

## 夏枯草注射液诱导 K562 细胞凋亡的实验研究

张可杰<sup>1</sup>, 张明智<sup>2</sup>, 王庆端<sup>2</sup>

(1. 华中科技大学同济医学院附属同济医院 血液科, 湖北 武汉 430030; 2. 郑州大学

第一附属医院 肿瘤科, 河南 郑州 450052)

**摘要:**目的 探讨夏枯草注射液体外抗白血病作用, 为临床应用夏枯草注射液治疗白血病提供实验依据。方法 采用 MTT 法测定夏枯草注射液对 K562 细胞的增殖抑制率, 计算出  $IC_{50}$  值; 绘制夏枯草注射液 (50、100 mg/mL) 作用于 K562 细胞的生长曲线。用倒置显微镜、姬姆萨染色法、MTT 染色法光镜下观察细胞形态, 台盼蓝拒染法、流式细胞仪 PI 染色观察夏枯草注射液对 K562 细胞的促凋亡活性, 用免疫细胞化学法检测夏枯草注射液对凋亡相关基因 bcl-2 和 bax 蛋白表达的影响, 并用图文分析系统进行定量分析。结果 夏枯草注射液对 K562 细胞增殖具有明显的抑制作用, 且在一定的剂量范围内抑制作用具有明显的剂量依赖性 ( $r=0.9850$ ),  $IC_{50}$  为 0.113 mg/mL。夏枯草注射液 (50 mg/mL) 作用于 K562 细胞后, 倒置显微镜、姬姆萨染色、MTT 染色光镜下观察, 均可见典型的凋亡细胞的形态学特征。流式细胞仪检测结果显示, 处理组细胞凋亡率  $[(37.15 \pm 1.46)\%]$  明显高于对照组细胞凋亡率  $[(5.56 \pm 0.68)\%]$  ( $P < 0.01$ )。夏枯草注射液 (50 mg/mL) 作用于 K562 细胞 48 h, bcl-2 蛋白表达增强, 而 bax 表达减弱, 与对照组相比差异显著 ( $P < 0.01$ )。结论 夏枯草注射液可明显抑制 K562 细胞增殖, 可望成为新的抗白血病药物, 诱导 K562 细胞凋亡可能是其发挥抗肿瘤作用的机制之一。

**关键词:** 夏枯草注射液; K562 细胞; 细胞凋亡; 凋亡蛋白

**中图分类号:** R286.91

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0253-2670(2005)07-1031-05

### Inductive effect of *Prunella vulgaris* Injection on K562 cells apoptosis

ZHANG Ke-jie<sup>1</sup>, ZHANG Ming-zhi<sup>2</sup>, WANG Qing-duan<sup>2</sup>

(1. Department of Hematology, Tongji Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China; 2. Department of Oncology, the First

Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the antileukemia effect of *Prunella vulgaris* Injection (PVI) in order to offer experimental data for the treatment of leukemias with PVI in clinic. **Methods** Inhibition of PVI on K562 cell proliferation and  $IC_{50}$  value was assayed by MTT assay. The growth curve of K562 cells was drawn also. The cellular morphology was observed by invert microscope, Giemsa staining, and MTT assay. The apoptosis induced the effect of PVI to K562 cells was observed by trypan-blue exclusion test and flow cytometer (FCM). The expression of apoptosis related protein bcl-2 and bax was measured by immunocytochemistry, and the quantitative analysis was made with figure analysis system. **Results** PVI obviously inhibited the proliferation of K562 cells in a dose-dependent manner ( $r=0.9850$ ). The  $IC_{50}$  was 0.113 mg/mL. After K562 cells were treated with PVI (50 mg/mL), the morphological characters of apoptosis were observed. The results of FCM showed that the apoptosis rats  $[(37.15 \pm 1.46)\%]$  in the treatment group were significant higher than that in control group  $[(5.56 \pm 0.68)\%]$  ( $P < 0.01$ ). After K562 cells were treated by PVI (50 mg/mL) for 48 h, the expression of protein bcl-2 was up-regulated, and the expression of protein bax was down-regulated. The differences between the treatment group and control group are significant ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** PVI can inhibit the proliferation of K562 cells and may be a new antileukemia drug. PVI can induce the apoptosis of K562 cells, which may be one of antileukemia mechanisms of PVI.

**Key words:** *Prunella vulgaris* Injection (PVI); K562 cells; apoptosis; apoptosis related protein

联合化疗是目前治疗白血病的常用手段, 但迄今用于临床的化疗药物不良反应较大, 尤其是对骨

髓造血功能的抑制作用会被迫中断化疗; 原发或继发耐药往往导致化疗失败。因此, 寻求高效低毒的抗

收稿日期: 2004-12-03

作者简介: 张可杰 (1967—), 女, 河南开封人, 副主任医师, 在读博士, 原在河南大学淮河医院工作, 主要从事血液病临床和研究工作。  
Tel: (027) 83691412 E-mail: zhangkejie0378@sina.com

肿瘤药物是目前肿瘤治疗的主要课题之一。夏枯草为唇形科植物夏枯草 *Prunella vulgaris* L. 的干燥成熟果穗,具有清火明目、散结消肿之功效。现代药理学研究证明夏枯草具有广泛的药理活性,可治疗瘰癧、瘰癧、乳痈肿痛、乳癌,为一具有开发价值的抗肿瘤中药。本研究以人红白血病细胞系 K562 细胞为靶细胞,研究夏枯草经水煎醇沉法制成的注射液对 K562 细胞增殖的影响,并运用细胞生物学的方法对夏枯草注射液诱导 K562 细胞凋亡的特点及可能机制进行初步探讨,为临床应用夏枯草治疗白血病提供实验依据。

## 1 材料

K562 细胞系购自中国科学院上海细胞生物研究所细胞库。鼠抗人 bcl-2 单抗 (200  $\mu\text{g/mL}$ )、鼠抗人 bax 单抗 (200  $\mu\text{g/mL}$ ) 为美国 Santa Cruz 公司产品,批号 H092。免疫组化染色试剂盒、DAB 显色试剂盒 (ZLT-9032/9033 DAB Kit) 为北京中山生物技术有限公司产品。RNase A、碘化丙啶 (PI) 为美国 Beckman Coulter 公司生产的流式细胞仪试剂。夏枯草注射液:上海中医药大学附属曙光医院药厂提供,为单味夏枯草经水煎醇沉法制成的注射液,含生药 3 g/mL,符合《中华人民共和国药典》注射剂项下有关规定,批号为沪卫药剂 91-121,实验时用生理盐水稀释,调 pH 值为 7.0。阿霉素 (Adriamycin):浙江海正药业股份有限公司生产 (每支 10 mg),实验时用生理盐水稀释。酶联免疫检测仪:国营华东电子管厂制造 DG3022A 型。流式细胞仪:美国 Beckman Coulter 公司产品, Coulter Epics XL。高清晰度彩色病理图文分析系统:同济医科大学千层影像工程公司产品, HPIAS-100。

## 2 方法

2.1 细胞培养:K562 细胞培养于含 10% 灭活 (56  $^{\circ}\text{C}$ , 30 min) 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液中,培养液含  $\text{NaHCO}_3$  2.0 g/L、谷氨酰胺 0.292 g/L、hepes 6 g/L、丙酮酸钠 0.11 g/L、二巯基乙醇 0.5 mL (1:146 稀释)、青霉素 100 U/mL、链霉素 100 U/mL。置于  $\text{CO}_2$  培养箱内常规培养,5%  $\text{CO}_2$ ,相对湿度为 95%,温度为 37  $^{\circ}\text{C}$ 。

2.2 MTT 比色法测定药物的细胞增殖抑制作用:取对数生长期 K562 细胞,用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液配成  $5 \times 10^4/\text{mL}$  单细胞悬液,接种至 96 孔板中,每孔 180  $\mu\text{L}$ ,每组设 4 个平行孔,然后分别加入实验药物,终体积为 200  $\mu\text{L}$ 。实验分为 3 组,实验组:加入终质量浓度 (生药) 为 26.3、

39.5、59.2、88.9、133 mg/mL 夏枯草注射液;阳性对照组:加入阿霉素,终质量浓度分别为 0.039、0.156、0.625、2.500、10.000  $\mu\text{g/mL}$ ;空白对照组:加入等体积的生理盐水。另设本底对照组:加入等体积的相应药物但无细胞培养液,置 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养 48 h 后,每孔加入 MTT 溶液 (5 g/L) 20  $\mu\text{L}$ ,在相同条件下继续培养 4 h,离心 (3 000 r/min) 10 min,快速翻转培养板弃去孔内培养液,每孔加入 200  $\mu\text{L}$  DMSO,室温下在微量振荡器上振荡 10 min 使结晶充分溶解,酶联免疫检测仪检测 570 nm 波长处的吸光度 ( $A$ ) 值,由下列公式计算细胞增殖抑制率。以上实验各重复 3 次,求平均值。 $\text{IC}_{50}$  为抑制细胞增殖达到 50% 时药物质量浓度,利用概率单位法求得。南美抗肿瘤药物研发办公室制定的植物提取物抗肿瘤的有效性标准为  $\text{IC}_{50} \leq 50$  mg/mL<sup>[1]</sup>。

$$\text{细胞增殖抑制率} = (1 - A_{\text{实验}}/A_{\text{空白}}) \times 100\%$$

2.3 生长曲线的绘制:取对数生长期 K562 细胞,用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液配成  $4 \times 10^4/\text{mL}$  单细胞悬液,接种于 12 个 50 mL 的培养瓶中,每瓶 9 mL,置 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养 24 h 后加药,其中 6 瓶加夏枯草注射液 1 mL (3 瓶为含夏枯草生药 50 mg/mL,3 瓶为含夏枯草生药 100 mg/mL),3 瓶加阿霉素 (终质量浓度为 0.2  $\mu\text{g/mL}$ ) 1 mL 为阳性对照组,3 瓶加生理盐水 1 mL 为空白对照。同时设本底对照,加入等体积的无细胞培养液及相应浓度的药物,同等条件下培养,从加药第 1 天开始,每天各取 1 mL 接种至 96 孔板中进行 MTT 比色试验 (方法同前),连续 7 d,测出  $A$  值,计算细胞存活率,取每组 3 瓶的平均数,最后以  $A$  值对时间作图,绘制生长曲线,同时每天于加 MTT 4 h 后光镜下观察 K562 细胞形态特征。

### 2.4 夏枯草诱导 K562 细胞凋亡的检测

2.4.1 细胞凋亡的诱导:取对数生长期 K562 细胞,用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液配成  $1 \times 10^5/\text{mL}$  单细胞悬液,分别接种于 50 mL 培养瓶中,每瓶 9 mL,置 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养 24 h 后,分别加入含夏枯草生药 50 mg/mL 夏枯草注射液 (处理组) 及同体积的生理盐水 (对照组),同等条件下继续培养,收集一定作用时间的细胞作凋亡的检测。

2.4.2 细胞形态观察:分别取处理组及对照组作用 24、48、72 h 的 K562 细胞,先在倒置显微镜下观察细胞形态;然后从对照组及处理组各取样 90  $\mu\text{L}$  移

入小试管中,加 10  $\mu\text{L}$  0.4% 台盼蓝染液混匀,5 min 内用血球计数板观察细胞着色情况;最后收集细胞 Giemsa 染色 10~15 min,二甲苯透明,中性树脂封固,图像分析系统下观察并储存图片。

2.4.3 流式细胞仪检测细胞凋亡:将经夏枯草注射液处理 48 h 及对照组的 K562 细胞,分别收集于离心管中,800~1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,用 PBS 缓冲液洗 2 次,经 400 目筛网滤过后移入已硅化的玻璃管中,取  $1\times 10^6$  个细胞,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,加入 RNaseA 至终质量浓度为 50  $\mu\text{g/mL}$ ,在 37  $^{\circ}\text{C}$  水浴中保温 30 min,加入碘化丙啶 (PI) 至终质量浓度为 50  $\mu\text{g/mL}$ ,在 4  $^{\circ}\text{C}$  下避光染色 20 min,染色后 4 h 内以流式细胞仪测定细胞 DNA 水平,并用 Multicycle 软件分析。

2.4.4 免疫细胞化学法检测凋亡相关基因蛋白的表达:将玻片在 1:10 倍稀释的多聚赖氨酸中浸泡 5 min,干燥过夜,将经夏枯草注射液处理 48 h 及对照组的 K562 细胞分别收集于离心管中,按免疫组化染色试剂盒操作说明进行,免疫细胞化学染色结果经 HPIAS-100 型高清晰度彩色病理图文分析系统定量并储存图片。

2.5 统计学处理:实验数据采用 SPSS10.0 统计软件处理,多组均数比较用单因素方差分析 (One-way ANOVA),方差不齐时,进行变量转换。实验组与对照组比较用 Dunnett's T 检验,实验组与对照组之间两两比较用 LSD 检验,实验组药物剂量与细胞生长抑制率之间采用相关分析,加药组与对照组凋亡率及凋亡基因蛋白表达的比较采用  $t$  检验,结果均以  $\bar{x}\pm s$  表示。

3 结果

3.1 对 K562 细胞增殖的抑制作用:见表 1。各质量浓度夏枯草注射液对 K562 细胞的增殖有较强的抑制作用,与空白对照组相比差异非常显著 ( $P<0.01$ ),且在一定剂量范围内随着夏枯草质量浓度的增加,抑制率越来越高,具有明显的剂量依赖性,以抑制率对质量浓度进行线性回归,回归方程为  $Y=11.35+0.64 X, r=0.985 0$ 。求得  $\text{IC}_{50}$  为  $(57.65\pm 3.58)$   $\text{mg/mL}$ 。阳性对照药阿霉素的  $\text{IC}_{50}$  为  $(0.21\pm 0.002)$   $\mu\text{g/mL}$ 。

3.2 对 K562 细胞生长的抑制作用:MTT 法检测夏枯草注射液作用于 K562 细胞 1~7 d 后的细胞活力,实验结果表明,夏枯草注射液 (50、100  $\text{mg/mL}$ ) 对 K562 细胞的生长均有抑制作用,且呈明显剂量依赖关系 (每天 3 组两两相比,差异均非常显

表 1 夏枯草注射液对 K562 细胞增殖的抑制作用 ( $\bar{x}\pm s, n=12$ )

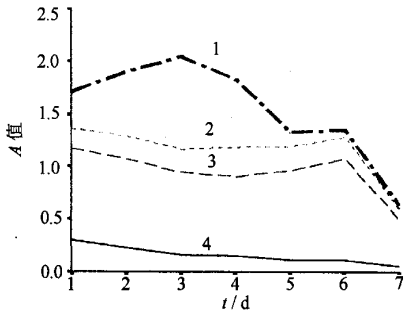
Table 1 Inhibition of PVI on proliferation of K562 cells ( $\bar{x}\pm s, n=12$ )

组 别	$\rho$	$A_{750}$	细胞生长抑制率/%
空白对照	0	$1.83\pm 0.104$	—
夏枯草注射液	26.3 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	$1.36\pm 0.060^{**}$	$25.59\pm 1.13$
	39.5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	$1.22\pm 0.054^{**}$	$33.42\pm 0.90$
	59.2 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	$0.87\pm 0.037^{**}$	$52.32\pm 1.09$
	88.9 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	$0.41\pm 0.120^{**}$	$74.35\pm 0.55$
	133.0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	$0.16\pm 0.024^{**}$	$91.22\pm 1.42$
阿霉素	0.039 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$1.60\pm 0.100^{**}$	$12.58\pm 0.79$
	0.156 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$1.21\pm 0.063^{**}$	$34.17\pm 0.38$
	0.625 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$0.21\pm 0.023^{**}$	$88.32\pm 1.02$
	2.500 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$0.07\pm 0.021^{**}$	$96.16\pm 0.68$
	10.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$0.03\pm 0.014^{**}$	$98.19\pm 0.21$

与对照组比较:  $^{**}P<0.01$

$^{**}P<0.01$  vs control group

著 ( $P<0.01$ ),经 50  $\text{mg/mL}$  夏枯草注射液处理的细胞,细胞存活率于第 3 天降至最低,最后,逐渐部分恢复生长。而 100  $\text{mg/mL}$  夏枯草注射液处理的细胞,细胞生长从第 3 天起呈明显抑制状态,持续至第 7 天。见图 1。



1-正常对照 2-夏枯草注射液 (50  $\text{mg/mL}$ )  
3-阿霉素 (0.2  $\mu\text{g/mL}$ ) 4-夏枯草注射液 (100  $\text{mg/mL}$ )  
1-normal control 2-PVI (50  $\text{mg/mL}$ )  
3-Adriamycin (0.2  $\mu\text{g/mL}$ ) 4-PVI (100  $\text{mg/mL}$ )

图 1 K562 细胞生长曲线

Fig.1 Growth curve of K562 cells

3.3 夏枯草注射液诱导 K562 细胞凋亡

3.3.1 K562 细胞形态学观察:经夏枯草注射液处理的 K562 细胞与未经处理的 K562 细胞比较,在形态学上发生显著的变化,倒置显微镜下观察,对照组细胞悬浮生长,胞体为圆形,核大而圆,位于细胞中央,而夏枯草注射液处理 24 h 后,细胞体积变小,细胞形态发生改变,呈椭圆形、杆形和哑铃形,细胞内颗粒增多,细胞密度下降,且随着作用时间延长,视野中的正常细胞减少,形成许多彼此黏附成簇的台盼蓝拒染的凋亡小体。对照组及经夏枯草处理组,加入 MTT 共同培养 4 h 后,在普通光学显微镜下

观察,对照组细胞呈圆形,结构完整,胞浆连续,形成的蓝紫色结晶比较均一。而处理组细胞形态不圆整,体积变小,边缘有起泡现象,形成的蓝紫色结晶在细胞边缘聚集,成新月体状或边界分明的颗粒块状浓染区域,部分细胞呈空泡状,无蓝紫色结晶沉着,经 Giemsa 染色后油镜下观察,可看到渐进性的较为典型的细胞凋亡的形态学特征,先是细胞体积变小,然后染色质浓缩聚集,核碎裂,然后随胞膜一起离开胞体,形成凋亡小体。

3.3.2 流式细胞术分析细胞凋亡:夏枯草注射液 50 mg/mL 作用于 K562 细胞 48 h 后以流式细胞仪分析细胞 DNA 水平直方图,可见典型的 DNA 水平小于二倍体的亚 G<sub>1</sub> 凋亡峰,凋亡率为 (37.15±1.46)%,较对照组细胞凋亡率 (5.56±0.68)% 增高 ( $P<0.01$ )。

3.3.3 凋亡相关基因蛋白表达:表 2 为免疫细胞化学染色后显微图像分析系统测定所得的吸光度 (A) 值。可见 50 mg/mL 夏枯草注射液处理 K562 细胞 48 h, bcl-2 蛋白表达减弱,而 bax 蛋白表达增强,对照组与加药组间差异显著 ( $P<0.01$ ), bcl-2 与 bax 蛋白主要分布在胞浆和核膜周围,细胞浆上有棕黄色或棕褐色颗粒着色为阳性特征。

表 2 夏枯草注射液处理 K562 细胞 48 h 后 bcl-2 及 bax 蛋白的表达 ( $n=7$ )

Table 2 Expression of protein bcl-2 and protein bax of K562 cells after treated by PVI for 48 h ( $n=7$ )

组别	bcl-2		bax	
	检测细胞数	A 值 ( $\bar{x}\pm s$ )	检测细胞数	A 值 ( $\bar{x}\pm s$ )
对照	135	8.38±2.77	96	2.77±0.76
夏枯草注射液 (50 mg·mL <sup>-1</sup> )	74	3.20±0.98***	67	6.64±1.45***

与对照组比较:\*\*\* $P<0.001$

\*\*\* $P<0.001$  vs control group

4 讨论

4.1 夏枯草具有抗肿瘤细胞增殖的作用:本实验用 MTT 实验首次观察了夏枯草注射液对 K562 细胞增殖的影响,结果表明,夏枯草注射液具有明显抑制 K562 细胞增殖的作用,其 IC<sub>50</sub> 为 (57.65±3.58) mg/mL。根据夏枯草生药 1 kg 可制得夏枯草粗提物 1.96 g 计算, IC<sub>50</sub> 值 (夏枯草粗提物质量浓度) 为 0.113 mg/mL,符合南美抗肿瘤药物研发办公室制定的 IC<sub>50</sub>≤50 mg/mL 认为有效的标准,其抑制作用呈明显的剂量依赖关系。从细胞生长曲线可以看出,夏枯草 (50 mg/mL) 作用于 K562 细胞后,细胞存活率均于第 3 天降至最低,随后能部分恢复生

长。夏枯草 (100 mg/mL) 作用于 K562 细胞后,从第 3 天起细胞生长呈明显抑制状态,持续至第 7 天。因此,夏枯草可望成为新的抗肿瘤药物。

4.2 夏枯草可诱导肿瘤细胞凋亡:慢性粒细胞白血病 (CML) 是一种起源于骨髓造血干细胞的克隆性疾病,临床上表现为髓系的恶性扩增。近年研究表明,CML 患者祖细胞的增殖率与正常人相比并不增加,说明细胞增殖失控并非 CML 的发病机制,而凋亡受抑在其发病机制的研究中受到越来越多的关注,提示诱导细胞凋亡将是 CML 治疗的一条新途径。人类红白血病细胞系 K562 是由 Lozzio 等<sup>[2]</sup>于 1975 年从 1 例处于原始细胞危象的慢性髓系白血病患者胸腔渗出液中建立的,因其具有费城染色体 (Ph) 及 bcr/abl 融合基因,常被用于 CML 的体外研究。本研究发现,夏枯草注射液抑制 K562 细胞的生长是通过诱导 K562 细胞凋亡而发挥作用的,表现为夏枯草注射液作用于 K562 细胞一定时间后台盼蓝染色拒染表明其细胞膜完好,为非坏死细胞,倒置显微镜下可见细胞体积变小,细胞形态发生改变,最后形成膜包小体,加入 MTT 孵育 4 h 后,可见形成的蓝紫色结晶在细胞边缘聚集,部分细胞成空泡状,无蓝紫色结晶沉着。以 Giemsa 染色后油镜下观察可看到典型的细胞凋亡的形态学特征,如细胞皱缩,染色质浓缩聚集,核破碎,凋亡小体形成等。流式细胞仪分析可见 K562 细胞经夏枯草注射液处理 48 h 后,在 DNA 直方图上,可见明显的亚二倍体凋亡峰。以上结果表明,诱导肿瘤细胞凋亡是夏枯草注射液的抗肿瘤作用机制之一。

4.3 夏枯草引起 bcl-2 蛋白表达减弱及 bax 蛋白表达增强:McGahon 等<sup>[8]</sup>研究发现 K562 细胞对多种化疗药物诱导的凋亡有很强的抵抗性,这种抗凋亡的机制可能与 CML 特征性 bcr/abl 融合基因所表达的 P210<sup>bcr/abl</sup> 融合蛋白具有很强的酪氨酸激酶 (TK) 活性有关<sup>[4]</sup>。另外 bcl-2 基因家族也参与 K562 细胞凋亡的调控, bcl-2 家族中的 bcl-2 和 bax 是一对调节细胞凋亡的重要基因,它们的比率影响着肿瘤细胞对各种凋亡刺激因子的敏感性和抵抗性,最终决定细胞的生存和死亡。本研究结果显示,夏枯草注射液可导致 bcl-2 蛋白表达减弱及 bax 蛋白表达增强,二者可能是夏枯草注射液诱导 K562 细胞凋亡的原因之一,在诱导凋亡过程中起协同作用。另外,夏枯草中含有的黄酮类化合物能抑制细胞信号传导过程中的酪氨酸蛋白激酶活性<sup>[5]</sup>,而 K562 细胞对凋亡的抗性可能与其 P210<sup>bcr/abl</sup> 融合蛋白具

有很强的酪氨酸激酶的活性有关。因此,夏枯草是否通过抑制酪氨酸激酶活性而诱导 K562 细胞凋亡,尚需进一步研究。

综上所述夏枯草注射液具有较强的抗肿瘤作用,其发挥抗肿瘤作用的机制之一在于诱导肿瘤细胞凋亡。本实验仅探讨了夏枯草注射液在体外对 K562 细胞增殖及对 K562 细胞凋亡的影响,其在体内对细胞凋亡的影响尚不清楚,其抗肿瘤作用的分子机制还有待于进一步研究。此外,本实验目前仅用夏枯草粗提物进行了抗白血病和诱导细胞凋亡的探讨,今后还有待于分离鉴定抗肿瘤的活性单体,并在单体水平上进一步对夏枯草的作用机制进行较深入的探讨,以便将其开发成抗肿瘤新药用于临床治疗。

#### References:

- [1] Mans D R, Rocha A B, Schwartzmann G. Anticancer drugs discovery and development in Brazil: Targeted plant collection as a rational strategy to acquire candidate anticancer compounds [J]. *Oncologist*, 2000, 5(3): 185-198.
- [2] Lozzio C B, Lozzio B B. Human chronic myelogenous leukemia cell-line with positive Philadelphia chromosome [J]. *Blood*, 1975, 45(3): 321-334.
- [3] McGahon A, Bissonnette R, Schmitt M, et al. BCR/ABL maintains resistance of chronic myelogenous leukemia cells to apoptotic cell death [J]. *Blood*, 1994, 83(5): 1179-1187.
- [4] Wang J Y. Regulation of cell death by the Abl tyrosine kinase [J]. *Oncogene*, 2000, 19(49): 5643-5650.
- [5] Blankson H, Grotteron E M, Seglen P O. Prevention of toxin-induced cytoskeletal disruption and apoptotic liver cell death by the grapefruit flavonoid, naringin [J]. *Cell Death Differ*, 2000, 7(8): 739-746.

## 石菖蒲及其有效成分 $\alpha$ -细辛醚对癫痫幼鼠运动行为和记忆功能的影响

杨立彬<sup>1</sup>, 李树蕾<sup>2\*</sup>, 黄艳智<sup>3</sup>, 梁建民<sup>1</sup>, 王宇虹<sup>4</sup>, 张淑琴<sup>4</sup>

(1. 吉林大学第一医院 儿科, 吉林 长春 130021; 2. 吉林大学基础医学院 组胚教研室, 吉林 长春 130021;  
3. 长春市儿童医院, 吉林 长春 130021; 4. 吉林大学第一医院 神经内科, 吉林 长春 130021)

**摘要:**目的 探讨石菖蒲及其成分  $\alpha$ -细辛醚对戊四氮 (PTZ) 诱发的实验性癫痫幼鼠运动行为和空间学习记忆能力的影响。方法 Wistar 幼鼠随机分为正常对照组 (NC) 和致痫模型组 (A)、苯巴比妥钠组 (B)、石菖蒲组 (C)、 $\alpha$ -细辛醚组 (D), 以 ip PTZ 60 mg/kg 建立癫痫模型, 各组 ig 给药。动态观察各组幼鼠在斜板试验、悬吊试验、自主活动试验中行为运动的变化以及在 Morris 水迷宫试验中空间学习记忆能力的改变。结果 A 组动物的转体能力、悬吊能力、自主活动能力和空间学习记忆能力明显下降, 与惊厥发作严重程度呈正相关, B 组次之, 与其他各组比较差异均显著 ( $P < 0.05$ )。而 C 组、D 组各项结果与正常对照组比较差异不显著。结论 PTZ 诱发的幼鼠多次惊厥发作损害其行为运动能力和空间学习记忆能力, 与苯巴比妥钠相比,  $\alpha$ -细辛醚和石菖蒲能够有效地逆转 PTZ 所致的损害。

**关键词:** 石菖蒲;  $\alpha$ -细辛醚; 苯巴比妥钠; 癫痫

**中图分类号:** R286.16

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0253-2670(2005)07-1035-04

### Effect of *Acorus gramineus* and its active component $\alpha$ -asarone on behavior and memory function of epileptic young rats

YANG Li-bin<sup>1</sup>, LI Shu-lei<sup>2</sup>, HUANG Yan-zhi<sup>3</sup>, LIANG Jian-min<sup>1</sup>, WANG Yu-hong<sup>4</sup>, ZHANG Shu-qin<sup>4</sup>

(1. Department of Pediatrics, The First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, China; 2. Department of Histology and Embryology, Basic Medical College of Jilin University, Changchun 130021, China;  
3. Children's Hospital of Changchun City, Changchun 130021, China; 4. Department of Neurology, The First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, China)

**Abstract: Objective** To explore the effect of *Acorus gramineus* and its component  $\alpha$ -asarone on the ability of the experimental young rats with epilepsy induced by pentylenetetrazol (PTZ) to move and memorize. **Methods** Wistar young rats were randomly divided into normal control group (NC), epileptic model group (A), phenobarbital sodium group (B), *A. gramineus* group (C), and  $\alpha$ -asarone group (D). The epileptic model was established by ip PTZ 60 mg/kg and rats in all groups were given the tested drugs by

收稿日期: 2004-12-20

基金项目: 吉林省科委自然科学基金资助项目 (20030430); 吉林省中医药管理局资助项目 (2004-079)

作者简介: 杨立彬 (1968—), 男, 吉林省长春市人, 副主任医师, 副教授, 医学博士, 主要从事儿神经医学。

Tel: 13944930624 E-mail: yanglibin1968@tom.com

\* 通讯作者 李树蕾 Tel: 13504316256 E-mail: lishulei@tom.com