的单细胞层,将培养的肝细胞随机分为 4 组,正常培养组 (含 20% 胎牛血清的基础培养基),中药培养组 (在正常培养基中,按每 100 mL 培养液加入 30 mL 无菌调肝导浊中药制剂),OX-LDL 培养组 (按每 100 mL 正常培养液加入 5 mg OX-LDL),OX-LDL 加中药组 (在 OX-LDL 培养基中,按每

100 mL 培养液加入 30 mL 无菌调肝导浊中药制剂),继续培养 48 h 后吸取培养液,测定 OX-LDL 含量。

2.3 小鼠巨噬细胞培养及分组

2.3.1 细胞培养:选用 7~8 周龄健康昆明小鼠,雄性,20~30 g (购自天津医学实验动物研究中心)。于实验前 3 d 开始,ip 1.5 mL 营养肉汤,每日一次。实验前引颈处死小鼠,无菌条件下以 D-Hanks 液反复冲洗腹腔,并收集液体离心,倾上清,加入正常培养基,用血细胞计数板计数细胞调整浓度为 2.5×10^6 个/mL 培养液,置 37℃、5% CO₂ 培养箱培养。

2.3.2 培养细胞分组:待细胞连接成单层后,将各培养瓶细胞随机分 4 组:正常培养组 (同上),中药培养组 (同上),高脂培养组 (基础培养基 胎牛血清-兔高脂血清为 80:17:3),高脂加中药组 (在高脂血清培养基中按每 100 mL 培养液加入 30 μL 无菌调肝导浊中药制剂),继续培养 48 h 后取培养液,测定 OX-LDL 含量

2.4 检测方法:用 ELISA 法测定小鼠血清和大鼠肝细胞、小鼠巨噬细胞培养液中 OX-LDL 含量 (O.P.D 显色剂显色,用酶标仪在 492 nm 处测定吸光度)。

2.5 统计学处理:采用 SPSS9.0 软件包进行方差分析,组间比较采用 *F* 检验,*q* 检验。

3 结果

3.1 对小鼠血清 OX-LDL 含量的影响:结果高脂组 OX-LDL 含量明显高于正常组 ($P < 0.01$)。高脂加中药组 OX-LDL 含量明显低于高脂组 ($P < 0.01$)。提示调肝导浊中药可抑制由于高脂所致的小鼠血清 OX-LDL 含量升高,见表 1

表 1 对小鼠血清 OX-LDL 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	OX-LDL (μg)
正常组	8	12.42 ± 1.55
中药组	9	12.30 ± 1.83 *
高脂组	10	23.78 ± 6.18 #
高脂加中药组	10	14.83 ± 2.52 *

与正常组相比:## $P < 0.01$; 与高脂组相比: ** $P < 0.01$

3.2 对肝细胞培养液 OX-LDL 含量的影响:结果中药培养组 OX-LDL 含量明显低于正常培养组 ($P < 0.01$),OX-LDL 加中药组与 OX-LDL 培养组相比,OX-LDL 含量明显降低 ($P < 0.01$)。提示调肝导浊中药可以有效降低、抑制 OX-LDL 的生成,见表 2

3.3 对巨噬细胞培养液 OX-LDL 含量的影响:结

高脂培养组 OX-LDL 含量明显高于正常培养组 ($P < 0.01$) 中药培养组 OX-LDL 含量与正常培养组相比明显降低 ($P < 0.01$) 高脂加中药组 OX-LDL 含量与高脂培养组比较明显降低 ($P < 0.01$) 说明调肝导浊中药可有效抑制 OX-LDL 的生成,见表 3

表 2 对肝细胞培养液 OX-LDL 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	例数	OX-LDL (μg)
正常组	9	12.46 $\pm$ 1.67
中药培养组	8	8.83 $\pm$ 1.30 ^{***}
OX-LDL 培养组	8	31.35 $\pm$ 3.04 [#]
OX-LDL 加中药培养组	8	20.53 $\pm$ 1.30 ^{***}

与正常培养组相比: ^{##} $P < 0.01$
与 OX-LDL 培养组相比: ^{**} $P < 0.01$

表 3 对巨噬细胞培养液 OX-LDL 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	例数	OX-LDL (μg)
正常组	9	10.26 $\pm$ 1.15
中药培养组	8	6.25 $\pm$ 0.95 ^{***}
高脂培养组	8	19.70 $\pm$ 1.13 [#]
高脂加中药培养组	8	13.00 $\pm$ 0.84 ^{***}

与正常培养组相比: ^{##} $P < 0.01$
与高脂培养组相比: ^{**} $P < 0.01$

4 讨论

自从 70 年代末人们发现乙酰化 LDL 受体以来,科学家在研究其生理配体时,发现 OX-LDL,这一发现对研究 AS 形成的机制具有巨大推动作用。10 多年来大量的研究表明,部分泡沫细胞是由循环血中 MC 演变而来,后者粘附于 EC 后渗至内皮下空隙中,在此摄取脂蛋白形成载胆固醇酯的细胞,此即泡沫细胞,它的形成与 OX-LDL 密切相关^[2]。研究表明,LDL 的氧化修饰是由于脂质过氧化物而引起的,即 LDL 经过多种类型的细胞 过渡金属离子

或脂质加氧酶的氧化修饰产生 OX-LDL^[3]。动物实验表明,兔主动脉粥样硬化病变中有上述 OX-LDL 存在,而正常区域内则不能证实其存在。Bjorkhem 报道^[4]在实验性 AS 兔的饲料中加抗氧化剂 2,6-叔丁基对甲酚,虽然该组兔血脂比对照组高,但 AS 病变却减少一半。这也有力的说明 OX-LDL 在 AS 病变中起重要作用。

实验中我们从三个不同的侧面观察了调肝导浊中药对 OX-LDL 的影响,结果证实其降低实验性高脂血症小鼠血清及肝细胞、巨噬细胞培养液中 OX-LDL 含量的作用。

祖国医学将高脂血症、动脉粥样硬化产生的原因、致病特点和证候表现,归纳到痰浊、瘀血范畴。我们根据传统中医理论,在经过大量临床实践探索后,提出了与传统治法不尽相同的新用药方案,“养血疏肝,化瘀泄浊”。方中重用炙首乌补益精血;柴胡疏肝理气;草决明、泽泻利水渗湿;蒲黄行血化瘀;菴蔚子、姜黄、丹参均为活血化瘀药。全方滋阴药滋养阴血,疏肝行气,活血祛瘀之味以助血行;辅以利湿导浊之品,祛湿浊之阻滞,通畅气机通利血脉,而达到降粘祛脂、防治 AS 之效。

参考文献:

[1] 凤志慧,仲崇霞,葛淑君,等. 氧化型胆固醇对血管平滑肌细胞的损伤作用 [J]. 中华心血管病杂志, 1999, 27(4): 300-301.
[2] 娄 宁,周 玫,陈 媛. 云芝多糖对受氧化型低密度脂蛋白攻击的小鼠腹腔巨噬细胞泡沫样变性及其衰减的影响 [J]. 中国动脉硬化杂志, 1995, 3(4): 287-288.
[3] 王克勤. 脂蛋白与动脉粥样硬化 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1995.
[4] 陆国平,龚兰生. 动脉粥样硬化的基本机理—氧化、炎症和遗传 [J]. 国外医学 心血管疾病分册, 1996, 23(1): 23.

解感清热颗粒解热抗菌消炎作用的实验研究

黄 华,杨丽丽,哈木拉提,张云珍,刘 发*
(新疆维吾尔自治区药物研究所 药理室,新疆 乌鲁木齐 830002)

摘 要: 目的 研究解感清热颗粒的清热降温、抗菌消炎作用。方法 实验动物采用伤寒菌苗、啤酒酵母、2,4-二硝基苯酚致热造模研究解感清热颗粒的降温作用。采用体外实验法、角叉菜胶致大鼠足跖肿胀、大鼠棉球网芽肿等研究其抗菌消炎作用。结果 解感清热颗粒能明显降低伤寒菌苗致家兔发热模型的体温 and 啤酒酵母、2,4-二硝基苯酚致大鼠发热模型的体温,抑制角叉菜胶致大鼠足跖肿胀及大鼠棉球网芽肿,抑制小鼠腹腔毛细血管炎性渗出,并对金葡萄菌、链球菌和肺炎球菌均有抑制作用。结论 解感清热颗粒的解热、抑菌、抗炎作用为其临床治疗感冒提供

* 收稿日期: 2001-10-12
作者简介: 黄 华 (1965-),女,江西人,助研,医学学士,1988年毕业于新疆医科大学药学院。2000年毕业于新疆医科大学在职研究生班,主要从事中药药理及毒理方面的研究。通讯地址: 新疆乌鲁木齐市新华南路 9 号 新疆维吾尔自治区药物研究所药理室
Tel (0991) 2322783