

丹参和山楂提取物含药血清对胆固醇代谢的影响

薛洁, 谢梅林*, 顾振纶, 张克平

(苏州大学医学院 药理学教研室, 江苏 苏州 215123)

摘要:目的 研究丹参和山楂提取物的调脂作用机制及其相互作用。方法 以正交设计 $L_{16}(2^{15})$ 制备丹参和山楂提取物的含药血清, 采用两性霉素 B 细胞模型和 RT-PCR 方法, 观察含药血清对中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞内源性胆固醇合成和 BRL 肝细胞胆固醇 7 α -羟化酶 (CYP7A) mRNA 表达的影响。结果 丹参 75% 乙醇提取物和丹参氨水提取物在两性霉素 B 细胞模型实验中均能明显增加吸光度 (A) 值, 同时亦能明显增加 BRL 肝细胞 CYP7A mRNA 表达, 而单独应用山楂各提取物对胆固醇代谢未见直接的作用, 但对丹参各提取物有协同作用。结论 丹参提取物能够通过抑制内源性胆固醇合成和增加 CYP7A mRNA 表达发挥调血脂作用, 而山楂提取物和丹参提取物合用可产生有益的协同作用。

关键词:丹参; 山楂; 含药血清; 胆固醇; 胆固醇 7 α -羟化酶 (CYP7A)

中图分类号: R286.26

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)01-0073-05

Effects of serum-drug of *Radix Salviae Miltiorrhizae* and *Fructus Crataegi* extracts on cholesterol metabolism

XUE Jie, XIE Mei-lin, GU Zhen-lun, ZHANG Ke-ping

(Department of Pharmacology, Medical School, Suzhou University, Suzhou 215123, China)

Abstract: **Objective** To study the mechanism of blood-lipid regulation of the effective fractions from the extracts of *Radix Salviae Miltiorrhizae* (RSM) or *Fructus Crataegi* (FC), as well as their interaction. **Methods** The serum-drug of RSM and FC extracts were prepared by orthogonal design $L_{16}(2^{15})$. Amphotericin B cell model and RT-PCR method were used to examine the effects of the serum-drug of RSM and FC extracts on endogenous cholesterol biosynthesis in Chinese hamster ovary (CHO) cells and the expressions of cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A) mRNA in BRL cells. **Results** Ethanol (75%) and ammonia extracts of RSM obviously increased the absorbance (A) in the experiment of amphotericin B cell model and the expression of CYP7A mRNA in BRL cell line. The extracts of FC had no direct effect on cholesterol metabolism by themselves, but they were in synergism with the extracts of RSM. **Conclusion** The extracts of RSM have a blood-lipid regulation by inhibiting endogenous cholesterol biosynthesis and increasing CYP7A mRNA expression, and maybe have a better effect when the extracts of FC are used together.

Key words: *Radix Salviae Miltiorrhizae* (RSM); *Fructus Crataegi* (FC); serum-drug; cholesterol; cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A)

消痰片是由丹参水溶性提取物和山楂脂溶性提取物按一定比例组成的具有调脂作用的纯中药复方, 经动物实验和临床研究证实其具有较好的降血脂和抗动脉粥样硬化作用^[1~3]。本课题组通过正交设计确定了丹参 75% 乙醇提取物、丹参氨水提取物和山楂丙酮提取物为调血脂的有效部位, 而山楂无水乙醇提取物为调血脂辅助部位^[4]。在本研究中, 以丹参和山楂的这 4 个提取部位制备含药血清, 在体外观察对细胞内源性胆固醇合成和肝细胞胆固醇 7 α -羟化酶 (CYP7A) mRNA 表达的影响, 以进一步

阐明它们的调脂作用机制以及它们之间的相互关系。

1 材料

1.1 药物: 丹参 75% 乙醇提取物 (含丹参素 15.6%), 棕色粉末; 丹参氨水提取物 (含丹参总酚酸 81.9%), 棕褐色晶体; 山楂丙酮提取物 (含山楂总三萜酸 69.4%), 棕黄色粉末; 山楂无水乙醇提取物 (含山楂总黄酮 10.3%), 淡黄色粉末, 以上提取物均由苏州中药研究所提供。舒降之 (辛伐他汀片), 规格每片 20 mg, 由杭州默沙东制药有限公司提供, 批号 02098。注射用两性霉素 B, 由华北制药

收稿日期: 2006-05-09

基金项目: 苏州大学医学发展基金资助项目 (NO010721)

作者简介: 薛洁 (1976—), 女, 江苏常熟人, 助教, 在读博士生, 研究方向为心血管药理学。E-mail: xuejie@suda.edu.cn

* 通讯作者 谢梅林 Tel: (0512) 65880320 E-mail: xiemeilin@suda.edu.cn

集团新药研究开发有限责任公司提供,批号 030201。甲羟戊酸内酯 (MVA),由 Sigma 公司提供,批号 071K2617。

1.2 试剂与仪器:无脂蛋白血清 (LPDS),由 Sigma 公司提供,批号 062K9301,规格:蛋白 29.7 mg/mL;Trizol 总 RNA 提取液、M-MLV 逆转录酶 (200 U/ μ L)、Taq 聚合酶 (3 U/ μ L)、dNTP (10 mmol/L)、琼脂糖等均购自上海生工生物工程有限公司;MTT 液,由上海华美生物工程公司提供,批号 0310,将 MTT 按 5 mg/mL 溶于 PBS 中。5410 型 CO₂培养箱,NAPCO 公司;XD-20 型倒置显微镜,重庆光学仪器厂;DG-3022 型酶联免疫测定仪,国营华东电子管厂;GeneAmp 2400 型 PCR 仪,美国 Perkin Elmer 公司;DYY-8B 型稳压稳流电泳仪,北京市六一仪器厂生产;DYY-III 31D 型电泳槽,北京市六一仪器厂生产。

1.3 细胞株:中国仓鼠卵细胞 (Chinese hamster ovary, CHO),由苏州大学医学院生化教研室惠赠;大鼠 BRL 肝细胞购自中国科学院细胞生物研究所。

1.4 动物:SD 大鼠,雄性,体重 220~250 g,苏州大学实验动物中心供应,清洁级,实验动物生产许可证号:XCYK (苏) 2002-0008,实验动物使用许可证号:SYXK (苏) 2002-0037,实验期间饲养室温度 (18±2) °C。

2 方法

2.1 制备丹参和山楂各提取物的含药血清:以 4 因素 2 水平 (表 1) 经正交设计 L₁₆(2¹⁵) (表 2) 得到的 16 个组方以及正常血清组和阳性药组 (辛伐他汀) 共 18 个血清制备组,除正常血清组外,其余各组按各自的给药剂量,以 1 mL/100 g 给大鼠 ig,每组大鼠 3 只。给药时间为上、下午各 1 次,连续给药 3 d,于第 4 天给药 1 h 后,无菌操作下腹主动脉取血,静置数分钟,1 700×g 离心,取血清,各组血清分别混合,56 °C 灭活 30 min,0.22 μ m 滤过除菌,分装,-70 °C 保存。

表 1 因素水平
Table 1 Factors and levels

水平	因素			
	丹参 75% 乙醇 提取物 (A)	丹参水 提取物 (B)	山楂丙酮 提取物 (C)	山楂无水乙醇 提取物 (D)
1 低剂量 (mg·kg ⁻¹)	36	22	27	24
2 高剂量 (mg·kg ⁻¹)	72	44	54	48

2.2 丹参和山楂各提取物含药血清对 CHO 细胞内源性胆固醇合成的影响

2.2.1 实验准备:A 液为 RPMI-1640 培养液 (含

谷氨酰胺 300 μ g/mL 及 10% 小牛血清);B 液为 A 液中去除小牛血清加入 10% LPDS;C 为 B 液中分别加入不同的含药血清 (150 μ L 含药血清加入到 1.35 mL B 液中) 以及 0.025 mol/L MVA;D 液为 B 液中加入两性霉素 B (300 μ g/mL)。

2.2.2 实验分组:丹参和山楂各提取物按正交设计 L₁₆(2¹⁵) 得到的 16 个组方的含药血清以及正常大鼠血清组和阳性药 (辛伐他汀片) 含药血清组,每组重复 6 次。

2.2.3 实验步骤:采用 CHO,使用 A 培养液,将细胞先在 37 °C、5% CO₂培养箱中培养,待细胞基本铺满瓶底后消化制成细胞悬液,悬液直接用 A 培养液调整细胞浓度为 1×10⁵/mL,接种于 96 孔板中,每孔加 100 μ L,待细胞贴壁后换用 B 培养液每孔 100 μ L,第 2 天换用 C 培养液,继续培养 24 h 后,用 PBS 洗涤 2 次,然后加入 D 培养液,4 h 后,每孔加入 5 mg/mL MTT 液 10 μ L,继续培养 4 h,加入 10% SDS-HCl 100 μ L 终止反应,镜下观察细胞并用酶联免疫检测仪测定吸光度 (A) 值。

2.3 丹参和山楂各提取物含药血清对 BRL 肝细胞 CYP7A mRNA 表达的影响:采用大鼠 BRL 肝细胞培养,用 10% 小牛血清 RPMI-1640 培养液,使培养液中含肝细胞 1×10⁶/mL,接种于 6 孔培养板中,每孔加 2 mL 细胞悬液,待细胞贴壁后换用含 10% LPDS 培养液,24 h 后加入不同的受试含药血清,继续培养 24 h 后收获,提取总 RNA。RT-PCR 反应:本实验采用的引物根据文献报道^[5],均由上海生工生物科技有限公司合成。CYP7A:上游引物 5'-GCCGTCCAAGAAATCAAGCAGT-3',下游引物 5'-TGTGGGCAGCGAGAACAAAGT-3',扩增产物长度为 306 bp;GAPDH:上游引物 5'-GCCATCAACGACCCCTTCATT-3',下游引物 5'-CGCCTGCTTCACCACCTTCTT-3',扩增产物长度 702 bp。PCR 扩增反应过程:预变性 95 °C、5 min,变性 95 °C、30 s,退火 60 °C、30 s,延伸 72 °C、40 s,经 30 个循环,72 °C、7 min 终止反应。PCR 产物 (10 μ L) 于 1.5% 琼脂糖凝胶,加入溴化乙锭 (终质量浓度 1 μ g/mL),78 V 电泳 1.5 h,置紫外灯下观察,用凝胶成像仪扫描图像。实验平行 3 份进行,凝胶扫描图像采用 Band Leader 软件分析,以 GAPDH 条带为内参照,实验数据以 CYP7A/GAPDH 的值表示。

2.4 统计学处理:实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,显著性检验采用 *t* 检验和方差分析。

3 结果

3.1 丹参和山楂各提取物含药血清对 CHO 细胞内源性胆固醇合成的影响:与正常血清组 (0.793±0.190) 相比,两性霉素 B 损伤组 (0.305±0.108) 的 A 值非常显著地降低 ($P<0.01$),辛伐他汀含药血清组 (0.435±0.042) 与两性霉素 B 损伤组比较,能明显增加 A 值 ($P<0.05$)。丹参和山楂各提

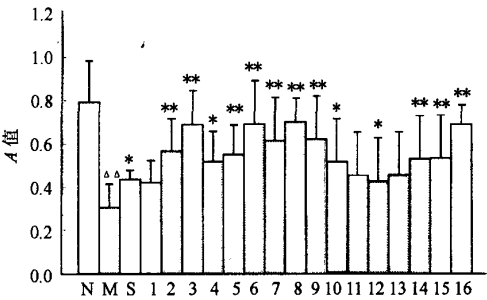
取物按正交设计 $L_{16}(2^{15})$ 制备的 16 个组方含药血清组的 A 值与两性霉素 B 损伤组相比,均有不同程度的增加 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$),其中正交表中 8 号试验组,即以丹参 75% 乙醇提取物低剂量和其他各提取物高剂量组合的组方其 A 值较高 (表 2 和图 1)。方差分析结果表明,丹参 75% 乙醇提取物和丹参氨水提取物对抑制内源性胆固醇合成有明显

表 2 丹参和山楂各提取物对 CHO 细胞内源性胆固醇生物合成抑制作用的正交及交互作用分析表 ($n=6$)

Table 2 Analyses of orthogonality and interactions on inhibition of each extract of RSM or FC on endogenous cholesterol biosynthesis in CHO cells ($n=6$)

试验号	A	B	AB	C	AC	BC	ABC	D	AD	BD	ABD	CD	ACD	BCD	ABCD	A 值 ($\bar{x}\pm s$)
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.420±0.103
2	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	0.566±0.150
3	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2	0.690±0.157
4	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	0.518±0.140
5	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	0.550±0.137
6	1	2	2	1	1	2	2	2	2	1	1	2	2	1	1	0.692±0.215
7	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1	0.615±0.214
8	1	2	2	2	2	1	1	2	2	1	1	1	1	2	2	0.702±0.111
9	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	0.622±0.157
10	2	1	2	1	2	1	2	2	1	2	1	2	1	2	1	0.517±0.166
11	2	1	2	2	1	2	1	1	2	1	2	2	1	2	1	0.453±0.122
12	2	1	2	2	1	2	1	2	1	2	1	1	2	1	2	0.427±0.060
13	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1	0.455±0.157
14	2	2	1	1	2	2	1	2	1	1	2	2	1	1	2	0.530±0.095
15	2	2	1	2	1	1	2	1	2	2	1	2	1	1	2	0.533±0.117
16	2	2	1	2	1	1	2	2	1	1	2	1	2	2	1	0.690±0.090
I	4.753	4.212	4.402	4.350	4.331	4.665	4.168	4.338	4.438	4.799	4.436	4.383	4.220	4.357	4.360	
II	4.227	4.768	4.578	4.629	4.649	4.315	4.821	4.462	4.542	4.181	4.544	4.597	4.757	4.623	4.620	
F	5.077*	5.659*	0.564	1.411	1.848	2.239	7.610**	1.688	0.196	7.008**	0.217	0.835	5.219*	1.305	1.240	

$F_{0.05}(1,80)=3.96; F_{0.01}(1,80)=6.96$ * $P<0.05$ ** $P<0.01$



与正常血清组比较: $\Delta\Delta P<0.01$

与两性霉素 B 损伤组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

N-正常血清组 M-两性霉素 B 损伤组 S-辛伐他汀含药血清组 1~16-丹参和山楂提取物不同组合的含药血清组

$\Delta\Delta P<0.01$ vs normal serum group

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs amphotericin B cell model group

N-normal serum group M-amphotericin B cell model group

S-serum-drug of Simvastatin 1-16-serum-drug group of RSM and FC extracts, respectively.

图 1 丹参和山楂提取物不同组合的含药血清组对 CHO 细胞内源性胆固醇生物合成的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Fig. 1 Effects of serum-drug of RSM and FC extracts in various combinations on endogenous cholesterol biosynthesis in CHO cells ($\bar{x}\pm s, n=6$)

作用 ($P<0.05$),为产生该效应的有效部位,其中丹参 75% 乙醇提取物的低剂量 (36 mg/kg) 和丹参氨水提取物高剂量 (44 mg/kg) 的作用最为明显。山楂丙酮提取物与山楂无水乙醇提取物在单独应用时未见有明显的抑制内源性胆固醇合成的作用,但与丹参 75% 乙醇提取物和丹参氨水提取物合用均有明显的协同作用 (表 2)。

3.2 丹参和山楂各提取物含药血清对 BRL 肝细胞 CYP7A mRNA 表达的影响:各项 PCR 实验结果中,GAPDH 均有稳定的表达,因而可作为内参照。BRL 细胞经正交设计的含药血清 16 个组方处理后,与正常血清组 (0.975±0.380) 相比较,CYP7A mRNA 表达不同程度的增加 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。方差分析结果显示:丹参 75% 乙醇提取物和丹参氨水提取物呈明显上调作用 ($P<0.05$),而单独使用山楂丙酮提取物和山楂无水乙醇提取物未见有明显影响,但其与丹参 75% 乙醇提取物和丹参氨水提取物合用有明显的交互作用 ($P<$

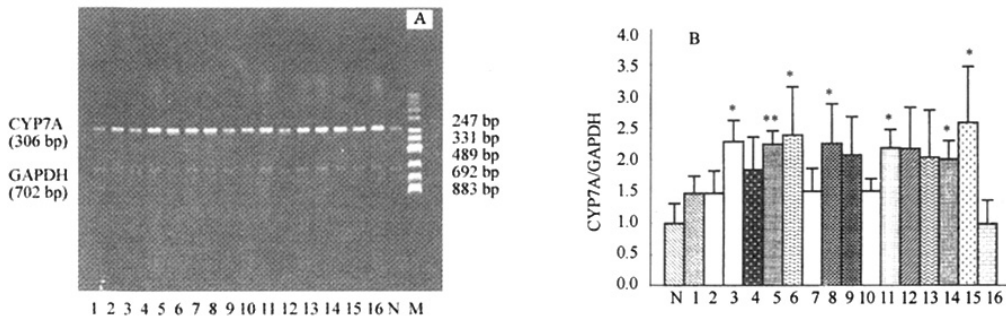
0.05)。本实验结果显示以丹参 75% 乙醇提取物、 提取物高剂量的组合（相当于正交表中 16 号试验丹参氨水提取物、山楂丙酮提取物和山楂无水乙醇 组）呈最明显的上调作用（表 3 和图 2）。

表 3 丹参和山楂各提取物对 BRL 肝细胞 CYP7A mRNA 表达的正交及交互作用分析表 (n=3)

Table 3 Analyses of orthogonality and interactions on effect of each extract of RSM or FC on CYP7A mRNA expression in BRL cells (n=3)

试验号	A	B	AB	C	AC	BC	ABC	D	AD	BD	ABD	CD	ACD	BCD	ABCD	CYP7A/GAPDH ($\bar{x}\pm s$)
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.985±0.321
2	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1.470±0.271
3	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2	1.470±0.356
4	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	2.286±0.335
5	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1.842±0.515
6	1	2	2	1	1	2	2	2	2	1	1	2	2	1	1	2.244±0.211
7	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1	2.389±0.763
8	1	2	2	2	2	1	1	2	2	1	1	1	1	2	2	1.501±0.361
9	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	2.256±0.622
10	2	1	2	1	2	1	2	2	1	2	1	2	1	2	1	2.072±0.606
11	2	1	2	2	1	2	1	1	2	1	2	2	1	2	1	1.503±0.195
12	2	1	2	2	1	2	1	2	1	2	1	1	2	1	2	2.182±0.292
13	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1	2.172±0.655
14	2	2	1	1	2	2	1	2	1	1	2	2	1	1	2	2.033±0.744
15	2	2	1	2	1	1	2	1	2	2	1	2	1	1	2	2.003±0.295
16	2	2	1	2	1	1	2	2	1	1	2	1	2	2	1	2.580±0.887
I	14.19	14.23	15.00	15.07	14.81	15.26	14.23	14.62	15.55	14.57	14.63	15.80	14.23	16.38	16.23	
II	16.80	16.76	15.99	15.91	16.18	15.73	16.76	16.37	15.44	16.42	16.36	15.19	16.76	14.61	14.76	
F	4.91*	4.63*	0.71	0.51	1.35	0.16	4.57*	*2.21	0.01	2.45	2.15	0.28	4.64*	2.25	1.56	

$F_{0.05}(1,32) = 4.15$ * $P < 0.05$



A-电泳图 B-CYP7A/GAPDH 值直方图 与正常血清组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

N-正常血清组 M-Marker 1~16-丹参和山楂提取物不同组合的含药血清组

A-agarosegel electrophoretogram B-histogram of GYP7A/GAPDH ratio * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs normal serum group

N-normal serum group M-Marker 1—16-serum-drug group of RSM and FC extracts, respectively

图 2 丹参和山楂提取物不同组合的含药血清组对 BRL CYP7A mRNA 表达的影响 (n=3)

Fig. 2 Effects of serum-drug of RSM and FC extracts in various combinations on CYP7A mRNA expression in BRL cells (n=3)

4 讨论

中药复方中,尤其是较粗的制剂中含有较多的杂质,如直接加入体外反应体系,其酸碱度、渗透压、鞣质和无机盐等非特异性理化因素将严重干扰实验,导致实验的假阳性或假阴性结果,使实验结果的可靠性和科学性受到很大的限制。在本实验中,采用血清药理学方法,以中药复方的含药血清进行体外的作用机制研究,为科学地阐明中药复方的作用及其机制提供了新的研究方法。

两性霉素 B 细胞模型法为筛选内源性胆固醇合成抑制剂提供了一种有效、简便的实验方法。两性霉素 B 可与动物细胞膜上胆固醇形成复合物后出现微孔,从而导致细胞膜破裂,胞浆内容物外溢。在缺乏外源性胆固醇供给的条件下,若同时应用内源性胆固醇合成抑制剂,内源性的胆固醇合成受到抑制,则可阻止上述复合物的形成,使细胞免受两性霉素 B 的杀伤^[6]。在两性霉素 B 细胞模型中,A 值越高表明活细胞数量越多,两性霉素 B 对细胞的损伤

越少,说明在没有外源性脂质提供的条件下,细胞内源性胆固醇合成受抑制。本实验结果显示,丹参提取物能明显抑制内源性胆固醇合成,这可能是其调血脂的作用机制之一。

降低血浆中的胆固醇,一方面可以通过减少胆固醇的合成,另一方面也可以促进胆固醇转化为胆汁酸。胆汁酸是胆固醇主要的代谢去路,胆固醇与胆汁酸形成的乳糜微团又是其排出的主要方式,正常人每天合成胆固醇的总量 40% 左右在肝内转化为胆汁酸。在这一酶促过程中,胆固醇 7 α -羟化酶(CYP7A)是其限速酶。

CYP7A 属于细胞色素 P450 酶系,存在于细胞内质网膜上,参与内源性化合物的氧化代谢。主要受氧化类固醇和胆汁酸的调控,从而诱导或抑制其表达,调控机制发生在 CYP7A 的转录水平,主要涉及到一些核受体,如肝 X 受体[liver X receptor, LXR(alpha)]和类法尼酯受体(farnesoid X receptor, FXR)等,CYP7A 在维持胆固醇代谢内环境中发挥着重要作用^[7~9]。本实验结果显示,丹参提取物对增加 CYP7A mRNA 的表达有明显作用,提示通过增加 CYP7A mRNA 的表达,促进胆固醇转化为胆汁酸,从而降低血浆中的胆固醇,这可能也是其调血脂机制之一。

消痰片具有良好的调血脂作用,尤其是丹参提取物,对调节胆固醇代谢十分重要,它可抑制内源性胆固醇的合成和增加胆固醇转化为胆汁酸。

References:

- [1] Xie M L, Gu Z L, Chen K J, et al. Therapeutic effects of Xiaoyu Tablets on the hyperlipidemic rabbits [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药理学), 1998, 15(6): 15-18.
- [2] Xie M L, Gu Z L, Chen K J, et al. Studies on the hypolipidemic effect of Xiaoyu Tablets in hyperlipidemic rabbits and rats [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 29(3): 178-181.
- [3] Xie M L, Gu Z L, Chen K J, et al. Study of the effects of Xiaoyu Tablets on the regression of atherosclerotic plaque of the rabbit abdominal aorta [J]. *Chin J Gerontol* (中国老年学杂志), 2000, 20(6): 359-361.
- [4] Xue J, Xie M L, Gu Z L. Studies on the effective active ingredients of blood lipid-regulation from the extracts of *Radix Salvia Miltiorrhiza* (RSM) and *Fructus Crataegi* (FC) by orthogonal experimental design [J]. *Suzhou Univ J: Med Sci* (苏州大学学报:医学版), 2004, 23(3): 337-340.
- [5] Michihiro F, Masuo N, Yasuko M, et al. Hepatic LDL receptor mRNA in rats is increased by dietary mushroom (*Agaricus bisporus*) fiber and sugar beet fiber [J]. *J Nutr*, 2000, 130: 2151-2156.
- [6] Sun X M, Cai H J, Wang N, et al. Use amphoterin B cell model to determine the cholesterol biosynthesis inhibitor [J]. *Chin J Integr Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 1989, 9: 604-606.
- [7] Peet D J, Turley S D, Ma W, et al. Cholesterol and bile acid metabolism are impaired in mice lacking the nuclear oxysterol receptor LXR alpha [J]. *Cell*, 1998, 93: 693-704.
- [8] Niesor E J, Flach J, Lopes-Antoni I, et al. The nuclear receptor FXR and LXR alpha: potential targets for the development of drugs affecting lipid metabolism and neoplastic diseases [J]. *Curr Pharm Des*, 2001, 7: 231-259.
- [9] Lu T T, Makishima M, Repa J J, et al. Molecular basis for feedback regulation of bile acid synthesis by nuclear receptors [J]. *Mol Cell*, 2000, 6: 507-515.

人参总皂苷体外定向诱导 CD34⁺细胞分化为粒系血细胞的研究

王建伟,王亚平,王莎莉,姜蓉

(重庆医科大学基础医学院 重庆市生物化学与分子药理学重点实验室,重庆 400016)

摘要:目的 研究人参总皂苷(TSPG)协同造血生长因子对 CD34⁺细胞体外定向诱导分化为粒系血细胞的影响。方法 应用阴性磁性分选策略,以 StemsepTM系统从正常人骨髓细胞中分离 CD34⁺造血干/祖细胞(HSC/HPC),通过甲基纤维素半固体培养法检测 TSPG 诱导 CD34⁺ HSC/HPC 向粒系祖细胞集落(CFU-GM)增殖与分化的能力;在 SCF+IL-3+GM-CSF+G-CSF(SIGG)液体培养体系中加入不同剂量的 TSPG,检测对 CD34⁺ HSC/HPC 增殖形成 CFU-GM 的影响以及 CD33⁺细胞比例的变化。结果 TSPG(10~50 μ g/mL)均能提高 CD34⁺细胞形成 CFU-GM 的集落产率,以 TSPG 20 μ g/mL 效果最为明显;不同质量浓度的 TSPG 协同造血生长因子在液体培养体系中诱导 CD34⁺细胞 2 周,观察粒系血细胞的分化,TSPG 10~70 μ g/mL 均可不同程度地提高细胞总数、CFU-GM 扩增倍数及 CD33⁺细胞比例,TSPG 20 μ g/mL 是液体培养诱导 CD34⁺细胞向粒系分化的最佳质量浓度。结论 TSPG 协同造血生长因子能促进 CD34⁺细胞定向诱导分化为粒系血细胞。

收稿日期:2006-05-22

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号 38670880, 30472253)

作者简介:王建伟(1968—),女,副教授,博士,硕士生导师,重庆市科技项目与科技成果评审专家,主要研究方向为天然中药对造血的调控。Tel: (023) 68485087 E-mail: wangjianwei88@sohu.com