

- [2] Jin S H, Xie Q M, Shen W H, *et al.* Inhibitory effect of Chuanning Soft Capsule on eosinophils and mast cells [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33 (3): 242-244.
- [3] Hashimoto A, Katagiri M, Torii S, *et al.* Effect of dietary  $\alpha$ -linolenate/linoleate balance on leukotriene production and histamine release in rats [J]. *Prostaglandins*, 1998, 36(1): 3-16.
- [4] James M J, Gibson R A, Cleland L G. Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammatory mediator production [J]. *Am J Clin Nutr*, 2000, 71(1 Suppl): 343-348.
- [5] Okamoto M, Mitsunobu F, Ashida K, *et al.* Effects of perilla seed oil supplementation on leukotriene generation by leukocytes in patients with asthma associated with lipometabolism [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2000, 122 (2): 137-142.
- [6] Okamoto M, Mitsunobu F, Ashida K, *et al.* Effects of dietary supplementation with n-3 fatty acids compared with n-6 fatty acids on bronchial asthma [J]. *Intern Med*, 2000, 39 (2): 107-111.

## 槲皮素抑制纤维蛋白纤维蛋白原降解产物诱导小鼠腹腔巨噬细胞释放白细胞介素-1

周 斌<sup>1</sup>, 张俊平<sup>1</sup>, 刘 宏<sup>2</sup>, 钱定华<sup>1\*</sup>

(1. 第二军医大学药学院 药理教研室, 上海 200433; 2 第二军医大学长海医院, 上海 200433)

**摘要:** 目的 研究槲皮素对纤维蛋白纤维蛋白原降解产物 (FFDP) 诱导的小鼠腹腔巨噬细胞释放白细胞介素-1 (IL-1) 的作用及其机制。方法 采用小鼠胸腺细胞增殖法测定 IL-1 结果 FFDP (0.2~1 g/L) 能促使小鼠腹腔巨噬细胞分泌 IL-1, 槲皮素 (5~20  $\mu$ mol/L) 可抑制 FFDP 的作用, 其作用可能与蛋白激酶 C 有关。结论 槲皮素对 FFDP 诱导的小鼠腹腔巨噬细胞释放 IL-1 有抑制作用, 对心脑血管疾病的防治具有一定意义。

**关键词:** 槲皮素; 纤维蛋白纤维蛋白原降解产物 (FFDP); 白细胞介素-1; 腹腔巨噬细胞

中图分类号: R286.26 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)03-0247-03

### Effects of quercetin on release of interleukin-1 from peritoneal macrophages of mice induced by fibrin fibrinogen degradation products

ZHO U Bin<sup>1</sup>, ZHANG Jun-ping<sup>1</sup>, LIU Hong<sup>2</sup>, QIAN Ding-hua<sup>1</sup>

(1. Department of Pharmacology, College of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**Key words** quercetin; fibrin fibrinogen degradation products (FFDP); interleukin-1; peritoneal macrophage

心脑血管疾病是威胁人类健康的重大疾病。近年来研究表明, 高水平血浆纤维蛋白原是一重要的、独立的心脑血管疾病危险因素。动脉粥样硬化斑块中有大量纤维蛋白原降解相关抗原, 且其存在形态与斑块发展程度相关。纤维蛋白纤维蛋白原降解产物 (fibrin fibrinogen degradation products, FFDP) 在斑块中的出现甚至早于氧化低密度脂蛋白<sup>[1,2]</sup>。白细胞介素-1 (IL-1) 通过其自身及其诱生的其他因子的作用, 在心脑血管疾病发生中发挥着重要的作用<sup>[3,4]</sup>。槲皮素 (quercetin, Quer) 是提取的植物黄酮, 具有抗氧化、抗肿瘤、抗血小板聚集等多方面的作用<sup>[5,6]</sup>。前期研究发现其对多种炎症因子的产生也有抑制作用。本研究旨在观察槲皮素对 FFDP 诱导

IL-1 产生的作用。

#### 1 材料与方法

1.1 试剂与动物: 槲皮素 (纯度 > 98%, HPLC 法), 纤维蛋白, 纤溶酶, 抑肽酶, PMA 美国 Sigma 公司产品。ICR 小鼠, 由第二军医大学实验动物中心提供。

1.2 FFDP 的制备<sup>[7]</sup>: 在含 1 mmol/L CaCl<sub>2</sub> 条件下, 用纤溶酶消化纤维蛋白, 每克蛋白用 10 单位纤溶酶, 6 h 后用抑肽酶 (200 kU/cu 纤溶酶) 终止反应。

1.3 小鼠腹腔巨噬细胞的制备<sup>[8]</sup>: ICR 小鼠 ip 3% 硫代乙醇酸钠培养液 1.5 mL, 4 d 后颈椎脱臼处死, 用磷酸缓冲液充分洗出腹腔细胞, 经离心, 破红细胞, 洗涤后, 种入培养板, 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 孵育 2 h,

\* 收稿日期: 2002-10-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39370798 和 30200344)

作者简介: 周 斌 (1969-), 男, 博士, 讲师。研究方向: 老年性疾病发病机制及药物防治研究

Tel (021) 25074470 E-mail zhoubin@smmu.edu.cn

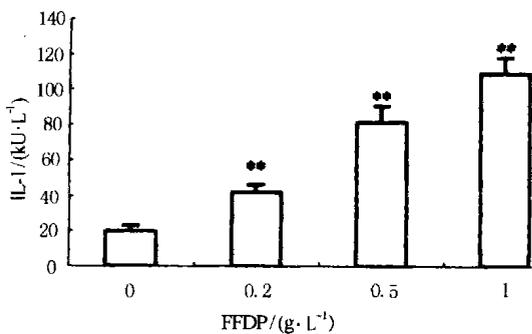
贴壁细胞即是。

1.4 IL-1 的测定<sup>[9]</sup>:取制备的腹腔巨噬细胞加入含 FFDP 的无血清培养基孵育,收集上清液,观察药物作用时,将药物与 FFDP 同时加入共同孵育。采用本室建立的 ConA 诱导的 ICR 小鼠胸腺细胞增殖法测定上清液中 IL-1 的活性。

1.5 统计学处理:数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,显著性检验采用方差分析。

## 2 结果

2.1 FFDP 对小鼠腹腔巨噬细胞释放 IL-1 的作用:FFDP 与小鼠腹腔巨噬细胞共同孵育,能诱导小鼠腹腔巨噬细胞释放 IL-1 IL-1 释放量随 FFDP 刺激时间的延长而增加,FFDP 0.5 g/L 作用 24 h 时与对照组相比,IL-1 略有增加 [(9.4 ± 2.1) vs (6.8 ± 1.8) kU/L, n= 4, P > 0.05], 48 h 时则有明显增加 [(81.4 ± 9.1) vs (19.6 ± 3.1) kU/L, n= 4, P < 0.01] 作用 48 h 后,IL-1 释放量亦随 FFDP 剂量的增加而增加,见图 1



与空白对照组相比: \*\* P < 0.01  
\*\* P < 0.01 vs control group

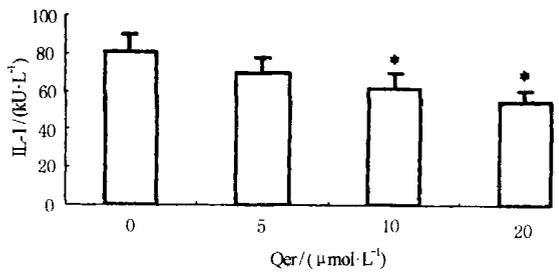
图 1 FFDP 对小鼠腹腔巨噬细胞产生 IL-1 的作用 ( $\bar{x} \pm s$ , n= 4)

Fig. 1 Effect of FFDP on IL-1 release from peritoneal macrophages of mice ( $\bar{x} \pm s$ , n= 4)

2.2 槲皮素对 FFDP 诱导小鼠腹腔巨噬细胞释放 IL-1 的作用:在 FFDP (0.5 mg/mL) 与巨噬细胞孵育的同时加入槲皮素,48 h 后测定上清液中 IL-1 活性,槲皮素 5.0~ 20 μmol/L 对 FFDP 有抑制作用,见图 2

2.3 蛋白激酶 C 激活剂 (PMA) 对 FFDP 诱导小鼠腹腔巨噬细胞释放 IL-1 的作用:PMA (5 mg/L) 与巨噬细胞共同孵育 48 h,再加入 FFDP (0.5 g/L) 孵育 48 h,测定上清液中 IL-1 的含量,与对照组相比 IL-1 含量有显著降低 [(49.4 ± 6.1) vs (81.4 ± 9.1) kU/L, n= 4, P < 0.01]

## 3 讨论



与空白对照组相比: \* P < 0.05  
\* P < 0.05 vs control group

图 2 槲皮素对 FFDP (0.5 g/L) 刺激小鼠腹腔巨噬细胞释放 IL-1 的作用 ( $\bar{x} \pm s$ , n= 4)  
Fig. 2 Effect of quercetin on FFDP (0.5 g/L) induced IL-1 release from peritoneal macrophages of mice ( $\bar{x} \pm s$ , n= 4)

心脑血管疾病的发生是多原因、多层次的,是各种因素和细胞成分相互作用的结果。炎症机制在心脑血管疾病的发生中亦发挥重要作用。IL-1 是细胞因子网络的中心环节,具有多方面的作用,通过诱导细胞分化、组织重建、诱导其他因子的产生甚至诱导细胞死亡等途径参与心脑血管疾病的发生。FFDP 促进腹腔巨噬细胞释放 IL-1,从一个侧面证明,FFDP 能通过该途径参与心脑血管疾病的发生。

文献报道槲皮素在预防和治疗心血管疾病方面具有应用价值。本研究表明槲皮素亦能抑制 FFDP 诱导的腹腔巨噬细胞释放 IL-1,提示槲皮素在心脑血管疾病的防治中有一定的意义。纤维蛋白原有多种生理作用,如与血小板膜糖蛋白结合而介导的血小板聚集反应等,都与蛋白激酶 C 的激活有关。槲皮素对蛋白激酶 C 酪氨酸蛋白激酶和钙内流等都有抑制作用。实验中用蛋白激酶 C 激活剂 PMA 与巨噬细胞预孵 48 h,耗竭细胞蛋白激酶 C 活性,再用 FFDP 刺激,则 IL-1 释放有明显降低。提示抑制蛋白激酶 C 可能是槲皮素抑制 FFDP 诱导小鼠腹腔巨噬细胞释放 IL-1 的作用环节。

## References

- [1] Ernst E. Fibrinogen: an important risk factor for arthrotrombotic diseases [J]. *Ann Med*, 1994, 26: 15-22.
- [2] Anand S S, Yusuf S, Jacobs R, et al. Risk factors, atherosclerosis, and cardiovascular disease among aboriginal people in Canada: the study of health assessment and risk evaluation in aboriginal peoples (SHARE-AP) [J]. *Lancet*, 2001, 358 (9288): 1147-1153.
- [3] Loppnow H, Werdan K, Reuter G, et al. The interleukin-1 and interleukin-1 converting enzyme families in the cardiovascular system [J]. *Eur Cytokine Netw*, 1998, 9(4): 675-680.
- [4] Dewberry R, Holden H, Crossman D, et al. Interleukin-1 receptor antagonist expression in human endothelial cells and atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20

- (11): 2394-2400.
- [5] Meng D S, Wang S L. Progress in study of quercetin and its derivatives [J]. *J China Pharm* (中国药房), 2000, 11(5): 232-233.
- [6] Bao T Z, Wang Q L, Liao Z H. Recent progress of quercetin research [J]. *J Jiangxi Coll Tradit Chin Med* (江西中医学院学报), 1998, 10(2): 90-91.
- [7] Zhou B, Zhang J P, Hu Z L, et al. Effects of Ro 31-8220 on smooth muscle cell proliferation induced by fibrinogen degradation products [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1997, 18(5): 463-465.
- [8] Hu Z L, Zhang J P, Yi Y H, et al. Effect of esculentoside H on release of tumor necrosis factor from mouse peritoneal macrophages [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1993, 14(6): 550-552.
- [9] Zhang J P, Qian D H, Qi L H. Effects of cantharidin on interleukin-2 and interleukin-1 production in mice *in vivo* [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1992, 13(3): 263-264.

## 蜜环菌激发子诱导猪苓细胞活性氧产生的信号途径

夏洪燕, 郭顺星\*

(中国医学科学院 中国协和医科大学 药用植物研究所, 北京 100094)

**摘要:** 目的 阐明蜜环菌激发子诱导猪苓细胞活性氧的产生机制。方法 用 Luminol 化学发光法测定活性氧产生量。结果 在猪苓细胞活性氧产生过程中, 含乙二醇双(β-氨基乙基)四乙酸(EGTA)的缺钙培养基能抑制其活性氧产生, 而加入钙, 则可起促进作用。钙离子载体 A23187 单独可诱导含钙介质活性氧的产生, 说明活性氧的产生有钙离子的参与。蛋白酶抑制剂苯甲烷碘酰氟(PMSF)可以抑制活性氧形成。磷脂酶 C(PLC)的抑制剂硫酸新霉素及磷酸肌醇磷酸酶的抑制剂氯化锂均可促进活性氧的产生。结论 猪苓细胞活性氧的产生与 Ca<sup>2+</sup>、蛋白磷酸化有关。

**关键词:** 猪苓; 活性氧; 激发子; 钙离子

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)03-0249-03

### Signal transduction pathway of active oxygen species in *Polyporus umbellatus* induced by elicitor from *Armillaria mellea*

XIA Hong-yan, GUO Shun-xing

(Institute of Medicinal Plant Development, CAMS& PUMC, Beijing 100094, China)

**Key words** *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fr.; active oxygen species (AOS); elicitor; Ca<sup>2+</sup>

活性氧 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>·-</sup>, ·OH) 是生物在有氧条件下产生的毒性氧化剂<sup>[1]</sup>。动物吞噬细胞如多形核白细胞能产生活性氧 (O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 及 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)<sup>[2]</sup>, 且其产生的活性氧在抵御病原菌侵染过程中起重要的作用。Schwack 等<sup>[3]</sup>认为不同生物之间在建立共生关系初期也会引起防卫反应, 但这种防卫反应能够被精确地控制, 以允许两种生物建立有效的共生体系。用来源于外生菌根真菌 *Amanita muscaria* 和 *Hebeloma crustuliniforme* 的激发子处理云杉细胞, 发现同来源于病原真菌 *Heterobasidion annosum* 激发子处理一样, 均可诱导活性氧的产生。关于活性氧产生的信号机制认为有 Ca<sup>2+</sup> 及蛋白磷酸化的参与。但关于两种真菌共生初期是否伴随着活性氧的产生及其产生的机制和意义尚未见报道。猪苓、蜜环菌属特殊的菌

与菌共生关系, 对两者共生机制的研究仅限于解剖学, 作者曾报道来源于蜜环菌的激发子可以诱导猪苓活性氧产生<sup>[4]</sup>, 本实验旨在探讨其活性氧产生的机制, 从而为阐明猪苓与蜜环菌的共生机制奠定基础。

#### 1 材料与方法

1.1 菌株来源: 猪苓 *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fries 菌株由本所真菌室提供。

1.2 蜜环菌激发子: 参考文献方法制备<sup>[4]</sup>。

1.3 猪苓菌丝细胞活性氧释放量的测定

1.3.1 将培养 3 周的猪苓菌丝细胞用试验介质洗涤 3 遍, 试验介质组成: 2% 蔗糖, 1 mmol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 mmol/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1 mmol/L MgSO<sub>4</sub>, 1 mmol/L CaCl<sub>2</sub>, 25 mmol/L KNO<sub>3</sub>, 5 mmol/L 2-[N-吗啡]乙磺酸, 用 NaOH 调 pH 至

\* 收稿日期: 2002-06-11

作者简介: 夏洪燕 (1973-), 2001年毕业于中国医学科学院中国协和医科大学药用植物研究所, 获理学博士学位。主要从事药用真菌生物技术研究工作。

\* 通讯作者 Tel: (010) 62899729 E-mail: sxgu@hotmail.com