

References:

- [1] Kucia M, Reza R, Miekus K, *et al.* Trafficking of normal stem cells and metastasis of cancer stem cells involve similar mechanisms: pivotal role of the SDF-1-CXCR4 axis [J]. *Stem Cells*, 2005, 23(7): 879-894.
- [2] Chen B J. Triptolide, a novel immunosuppressive and anti-inflammatory agent purified from a Chinese herb *Tripterygium wilfordii* Hook F [J]. *Leuk Lymphoma*, 2001, 42(3): 253-265.
- [3] Yang S, Chen J, Guo Z, *et al.* Triptolide inhibits the growth and metastasis of solid tumors [J]. *Mol Cancer Ther*, 2003, 2(9): 65-72.
- [4] Chang W T, Kang J J, Lee K Y, *et al.* Triptolide and chemotherapy cooperate in tumor cell apoptosis. A role for the p53 pathway [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(3): 2221-2227.
- [5] Yin J L, Jie J, Yun G W. Triptolide inhibits transcription factor NF-kappaB and induces apoptosis of multiple myeloma cells [J]. *Leuk Res*, 2005, 29(1): 99-105.
- [6] Choi Y J, Kim T G, Kim Y H, *et al.* Immunosuppressant PG490 (triptolide) induces apoptosis through the activation of caspase-3 and down-regulation of XIAP in U937 cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2003, 66(2): 273-280.
- [7] Yang S, Chen J, Guo Z, *et al.* Triptolide inhibits the growth and metastasis of solid tumors [J]. *Mol Cancer Ther*, 2003, 2(1): 65-72.
- [8] Muller A, Horney B, Soto H, *et al.* Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis [J]. *Nature*, 2001, 410(6824): 50-56.
- [9] Phillips R J, Burdick M D, Lutz M, *et al.* The stromal derived factor-1/CXCL12-CXC chemokine receptor 4 biological axis in non-small cell lung cancer metastases [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 167(12): 1676-1686.
- [10] Bertolini F, Dell'Agnola C, Mancuso P, *et al.* CXCR4 neutralization, a novel therapeutic approach for non-Hodgkin's lymphoma [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(11): 3106-3112.
- [11] Trentin L, Cabrelle A, Faccio M, *et al.* Homeostatic chemokines drive migration of malignant B cells in patients with non-Hodgkin lymphomas [J]. *Blood*, 2004, 104(2): 502-508.
- [12] Bradstock K F, Makrynika V, Bianchi A, *et al.* Effects of the chemokine stromal cell-derived factor-1 on the migration and localization of precursor-B acute lymphoblastic leukemia cells within bone marrow stromal layers [J]. *Leukemia*, 2000, 14(5): 882-888.

1-羟基-2,3,5-三甲氧基吡酮对脂多糖致小鼠急性肺损伤的保护作用

邢丞,徐波,郭伟,李敏,崔景荣*

(北京大学天然药物及仿生药物国家重点实验室,北京 100083)

摘要:目的 探讨1-羟基-2,3,5-三甲氧基吡酮(QGS)对脂多糖(LPS)致小鼠急性肺损伤的保护作用及其机制。方法 采用ip LPS的方法建立小鼠急性肺损伤模型。检测肺脏指数,酶法检测支气管及肺泡灌洗液(BALF)中NO水平,Western blotting法检测核转录因子κB抑制蛋白IκB-α,诱导型一氧化氮合成酶(iNOS)及环氧化酶I(COX-2)等蛋白的表达,HE染色观察肺组织病理学改变。结果 QGS 500 mg/kg组能显著降低LPS引起的小鼠的肺脏指数($P < 0.05$)。QGS 250,500 mg/kg组均能显著降低LPS致伤小鼠BALF中NO水平,抑制率分别达到了37%和48.1%。同时QGS 500 mg/kg组还能够明显增加肺组织中IκB-α蛋白表达量并下调iNOS及COX-2蛋白表达量。结论 QGS对LPS引起的小鼠急性肺损伤有保护作用,该作用与其增加IκB-α蛋白表达而抑制iNOS和COX-2蛋白的表达有关。

关键词:1-羟基-2,3,5-三甲氧基吡酮;脂多糖;急性肺损伤

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)09-1355-05

Protection of 1-hydroxy-2, 3, 5-trimethoxyxanthone on acute lung injury of mice induced by lipopolysaccharide

XING Cheng, XU Bo, GUO Wei, LI Min, CUI Jing-rong

(State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, Peking University, Beijing 100083, China)

Abstract: **Objective** To investigate the protective effects of 1-hydroxy-2, 3, 5-trimethoxyxanthone (QGS) on acute lung injury of mice induced by ip lipopolysaccharide (LPS). **Methods** Mice were pretreated with QGS for 7 d. Murine models of acute lung injury were duplicated by injection of LPS 20 mg/kg intraperitoneally. In 12 h, the lung weight index was observed and the NO level in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) was measured with kits. The lung was also assessed for the

收稿日期:2006-11-17

基金项目:国家高技术研究发展计划(863计划)(2004AA2Z3783)

作者简介:邢丞(1982-),男,北京人,北京大学药学院药理学系研究生,主要研究方向为蛋白酶体抑制剂的抗炎作用及机制。

Tel: (010) 82801161 E-mail: xingcheng41@hotmail.com

*通讯作者 崔景荣 Tel: (010) 82802467 E-mail: jrcui@bjmu.edu.cn

expression of I- κ B, inducible nitric oxide synthase (iNOS), and cyclooxygenase-1 (COX-2) using Western blotting analysis. Lung pathological changes were also observed by HE in each group. **Results** The lung weight index of injury lung in mice induced by LPS was decreased in 500 mg/kg QGS group ($P < 0.05$), the NO level in BALF of mice induced by LPS was decreased significantly in 250 and 500 mg/kg QGS groups with the inhibitory rate of 37% and 48.1%, respectively. Meanwhile the protein expression of I- κ B- α in lung tissue was increased remarkably but the expression of iNOS and COX-2 was suppressed in 500 mg/kg QGS group. **Conclusion** QGS could protect mice from the acute lung injury induced by LPS, which is relative to the increasing of I- κ B- α protein expression and the suppressing of iNOS and COX-2 protein expression.

Key words: 1-hydroxy-2, 3, 5-trimethoxyxanthone (QGS); lipopolysaccharides (LPS); acute lung injury

青叶胆 *Swertia mileensis* T. N. Ho et W. L. Shih 为龙胆科獐芽菜属植物。在民间,该属植物常用于治疗急性病毒性肝炎、湿热黄疸、食欲不振、尿路感染、带状疱疹等。青叶胆全草含吡啶类化合物,有研究表明,吡啶类化合物具有抗疟、抗癌、抗氧化等活性。同时,该类化合物还具有良好的抗炎活性^[1],有文献报道吡啶类化合物对巴豆油引起的小鼠耳肿胀有较强的抑制作用^[2]。

急性肺损伤是脓毒症、严重创伤、大手术后等并发症的发生和致死的主要原因。急性肺损伤进而发展为急性呼吸道窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS),它是临床上常见的危重性疾病,死亡率达 30%~40%。细菌脂多糖 (LPS) 是急性肺损伤主要致病物质^[3]。LPS 可以诱导炎性细胞如单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞,以及致伤内皮细胞产生大量炎性因子如诱导型一氧化氮合酶 (iNOS)、环氧合酶-2 (COX-2) 等,而这些因子的诱生、相互影响和炎症效应与细胞内信号转导通路密切相关。急性肺损伤发病机制复杂,至今还没有有效的治疗药物。目前,关于吡啶类化合物对急性肺损伤的影响尚未见文献报道,因此本实验采用 LPS 诱导的小鼠急性肺损伤模型,观察青叶胆乙醇提取物中的 1-羟基-2, 3, 5-三甲氧基吡啶 (QGS) 对急性肺损伤的防治效应并初步探讨其抗炎作用机制。

1 材料

1.1 QGS 混悬样品液的制备:QGS 由北京大学医学部天然药物与仿生药物重点实验室林文翰教授提供。青叶胆经粉碎后,用 95% 乙醇浸提,经硅胶柱色谱分离纯化得到 QGS (质量分数达 98% 以上),UV、IR、MS 和 CNMR 波谱方法确定化学结构^[4]。QGS 为黄色小针晶,难溶于水,易溶于 DMSO,临用前加生理盐水制成混悬液备用。

1.2 动物:健康雄性 ICR 小鼠 100 只,体重 18~22 g,北京大学医学部动物科学部提供,合格证号:SCXK 京 2002-0001,自由饮食,在室温 20~23 °C,湿度 45% 条件下饲养。

1.3 试剂与仪器:LPS 购自鼎国生物技术有限公司。NO 检测试剂盒为南京建成生物工程研究所出品。蛋白定量试剂盒为 Pierce 公司产品。山羊抗小鼠 I- κ B- α 单克隆抗体、辣根过氧化物酶偶联的山羊抗小鼠二抗及山羊抗兔二抗为 Sigma 公司产品。山羊抗小鼠 COX-2 单克隆抗体和山羊抗兔 iNOS 多克隆抗体为 Santa Cruz 公司产品。氢化可的松为保定三九济世生物药业有限公司产品,批号 20051201。多功能读板机 (Fluostar OPTIMA, BMG 德国)。

2 方法

2.1 分组给药及急性肺损伤模型的复制:100 只小鼠随机分为:对照组;模型组 (LPS);氢化可的松 (70 mg/kg) 组;QGS (250、500 mg/kg) 组,每组 20 只。QGS 组在注射 LPS 前 7 天开始 ig 给药,每天 1 次 (为保证混悬液的均一性,每次给药前都要将 QGS 混悬液充分摇匀)。氢化可的松组前 6 天给予等体积生理盐水,第 7 天给予 70 mg/kg 氢化可的松。对照组与模型组给等体积生理盐水。末次给药后 2 h, ip LPS 20 mg/kg (对照组给予等体积生理盐水),并于注射 LPS 后 12 h 测定各项指标。每组前 10 只小鼠用于进行肺灌洗以及灌洗液中的 NO 检测,后 10 只用于其他指标的检测。

2.2 肺脏指数的测定:在注射 LPS 后 12 h 断颈处死动物,称体重,取肺脏并称重质量,计算肺脏指数:肺脏指数 = $100 \times$ 肺湿质量 (g) / 体重 (g)。

2.3 肺组织的病理学检测:取左肺组织加入 4% 多聚甲醛固定。随机从各组选取 3 个肺组织样本,常规石蜡包埋,5 μ m 厚切片,HE 染色,光镜下观察肺

损伤程度。

2.4 肺灌洗:各组动物注射 LPS 或生理盐水 12 h 后脱颈处死,由气管环状软骨上缘做一切口,经气管插入 12 号针头进行肺泡灌洗,每次用生理盐水 1 mL,共灌洗两次,收集支气管肺泡灌洗液 (BALF),2 000 r/min 离心 10 min,吸取上清保存于 -20 ℃ 冰箱用于检测各指标。

2.5 BALF 中 NO 水平的检测:按试剂盒操作说明进行。

2.6 Western blotting 法检测肺组织中核转录因子 κ B 抑制蛋白 α (I κ B- α)、COX-2 及 iNOS 蛋白的表达:取出小鼠右侧肺组织,放置 -80 ℃ 冰箱中保存备用。取肺组织,加入肺组织裂解缓冲液^[5] (10 mmol/L HEPES、1.5 mmol/L MgCl₂、10 mmol/L KCl、0.2 mmol/L PMSF、0.5 mmol/L DTT) 冰上匀浆 15 min,充分裂解肺组织细胞,加入 1% NP-40,振荡混匀,4 ℃ 条件下,2 000 r/min 离心,取上清为肺组织胞浆蛋白,采用考马斯亮蓝法测定蛋白。取蛋白提取物 30 μ g,在 10% SDS-PAGE 进行电泳,将凝胶在 Tris-甘氨酸-甲醇转移液 (25 mmol/L Tris-HCl, 0.2 mmol/L 甘氨酸,0.037% SDS, 20% 甲醇) 中转移至硝酸纤维素薄膜,用含 3% BSA 的 TBST 封闭液室温下封闭 1 h,分别加入一抗 (I κ B- α 1:800, iNOS 1:200, COX-2 1:100, β -actin 1:2 000,均稀释于 1.5% BSA 的 TBST 液中),4 ℃ 孵育过夜。TBST 洗膜后分别加入山羊抗兔 (I κ B- α , iNOS) 和山羊抗小鼠 (COX-2, β -actin) 辣根过氧化物酶偶联的 IgG 二抗,室温孵育 1 h, TBST 洗膜后 ECL 染色,暗室曝光。底片经扫描仪扫描后,用灰度分析软件 Image J 进行灰度值分析,算出 I κ B- α 、iNOS 以及 COX-2 分别与内参 β -actin 的灰度比值作为上述 3 种蛋白的相对水平。

2.7 数据统计:各组实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用 t 检验。

3 结果

3.1 对 LPS 致急性肺损伤小鼠肺脏指数的影响: LPS ip 可导致肺脏指数增加,与对照组比较,差异非常显著 ($P < 0.01$)。氢化可的松能够有效抑制 LPS 导致的肺脏指数的增加。QGS 两个剂量组的肺脏指数比模型组略有下降,且高剂量组与模型组间差异显著 ($P < 0.05$),结果见表 1。

表 1 QGS 对 LPS 致急性肺损伤小鼠肺脏指数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Effect of QGS on lung weight index with acute lung injury of mice induced by LPS

($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	肺脏指数	抑制率/%
对照	—	60.3 $\pm$ 2.9	—
模型	—	74.3 $\pm$ 3.4**	—
氢化可的松	70	68.2 $\pm$ 3.4 $\Delta\Delta$	8.23
QGS	250	72.6 $\pm$ 5.0	2.33
	500	71.1 $\pm$ 2.6 Δ	4.26

与对照组比较: ** $P < 0.01$

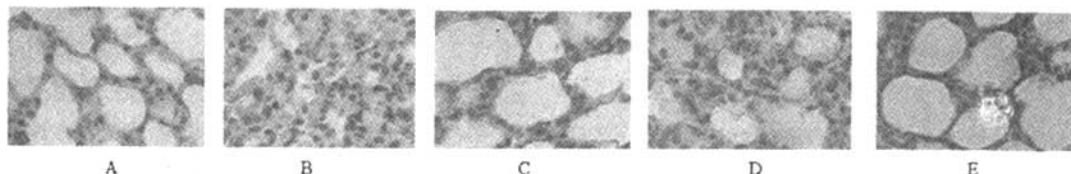
与模型组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ (表 2 同)

** $P < 0.01$ vs control group

$\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ vs model group (Table 2 is same)

3.2 对 LPS 致急性肺损伤小鼠肺组织病理学改变的影响:肉眼观察模型组肺体积增大,呈暗红色,而对照组和 QGS 高剂量组肺外观均无明显异常改变。经 HE 染色,于光镜下观察肺组织病理学改变发现,模型组肺泡腔变窄,肺泡间隔明显增厚;肺间质充血、水肿,出现部分肺泡萎缩、肺不张;肺间质和肺泡腔内可见炎性细胞和红细胞浸润,粒细胞明显增多。氢化可的松组与 QGS 高剂量组大部分肺组织均正常,可见大片透亮区,肺泡壁结构损伤轻微,肺泡间质水肿、炎细胞浸润状况显著轻于模型组。3 次重复结果均显示相同趋势,结果见图 1。

3.3 对 LPS 致急性肺损伤小鼠 BALF 中 NO 水平的影响:与对照组比较,ip LPS 后可导致 BALF 中 NO 显著升高。与模型组比较,氢化可的松组与



A-对照组 B-模型组 C-氢化可的松组 D-QGS 250 mg/kg 组 E-QGS 500 mg/kg

A-control group B-model group C-hydrocortisone group D-QGS 250 mg/kg group E-QGS 500 mg/kg group

图 1 肺组织病理学光镜图

Fig. 1 Optical graph of pathology in lung tissue

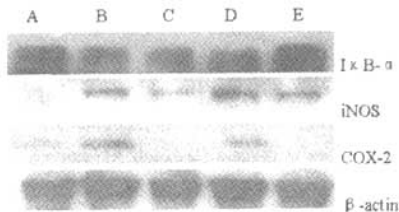
QGS 两个剂量组的 NO 均有显著性降低,且 QGS 高剂量组作用强于低剂量组,结果见表 2。

表 2 QGS 对 LPS 致急性肺损伤小鼠 BALF 中 NO 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Effect of QGS on NO level in BALF with acute lung injury of mice induced by LPS ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	NO/(μmol·L ⁻¹)	抑制率/%
对照	—	6.04±1.91	—
模型	—	143.52±51.95*	—
氢化可的松	70	35.62±21.84△△	74.49
QGS	250	90.35±28.98△	37.04
	500	63.64±21.84△△	48.69

3.4 对 LPS 致急性肺损伤小鼠肺组织中 IκB-α, iNOS 及 COX-2 蛋白表达的影响:与对照组比,模型组 IκB-α 表达显著降低 ($P<0.05$), iNOS 和 COX-2 的表达量则显著增高。QGS 可明显逆转 LPS 的作用,显著增加 IκB-α 的表达并抑制 iNOS 和 COX-2 两种蛋白的表达 ($P<0.05$),且高剂量组作用程度与阳性药氢化可的松相当,结果均得到 3 次重复。结果见图 2,半定量结果见表 3 (由于 Western blotting 结果影响因素复杂,如抗体效价, ECL 染色,曝光时间长短等,因此虽然 3 次结果均显示上述趋势,但在半定量分析中并非所有灰度比较都具有显著性差异)。



A-对照组 B-模型组 C-氢化可的松组
D-QGS 250 mg/kg 组 E-500 mg/kg 组
A-control group B-model group C-hydrocortisone group
D-QGS 250 mg/kg group E-QGS 500 mg/kg group

图 2 QGS 对 LPS 致急性肺损伤小鼠肺组织中 IκB-α, iNOS 及 COX-2 蛋白表达的影响

Fig. 2 Effect of QGS on protein expression of IκB-α, iNOS, and COX-2 in lung tissue with acute lung injury of mice induced by LPS

4 讨论

QGS 是从药用植物青叶胆中提取的一个黄酮类衍生物。QGS 结构式部分取代基虽与报道过的活性较好的黄酮类化合物有所不同,但其 1 位上也含有 1 个酚羟基,因此推测 QGS 也会有一定的抗炎作用。经实验证实,ip LPS 可以导致小鼠急性肺损

表 3 QGS 对 LPS 致急性肺损伤小鼠肺组织中 IκB-α, iNOS 及 COX-2 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 3 Effect of QGS on protein expression of IκB-α, iNOS, and COX-2 in lung tissue with acute lung injury of mice induced by LPS ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	IκB-α/β-actin	iNOS/β-actin	COX-2/β-actin
对照	—	1.212±0.283	0.259±0.032	0.269±0.043
模型	—	0.563±0.155*	0.374±0.038*	0.369±0.064
氢化可的松	70	0.785±0.197	0.277±0.015△	0.253±0.015△
QGS	250	0.686±0.228	0.334±0.066	0.290±0.055
	500	0.963±0.199△	0.301±0.026△	0.249±0.006△

与对照组比较: * $P<0.05$; 与模型组比较: △ $P<0.05$

* $P<0.05$ vs control group; △ $P<0.05$ vs model group

伤,而预先口服 QGS 能够使肺脏指数降低,肺损伤的病理学改变得以明显缓解。由此可见,QGS 对于 LPS 诱导的小鼠急性肺损伤具有保护作用。

NO 是一种内皮松弛因子,在正常肺组织中,NO 作为第二信使主要由一氧化氮合酶 (NOS) 催化 L-精氨酸转化生成。目前,关于 NO 在急性肺损伤的发病过程中的作用仍存在着争议。一方面,NO 能抑制中性粒细胞迁移在减轻急性肺损伤时起有益的作用。但是,也有报道指出,许多刺激因子可以使 iNOS 表达增多,引起肺内皮细胞、肺泡细胞以及活化的肺巨噬细胞等产生大量的 NO 和过氧化物,两者可形成过氧化硝基化合物,使肺内多种蛋白发生过氧化反应或形成硝酸盐,导致肺脏功能受损^[6]。研究发现,小鼠注射 LPS 后其血清和肺灌洗液中 NO²⁻/NO³⁻水平显著升高,肺组织丙二醛 (MDA) 水平逐渐升高以及肺组织的谷胱甘肽水平先降低后升高,提示在 LPS 致小鼠急性肺损伤中有过氧化损伤的参与^[7]。在实验中发现,预先给予 QGS 的小鼠 BALF 中,NO 的水平明显低于模型组,提示 QGS 也具有一定的抗氧化作用,而且其机制可能与细胞质中 iNOS 表达减少有关。

NF-κB 介导的信号转导途径参与了许多对炎症具有推动作用的因子和与炎症相关酶类的转录过程,在这一系列的因子中亦包括 iNOS。已有文献报道,黄酮类化合物的抗炎作用与其影响 NF-κB 的活化有直接关系^[8]。在正常组织细胞中,NF-κB 与其抑制蛋白 IκB 结合,以非活化的状态存在于细胞质中。当细胞受到 TNF-α、LPS、PMA 等因子的刺激时,IκB 即从复合物中分离出来,发生磷酸化和泛素化并被 26S 蛋白酶体所降解。与此同时,NF-κB 通路得以激活并促使包括 iNOS 在内的一系列炎症因子的高表达。预先口服 QGS 可使胞质中 IκB 的量增加,iNOS 的表达降低。该结果提示 QGS 可能是

通过抑制 I κ B 的降解,从而影响了 NF- κ B 的激活,阻碍了 iNOS mRNA 的转录,最终导致 iNOS 蛋白表达减少。为了进一步证实上述 QGS 通过影响 NF- κ B 的活化而发挥作用的假设,又观察了肺组织中 COX-2 的表达情况。COX-2 在急性肺损伤发病过程中起到很重要的作用,它可以促进前列腺素(PGs)的合成,PGs 会促使白细胞趋化、血小板聚集、肺微血管收缩,从而导致肺微血管内皮细胞和肺泡上皮细胞损伤^[9]。与 iNOS 相同,COX-2 的表达也需要 NF- κ B 激活来调节。Western blotting 结果显示,模型组 COX-2 蛋白表达明显高于对照组,预先给予 QGS 可以显著降低 COX-2 的表达量。这种趋势与 iNOS 的表达完全一致,这也从另一角度证实了对 QGS 发挥作用的机制的假设。通过体外实验,还证实了 QGS 对体外纯化 20S 蛋白酶体活性有很强的抑制作用(结果未显示)。由于体内动物试验有别于体外试验,会受到药物代谢、个体差异等因素的影响,因此,为了进一步探讨 QGS 的抗炎机制是否与蛋白酶体有关,还将在细胞水平进行深入研究。

综上所述,QGS 作为一个结构有别于其他吡喃类化合物的分子,具有较好的抑制急性肺损伤的作用,其具体机制可能是 QGS 通过抑制 NF- κ B 信号转导通路,限制了 iNOS、COX-2 等炎症因子的表

达,从而最终减少了 NO 的产生,发挥出了一定程度的抗氧化作用。

References:

- [1] Tadeusz L, Ryszard C, Teresa C, et al. New xanthone derivatives as potent anti-inflammatory agents [J]. *Medicina (Kaunas)*, 2005, 41(1): 54-58.
- [2] Cottiglia F, Casu L. Topical anti-inflammatory activity of flavonoids and a new xanthone from *Santolina insularis* [J]. *Z Naturforsch*, 2005, 60(1-2): 63-66.
- [3] Kahdi F, Ed C, Karim T. Acute respiratory distress syndrome [J]. *Am Fam Physician*, 2003, 67: 315-322.
- [4] Guo A H, Li J, Lin W H, et al. Xanthone derivatives from medicinal plant *Swertia mileensis* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(2): 107-109.
- [5] Yang Y, Qiu H B, Zhou S X, et al. Role of nuclear factor-kappa B activation in mice with acute lung injury induced by lipopolysaccharide [J]. *Chin J Crit Care Med* (中国急救医学), 2003, 23(2): 63-65.
- [6] Wulf D. Free radicals in the physiological control of cell function [J]. *Physiol Rev*, 2002, 82: 47-95.
- [7] Tan Z H, Yu L H, Wei H L, et al. Protective action of ulinastatin against lipopolysaccharides-induced acute lung injury in mice and the relation of it to iNOS and c-Jun expressions [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2006, 41(7): 636-640.
- [8] Tohru Y, Koichi A, et al. Garcinone B reduces prostaglandin E₂ release and NF- κ B-mediated transcription in C6 rat glioma cells [J]. *Neur Lett*, 2006, 394: 206-210.
- [9] Wang J S, Chen Z T. Changes of cyclooxygenase isoenzyme and effects of meloxicam in acute lung injury induced by lipopolysaccharide [J]. *Chin J Crit Care Med* (中国急救医学), 2001, 21(3): 125-127.

芦荟大黄素对大鼠巨噬细胞 [Ca²⁺] 和释放 TNF- α 的影响

陈立君, 孙文武, 胡 芬, 王新宇, 刘慧君, 杨文修

(南开大学生物物理系 南开大学生物活性材料教育部重点实验室, 天津 300071)

摘 要:目的 研究芦荟大黄素对正常的和细菌脂多糖(LPS)刺激的大鼠腹腔巨噬细胞(PM ϕ)释放肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和细胞内自由 Ca²⁺浓度([Ca²⁺]_i)的影响。方法 应用 MTT 法检测 TNF- α 量和细胞钙离子成像系统检测单细胞内[Ca²⁺]_i的动态变化。结果 芦荟大黄素可剂量依赖性活化正常 PM ϕ 释放 TNF- α , 同时诱发正常 PM ϕ [Ca²⁺]_i呈波动式变化,[Ca²⁺]_i升高来源于胞外钙内流和胞内钙池释放钙。芦荟大黄素对 LPS 刺激 PM ϕ 升高 [Ca²⁺]_i和释放 TNF- α 的影响有较复杂的剂量依赖性特征,即芦荟大黄素低浓度时对 [Ca²⁺]_i升高有明显的抑制作用;其对 TNF- α 释放的抑制呈随浓度增高而减弱的趋势。大黄素可增强芦荟大黄素对 LPS 升高 [Ca²⁺]_i的抑制作用。结论 芦荟大黄素对 PM ϕ [Ca²⁺]_i和释放 TNF- α 表现出双向调节作用,其对 [Ca²⁺]_i动力学的调制与其调节 PM ϕ 释放 TNF- α 间有明确的对应性。

关键词:芦荟大黄素;巨噬细胞;脂多糖;细胞内自由 Ca²⁺浓度([Ca²⁺]_i);肿瘤坏死因子- α (TNF- α)

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)09-1359-06

收稿日期:2007-01-07

基金项目:天津市“九五”重点攻关项目《MODS 发病机理及中西医结合治疗的深入研究》资助(983113411)

作者简介:陈立君(1979-),女,山东青岛人,博士生,从事结构生物学和细胞信号转导研究。

Tel: (022) 23010102 E-mail: liu6951@yahoo.com.cn