

这可能是脑脉泰胶囊治疗 VD 的作用机制之一。

多发性脑梗死也是导致 VD 的重要因素之一。研究表明,脑梗死灶的体积与痴呆的发生有着密切的关系,损伤体积达到 100 mL 或 100 mL 以上者,绝大多数多发性脑梗死患者发展为痴呆^[8]。脑脉泰胶囊能明显改善多发性脑梗死大鼠的学习记忆功能,至于这种改善是否源自脑脉泰胶囊对脑梗死灶体积的减少作用,还有待于进一步研究。

References:

- [1] Wang R, Yang Q F, Tang Y P, *et al.* A modified model on rats with vascular dementia [J]. *Chin J Pathophysiol* (中国病理生理杂志), 2000, 16(10): 914.
- [2] Zhou J H, Wang J H. *Advances in Research of Pharmacology and Clinic of China Materia Medica* (中药药理与临床研究进展) [M]. Vol. 4. Beijing: Military Medical Science Press, 1996.

- [3] Itob J, Ukai M, Kameyama T. Dynorphin A-(1-13) potently prevents memory dysfunction [J]. *Eur J Pharmacol*, 1993, 234: 9.
- [4] Hagberg H, Lehmann A, Sandberg M, *et al.* Ischemia-induced shift of inhibitory and excitatory amino acids from intra-to extracellular compartments [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1990, 10: 646.
- [5] Okamoto M, Matsumoto M, Ohtsuki T, *et al.* Internucleosomal DNA cleavage involved in ischemia induced neuronal death [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993, 196: 1356.
- [6] Li Y, Chopp M, Jiang N, *et al.* Temporal profile of *in situ* DNA fragmentation after transient middle cerebral artery occlusion in the rats [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1995, 15: 389.
- [7] Du G H, Zhang J T. Protective effects of salvianolic acid against impairment of memory induced by cerebral ischemia-reperfusion in mice [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1995, 30(3): 184-190.
- [8] Loeb C, Gandolfo F, Bino G. Intellectual impairment and cerebral lesions in multiple cerebral infarcts. A clinical computed tomography study [J]. *Stroke*, 1998, 19: 560-565.

海洋真菌多糖 YCP 对荷瘤小鼠肿瘤生长及免疫功能的影响

陈 真¹, 钱之玉¹, 郭青龙², 袁胜涛³, 高向东⁴

(1. 中国药科大学 药理教研室, 江苏 南京 210009; 2. 中国药科大学 生理教研室, 江苏 南京 210009; 3. 中国药科大学 新药筛选中心, 江苏 南京 210009; 4. 中国药科大学 生命科学与技术学院, 江苏 南京 210009)

摘要:目的 研究海洋真菌多糖(YCP)对荷瘤小鼠的抑瘤作用及其对免疫功能的影响。方法 采用小鼠 Lewis 肺癌移植瘤和裸小鼠人肺癌 A-549 移植瘤模型,检测 YCP 对荷瘤小鼠的瘤质量、体重的影响及其相对肿瘤增殖率 T/C。以 MTT 法检测 YCP 对 Lewis 肺癌细胞体外增殖的影响。以荷瘤小鼠的吞噬指数(k)及吞噬系数(α)值、自然杀伤细胞(NK)活性和细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)活性为指标,观察 YCP 对免疫功能的影响。结果 YCP (9.3 mg/kg) iv 给药可显著抑制小鼠 Lewis 肺癌移植瘤的生长($P < 0.01$),但对裸小鼠人肺癌 A-549 移植瘤生长无抑制作用。YCP 对 Lewis 肺癌细胞体外增殖无抑制作用。YCP (9.3 mg/kg) iv 给药可显著提高 S₁₈₀ 荷瘤小鼠的 k 值($P < 0.01, 0.05$)。YCP (9.3 mg/kg) iv 给药可明显提高 Lewis 肺癌小鼠 NK 细胞和 CTL 细胞的杀伤活性($P < 0.01, 0.05$)。结论 YCP 可显著提高荷瘤小鼠的免疫功能,对小鼠 Lewis 肺癌移植瘤的生长有显著抑制作用。

关键词:海洋真菌多糖(YCP); NK 细胞; CTL 细胞; Lewis 肺癌

中图分类号:R286.91

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2006)02-0241-05

Effect of marine fungous polysaccharide YCP on tumor growth and immune function of tumor-bearing mice

CHEN Zhen¹, QIAN Zhi-yu¹, GUO Qing-long², YUAN Sheng-tao³, GAO Xiang-dong⁴

(1. Department of Pharmacology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 2. Department of Physieutical, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 3. The National Laboratory of New Drug Screen, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 4. The School of Life Science & Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Key words: marine fungous polysaccharide (YCP); NK cells; CTL cells; Lewis lung cancer

肿瘤的免疫治疗已成为继手术、化疗、放疗之后的另一种治疗方法,其目的是激发或调动机体的免

收稿日期:2005-04-06

基金项目:中国高技术研究发展计划 863 资助项目(2001AA624110,2003AA624110)

作者简介:陈 真(1963—),女,福建省晋江市人,博士,副教授,硕士生导师,长期从事生化药理的教学及科研工作,在该领域已发表论文 10 篇,获省部级奖 1 项。Tel: (025) 83271181 Fax: (025) 83271181 E-mail: czcpu@sohu.com

疫系统,增强肿瘤微环境的抗肿瘤免疫力,从而控制和杀伤肿瘤细胞^[1]。天然药物中的多糖类成分作为非特异性的免疫调节剂,通过免疫调节、最终达到抑制和消灭肿瘤细胞的效果,提高患者的远期生存率。文献报道多糖能激活 T、B 淋巴细胞、巨噬细胞(MΦ)、自然杀伤细胞(NK)、细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)、淋巴因子-激活杀伤细胞(LAK)、树突状细胞(DC)等免疫细胞,而且能促进细胞因子生成,激活补体系统,促进抗体产生,对免疫系统发挥多方面的调节作用^[2]。海洋真菌 YC (*Keissleriella* sp. YC 4108,代号:YC) 是一种新分离得到的海洋真菌。YCP 是 YC 的菌丝体经浸提、纯化得到的多糖。前期研究表明,YCP 有明显的肿瘤抑制作用。本实验进一步探讨了海洋真菌多糖 YCP 抗肿瘤作用和对荷瘤小鼠免疫功能的影响,以期为其进一步研究与开发提供实验依据。

1 材料

1.1 药品与试剂:海洋真菌多糖 YCP 由中国药科大学生物制药学院提供。YCP 由发酵菌丝体经热水提取,Sevag 法去蛋白,乙醇沉淀等步骤处理得到粗品多糖,再经进一步纯化得到海洋真菌多糖 YCP。硫酸蒽酮法测定多糖质量分数为 99%。天地欣(阳性对照药),南京振中生物工程有限公司产品,规格:每支 1 mg,批号:010719。注射用环磷酰胺(CTX),上海华联制药有限公司产品,规格:每瓶 200 mg,批号:020804。氟尿嘧啶(5-FU),上海旭东海普药业有限公司产品,生产批号:021111。迈普新(注射用胸腺肽 α1),成都地奥九泓制药厂,批号:040302。注射用丝裂霉素 C (MMC),协和发酵工业株式会社,批号:990201。受试药物 YCP 和阳性对照药均于临用前用生理盐水配制。

1.2 动物:ICR 小鼠,18~22 g,雌雄各半,由中国药科大学动物室提供,合格证号:SCXK(苏)2002-0011;C57 BL/6 小鼠,18~22 g,由中国科学院上海实验动物中心提供,合格证号:SCXK(沪)2002-0010;BALB/cA 裸小鼠,35~40 日龄,18~22 g,雌性,由中国科学院上海药物研究所提供,合格证号:沪动合证字 122 号;饲料:颗粒饲料,由中国药科大学动物室供给;饲养条件:空调房间,温度 18~24 ℃,相对湿度 70%。

1.3 瘤株来源:肉瘤 S₁₈₀由江苏省肿瘤药物研究所提供。Lewis 肺癌细胞由中国科学院上海细胞所提供。人肺癌 A-549 裸小鼠移植瘤,由人肺癌 A-549 细胞株接种于裸小鼠皮下而建立。细胞接种量为

1×10⁶,接种形成移植瘤后再于裸小鼠体内传 3 代后使用。

1.4 仪器:YJ—875 型医用净化工作台(苏州净化设备厂);WJ—12C 型 CO₂培养箱(日本 HIRASAWA 公司);XSZ—D 型倒置显微镜(重庆光学仪器厂);TG—729B 型电光分析天平(上海天平仪器厂);普通离心机(北京医用离心机厂)。

2 方法与结果

2.1 YCP 对小鼠 Lewis 移植瘤的抑制作用:取 C57BL/6 小鼠 50 只,按移植性肿瘤实验方法^[3]接种 Lewis 实体瘤,接种后 24 h 称重,随机分为 5 组,对照组(生理盐水)与天地欣(5 mg/kg)组分别为阴性及阳性对照组,YCP 设高、中、低 3 个剂量(9、3、1 mg/kg)组。接种 24 h 后尾 iv 给药,隔日 1 次,共给药 4 次,于停药后第 2 天处死荷瘤小鼠,称重,剥离瘤块,称瘤质量,共进行 3 批实验,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,进行 *t* 检验分析组间差异。按下列公式计算抑瘤率。

抑瘤率=(对照组平均瘤质量-给药组平均瘤质量)/对照组平均瘤质量×100%

结果表明,与对照组比较,YCP (9、3 mg/kg)、天地欣均有显著抑制 Lewis 肺癌小鼠的肿瘤生长作用,其中 YCP 与天地欣对小鼠体重增长无明显影响。实验重复 3 次,结果相近,见表 1。

表 1 YCP iv 给药对小鼠 Lewis 移植瘤生长的抑制作用 ($\bar{x} \pm s$, *n*=30)

Table 1 Inhibition of YCP on Lewis transplant tumor growth in mice administrated by iv ($\bar{x} \pm s$, *n*=30)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	小鼠体重/g		瘤质量 / % 体重	抑瘤率/ %
		给药前	给药后		
对照	—	19.77±1.22	26.49±2.64	1.96±0.40	—
YCP	9	19.65±1.19	26.63±2.47	1.12±0.55**	43.02
	3	19.52±1.21	26.32±2.42	1.31±0.49**	33.39
	1	19.52±1.11	26.74±2.43	1.52±0.45**	22.55
天地欣	5	19.90±1.18	26.94±2.20	1.30±0.48**	34.03

与对照组比较: ***P*<0.01

***P*<0.01 vs control group

2.2 YCP 对 Lewis 肺癌细胞体外增殖的抑制作用^[4]:用 RPMI-1640 培养液[含青霉素 10 万 U/L、链霉素 10 万 U/L、10% 新生牛血清(FCS,56 ℃灭活 30 min),缓冲液调 pH 值至约 7.2]将待测 Lewis 肺癌细胞株配成单个细胞悬液,用培养液稀释至 1×10⁴/mL,接种于 96 孔培养板中,每孔加入 180 μL。常规培养 44 h 后,加入终质量浓度为 200、100、50、25 μg/mL 的受试药物 YCP,每个剂量设 6

个平行孔,同时设细胞对照组、阳性对照 5-FU (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、饱和湿度、5% CO_2 培养箱中培养 44 h 后,每孔加入 5 mg/kg MTT 溶液(用生理盐水配制) 15 μL ,振荡混匀后,继续孵育 4 h。离心去上清液后,每孔加入 150 μL DMSO 溶解,轻轻振荡约 5 min 后,用酶标仪在 570 nm 波长处测定每孔吸光度(A)值,按下列公式计算细胞增殖抑制率。与对照组比较,YCP 在体外对 Lewis 肺癌细胞株无显著抑制作用($P>0.05$)。结果见表 2。

$$\text{细胞增殖抑制率} = \frac{1 - \text{实验组 } A \text{ 值}}{\text{对照组 } A \text{ 值}} \times 100\%$$

表 2 YCP 对 Lewis 肺癌细胞体外增殖的抑制作用 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 2 Inhibition of YCP on proliferation of Lewis lung cancer cell *in vitro* ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	$\rho/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	A_{570}	增殖抑制率/%
对照	—	0.841 $\pm$ 0.017	—
5-FU	100	0.548 $\pm$ 0.024**	34.84
YCP	200	0.848 $\pm$ 0.019**	-0.83
	100	0.858 $\pm$ 0.009***	-2.02
	50	0.841 $\pm$ 0.027**	0.00
	25	0.832 $\pm$ 0.040**	1.07

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

与 5-FU 组比较: ** $P<0.01$

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

** $P<0.01$ vs 5-FU group

表 3 YCP 对裸小鼠人肺癌移植瘤 A-549 的影响

Table 3 Effect of YCP on transplant tumor of human lung cancer cell A-549 in nude mice administrated by iv

组别	剂量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	动物/只		体重/g		V_T ($\bar{x} \pm s$)		$V_{RT}/$	T/C
		开始	最后	开始	最后	d_0	d_{17}	($d_{17}, \bar{x} \pm s$)	($d_{17}, \bar{x} \pm s$)/%
对照	—	12	12	21.8	24.2	385 $\pm$ 186	5 929 $\pm$ 1 420	22.0 $\pm$ 18.1	—
MMC	5	6	6	21.9	23.0	405 $\pm$ 208	2 786 $\pm$ 1 209	6.6 $\pm$ 2.4*	30.0
YCP	1	6	6	21.7	25.2	336 $\pm$ 101	5 161 $\pm$ 1 897	16.7 $\pm$ 7.7*	75.9
	3	6	6	21.7	26.3	393 $\pm$ 154	6 695 $\pm$ 1 327	20.9 $\pm$ 11.8*	95.0
	9	6	6	21.9	26.3	489 $\pm$ 233	5 926 $\pm$ 866	16.2 $\pm$ 9.4*	73.6

与对照组比较: * $P<0.05$

* $P<0.05$ vs control group

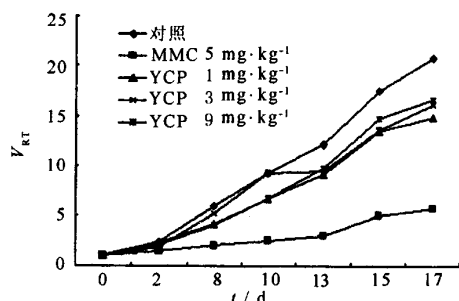


图 1 YCP 对裸小鼠人肺癌 A-549 移植瘤生长的影响

Fig. 1 Effect of YCP on transplant tumor of human lung cancer cell A-549 in nude mice

2.3 YCP 对裸小鼠人肺癌 A-549 移植瘤的影响: 取 BALB/cA 裸小鼠 36 只,在无菌条件下,按移植性肿瘤实验方法^[3]接种人肺癌 A-549 裸小鼠移植瘤于裸小鼠右侧腋窝皮下。裸小鼠移植瘤用游标卡尺测量移植瘤直径,待肿瘤生长至 100~500 mm^3 后将动物随机分组:对照组(NS),YCP 设高、中、低(9、3、1 mg/kg) 3 个剂量组,注射用丝裂霉素 C (MMC) (5 mg/kg) 组,对照组 12 只,各给药组 6 只。实验组每周 iv 给药 5 次,阳性对照组每周 iv 给药 1 次,阴性对照组同时给等量生理盐水。采用测量瘤径的方法,动态观察药物抗肿瘤的效应。肿瘤直径每周测量 3 次,同时称小鼠体重。肿瘤体积(tumor volume, V_T)的计算公式为: $V_T = 1/2 \times a \times b^2$,其中 a、b 分别表示肿瘤的长径、宽径。根据测量的结果计算出相对肿瘤体积(relative tumor volume, V_{RT}),计算公式为: $V_{RT} = V_t/V_0$ 。其中 V_0 为分笼给药时(即 d_0)测量所得肿瘤体积, V_t 为每一次测量时的肿瘤体积(末次给药时即 d_{17})。抗肿瘤活性的评价指标为相对肿瘤增殖率 T/C (%),计算公式为:

$$T/C = \text{治疗组 } V_{RT} / \text{对照组 } V_{RT} \times 100\%$$

YCP 对裸小鼠人肺癌移植瘤 A-549 的影响结果见表 3 和图 1。实验结果显示,YCP (1 mg/kg) 对人肺癌 A-549 的最低 T/C 为 75.9%;YCP (3 mg/kg)

低 T/C 为 73.6%。YCP iv 给药对人肺癌 A-549 裸小鼠移植瘤无生长抑制作用。

2.4 YCP 对 S_{180} 荷瘤小鼠网状内皮系统(RES)吞噬功能的影响:取 ICR 小鼠 50 只,按移植性肿瘤研究法^[3]接种 S_{180} 肿瘤,接种后 24 h 称体重,按体重随机分为 5 组,每组 10 只。设 S_{180} 荷瘤对照组(生理盐水,0.2 $\text{mL}/10 \text{ g}$),天地欣(5 mg/kg) 组,YCP 高、中、低剂量(9、3、1 mg/kg) 给药组。接种 24 h 后 iv 给药,每 2 天 1 次,共给药 4 次,于末次 iv 给药后 24 h,尾 iv 印度墨水(1:3 稀释) 0.05 $\text{mL}/10 \text{ g}$,于注入墨水后 1.5 min 时用定量采血管从小鼠眼眶后静脉丛取血 20 μL ,立刻吹入 0.1% Na_2CO_3 溶

kg) 的最低 T/C 为 95.0%;YCP (9 mg/kg) 的最

液 2 mL 中,于 680 nm 处测吸光度 (A) 值,于 5 min 采血后立即处死小鼠,取肝、脾称总质量,计算吞噬指数 (k) 及吞噬系数 (α) 值。实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,进行统计学处理 (t 检验) 分析组间差异。结果见表 4,与对照组相比,YCP (9.3 mg/kg) 剂量组及天地欣 (5 mg/kg) 组皆可显著提高 S_{180} 荷瘤小鼠 k 值 ($P < 0.05, 0.01$);表明 YCP 能显著提高 S_{180} 荷瘤小鼠 RES 吞噬功能。

吞噬指数 $k = \lg A_1 - \lg A_5 / (t_5 - t_1)$

吞噬系数 $\alpha = k^{1/3} \times \text{体重} / (\text{肝质量} + \text{脾质量})$

A_1, A_5 分别为 1 min 及 5 min 取血测定的 A 值, t_1, t_5 即为 1 min 和 5 min。

表 4 YCP iv 给药对 S_{180} 荷瘤小鼠 RES 吞噬功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 4 Effect of YCP on RES phagocytic function in S_{180} mice administrated by iv ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	k ($\times 10^{-2}$)	α
对照	—	0.045 $\pm$ 0.026 4	0.512 $\pm$ 0.074
YCP	9	0.092 6 $\pm$ 0.035 3 **	0.545 $\pm$ 0.084
	3	0.083 2 $\pm$ 0.040 2 *	0.593 $\pm$ 0.175
	1	0.071 2 $\pm$ 0.030 4	0.518 $\pm$ 0.093
天地欣	5	0.101 4 $\pm$ 0.002 6 **	0.519 $\pm$ 0.092

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

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

2.5 YCP 对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠 NK 细胞活性的影响^[5]:取 C57BL/6 小鼠 36 只,按移植性肿瘤研究法^[3]接种 Lewis 实体瘤,接种后 24 h 称体重,随机分为 6 组,空白对照组与 CTX (20 mg/kg) 和胸腺肽 α_1 (0.42 mg/kg) 组分别为阴、阳性对照组, YCP 高、中、低 3 个剂量 (9.3、1 mg/kg) 组。接种 24 h 后 iv 给药,每日 1 次,连续 8 d。末次给药后 24 h 颈椎脱臼处死小鼠,无菌操作取出脾脏,制成单细胞悬液,用完全 1640 培养基调整脾细胞浓度 2×10^6 /mL,以 K562 细胞为靶细胞 (浓度为 1×10^5 /mL),接种于 96 孔板,效-靶细胞比为 20 : 1;同时设效应细胞和靶细胞对照孔,共同培养 24 h 后,加入 MTT,每孔 15 μ L,反应 4 h。弃上清,每孔加入 DMSO 150 μ L,570 nm 波长下测各孔 A 值。按下式计算 NK 细胞杀伤活性。

$$\text{NK 细胞杀伤活性} = \frac{1 - (A_{\text{效-靶混合细胞}} - A_{\text{效应细胞}})}{A_{\text{靶细胞}}} \times 100\%$$

结果见表 5。与对照组比较,YCP (9.3 mg/kg) 能明显提高 Lewis 肺癌荷瘤小鼠的 NK 细胞杀伤活性,促进 NK 细胞杀伤靶细胞 K562 ($P < 0.05$)。2.6 YCP 对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠 CTL 细胞活性的影响^[6]

2.6.1 小鼠 CTL 细胞的获得:小鼠分组、给药方法同 2.5 项。小鼠处死后,在无菌条件下取小鼠脾脏,置于无菌 100 目尼龙筛网中轻轻捻碎,加 Hank's 液 2 mL 冲洗,并用 100 目尼龙筛网滤过于无菌离心管中,加 Tris NH_4Cl 5 mL 作用 5 min 去除红细胞,2 000 r/min 离心 5 min,弃去上清液,用无血清 RPMI-1640 培养液洗细胞 2 次,调整细胞浓度 1×10^6 /mL 备用。用 25 μ g/mL 丝裂霉素 C 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴条件下处理活的 Lewis 细胞 30 min,将上述活的脾淋巴细胞与丝裂霉素 C 处理过的 Lewis 细胞以 20 : 1 的比例加入培养瓶中,用含 20% 小牛血清、10 U/mL rIL-2、2.4 g/L HEPES、100 U/mL 青霉素、100 U/mL 链霉素的完全培养基于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的培养箱中孵育 6 d,3 d 换液 1 次,即获得 CTL 细胞。

2.6.2 CTL 细胞杀伤活性的检测:用 0.4% 台盼蓝拒染法检测活 CTL 细胞为 90% 以上,调整活细胞计数,使其浓度为 2×10^6 /mL,将 CTL 移至 96 孔细胞培养板中,按效-靶细胞比为 20 : 1 的比例分别加入活的 Lewis 细胞作为靶细胞,同时设效应细胞对照孔和靶细胞对照孔。继续培养 24 h,MTT 法测其 A 值。CTL 细胞杀伤活性公式同上述 NK 细胞杀伤活性公式。结果见表 5。与对照组比较,YCP (9.3 mg/kg) 能明显提高荷瘤小鼠的 CTL 细胞活性,促进 CTL 细胞杀伤靶细胞 Lewis 肺癌细胞 ($P < 0.05, 0.01$)。

表 5 YCP 对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠 NK 和 CTL 细胞活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 5 Effect of YCP on activities of NK and CTL cells in Lewis lung cancer mice ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	杀伤活性/%	
		NK	CTL
对照	—	0.124 $\pm$ 0.080	0.107 $\pm$ 0.055
CTX	20	0.070 $\pm$ 0.038	0.136 $\pm$ 0.069
胸腺肽 α_1	0.42	0.263 $\pm$ 0.088 *	0.273 $\pm$ 0.018 **
YCP	9	0.266 $\pm$ 0.073 **	0.271 $\pm$ 0.044 **
	3	0.231 $\pm$ 0.085 *	0.218 $\pm$ 0.101 *
	1	0.178 $\pm$ 0.089	0.154 $\pm$ 0.058

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

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

3 讨论

恶性肿瘤是一类严重危害人类生命健康的常见病,肿瘤治疗目前尚无理想手段,因此寻找既有抗肿瘤活性,又可提高机体免疫功能的药物,已成为寻找抗肿瘤药物的一大方向。

NK 细胞是生物体内存在的非特异的免疫杀伤

细胞,它在宿主的免疫监视功能中与 $M\Phi$ 一起有着重要的作用。NK 细胞在抗肿瘤、抗病毒感染方面起重要作用,是细胞免疫的检测指标之一^[7]。CTL 是特异性细胞免疫应答的主要效应细胞,在机体抗感染、抗肿瘤免疫及移植排斥反应和自身免疫病中发挥重要作用。脾脏中 T 细胞约占有核细胞总数的 40%,其中多数为成熟的效应细胞,CTL 为其重要组成成分,对肿瘤细胞具有特异杀伤作用,从而抑制肿瘤生长^[8]。

本实验结果表明,YCP 能显著抑制 ICR 小鼠 Lewis 移植瘤的生长,但对 Lewis 细胞的体外增殖无直接抑制作用,而且对裸小鼠人肺癌 A-549 移植瘤的肿瘤生长无抑制作用。YCP 显著提高 S_{180} 荷瘤小鼠 RES 吞噬功能;明显提高 Lewis 肺癌荷瘤小鼠的 NK 细胞活性,促进 NK 细胞杀伤靶细胞 K562;明显提高 CTL 细胞活性,促进 CTL 细胞杀伤靶细胞 Lewis 肺癌细胞。由此可以推测 YCP 可能通过增强机体的细胞免疫功能,达到抑制肿瘤生长的

作用,YCP 有望成为一种肿瘤综合治疗的新药。

References:

- [1] Wang Z L, Dong B W. Study on the application of immune cells in the tumor therapy [J]. *Med Recapit* (医学综述), 2004, 10(12): 705-707.
- [2] Li J, Zhang C J. Immune regulation and anti-tumor effect of Chinese traditional polysaccharides [J]. *Chin J Tradit Vet Sci* (中国兽医杂志), 2004, 40(11): 31-33.
- [3] Xu S Y, Bian R L, Chen X. *Methodology in Pharmacological Experiment* (药理实验方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002.
- [4] Guo B, Zheng P, Li H, et al. Study on the influence factors upon the specificity and sensitivity of CTL killing *in vitro* [J]. *Immunol J* (免疫学杂志), 2004, 20(3): 169-176.
- [5] He J S, Li R Z. Study on the method of detecting the activities of NK cells by MTT reduction [J]. *Chin J Immunol* (中国免疫学杂志), 1996, 12: 356-358.
- [6] Zhao W H, Zhang W G, He A L, et al. Study on the cytotoxic T lymphocytes of mice treated with leukemia vaccine [J]. *J Xi'an Jiaotong Univ; Med Sci* (西安交通大学学报: 医学版), 2003, 24(1): 50-53.
- [7] Shao S J, Liu C Y, Liu Q B, et al. The effects of ABP on mice immunological function [J]. *Cancer Res Prev Treat* (肿瘤防治杂志), 2002, 9(1): 57-58.
- [8] Sun Z Y, Liu S C, Yang Y, et al. Effect of tumor associated antigen peptide extract from H₂₂ hepatocarcinoma on immune function and tumor inhibition in mice [J]. *Tumor* (肿瘤), 2004, 24(1): 56-58.

三七总苷对尿毒血清诱导的人肾小管上皮细胞外基质分泌及降解的影响

刘海燕,陈孝文,刘华锋,梁 东,唐德荣

(广东医学院附属医院肾脏病研究所,广东 湛江 524001)

摘要:目的 探讨三七总苷(PNS)对尿毒血清诱导的人肾小管上皮细胞外基质(ECM)分泌及降解的影响,为临床上应用 PNS 延缓慢性肾衰竭(CRF)的进展提供理论依据。方法 无菌条件下收集 40 份尿毒症病人血清和 20 例正常人血清,用相差显微镜、扫描电镜结合细胞角蛋白 18(CK-18)免疫组化鉴定人肾小管上皮细胞株 HK-2。应用消化法检测 HK-2 细胞培养上清液中羟脯氨酸水平,ELISA 方法检测 HK-2 细胞培养上清液中纤连蛋白(FN)、金属蛋白酶-1(MMP-1)、金属蛋白酶组织抑制因子-1(TIMP-1)蛋白分泌量,RT-PCR 方法检测 MMP-1 和 TIMP-1 mRNA 表达。结果 10% 尿毒血清组与正常对照组相比,HK-2 细胞培养上清液中胶原蛋白和 FN 分泌量显著增高,MMP-1/TIMP-1 基因表达和蛋白分泌的比值降低,而 PNS 400、600、800 mg/L 可使尿毒血清增加的 HK-2 培养上清液胶原蛋白分泌量回降;200、400、600、800 mg/L 可使 FN 分泌量回降;100、200、400、600、800 mg/L 可使尿毒血清降低的 MMP-1/TIMP-1 基因表达和蛋白分泌的比值回升。结论 在体外实验中,PNS 可降低尿毒血清诱导的人肾小管上皮细胞胶原蛋白及 FN 的分泌,升高 MMP-1/TIMP-1 基因表达和蛋白分泌的比值,促进 ECM 降解,从而有效延缓人肾小管-间质纤维化的进展。

关键词:三七总苷;尿毒血清;肾小管上皮细胞;细胞外基质;肾小管-间质纤维化

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2006)02-0245-04

Effect of Panax notoginsenosides on excretion and degradation of extracellular matrix of human renal tubular epithelial cells induced by uremic serum

LIU Hai-yan, CHEN Xiao-wen, LIU Hua-feng, LIANG Dong, TANG De-shen

(Institute of Nephrology, Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Zhanjiang 524001, China)

收稿日期:2005-05-27

基金项目:广东省科技计划项目(2003C32702),湛江市科技攻关项目(2003)

作者简介:刘海燕(1971—),女,吉林省蛟河县人,博士,副教授,副主任医师,研究生导师,主要从事肾小管间质纤维化及中西医防治方面的研究,曾发表科研论文 30 余篇,曾获湛江市科技进步一等奖及广东省科技进步三等奖。

Tel: (0759) 2387164 E-mail: liuhy71@yahoo.com.cn