

iNOS 等有关,产生大量 NO 释放入血,从而产生毒性作用。

TP 是从绿茶中提取的多酚类化合物,主要成分为儿茶素类,具抗氧化、抗突变、抗癌及抗衰老等多种生理活性。本研究发现 iv TP 可呈剂量依赖性减轻肠 I/R 所致肝组织形态学改变,表明 TP 对肠 I/R 所致肝损伤具有保护作用。其机制可能为:①抑制自由基生成,防止脂质过氧化。TP 是多酚类化合物,具很强还原性,可使体内多种过氧化物所产生的自由基转化为惰性化合物而被清除,并防止脂质过氧化^[10],因而 TP 可降低肠 I/R 时 MDA 的水平。本研究结果证明了 TP 抗自由基并防止脂质过氧化的作用:TP 呈剂量依赖性降低肠 I/R 所致血清和肝组织中 MDA 水平的升高,即降低脂质过氧化程度;而同时呈剂量依赖性增强 SOD 活力,即提高机体清除和/或抑制氧自由基能力。②抑制中性粒细胞聚集。TP 呈剂量依赖性减少中性粒细胞在肝的浸润聚集,从而减轻中性粒细胞的损伤作用。③抑制过量 NO 的生成。TP 呈剂量依赖性降低外周血及肝中 NO 水平。推测,TP 对内毒素、肿瘤坏死因子、白介素等多种因子活化 iNOS 有抑制作用;TP 通过抑制 NO 与氧自由基相互作用,使 OONO⁻生成减少,从而对组织损伤有保护作用。

本研究表明,TP 通过保护肠道屏障,抑制自由基生成,防止脂质过氧化,抑制中性粒细胞聚集及抑制 NO 的过量生成,对肠 I/R 引起的肝损伤有保护

作用。TP 作为一种资源丰富、成本低廉的天然药物有着十分广阔的前景。本研究为其扩展临床新用途提供了有价值的实验依据。

References:

- [1] Hallenbeck J M. Background review and current concepts of reperfusion injury [J]. *Arch Neurol*, 1990, 47(11): 1245-1254.
- [2] Antosson J B, Fiddiss G R G. The role of the gut in shock and multiple system organ failure [J]. *Eur J Surg*, 1991, 157: 3-12.
- [3] Li L Z, Wu J L, Hu Z L, et al. Effect of tea polyphenols on myocardial ischemia reperfusion injury in rats [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1997, 13(4): 21-23.
- [4] Yang L S, Zhou Q, Li W P. Neuroprotective effects of iv tea polyphenol on cerebral ischemia reperfusion injury in animal models [J]. *J Dalian Med Univ* (大连医科大学学报), 2004, 26(3): 170-173.
- [5] Fang R Y, Yu Y H, Shen G Y, et al. Protective effects of tea polyphenols on cerebral ischemia-reperfusion injury in gerbils [J]. *Acta Biophys Sin* (生物物理学报), 1997, 13(2): 309-314.
- [6] Chen W J, Wan S Q. Current status of pharmacodynamic research of tea polyphenols [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1993, 24(9): 493.
- [7] Xi W B, Tu W F, He J, et al. Studies on intestinal tissue and extra-intestinal organ injuries induced by whole intestinal ischemia-reperfusion [J]. *J Pract Med* (实用内科杂志), 2003, 19(2): 126-128.
- [8] Han X, Xiao F D, Yu M. Effect of pyruvate in intestinal ischemia-reperfusion injury [J]. *Chin J Pediatr Surg* (中华小儿外科杂志), 2000, 21(2): 111-114.
- [9] Wang S J. Activation of neutrophils during acute period of burn [J]. *Foreign Med: Trauma Surg Basic Probl Sect* (国外医学:创伤与外科基本问题分册), 1998, 19(3): 151-155.
- [10] Buege T A, Aust S D. Microsomal lipid peroxidation methods [J]. *Enzymol*, 1978, 52: 302.

芍药苷对人骨髓基质细胞 HFCL 蛋白质表达的作用

郭 平¹, 王升启²

(1. 山东中医药大学 生化教研室, 山东 济南 250014; 2. 军事医学科学院放射医学研究所, 北京 100800)

摘要:目的 检测芍药苷对人骨髓成纤维样基质细胞系 HFCL 增殖及蛋白质表达的影响,探讨芍药苷补血作用的分子机制。方法 采用流式细胞术和蛋白质组学方法测定芍药苷对 HFCL 细胞周期及蛋白质表达的影响。结果 芍药苷能促进 HFCL 由 G₀/G₁期进入 S 期,提高增殖指数,使 HFCL 的 9 种蛋白质表达上调,5 种下调。上调的蛋白质有 Ras 相关核蛋白、核纤层蛋白 A/C、异柠檬酸脱氢酶、磷酸丙糖异构酶、ATP 合酶、核蛋白体蛋白质 P2 和 CCT;下调的蛋白质有人类 cc 趋化因子和 Bax。结论 芍药苷能促进 HFCL 增殖,作用于 HFCL 多个靶点,促进细胞结构蛋白质的合成和蛋白质分子伴侣的表达,促进 HFCL 的能量代谢,抑制 HFCL 凋亡,间接发挥补血作用。

关键词:芍药苷; 骨髓基质细胞; 细胞增殖; 蛋白质组学

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2006)08-1206-05

收稿日期:2005-11-23

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30271617);全军医药卫生科研基金资助项目(01Z019)

作者简介:郭 平(1960—),女,四川资中人,副教授,博士,主要从事中药作用分子机制的研究。

Tel: (0531) 86253861 E-mail: guop86@163.com

* 通讯作者 王升启 Tel: (010) 66932211 E-mail: sqwang@mic.bmi.ac.cn

Effect of paeoniflorin on protein expression of HFCL of human bone marrow stromal cells

GUO Ping¹, WANG Sheng-qi²

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China; 2. Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of paeoniflorin on proliferation and the protein expression of HFCL of human bone marrow stromal cells and to discuss molecular mechanism of blood enriching functions of paeoniflorin. **Methods** Flow cytometry and proteomics were used respectively to measure the effect of paeoniflorin on cell cycle and protein expression of HFCL. **Results** Paeoniflorin could promote HFCL from G₀/G₁ phase to S phase, increase proliferative index, up-regulate nine kinds of proteins, and down-regulate five kinds of proteins of HFCL. The proteins up-regulated include Ras-related nuclear protein, lamin A/C, isocitrate dehydrogenase 3 (NAD⁺), triosephosphate isomerase, ATP synthase, ribosomal protein P2, and chaperonin containing t-complex polypeptide 1. **Conclusion** Through promoting HFCL proliferation, acting on multiple protein targets, enhancing the synthesis of cytoarchitecture proteins and the expression of protein chaperonin, increasing the energy metabolism of HFCL, and suppressing the apoptosis of HFCL, paeoniflorin plays indirectly blood enriching function.

Key words: paeoniflorin; bone marrow stromal cells; cell proliferation; proteomics

白芍是经典补血方剂四物汤的 4 味药之一,芍药苷 (paeoniflorin) 是白芍的主要有效成分,具有补血、保护神经元及抗心、脑血管损伤等多种作用。研究显示,芍药苷能促进骨髓造血生长因子的表达^[1],促进多种骨髓造血祖细胞的增殖^[2]。但有关芍药苷对骨髓基质细胞作用报道较少。本研究采用蛋白质组学技术,从整体蛋白质的水平上探讨芍药苷对人骨髓成纤维样基质细胞系 (normal human bone marrow fibroblastoid stromal cell line, HFCL) 蛋白质表达的影响,以考察芍药苷对 HFCL 的作用靶点和补血的分子机制。

1 材料

1.1 药物:芍药苷购自中国药品生物制品检定所,质量分数 99.0%。用不含血清的 IMDM 培养液将芍药苷配制为 5 mg/mL 的溶液,滤过除菌备用。

1.2 细胞系:HFCL 来源于正常胎儿骨髓基质细胞,由中国医学科学院血液学研究所姜学英教授建系,军事医学科学院放射医学研究所九室保存。培养于含 10% 胎牛血清的 IMDM 培养液,实验均使用处于对数生长期的细胞。

1.3 主要试剂及仪器:IMDM 培养液、胎牛血清购自 Gibco BRL 公司,胰酶购自 Roche 公司,丙烯酰胺、N,N'-甲叉双丙烯酰胺、Tris-base、过硫酸铵、四甲基乙二胺、十二烷基硫酸钠 (SDS)、尿素、丙基磺酸盐、Pharmalyte 3~10、固定干胶条 (immobilized pH gradient gel, IPG)、IPG 缓冲液、低相对分子质量蛋白质 Marker、甘油、琼脂糖、溴酚蓝等均购自 Amersham Biosciences 公司。三氟乙酸、碘乙酰胺购自 Acros Organics 公司。乙腈购自 Fisher 公

司。碘化丙啶购自 Pharmingen 公司。其他试剂均为国产分析纯。

Napco—5410 CO₂ 培养箱购自 Heraeus 公司,蛋白质双向电泳及电泳图谱图像处理采用 Amersham Biosciences 公司蛋白质组学研究配套仪器: Ettan™ IPGphor 等电聚焦仪, Ettan™ DALTsix 二向垂直电泳仪, Multi Temp III 温控循环水浴, Processor Plus Base Unit 全自动染色仪, Image Scanner 扫描仪。

2 方法

2.1 芍药苷剂量的确定:首先用 MTT 法检测终质量浓度分别为 0.007 8、0.015 6、0.031 3、0.062 5、0.125、0.25、0.5、1、2、4 mg/mL 四物汤对 HFCL 细胞增殖率的影响。实验结果统计显示,质量浓度在 0.008~1 mg/mL 四物汤对 HFCL 的增殖均有显著的促进作用,其中以质量浓度 0.031 3 mg/mL 时作用最强,并按这一剂量计算芍药苷用量。再根据本课题组前期研究^[3],芍药苷在四物汤中的量与四物汤的质量分数为 0.265%,折算芍药苷给药终质量浓度为 0.082 9 μg/mL。细胞给药时,用不含血清的 IMDM 培养液将芍药苷储存液 (5 mg/mL) 100 倍稀释后作为芍药苷应用液。

2.2 流式细胞术测定细胞周期:将处于对数生长期的 HFCL 细胞悬液接种在 25 cm² 培养瓶中,每瓶接种 4×10⁵ 个细胞。经 CO₂ 培养箱孵育 24 h,换无血清培养液,继续孵育 48 h。换 3% 低血清培养液。细胞分为对照组和芍药苷 (终质量浓度为 0.082 9 μg/mL) 组,每组 4 瓶细胞,细胞给药后继续避光培养 12 h。消化细胞,离心,吸弃上清液, PBS 洗涤细胞。加入 300 μL 含 5% 血清的 PBS,再加入 700 μL

无水乙醇,充分摇匀,-20℃固定细胞 48 h 以上。将固定细胞离心,PBS 洗涤。加入 100 μL RNase A 溶液,37℃水浴放置 30 min 以消化 RNA,加入 500 μL 碘化丙啶溶液,避光反应 30 min,用流式细胞仪进行荧光检测,检测各细胞周期 DNA 水平。计算细胞增殖指数 (PI)。

$$PI = \frac{S + G_2/M}{G_0/G_1 + S + G_2/M} \times 100\%$$

2.3 用蛋白质组学技术确定差异蛋白质

2.3.1 细胞培养及给药:HFCL 传代培养。将处于对数生长期的 HFCL 细胞接种入 50 cm²培养瓶中,每瓶接种 1×10⁶个细胞,CO₂培养箱孵育,待贴壁 80% 后,换无血清培养液,继续孵育 48 h。换 3% 低血清培养液继续孵育,细胞分为对照组和芍药苷组。对照组加培养液 12.1 mL,芍药苷组加培养液 12.1 mL、芍药苷应用液 20 μL (终质量浓度 0.082 9 μg/mL)。细胞给药后 37℃、5% CO₂培养箱继续孵育 24 h。

2.3.2 蛋白质提取:收集细胞于离心管,PBS 洗涤 3 次,转入 EP 管。离心,弃上清。加入细胞裂解液,液氮冻融 3 次,加入 RNase A,冰浴放置 20 min。4℃、12 000 r/min 离心 30 min,取上清液。用 Bradford 法测定蛋白质的量。

2.3.3 双向电泳:电泳重复 3 次。IPG (pH 3~10) 24 cm,采用胶内泡涨法。将含有 2 mg 蛋白质的两组细胞蛋白质提取液分别与 IPG 胶条溶胀液混合,进行一向等电聚焦电泳。电泳参数:30 V、12 h、200 V、1 h、500 V、1 h、1 000 V、1 h、8 000 V、13 h。IPG 胶条分别在含有 DTT 和碘乙酰胺的平衡液中平衡 15 min。将 IPG 胶条置于预制的 12.5% SDS-聚丙烯酰胺凝胶 (简称凝胶) 上,进行第二向 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE)。电泳参数:80 mA、40 min;100 mA 至溴酚蓝迁移至 SDS-PAGE 凝胶底部边缘。

2.3.4 凝胶染色与脱色:考马斯亮蓝染色液染色 6 h,考马斯亮蓝脱色液脱色 12 h。

2.3.5 凝胶扫描分析及统计处理:扫描凝胶,分析电泳图谱。差异蛋白质点标准化量以 $\bar{x} \pm s$ 表示,统计分析采用 *t* 检验。

2.3.6 肽质量指纹谱测定:切下凝胶差异蛋白质点,脱色,胶内酶切,检测肽质量指纹谱。

2.3.7 数据库检索鉴定蛋白质:输入拟查询的物种、肽质量指纹谱数据等参数,在数据库查寻与其相匹配的蛋白质。检索数据库: [http://www.matrix-](http://www.matrix-science.com)

[science.com](http://www.matrix-science.com)。

3 结果

3.1 芍药苷对 HFCL 细胞周期的影响:各组的实验结果及由此计算细胞增殖指数 (proliferative index, PI) 见表 1。可见,与对照组相比,芍药苷组 G₀/G₁期细胞显著降低 (*P*<0.05),S 期细胞显著升高 (*P*<0.05)。芍药苷能显著提高 HFCL 细胞的增殖指数 (*P*<0.05)。

表 1 芍药苷对 HFCL 细胞周期的影响 ($\bar{x} \pm s$, *n*=4)

Table 1 Effect of paeoniflorin on cell cycle of HFCL ($\bar{x} \pm s$, *n*=4)

组别	终质量浓度/ (μg·mL ⁻¹)	细胞周期/%			PI/%
		G ₀ /G ₁	G ₂ /M	S	
对照	—	40.808±4.914	13.008±6.176	46.183±1.427	59.192±4.913
芍药苷	0.082 9	34.280±1.901 *	14.770±2.405	50.948±2.232 *	65.719±1.900 *

与对照组比较: **P*<0.05

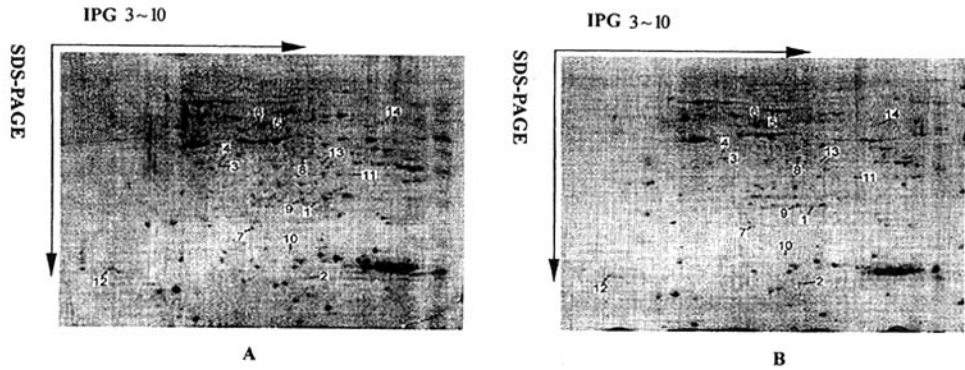
**P*<0.05 vs control group

3.2 芍药苷对 HFCL 蛋白质表达的影响:芍药苷对 HFCL 蛋白质表达的影响见图 1 和表 2。经质谱鉴定,1 号、3~6 号、8~10 号和 12~14 号蛋白质分别是 Ras 相关核蛋白、Bax、异柠檬酸脱氢酶 3、核纤层蛋白 A/C、CCT、未命名蛋白质、磷酸丙糖异构酶、人 cc 趋化因子、核蛋白体蛋白质 P2、未知蛋白质及 ATP 合酶。

4 讨论

本研究结果显示,芍药苷促进 HFCL 由 G₀/G₁ 期进入 S 期,显著提高 HFCL 增殖指数,并能调节多种蛋白质的表达。

经流式细胞术检测,芍药苷促进 HFCL 的增殖。蛋白质组学的研究显示,芍药苷能促进核蛋白体蛋白质 P2、多种细胞结构蛋白质和蛋白质分子伴侣的表达。核蛋白体蛋白质 P2 是真核细胞 60S 大亚基的组成成分,参与蛋白质生物合成,在肽链延长过程中发挥重要作用。CCT 是一种异寡聚体分子伴侣,协助新翻译的多肽链折叠卷曲。CCT 表达水平与细胞生长率相关^[4]。实验证实,CCT 的蛋白质及 mRNA 表达在细胞生长,特别是由 G₁/S 转换到早 S 期时强烈上调。Ras 相关核蛋白是一种小 GTP 结合蛋白,属于 Ras 超家族,在细胞分裂周期中有多种作用,包括细胞核物质的转运,有丝分裂纺锤体的装配和细胞核核膜的装配和形成^[5,6],并参与控制 DNA 合成和细胞周期进程。核纤层蛋白则是纤维性核纤层的特异性蛋白,参与核稳定性、染色质结构和基因表达等过程。本研究显示,芍药苷使 HFCL



A-对照组 B-芍药苷组 图中左侧横向箭头表示第一向等电聚焦电泳的方向,IPG 胶条的 pH 梯度由左向右为 3~10;左侧纵向箭头表示第二向 SDS-PAGE 的方向,相对分子质量由上向下逐渐减小;右侧纵向蛋白点为蛋白质 marker;图中数字是差异蛋白质的编号

A-control B-paeoniflorin group In figure, horizontal arrow on left side indicates direction of 1D isoelectric focusing; from left to right, pH gradient of IPG strip is 3 to 10; vertical arrow on left side indicates direction of 2D SDS-PAGE, molecular weight is decreased gradually from up to down; protein points in vertical direction on right side are protein markers; numbers in figure are serial numbers of differential proteins

图 1 HFCL 蛋白质双向电泳图谱

Fig. 1 Two-dimensional gel electrophoretogram of HFCL proteins

表 2 芍药苷所致 HFCL 差异表达蛋白质的鉴定

Table 2 Identification of different expressed proteins of HFCL induced by paeoniflorin

蛋白质 序号	标准化量($\bar{x} \pm s$)/%		注册号	分值	等电点	相对分子 质量	肽段 匹配	序列覆 盖率/%	蛋白质 名称
	对照组	芍药苷组							
1	0.040±0.002	0.096±0.018*	gi 32425497	66	7.16	25 207	5/8	12	Ras 相关核蛋白
2	0.073±0.013	0.145±0.025*	—	—	—	—	—	—	—
3	0.103±0.006	0.036±0.004**	gi 20631967	54	8.39	18 117	4/10	29	Bax
4	0.023±0.004	0.037±0.010*	gi 5031777	71	6.47	39 566	8/22	24	异柠檬酸脱氢酶
5	0.039±0.004	0.090±0.016*	gi 5031875	156	6.40	65 096	20/34	34	核纤层蛋白 A/C
6	0.039±0.003	0.219±0.050*	gi 5453603	185	6.01	57 452	28/73	56	CCT
7	0.140±0.025	0.058±0.038*	—	—	—	—	—	—	—
8	0.152±0.002	0.298±0.037**	gi 10434254	66	8.14	34 455	11/44	37	未命名蛋白质
9	0.147±0.003	0.324±0.057*	gi 136066	122	7.10	26 609	12/32	55	磷酸丙糖异构酶
10	0.056±0.002	0.011±0.006**	gi 10120601	60	9.91	8 571	5/24	70	人 cc 趋化因子
11	0.056±0.008	0.028±0.002*	—	—	—	—	—	—	—
12	0.152±0.049	0.302±0.007*	gi 4506671	75	4.42	11 658	5/18	60	核蛋白体蛋白质 P2
13	0.097±0.011	0.031±0.013*	gi 41471222	52	8.51	91 308	9/22	10	未知蛋白质
14	0.137±0.006	0.214±0.001**	gi 4757810	86	9.16	59 714	12/34	28	ATP 合酶

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

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

的核蛋白体蛋白质 P2、CCT、Ras 相关核蛋白及核纤层蛋白表达显著升高,从而促进骨髓基质细胞的增殖,间接发挥促进骨髓造血的作用。

趋化因子是一类具有趋化特殊类型细胞参与免疫及炎症反应的细胞因子超家族。单核细胞趋化蛋白 1~5、巨噬细胞炎性蛋白 1 α -1 γ 、3 α 、3 β 等均属于 cc 趋化因子。在趋化因子超家族中,有多种趋化因子与造血调控有关。它们对造血的调控表现在多个方面,如抑制造血干/祖细胞增殖,使造血干细胞停留在 G₀期;动员骨髓造血干细胞进入外周血。本研

究显示,芍药苷使 HFCL 的 cc 趋化因子表达显著减少,减弱了这种造血负调控作用。

Bax 蛋白在凋亡发生过程中起重要枢纽作用,在对凋亡刺激响应时,Bax 经历构象改变、暴露膜靶位域^[7]、与线粒体膜结合,形成渗透性膜转移孔复合物,建立线粒体膜通道,介导线粒体发生释放反应,释放细胞色素 C、凋亡诱导因子、促凋亡蛋白等。当 Bax 表达相对增多时,Bax/Bax 二聚体增加,促进凋亡发生。本研究显示芍药苷可使 Bax 蛋白质在 HFCL 表达显著减少,从而抑制 HFCL 细胞的凋亡。

三羧酸循环是葡萄糖、甘油、脂肪酸及某些氨基酸彻底氧化分解的共同途径。异柠檬酸脱氢酶 3 是三羧酸循环的关键酶,其活性受许多变构剂调节。线粒体 ATP 合酶是在细胞氧化磷酸化过程中,利用横跨线粒体内膜的质子电化学梯度来催化 ATP 合成的酶。本研究显示,芍药苷能显著上调异柠檬酸脱氢酶和 ATP 合酶在 HFCL 的表达,促进能量代谢,改善骨髓基质细胞的功能。

本研究结果表明,芍药苷作用于骨髓基质细胞多种蛋白质靶点,促进细胞结构蛋白质的合成和蛋白质分子伴侣的表达,促进 HFCL 的能量代谢,抑制 HFCL 凋亡,间接发挥补血作用。本课题组将在进一步工作中研究芍药苷作用的量效关系,并对目标蛋白质进行深入的生物学功能研究,为阐明芍药苷补血作用的分子机制提供依据。

References:

- [1] Guo P, Wang J F, Wang S Q. Effect of paeoniflorin on Epo and G-CSF gene expression in bone marrow of irradiated blood deficiency mice [J]. *J Shandong Univ Tradit Chin Med* (山东中医药大学学报), 2005, 29(3): 236-239.
- [2] Liang Q D, Lu X Q, Ma Z C, et al. Preliminary study on hematopoietic constituents of SI-WU-TANG [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2004, 29(6): 546-549.
- [3] Liang Q D. Study on Hematopoietic Constituents in Si-Wu-Tang by Chemomics Method [A]. *Dissertation of Doctor Degree of Academy of Military Medical Science* (军事医学科学院博士论文) [D]. Beijing: Academy of Military Science, 2003.
- [4] Yokota S, Yanagi H, Yura T, et al. Cytosolic chaperonin is up-regulated during cell growth. Preferential expression and binding to tubulin at G(1)/S transition through early S phase [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(52): 37070-37078.
- [5] Hutchins J R, Moore W J, Hood F E, et al. Phosphorylation regulates the dynamic interaction of RCC1 with chromosomes during mitosis [J]. *Curr Biol*, 2004, 14(12): 1099-1104.
- [6] Moore J D. The Ran-GTPase and cell-cycle control [J]. *Bioassays*, 2001, 23(1): 77-85.
- [7] Guo B, Zhai D, Cabezas E, et al. Humanin peptide suppresses apoptosis by interfering with Bax activation [J]. *Nature*, 2003, 423(6938): 456-461.

鲎鱼软骨多糖的分离纯化及生物活性的研究

郭 斌¹, 韩冠英², 李 智^{1*}

(1. 中国医科大学基础医学院 天然药物研究室, 辽宁 沈阳 110001; 2. 锦州医学院, 辽宁 锦州 121001)

摘要:目的 研究鲎鱼软骨多糖(ray cartilage glycosaminoglycans, RCG)的提取、分离与纯化方法,并初步探讨其生物活性。方法 采用盐酸胍提取、丙酮分级沉淀、膜超滤、Sephadex 凝胶柱色谱分离、纯化获得鲎鱼软骨多糖,由 HPLC 确定其相对分子质量和质量分数;建立 Lewis 肺癌小鼠模型,将实验分为生理盐水(Saline)组、不同剂量(500、250、125 mg/kg)鲎鱼软骨多糖组、环磷酰胺(CTX, 60 mg/kg)组,观察小鼠肿瘤生长情况,绘制肿瘤生长曲线,计算原发瘤与肺转移灶数抑瘤率,免疫组织化学染色计数肿瘤组织微血管密度(MVD),采用 RT-PCR 检测肿瘤组织血管内皮生长因子(VEGF)基因表达。结果 经 HPLC 检测,该组分为单一多糖,其质量分数达 99% 以上。生物活性检测结果表明,与生理盐水组比较,该多糖各剂量组小鼠的肿瘤生长曲线平缓,原发瘤抑瘤率、肺转移灶数与生理盐水组比较差异显著($P < 0.05, 0.01$);与生理盐水组比较,鲎鱼软骨多糖各剂量组 MVD 显著减少、VEGF mRNA 表达水平显著降低($P < 0.01$)。结论 鲎鱼软骨多糖明显抑制小鼠 Lewis 肺癌原发瘤的生长和转移,并可抑制肿瘤的血管形成。

关键词:鲎鱼软骨多糖; Lewis 肺癌; 微血管密度(MVD); 血管内皮生长因子(VEGF)

中图分类号:R286.91; R979.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2006)08-1210-05

Isolation, purification, and biological activities of ray cartilage glycosaminoglycans

GUO Bin¹, HAN Guan-ying², LI Zhi¹

(1. Department of Ethnopharmacology, Basic Medical College, China Medical University, Shenyang 110001, China;

2. Jinzhou Medical College, Jinzhou 121001, China)

Abstract: Objective To explore the methods of extraction, isolation, purification, and biological activities of ray cartilage glycosaminoglycans (RCG). **Methods** RCG was purified by guanidine hydrochlorid extraction, acetone fractional precipitation, ultrafiltration, and Sephadex column chromatography. The purity and molecular mass of RCG were measured by means of HPLC. The model of mouse with Lewis

收稿日期:2006-01-05

基金项目:辽宁省教育厅基金资助项目(202173371)

作者简介:郭 斌(1969—),男,辽宁锦州人,副主任药师,博士,研究方向为天然药物开发。

Tel: (0416) 4140066 E-mail: jyguobin@126.com

* 通讯作者 李 智 Tel: (024) 23256666-5319 E-mail: lizhijia@263.net