

皮下沉积,促进动脉粥样硬化的形成。因此,通过饮食或药物调节脂质代谢,对于防治心脑血管疾病的发生与发展有重要意义。本实验表明鲜姜有效部位能明显降低高脂血症大鼠的 TG 和 LDL-C,升高 HDL-C,说明其对动脉粥样硬化有防治作用。NO 为血管内皮细胞合成释放的内皮舒张因子(EDRF),能舒张血管,抗血小板聚集,阻止血(白)细胞之间及其与血管内皮细胞之间的黏附,抑制血管平滑肌细胞增殖和迁移,抑制内皮素的生成,并能清除氧自由基,抑制氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)的形成和细胞膜脂质过氧化。这些作用对于维持血管功能的完整性和血管通透性,防止动脉粥样硬化形成有重要意义^[5]。当血管内皮细胞受损伤时,NO 合成与释放减少,上述作用减弱,ox-LDL 生成增加,易致动脉粥样硬化的发生^[6]。此外,增加的 ox-LDL 还可通过干扰受体介导的细胞内 NO 的前体物质 L-精氨酸的储备,抑制 L-精氨酸的合成及释放,使一氧化氮合酶(NOS)表达下调等,进一步减少 NO 的合成,这就造成了动脉粥样硬化发生发展的恶性循环。本实验发现,采用免疫损伤加高脂饲料喂养的方法可显著降低大鼠血清 NO 水平,表明血管内皮细胞受损伤,其分泌 NO 的功能受到抑制,内源性保护作用减弱。鲜姜有效部位能升高血清中 NO,提示其可能对血管内皮细胞具有保护作用。有报道鲜姜能

不同程度地抑制或清除体内的自由基,减少 LDL-C 氧化^[4,7],其内皮保护作用可能与此有关,相关机制尚需进一步探讨。

鲜姜有效部位较完整的保留了鲜姜的主要有效成分,且为固体物质,开发应用更加方便。本实验证实了其对于动脉粥样硬化的有益作用,具有较好的开发前景。

References

- [1] Penna S C, Medeiros M V, Aetainbire F S, et al. Anti-inflammatory effect of the hydralcoholic extract of *Zingiber officinale* rhizomes on rat paw and skin edema [J]. *Phytomedicine*, 2003, 10(5): 381-385.
- [2] Ahmed R S, Seth V, Pasha S T, et al. Influence of dietary ginger (*Zingiber officinale* Rosc) on oxidative stress induced by malathion in rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2000, 38(5): 443-450.
- [3] Bhandari U, Shama J N, Zafar R. The protective action of ethanolic ginger (*Zingiber officinale*) extract in cholesterol fed rabbits [J]. *Ethnopharmacology*, 1998, 61(2): 167-171.
- [4] Fuhman B, Rosenblat M, Hayek T, et al. Ginger extract consumption reduces plasma cholesterol, inhibits LDL oxidation and attenuates development of atherosclerosis in atherosclerotic, apolipoprotein E-deficient mice [J]. *Nutrition*, 2000, 130(5): 1124-1131.
- [5] Chen X, Chen W Z, Zeng G Y. *Cardiovascular Pharmacology* (心血管药理学) [M]. 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2003.
- [6] Xu Y Q, Zhang J H, Tang Z S. Oxidized low density lipoprotein and vascular endothelial cell injury [J]. *Adv Cardiovasc Dis* (心血管病学进展), 2000, 21(1): 26-29.
- [7] Ahmed R S, Seth V, Pasha S T, et al. Influence of dietary ginger (*Zingiber officinale* Rosc) on oxidative stress induced by malathion in rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2000, 38(5): 443-450.

黑木耳多糖对荷瘤小鼠红细胞免疫功能的影响

张秀娟^{1,2}, 耿丹², 于慧茹², 季宇彬^{1*}

(1. 哈尔滨商业大学 生命科学与环境科学中心生物安全评价研究所, 黑龙江 哈尔滨 150076;

2. 哈尔滨商业大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150076)

黑木耳 *Auricularia auricula* (L. ex Hook.) Underw., 为我国珍贵药用及食用保健补品, 具有活血和扶正固本的功效。黑木耳多糖作为其中的有效成分之一, 具有多种生物活性, 如抗肿瘤、促进机体免疫功能, 并有抗衰老和保护细胞作用。本实验研究黑木耳多糖对 S₁₈₀ 和 H₂₂ 荷瘤小鼠红细胞膜流动性和免疫黏附能力的影响。

1 材料

1.1 实验动物及瘤株: 昆明种小鼠, 雌雄各半, 体重 18~22 g, 由哈尔滨市汉方实验鼠类养殖所提供。瘤株: S₁₈₀ 及 H₂₂ 荷瘤小鼠购自哈尔滨医科大学附属市肿瘤医院肿瘤研究所。

1.2 药品与试剂: 精制黑木耳多糖为酶解法提取, 含多糖 91.5%, 由哈尔滨商业大学食品工程学院马永强教授提供。1,6-二苯-1,3,5-己三烯(DPH)为 Sigma 产品, 溶解在四氢呋喃中配成 2×10^{-3} mol/

* 收稿日期: 2005-03-27

基金项目: 黑龙江省自然科学基金资助项目(D0221); 哈尔滨市科技局学科后备带头人基金资助项目(2002A FXXJ029)

作者简介: 张秀娟(1962—), 女, 吉林人, 教授, 博士研究生, 研究方向为抗肿瘤药物研究。

Tel: (0451) 86329239 E-mail: zxjl717@yahoo.com.cn

L, 保存在棕色瓶中, 实验前用等渗 PBS 稀释成 2×10^{-6} mol/L。黄芪多糖由黑龙江省生物制品一厂提供(批号 200111)。肝素钠由上海旭东海普药业有限公司提供。5-氟脲嘧啶 (5-Fu), 上海旭东海普药业有限公司, 批号 031002。生理盐水由哈药六厂提供。豚鼠血清由哈尔滨医科大学提供。

2 方法与结果

2.1 黑木耳多糖对 S_{180} 荷瘤小鼠瘤质量的影响: 将昆明种小鼠随机分为 6 组, 每组 10 只。分别为黑木耳多糖高、中、低剂量 (200、100、50 mg/kg) 组及模型对照(生理盐水)组, 黄芪多糖 (100 mg/kg) 组和 5-Fu (25 mg/kg) 阳性对照组。无菌条件下抽取接种 7 d 生长良好的 S_{180} 荷瘤小鼠腹水, 用无菌生理盐水 1:4 稀释, 按每只 0.2 mL, 腋下接种。接瘤 24 h 后各组 ip 给药, 连续给药 7 d。停药次日将小鼠处死, 取瘤称质量, 计算抑瘤率。结果见表 1。表明低剂量黑木耳多糖对 S_{180} 小鼠仅表现出较弱的抑瘤作用, 中剂量对 S_{180} 小鼠表现较好的抑瘤作用, 且不良反应较轻, 高剂量抑瘤作用最好, 但不良反应较重。与阳性对照组相比, 黑木耳多糖作用弱于 5-Fu, 但是中、高剂量组与黄芪多糖组结果比较差异均无显著性 ($P > 0.05$)。

表 1 黑木耳多糖对 S_{180} 小鼠的抑瘤作用 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 1 Inhibition of *A. auricula polysaccharide* on tumor growth of S_{180} mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	瘤质量/g	抑瘤率/%
模型	-	0.76 ± 0.20	-
黄芪多糖	100	0.40 ± 0.16**	47.14
5-Fu	25	0.28 ± 0.11**	63.51
黑木耳多糖	50	0.56 ± 0.12**	26.07
	100	0.48 ± 0.12**	36.18
	200	0.39 ± 0.12**	47.81

与模型组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs model group

2.2 对红细胞膜脂流动性的影响: 昆明种小鼠随机分为 11 组, 其中一组为正常组, 另 10 组分别接种以

表 2 黑木耳多糖对荷瘤小鼠红细胞膜脂流动性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 2 Effect of *A. auricula polysaccharide* on red cell membrane lipid fluidity of tumor-bearing mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	S_{180} 荷瘤小鼠		H_{22} 荷瘤小鼠	
		η	LFU	η	LFU
正常	-	1.602 4 ± 0.119 8	7.108 1 ± 0.779 8	1.602 4 ± 0.119 8	7.108 1 ± 0.779 8
模型	-	1.328 0 ± 0.369 8	9.398 9 ± 0.406 0	1.923 9 ± 0.209 9	5.490 7 ± 0.790 5
黄芪多糖	100	1.714 1 ± 0.133 7*	6.576 2 ± 1.330 8**	1.632 7 ± 0.252 8*	7.107 9 ± 1.799 8*
黑木耳多糖	50	1.602 4 ± 0.119 8*	6.433 9 ± 0.724 3**	1.626 9 ± 0.157 5*	7.011 7 ± 1.062 1*
	100	1.594 8 ± 0.123 8	7.160 2 ± 0.783 5*	1.669 2 ± 0.168 8**	6.762 5 ± 1.068 2*
	200	1.445 3 ± 0.129 8	8.359 8 ± 1.263 7	1.754 2 ± 0.183 3	6.282 8 ± 0.967 9

与正常组比较: $P < 0.05$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

$P < 0.05$ vs normal group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

无菌生理盐水 1:4 稀释的 S_{180} (5 组) 或 H_{22} (5 组) 荷瘤小鼠腹水, 每只 0.2 mL, S_{180} 采用腋下接种 (实体), H_{22} 为腹腔接种 (腹水), 按 2.1 项各组 (无 5-Fu 组) 剂量连续 ip 给药 7 d, 正常组不给药。停药后次日, 小鼠摘眼球取血, 滴入预先加有肝素的试管内, 加 2 mL 生理盐水混匀, 3 000 r/min 离心 10 min。将沉淀于底部的红细胞先用生理盐水洗涤两次, 离心 (2 000 r/min) 5 min, 弃去上清, 再用等渗 PBS 洗涤 3 次, 作红细胞计数, 根据计数值, 配成 4×10^7 /mL 红细胞悬液。将配好的红细胞悬液 4 mL 中取出 2 mL 加入一试管作为空白管, 余下的 2 mL 作为标准管。在标准管中加入 2 mL DPH 标记液, 空白管中加入等量、等渗的 PBS, 混匀后于 25 ℃ 温育 30 min, 3 000 r/min 离心 10 min, 弃去残留 DPH 标记液, 用等渗 PBS 洗涤 2 次, 再用等渗 PBS 稀释成 4 mL 细胞混悬液, 立好进行荧光偏振度测定。用 RF—540 荧光分光光度计, 采用氙灯光源, 荧光激发波长为 362 nm, 发射波长为 432 nm, 在 25 ℃ 下分别测定与激发偏振光振动方向平行、垂直时的荧光偏振光强度 (P), 计算微黏度 $\eta = 2P / (0.46 - P)$ 及膜脂流动性 $LFU = (0.5 - P / P^{2[1]})$ 。结果见表 2。 S_{180} 荷瘤小鼠与正常组比较, 红细胞膜脂流动性显著增加。经黑木耳多糖处理后, 膜脂流动性均有不同程度的降低, 其中以黑木耳多糖低剂量组对 S_{180} 荷瘤小鼠效果最显著 ($P < 0.01$); H_{22} 荷瘤小鼠红细胞膜脂流动性降低, 黑木耳多糖低、中剂量组显著提高 H_{22} 荷瘤小鼠红细胞膜脂流动性 ($P < 0.05$)。

2.3 红细胞对肿瘤细胞免疫黏附能力的测定^[2]: 将按 2.2 项方法取得的小鼠新鲜血液, 离心洗涤成红细胞悬液 (1×10^8 /mL) 待用。小鼠 S_{180} 和 H_{22} 细胞分别接种于小鼠腹腔连续传代, 实验时无菌抽取 7 d 龄荷瘤小鼠腹腔肿瘤细胞, 经生理盐水洗涤 1 次, 1000 r/min 离心 10 min, 配成 1×10^6 /mL 悬

液。取此悬液 100 μL 加等体积豚鼠血清混匀, 放 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 30 min, 洗涤 1 次, 2 000 r/min 水平离心 5 min 后, 加待测红细胞悬液 50 μL 混匀, 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 30 min, 取出加 100 μL 生理盐水混匀, 再加 0.25% 戊二醛 50 μL 混匀, 水平涂片, 瑞氏染色。肿瘤细胞呈蓝色, 红细胞呈红色, 在显微镜高倍镜下观察肿瘤细胞黏附 3 个或 3 个以上红细胞为花环, 计数 100 个肿瘤细胞, 算出花环率。结果见表 3。与正常组比较, 荷瘤小鼠红细胞黏附肿瘤细胞的能力下降, 经过黑木耳多糖治疗后均有不同程度地提高, 其中以中剂量组提高程度最为显著。

表 3 黑木耳多糖对荷瘤小鼠红细胞黏附肿瘤细胞能力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 3 Effect of <i>A. auricula</i> polysaccharide on ability of red cell adhering to tumor cells of tumor-bearing mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)			
组 别	剂量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	花环率/%	
		S ₁₈₀ 荷瘤小鼠	H ₂₂ 荷瘤小鼠
正常	-	38.75 $\pm$ 2.50	38.75 $\pm$ 2.50
模型	-	10.09 $\pm$ 2.31	9.13 $\pm$ 2.23
黄芪多糖	100	25.40 $\pm$ 1.57**	26.20 $\pm$ 5.36**
黑木耳多糖	50	24.83 $\pm$ 4.12**	25.14 $\pm$ 4.41**
	100	32.40 $\pm$ 1.14**	31.57 $\pm$ 4.65**
	200	27.80 $\pm$ 2.38**	27.43 $\pm$ 2.23**

与正常组比较: $P < 0.05$; 与模型组比较: ** $P < 0.01$
 $P < 0.05$ vs normal group; ** $P < 0.01$ vs model group

3 讨论

研究发现黑木耳的主要成分黑木耳多糖有抗肿瘤作用, 本实验研究黑木耳多糖对红细胞膜流动性和免疫黏附作用的影响。结果表明黑木耳多糖具有一定的抗肿瘤作用。对于 S₁₈₀ 荷瘤小鼠的抑瘤作用, 中、高剂量效果最好, 与模型对照组相比差异显著 ($P < 0.01$)。高剂量虽然表现出较好的抗肿瘤作用,

但受试动物表现出较明显的泄泻、自主活动减少等毒性表现, 但低、中剂量组没有明显毒性反应。

研究发现, 许多疾病除实质性器官的细胞膜病变外, 常伴有红细胞膜的异常^[3]。本实验表明, S₁₈₀ 荷瘤小鼠红细胞膜的流动性增加, 经药物治疗可使其流动性降低; 而 H₂₂ 小鼠红细胞膜流动性降低, 经药物治疗可使其流动性增加。表明肿瘤的发生与黑木耳多糖的治疗对小鼠红细胞膜组分、分布及膜中胆固醇与磷脂的比值都有一定的影响, 提示对于不同的恶性肿瘤以及肿瘤发生的不同阶段, 红细胞膜流动性的改变均会有所不同。

肿瘤细胞可通过旁路途径激活并黏附补体, 与红细胞 CR₁ 结合。红细胞还可能通过 CR₁ 等机制识别肿瘤抗原与肿瘤细胞黏附, 同时红细胞中的氧化酶与补体可共同杀伤肿瘤细胞, 攻击癌细胞, 并形成花环^[4]。在实验中发现荷瘤小鼠的红细胞免疫黏附 H₂₂ 肿瘤细胞的能力较正常小鼠显著下降, 经黑木耳多糖治疗后, 这项指标得到了显著提高。

综上所述, 黑木耳多糖具有一定的抗肿瘤作用, 其作用机制可能与影响红细胞膜流动性、改善肿瘤造成的免疫抑制、增强红细胞膜的活性有关, 但其具体的作用机制有待于进一步探讨。

References:

[1] Chen Q. *Methodology in Pharmacological Study on Chinese Materia Medica* (中药药理研究方法学) [J]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1993.
[2] Guo F, Qian B H, Zhang L Z. *Modern Red Blood Cell Immunology* (现代红细胞免疫学) [M]. Shanghai: The Second Military Medical University Publishing House, 2002.
[3] Dong W. The progress of red cell membrane and disease [J]. *Physiol Sci* (生理科学), 1985, 8(5): 283.
[4] Wang H B, Zhang J P, Wang H, et al. The measuring of red cell membrane CR₁ molecule and its clinic meaning [J]. *Chin J Microbiol Immunol* (中华微生物和免疫学杂志), 2000, 20: 381.

舒心贴膏对急性心肌缺血犬心外膜心电图及心肌病理形态学的影响

金 辉¹, 吕文伟², 温富春³, 石 卓^{2*}

(1. 吉林省计划生育科学技术研究所, 吉林 长春 130021; 2. 吉林大学基础医学院 药理教研室, 吉林 长春 130021; 3. 吉林省中医中药研究院, 吉林 长春 130021)

舒心贴膏是由血竭、丹参、没药、冰片等 8 味名贵中药材研制而成的复方新制剂, 具有活血化瘀、通

脉止痛、养血安神之功效^[1]。临床研究表明舒心贴膏对冠心病、心绞痛具有良好的疗效。本课题组曾对麻

* 收稿日期: 2005-03-15
作者简介: 金 辉 (1962—), 男, 吉林省长春市人, 主治医师, 从事电诊工作。
* 通讯作者 石 卓 Tel: (0431) 5619799