

• 药理与临床 •

姜黄素对小鼠腹水型肝癌高淋巴道转移细胞株(HCa-F)
生物学行为的影响张宏颖^{1,2}, 刘春平², 唐建武², 许国旺^{1*}

(1. 中国科学院大连化学物理研究所 国家色谱研究分析中心, 辽宁 大连 116023;

2. 大连医科大学 病理学教研室, 辽宁 大连 116027)

摘要:目的 研究姜黄素对小鼠腹水型肝癌高淋巴道转移细胞株(HCa-F)生长和转移行为的影响。方法 体外实验中用15~250 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素分别处理HCa-F细胞48 h,以MTT法检测HCa-F细胞的生长活性;以生长曲线评估姜黄素对细胞增殖的影响;以流式细胞仪检测姜黄素对细胞周期分布的影响。体内实验中,于615小鼠腹腔、足垫接种HCa-F细胞,通过ip给药的方法,观察姜黄素对腹腔接种HCa-F细胞的615小鼠生存率的影响和对HCa-F细胞在615小鼠淋巴道转移的影响。结果 姜黄素可抑制HCa-F细胞的生长,对HCa-F细胞生长抑制率为7.23%~82.23%,呈剂量依赖性,IC₅₀为51.48 $\mu\text{mol/L}$ 。以非细胞毒性最大剂量15 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素作用48 h后,HCa-F细胞的群体倍增时间增加,生长速度受到抑制,细胞周期被重新分布,阻滞于S期。姜黄素ip给药50 mg/kg抑制小鼠腹水瘤的生长,延长荷瘤小鼠的生存期,使瘤细胞淋巴道转移率从70%下降到40%。结论 姜黄素可抑制小鼠腹水型肝癌高淋巴道转移细胞株(HCa-F)的增殖与转移。

关键词:姜黄素;小鼠腹水型肝癌细胞株(HCa-F);转移

中图分类号:R286.91 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2005)11-1663-05

Effect of curcumin on biological behavior of ascitic hepatocarcinoma cell strain
with high metastatic potential in lymphatic system of mice (HCa-F)ZHANG Hong-ying^{1,2}, LIU Chun-ping², TANG Jian-wu², XU Guo-wang¹

(1. National Chromatographic Research and Analysis Center, Dalian Institute of Chemical Physics,

Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China; 2. Department of Pathology,

Dalian Medical University, Dalian 116027, China)

Abstract: **Objective** To observe the effect of curcumin on biological behavior such as proliferation and metastatic of ascitic hepatocarcinoma cell strain with high metastatic potential in lymphatic system of mice (HCa-F). **Methods** *In vitro*, HCa-F cells were pretreated by curcumin at the concentration of 15~250 $\mu\text{mol/L}$ for 48 h, the growth of HCa-F cells was studied by MTT assay, the effect of curcumin on cell proliferation was observed by making growth curve, and the effect of curcumin on cell cycle distribution was evaluated by flow cytometry (FCM). *In vivo*, HCa-F cells were inoculated to 615 mice via abdominal cavity and feet pads and the mice with HCa-F cells were given curcumin (50 mg/kg, ip). Effect of curcumin on the formation of ascites, the life span of mice, and the rates of metastasis in lymphatic system of mice were studied. **Results** The growth inhibition rates of curcumin on HCa-F reached 7.23%~82.23% in a dose-dependent manner and IC₅₀ was 51.48 $\mu\text{mol/L}$. The growth speed of HCa-F cells treated by the maximum uncytotoxicity dose of curcumin 15 $\mu\text{mol/L}$ for 48 h was inhibited, the multiplication time of HCa-F cells was increased, and the cell cycle was redistributed with cells being arrested in S phase. Curcumin to tumor-bearing mice (50 mg/kg, ip) could inhibit the growth of ascitic hepatocarcinoma, prolong the life span, and reduce the metastatic rate in lymphatic system from 70% to 40% significantly. **Conclusion** Curcumin could inhibit the proliferation and metastasis of HCa-F cells of ascitic hepatocarcinoma in lymphatic system of mice.

Key words: curcumin; murine ascitic hepatocarcinoma cell strain (HCa-F); metastasis

收稿日期: 2005-03-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(90209048); 中国科学院重大方向性项目(KSCX2-SW-329, KGCX2-SW-213)

作者简介: 张宏颖(1966—), 女, 黑龙江人, 博士, 病理学副教授, 硕士生导师, 从事中药抗肿瘤转移机制及中药代谢组学研究。

Tel: (0411) 84379532 E-mail: IrisLX@tom.com

* 通讯作者 许国旺 Tel: (0411) 84379530 E-mail: dicp402@mail.dlptt.ln.cn

肿瘤的侵袭与转移的特性一直是肿瘤难以得到彻底根治的主要原因,因此寻找高效低毒的天然抗肿瘤转移的药物对提高肿瘤化疗水平具有重要意义。姜黄素是从多年生的草本植物姜黄 *Curcuma Longa* L. 中提取的一种酚类色素,已广泛用于食品添加剂和染料中。已知其具有抗氧化、抗炎、调血脂、抗诱变和抗肿瘤等药理活性。1995年以来许多研究表明姜黄素具有抗肿瘤转移活性,可抑制 B16F10 黑色素瘤细胞诱导的肺转移,抑制高转移人肺癌细胞亚系 PGCL3 的恶性表型等^[1,2]。但已经报道的姜黄素抗肿瘤转移的多数研究以血道转移的贴壁型肿瘤细胞为实验材料,尚未见姜黄素对小鼠腹水型肝癌淋巴道转移细胞株作用的报道。本研究以小鼠腹水型肝癌高淋巴道转移细胞株 (HCa-F) 为模型,研究姜黄素对 HCa-F 细胞生物学行为的影响,为姜黄素治疗恶性肿瘤淋巴道转移提供一定的实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞株:小鼠腹水型肝癌高淋巴道转移细胞株 (HCa-F),由大连医科大学病理学教研室建株并保存。体外实验中将 1×10^5 /mL 第2代小鼠腹水肿瘤细胞接种于含 10% 新生牛血清、80 U/mL 庆大霉素、pH 7.2 的 RPMI-1640 培养液中培养,置 37℃、5% CO₂ 培养箱中维持。体内实验中将细胞调到所需的浓度。

1.2 动物:近交系 615 小鼠,雌雄兼用,6~8 周龄,体重 18~22 g,由大连医科大学实验动物中心提供(实验动物生产许可证 SCXK (辽) 2002-0002,实验动物使用许可证 SYXK (辽) 2002-0005)。

1.3 试剂及仪器:姜黄素,分子式为 C₂₁H₂₀O₆,相对分子质量为 368.39,为上海试剂三厂产品,分析纯,批号 61024。RPMI-1640 培养基为 Gibco 公司产品。四甲基偶氮唑盐 (MTT)、二甲基亚砜 (DMSO) 均为美国 Sigma 公司产品。新生牛血清为杭州生物制品公司产品。碘化丙啶 (DAPI) 为德国 Partec 公司产品。Multiskan Mk3 型 ELISA 酶标仪为芬兰 Labsystem 公司产品,EPICS XL 流式细胞仪为美国 Coulter 公司产品。

1.4 姜黄素溶液的配制:将姜黄素粉末用少量 1 mol/L NaOH 溶解,调节 pH 至 7.2,加入培养液使之成为 1 mmol/L 母液,滤过除菌,避光 4℃ 保存,每次实验前用培养液稀释至所需浓度;将姜黄素粉末用 2.5% 的乙醇溶解,参照文献方法^[3]配成相应质量浓度的溶液以供小鼠 ip 给药用。

1.5 体外实验

1.5.1 细胞体外生长活性检测:采用 MTT 法。实验设药物实验组、阴性对照组和空白对照组。药物实验组加入不同浓度的姜黄素溶液,阴性对照组仅加细胞不加药物,空白对照组不加细胞和药物。取对数生长期的 HCa-F 细胞,以 1×10^5 /mL 接种于 96 孔板,每孔 100 μL。再加入 100 μL 姜黄素溶液,使姜黄素的终浓度分别为 250.0、125.0、62.5、31.3、15.6 μmol/L 和 240.0、120.0、60.0、30.0、15.0 μmol/L。每孔细胞数为 1×10^4 个,每一浓度设 3 个平行孔。对照组也各设 3 个平行孔。振荡器振荡后,置于 37℃、5% CO₂ 恒温箱中温育 48 h,每孔加入 5 mg/mL MTT 20 μL,继续保温 4 h。离心弃上清液,每孔加入 200 μL DMSO,振荡,在 ELISA 酶标仪上测定 570 nm 处吸光度 (A) 值,计算存活率。绘制细胞生长曲线,求得半数抑制浓度 (IC₅₀)。选取存活率大于 90% 的药物浓度为非细胞毒性最大药物剂量。

$$\text{存活率} = (A_{\text{实验}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}) \times 100\%$$

$$\text{细胞生长抑制率} = 1 - \text{存活率}$$

1.5.2 生长曲线和群体倍增时间测定:取生长状态良好的 HCa-F 细胞,分别设对照组和药物组。对照组用含 10% 新生牛血清的 RPMI-1640 培养液制成 1×10^4 /mL 细胞悬液,药物组用非细胞毒性药物最大剂量作用细胞,细胞数为 1×10^4 /mL。将制备好的两组细胞接种到 24 孔板中 (每孔 1 mL),每隔 24 h,每组取 3 个样品,计数细胞数,取其平均值,连续观察 7 d。以时间为横坐标,细胞数为纵坐标绘制生长曲线。根据 Patterson 公式计算细胞在对数生长期的倍增时间 (T_D)。

$$T_D = t \lg 2 / \lg (N_t / N_0)$$

式中 T_D 为倍增时间 (h),t 为培养时间 (h),N₀、N_t 分别为接种时及培养 t 小时的细胞数

1.5.3 细胞周期测定:取 1×10^6 个 HCa-F 细胞接种于 100 mL 培养瓶中,设对照组和药物组,药物组姜黄素终浓度为非细胞毒性最大剂量,培养 48 h。用冷的生理盐水洗 2 次,缓慢加入 -20℃ 预冷无水乙醇 1 mL 进行固定,置 4℃ 保存待测。将固定的细胞离心,弃乙醇,用冷生理盐水洗 2 次,DAPI 染液混合,4℃ 放置 30 min,以流式细胞仪做 DNA 分析,激发波长为 488 nm。用 Modfit2.0 软件分析细胞周期的分布。

1.6 体内实验

1.6.1 姜黄素对腹腔接种 HCa-F 细胞的 615 小鼠生存率的影响:取 16 只 615 小鼠,每只小鼠腹腔接种 0.2 mL 第2代腹水原液 (含 HCa-F 细胞 $6 \times$

10⁷个),随机分成2组,每组8只。次日,实验组给予最佳剂量的姜黄素溶液 0.5 mL (50 mg/kg)^[3],对照组给予同样剂量的生理盐水,均采用 ip 给药,连续7 d。记录小鼠死亡时间,比较10、20和30 d 两组小鼠的存活率。

1.6.2 姜黄素对接种 HCa-F 细胞的小鼠体内淋巴道转移的影响:20只615小鼠,每只小鼠右足垫皮下接种 0.05 mL 第2代腹水原液(含 HCa-F 细胞 2×10⁶个)后,随机分成2组,每组10只。次日,实验组给予最佳剂量的姜黄素溶液 0.5 mL (50 mg/kg),对照组给予同剂量的生理盐水,均采用 ip 给药,连续15 d。于接种后第28天脱颈处死小鼠,解剖取局部瘤,双侧腋窝、腹股沟、腋窝淋巴结,固定于10%甲醛缓冲液中,石蜡包埋,HE染色,制作病理切片,显微镜下观察淋巴结转移情况。

1.7 统计学分析:所有体外实验结果均来自至少3组平行或3次重复实验。采用单因素方差分析或 χ^2 检验,经 SPSS10.0 软件处理统计学检验结果。

2 结果

2.1 姜黄素对 HCa-F 细胞生长的抑制作用:结果见表1。以 MTT 法检测姜黄素 15~250 $\mu\text{mol/L}$ 作用48 h 后对 HCa-F 细胞的作用,结果表明姜黄素对 HCa-F 细胞生长有明显的抑制作用,且呈剂量依赖性,生长抑制率为 7.23%~82.23%。经方差分析,10种浓度姜黄素对 HCa-F 细胞生长的抑制率差异显著($P<0.05$)。当姜黄素为 15 $\mu\text{mol/L}$ 时,细胞存活率大于90%,此浓度即为非细胞毒性最大剂量。通过量效曲线求出姜黄素对 HCa-F 细胞生长的 IC₅₀ 为 51.48 $\mu\text{mol/L}$ 。

表1 姜黄素对 HCa-F 细胞体外生长的抑制作用 ($\bar{x}\pm s$, $n=9$)

Table 1 Inhibition of curcumin on growth of HCa-F cells in vitro ($\bar{x}\pm s$, $n=9$)

组别	浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	A 值	生长抑制率/%
对照	0	0.910±0.069	—
姜黄素	15.0	0.865±0.040	7.23
	15.6	0.748±0.047*	17.80
	30.0	0.651±0.008**	28.50
	31.3	0.551±0.064**	41.98
	60.0	0.315±0.025**	65.38
	62.5	0.291±0.027**	68.02
	120.0	0.214±0.015**	76.45
	125.0	0.205±0.009**	77.44
	240.0	0.193±0.017**	78.75
	250.0	0.162±0.006**	82.23

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group

2.2 姜黄素对 HCa-F 细胞群体倍增时间和细胞生

长曲线的影响:15 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素可使 HCa-F 细胞的群体倍增时间显著增加,对照组 HCa-F 细胞的群体倍增时间为 (24.82±0.29) h,姜黄素作用2 d 后,实验组群体倍增时间增加为 (45.29±0.53) h ($P<0.01$)。姜黄素对 HCa-F 细胞生长曲线的影响见图1,可见对照组和实验组同时接种 1×10⁴/mL 细胞后,连续观察7 d,15 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素显著抑制 HCa-F 细胞的生长,经 t 检验,差异显著 ($n=18$, $P<0.01$),并且随着时间的延长,抑制效果越显著 ($P<0.01$)。

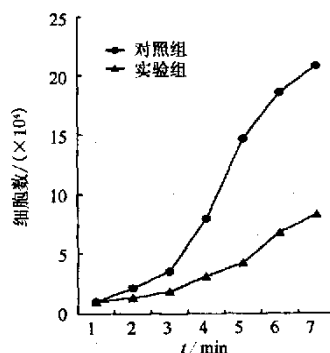


图1 姜黄素对 HCa-F 细胞生长曲线的影响 ($n=18$)

Fig. 1 Effect of curcumin on growth curve of HCa-F cells ($n=18$)

2.3 姜黄素对 HCa-F 细胞周期时相分布的影响:15 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素作用 HCa-F 细胞48 h 后的流式细胞仪细胞周期图像分析结果见表2。经 χ^2 检验,两组差异显著 ($P<0.01$),表明姜黄素可使 HCa-F 细胞周期重新分布, HCa-F 细胞阻滞于 S 期,细胞不能有效地进入下一个周期时相进行分裂。

表2 姜黄素对 HCa-F 细胞周期分布的影响

Table 2 Effect of curcumin on cell cycle distribution of HCa-F cells

组别	细胞周期分布/%		
	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
对照	20.10	67.58	12.31
实验	12.52**	87.48**	0**

与对照组比较: ** $P<0.01$

** $P<0.01$ vs control group

2.4 姜黄素对腹腔接种 HCa-F 细胞的 615 小鼠生存率的影响:结果见图2。发现对照组腹水形成早于实验组,而且腹水量大于实验组,实验组腹水生成受到明显抑制。7 d 时对照组小鼠开始出现死亡;10 d 时,对照组小鼠的生存率为 50%,实验组小鼠的生存率为 100%;20 d 时,对照组小鼠的生存率为 0,实验组小鼠的生存率为 87.5%;30 d 时,对照组小

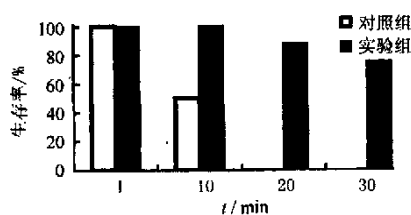


图2 姜黄素对腹腔接种 HCa-F 细胞的 615 小鼠生存率的影响 ($n=8$)

Fig.2 Effect of curcumin on survival rate of 615 mice with abdomen-inoculated HCa-F cells ($n=8$)

鼠生存率为 0, 实验组小鼠的生存率为 75%, 实验组小鼠生存率明显提高, 生存期明显延长。经 χ^2 检验, $P<0.01$, 表明给药组与对照组小鼠的生存率差异非常显著, 姜黄素可以显著延长荷瘤小鼠的生存期。

2.5 姜黄素对 615 小鼠 HCa-F 细胞淋巴道转移的影响: 接种 HCa-F 细胞的小鼠 ip 给予 50 mg/kg 姜黄素 15 d, 实验组 HCa-F 淋巴结转移率为 40%, 较对照组淋巴结转移率 70% 明显下降, 经 χ^2 检验, 差异显著 ($P<0.01$)。

3 讨论

肿瘤是危害人类身体健康的主要疾病之一, 其发病率呈逐年上升的趋势, 因此寻找安全高效的药物是肿瘤治疗的重要课题。近年研究发现姜黄素具有一定的抗肿瘤作用, 且不良反应少, 成为研究的热点^[4,5]。1995 年 Menon 等^[1]首次报道姜黄素可抑制小鼠 B16F10 肺转移, 使肺肿瘤结节明显减少, 生存期延长, 但目前尚未见姜黄素对肿瘤淋巴道转移能力影响的报道。小鼠腹水型肝癌高淋巴道转移细胞株 (HCa-F) 呈自由悬浮式生长, 在处理培养时可以与药物充分接触, 因而在研究药物抗肿瘤的作用机制时, 它具有贴壁生长细胞所不可比拟的优势。本实验以 HCa-F 细胞为模型, 通过体外和体内实验初步研究了姜黄素对 HCa-F 细胞生长及转移的抑制作用。结果表明姜黄素可抑制 HCa-F 细胞的生长, 使群体倍增时间增加, 使 HCa-F 细胞阻滞在 S 期, 肿瘤细胞群体总数下降, 腹水瘤、足垫移植瘤形成能力下降, 癌细胞淋巴道转移力受到抑制, 荷瘤小鼠生存期延长。

本研究利用 MTT 法观察姜黄素对 HCa-F 细胞的毒性作用, 结果表明, 姜黄素可以抑制 HCa-F 细胞的增殖, 并呈剂量反应关系, 非细胞毒性最大剂量为 15 $\mu\text{mol/L}$ 。IC₅₀ 为 51.48 $\mu\text{mol/L}$ 。与文献报道相比, 姜黄素对 HCa-F 细胞的非细胞毒性最大剂

量较小, HCa-F 细胞是迄今为止对姜黄素非常敏感的肿瘤细胞之一。

生长失控是肿瘤细胞的一个重要恶性表现, 本实验发现, 经姜黄素处理后的 HCa-F 细胞的生长受到显著抑制, 群体倍增时间增加, 肿瘤细胞群体总数下降, 该结果与 Rashod 等^[6]报道的姜黄素对肿瘤细胞生长的抑制结果是一致的。Koutla 等^[7]报道, 姜黄素可抑制表皮生长因子与其受体结合所介导的酪氨酸蛋白激酶的活性, 从而抑制细胞增殖信号的转导, 这可能与姜黄素的抗肿瘤细胞增殖和抗癌作用有关。

流式细胞仪细胞周期分析表明, 15 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素可使 HCa-F 细胞聚集在 S 期, 这说明细胞能够通过 G₀/G₁ 检验点进入 S 期, 而不能顺利通过 G₂/M 期, 使大量细胞聚集在 S 期。此结果与 Khafif 等^[8]报道姜黄素将人口腔鳞癌细胞阻滞在 S 期相符, 其机制可能和细胞的再分化有关。因为 DNA 在 S 期解旋、复制, 大量堆积于 S 期, 使药物作用于 DNA 的位点增加, 易于引起基因型的改变, 从而影响细胞的代谢与功能, 导致细胞重新分化^[9]。但此结果却与一般抗肿瘤药物多使细胞停留在 G₀/G₁ 期不再分裂增殖的结果不一致, 这表明姜黄素对不同的肿瘤细胞的分子作用靶点具有特殊性, 其具体的机制尚待进一步研究。

接种 HCa-F 细胞的 615 小鼠 ip 给予 50 mg/kg 姜黄素 7 d 后, 可以延长小鼠的生存期, 推测与姜黄素抑制 HCa-F 腹水的形成有关。这为临床上恶性腹水的治疗提供了一个新的思路。长期以来, 恶性腹水的治疗一直受困扰, 其预后极差, 化疗、放疗及免疫治疗都不能达到满意疗效。本实验结果提示可以把姜黄素作为一种治疗恶性腹水的潜在药物应用于临床实践中, 但其给药剂量、水溶性、药效机制等有待于进一步探讨。

姜黄素 50 mg/kg ip 给药, 可以抑制 HCa-F 细胞足垫接种 615 小鼠的癌细胞淋巴结转移率, 其机制可能与姜黄素抑制 HCa-F 细胞对淋巴系统的亲和力, 降低 IV 胶原酶和 MMPs 分泌等有关, 但尚需进一步研究。

姜黄素抗肿瘤及抗肿瘤侵袭与转移的作用机制是十分复杂和分散的, 作用靶点可以从 DNA 水平到 mRNA 水平、到蛋白质水平均有改变。Lin^[10]认为其主要途径为首先抑制质膜上的蛋白激酶 C (PKC), 再抑制 c-jun/AP-1, 最后抑制对细胞增殖起重要作用的转录基因, 这种抑制作用是通过抑制

相关的酶,如鸟氨酸脱羧酶(ODC)、PKC、环氧合酶、脂氧化酶来实现的,这预示姜黄素这一多方面全方位的抗肿瘤药物具有广阔的发展前景。

References:

- [1] Menon L G, Kuttan R, Kuttan G, et al. Inhibition of lung metastasis in mice induced by B16F10 melanoma cells by polyphenolic compounds [J]. *Cancer Lett*, 1995, 55(1-2): 221-225.
- [2] Shen X M, Huang W, Huang J Q. Effects of curcumin on biological behaviors of a high metastatic human lung cancer subline [J]. *J Guangdong Med Coll* (广东医学院学报), 2002, 19(1): 1-3.
- [3] Kuttan R, Bhanumathy P, Nirmala K, et al. Potential anti-cancer activity of turmeric (*Curcuma longa*) [J]. *Cancer Lett*, 1985, 29(2): 197-202.
- [4] Yuan S J, Han R. The chemoprophylaxis function of curcumin against cancer [J]. *Foreign Med Sci: Cancer Sect* (国外医学:肿瘤学分册), 1997, 24(5): 264-268.
- [5] Lin J K, Pan M H, Lin-shiau S Y. Recent studies on the biofunctions and biotransformations of curcumin [J]. *Biofactors*, 2000, 13(1-4): 153-158.
- [6] Rashod H, Ling Q, Stwen J S. Curcumin, a natural plant phenolic food additive, inhibits all proliferation and induces cell cycle changes in colon adenocarcinoma cell lines by a prostaglandin-independent pathway [J]. *Lab Med*, 1997, 130(6): 576-584.
- [7] Korutla L, Cheung J Y, Mendelsohn J, et al. Inhibition of ligand-induced activation of epidermal growth factor receptor tyrosine phosphorylation by curcumin [J]. *Carcinogenesis*, 1995, 16(8): 1741-1745.
- [8] Khafif A, Schantz S P, Chou T C, et al. Quantitation of chemopreventive synergism between epigallocatechin-3-gallate and curcumin in normal, premalignant and malignant human oral epithelial cells [J]. *Carcinogenesis*, 1998, 19(3): 419-424.
- [9] Zhang Y J, Xia T, Zhao J B. Effects of matrine on the differentiation of SMMC-7721 cell line [J]. *J Fourth Mil Med Univ* (第四军医大学学报), 1998, 19(3): 340-343.
- [10] Lin J K, Shi C A. Inhibitory effect of curcumin on xanthine dehydrogenase/oxidase induced by phorbol-12-myristate-13-acetate in NIH3T3 cells [J]. *Carcinogenesis*, 1994, 15(8): 1717-1721.

淫羊藿提取物对去卵巢大鼠骨转换率增强的抑制作用

解芳^{1,3},张岩^{1,3},吴春福¹,姚新生²,黄文秀^{3,4}

- (1. 沈阳药科大学药学院药理学系, 辽宁 沈阳 110016; 2. 沈阳药科大学中药学院天然药物化学系, 辽宁 沈阳 110016; 3. 国家中药与分子药理重点实验室, 广东 深圳 518057; 4. 香港理工大学应用生物和化学科技学系, 香港 九龙)

摘要:目的 研究淫羊藿提取物对去卵巢大鼠骨转换的影响。方法 取3月龄SD大鼠手术切除双侧卵巢,1个月后将给予阳性药17 β -雌二醇(2 mg/kg)以及淫羊藿提取物混悬液(110 mg/kg),连续给药3个月。采用全自动生化分析仪测定血清中钙(s-Ca)、磷(s-P)的量和碱性磷酸酶(ALP)的活性及尿中钙(u-Ca)、磷(u-P)和肌酐(Cr)的量。利用ELISA试剂盒测定尿脱氧吡啶酚(DPD)的量。取胫骨近端制成不脱钙骨切片进行骨组织形态计量学分析。结果 与假手术组相比,去卵巢大鼠s-Ca、s-P没有变化,ALP活性增强,u-Ca排出显著升高,尿中DPD与Cr的比值(DPD/Cr)显著增加,子宫萎缩。骨小梁面积百分比降低,骨小梁间隙增加。ig给予雌二醇或淫羊藿提取物3个月,血清ALP活性降低,u-Ca排出量减少,尿中DPD/Cr降低,骨小梁增加,且骨小梁间隙减小。雌二醇组大鼠子宫增生,淫羊藿组大鼠子宫与模型组相比没有变化。结论 淫羊藿提取物能够显著抑制由于雌激素缺乏引发的骨转换增强,调整骨形成和骨吸收的关系,对遏制去卵巢造成的骨质疏松有一定的作用,且长期服用对子宫没有刺激作用。

关键词:淫羊藿;骨质疏松;卵巢切除术

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2005)11-1667-04

Inhibitory effect of *Herba Epimedii* extract on bone turn-over of ovariectomized rats

XIE Fang^{1,3}, ZHANG Yan^{1,3}, WU Chun-fu¹, YAO Xin-sheng², WONG Man-sau^{3,4}

- (1. Department of Pharmacology, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2. Department of Natural Products Chemistry, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 3. State Key Laboratory of Chinese Medicine and Molecular Pharmacology, Shenzhen 518057, China; 4. Department of Applied Biology and Chemical Technology, the Hong Kong Polytechnic University, Hong Kong SAR)

Abstract: Objective To investigate the effect of *Herba Epimedii* extract on bone turn-over in ovariectomized rats. **Methods** Three-month old female SD rats were ovariectomized and Sham-operated

收稿日期:2005-03-15

基金项目:香港特别行政区大学教育资助委员会资助(AOE/P-10/01)

作者简介:解芳(1977-),女,山东省德州市人,沈阳药科大学药学院药理专业在读博士,主要从事抗骨质疏松药物的研究,包括体内整体实验以及在分子水平探讨药物作用机制。

Tel: (0755) 26737176 Fax: (0755) 26972852 E-mail: jiefangzhi@yahoo.com