

- Pharmacol, 1997, 329(1): 93-97.
- [7] Kamei J, Matsunawa Y, Saitoh A. Antitussive effect of NS-398, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, in guinea pigs [J]. *Eur J Pharmacol*, 2004, 497(2): 233-239.
- [8] Canning B J, Mazonne S B, Meeker S N, et al. Identification of the tracheal and laryngeal afferent neurones mediating cough in anaesthetized guinea-pigs [J]. *J Physiol*, 2004, 557(2): 543-558.
- [9] Michael J C. Plasticity of vagal afferent fibres mediating cough [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2004, 17(6): 447-451.
- [10] Widdicombe J G. Afferent receptors in the airway and cough [J]. *Respir Physiol*, 1998, 114(1): 5-15.
- [11] Morikawa T, Gallico L, Widdicombe J. Actions of mogroside on cough and pulmonary rapidly adapting receptor activity in the guinea pig [J]. *Pharmacol Res*, 1997, 35(2): 113-118.
- [12] Sant'Ambrogio G, Sant'Ambrogio F B. Action of mogroside on the activity of tracheobronchial rapidly adapting receptors in the dog [J]. *Eur Respir J*, 1998, 11(2): 339-344.

卷柏有效部位对辐射损伤小鼠的保护作用

郑晓珂¹, 翟品芳¹, 冯卫生¹, 王继峰², 牛建昭²

(1. 河南中医学院, 河南 郑州 450008; 2. 北京中医药大学, 北京 100029)

摘要:目的 观察卷柏有效部位对⁶⁰Co- γ 射线所致小鼠辐射损伤的防护作用。方法 设正常组、模型组、雌激素组和卷柏组;除正常组外,其他各组小鼠均接受 6.0 Gy ⁶⁰Co- γ 射线全身照射 1 次;各组小鼠分别于照射前 72、48、24 h 和照射后即刻 ig 药物或蒸馏水;照射后 6、12、24 h 立即分批断头处死小鼠,观察卷柏有效部位对辐照小鼠胸腺、脾脏指数及胸腺、脾脏和骨髓细胞凋亡率的影响。结果 辐射损伤后,受照射小鼠的胸腺、脾脏指数明显下降,胸腺、脾脏和骨髓细胞凋亡率明显升高;卷柏有效部位可促进受照射小鼠胸腺脾脏指数的恢复,并明显降低其胸腺、脾脏和骨髓的细胞凋亡率。结论 卷柏有效部位对⁶⁰Co- γ 射线所致小鼠辐射损伤有一定的防护作用。

关键词:卷柏有效部位; 抗辐射; 细胞凋亡

中图分类号: R 286.96

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)02-0250-03

卷柏为蕨类卷柏科卷柏属植物卷柏 *Selaginella tamariscina* (Beauv.) Spring 的全草,多年生草本,又名长生不死草、九死还魂草、石莲花等,是传统中药材。笔者在前期对其进行系统的化学成分研究过程中,在其正丁醇部位得到了黄酮^[1]、木脂素^[2]类成分;后经细胞活性筛选实验证明,其水部位和正丁醇部位确有较好的雌激素样作用^[3]。另外,现代药理及临床研究也表明,卷柏具有防癌治癌、抗炎、抗病毒和增强机体免疫功能等作用^[4]。本实验将卷柏水部位作为其有效部位,利用碘化丙啶 (PI) 单染的方法,通过观察其对辐照小鼠胸腺、脾脏和骨髓细胞凋亡率的影响,并结合辐照小鼠的胸腺、脾脏指数,来探讨其辐射防护作用。

1 材料

1.1 动物:昆明种小鼠 72 只,雌雄各半,体重 (20±2) g,购自河南省动物实验中心。

1.2 药物与试剂:尼尔雌醇片,上海华联制药有限公司生产。RNase A、碘化丙啶 (PI) 购自 Sigma 公

司;乙醇为国产分析纯。

1.3 主要仪器: FACS 流式细胞仪 (BD, 美国), KDC—160HR 高速冷冻离心机,OLYMPUS 倒置显微镜 (CKX41), Theratron 780-C ⁶⁰Co- γ 射线照射仪 (河南省肿瘤医院提供),WH—2 微型涡旋混合仪,HZS—H 水浴振荡器。

1.4 卷柏水部位的制备:称取 2 kg 新鲜卷柏 (采自河南省西峡县,由河南中医学院生药学科董诚明副教授鉴定),自来水冲洗干净,用 10 倍量水煎煮 1.5 h,滤过,滤渣用 8 倍量水煎煮 1 h,滤过,合并两次滤液,低温减压浓缩得浸膏。再将浸膏用适量水溶解,依次用乙醚、醋酸乙酯和正丁醇萃取,将所剩水部位低温减压浓缩、真空干燥,得水部位干燥物 300 g (其中含多糖 24.08%),备用。

2 方法

2.1 分组、照射及给药:将 72 只昆明种小鼠随机分为正常组、模型组、雌激素 (阳性对照) 组和卷柏组,每组 18 只,雌雄各半;卷柏组和雌激素组分别

收稿日期: 2007-05-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30371775, 30510403202); 河南省新世纪优秀人才支持计划 (2006HANCET-08)

作者简介: 郑晓珂 (1961—), 女, 河南省郑州市人, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事中药活性成分及作用机制研究。

E-mail: zhengxk_2006@yahoo.com.cn

* 通讯作者 冯卫生 Tel: (0371) 65575963 Fax: (0371) 65680011 E-mail: fwsh@hactm.edu.cn

ig 卷柏水部位浸膏溶液 (4.909 g/kg) 和尼尔雌醇悬浊液 (14.55 mg/kg), 正常组和模型组 ig 等体积蒸馏水。除正常组外, 其他 3 组小鼠均接受 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线 6.0 Gy 全身照射 1 次, 剂量率为 0.796 Gy/min。各组小鼠分别于照射前 72、48、24 h 和照射后各 ig 药物或蒸馏水 1 次。

2.2 小鼠胸腺、脾脏指数的测定: 各组小鼠分别于照射后 6、12、24 h 分批断头处死, 立即取出胸腺、脾脏称质量, 计算胸腺、脾脏指数 (胸腺或脾脏指数=胸腺或脾脏质量/小鼠体重)。

2.3 胸腺、脾脏及骨髓单细胞悬液的制备: 分别于照射后 6、12、24 h 分批断头处死小鼠, 立即取出胸腺、脾脏和右侧股骨。用生理盐水漂洗胸腺和脾脏表面血污, 用眼科镊在小平皿内充分研磨分别制成胸腺、脾脏单细胞悬液。用 1 mL 注射器吸取 1 mL PBS 将右侧股骨骨髓腔内细胞冲出, 反复抽吸, 制成骨髓单细胞悬液。

2.4 胸腺、脾脏及骨髓细胞凋亡率检测: 将制备的单细胞悬液 3 000 r/min 离心 2 min, 弃上清, 弹匀细胞后加入 70% 的冷乙醇固定, 涡旋仪混匀后 4 放置 24 h。将固定的单细胞涡旋混匀后离心, 去除固定液, 弹匀细胞加入 PBS 洗涤。取总数为 1.5×10^6 的单细胞悬液, 离心弃去上清, 弹匀细胞后加入 RNase A 37 水浴作用 40 min, 再加入 PI 染色, 避光 4 放置 1 h, 上机检测细胞凋亡率。用 Cell quest 软件计数 1×10^4 个细胞, 进行细胞凋亡

分析 (以亚 G₁ 峰细胞为凋亡细胞, 计算凋亡率)。

2.5 统计学处理: 用 SPSS 13.0 统计软件处理, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异比较用单因素方差分析 (One-Way ANOVA)。

3 结果

3.1 对受照射小鼠胸腺、脾脏指数的影响: 结果见表 1。经 6.0 Gy $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线照射后, 模型组小鼠的胸腺和脾脏严重萎缩, 且随时间延长, 萎缩程度加深; 卷柏有效部位可抑制这种萎缩, 并在 12 h 与模型组相比, 差异非常显著 ($P < 0.01$), 脾脏指数与雌激素组相比, 无统计学意义, 表明卷柏有效部位对受辐照小鼠的胸腺和脾脏均有保护作用。

3.2 对受照射小鼠脾脏、骨髓细胞凋亡率的影响: 结果见表 2。辐照后, 模型组小鼠各时间点的脾脏和骨髓细胞凋亡率与正常组相比均明显升高。卷柏有效部位可明显抑制辐照造成的小鼠脾脏和骨髓细胞凋亡率的升高, 且与模型组相比, 差异显著 ($P < 0.05$)。另外随时间延长, 脾脏和骨髓的细胞凋亡率逐渐降低, 表明脾脏和骨髓为急性辐射敏感器官, 而卷柏水部位可以修复射线造成的小鼠脾脏和骨髓的损伤。

3.3 对受照射小鼠胸腺细胞凋亡率的影响: 结果见表 2。辐射后, 模型组小鼠各时间点的胸腺细胞凋亡率与正常组相比均明显升高。卷柏有效部位可明显抑制辐照造成的小鼠胸腺细胞凋亡率的升高, 且与模型组相比, 差异非常显著 ($P < 0.01$); 与雌激素组

表 1 受照射小鼠胸腺和脾脏指数的变化 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 1 Index changes of thymus and spleen in irradiated mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组 别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	照射后 6 h		照射后 12 h		照射后 24 h	
		胸腺指数 ($\times 10^{-3}$)	脾脏指数 ($\times 10^{-3}$)	胸腺指数 ($\times 10^{-3}$)	脾脏指数 ($\times 10^{-3}$)	胸腺指数 ($\times 10^{-3}$)	脾脏指数 ($\times 10^{-3}$)
正常	-	5.10 ± 0.38**	6.40 ± 0.42**	-	-	-	-
模型	-	3.10 ± 0.18	3.10 ± 0.27	2.10 ± 0.21	2.30 ± 0.31	1.70 ± 0.15	1.90 ± 0.10
雌激素	14.55	4.50 ± 0.42	3.60 ± 0.48*	3.90 ± 0.63**	2.80 ± 0.22*	2.30 ± 0.19	2.00 ± 0.26
卷柏	4.909	3.40 ± 0.27	3.50 ± 0.31	3.00 ± 1.33**	3.10 ± 0.69**	2.00 ± 0.08	2.10 ± 0.24

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与雌激素组比较: $P < 0.01$

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

表 2 受照射小鼠胸腺、脾脏和骨髓细胞凋亡率的变化 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 2 Changes of apoptosis rate of thymus, spleen, and bone marrow in irradiated mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组 别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	照射后 6 h 凋亡率/%			照射后 12 h 凋亡率/%			照射后 24 h 凋亡率/%		
		胸腺	脾脏	骨髓	胸腺	脾脏	骨髓	胸腺	脾脏	骨髓
正常	-	0.80 ± 0.17	1.70 ± 0.29	2.23 ± 0.49	-	-	-	-	-	-
模型	-	55.05 ± 10.45	29.46 ± 1.81	23.07 ± 5.15	59.20 ± 3.67	14.19 ± 1.53	24.22 ± 6.70	60.15 ± 5.55	6.94 ± 0.56	13.63 ± 2.64
雌激素	14.55	38.94 ± 3.55**	12.56 ± 1.89**	14.68 ± 3.03**	44.18 ± 3.07**	9.67 ± 1.75**	11.83 ± 3.88**	28.40 ± 6.11**	5.18 ± 0.81*	7.10 ± 1.42**
卷柏	4.909	43.28 ± 0.67**	20.04 ± 2.05**	18.20 ± 1.22*	46.98 ± 1.77**	10.07 ± 2.28**	11.45 ± 2.59**	28.38 ± 2.59**	4.63 ± 0.32*	10.28 ± 1.18

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与雌激素组比较: $P < 0.01$

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

相比, 差异不显著 ($P > 0.05$)。另外在各时间段, 胸腺的细胞凋亡率均高于脾脏和骨髓的细胞凋亡率至少1倍; 且随时间延长胸腺细胞凋亡率逐渐升高, 表明胸腺细胞对射线较为敏感, 且修复需要较长的时间。

4 讨论

放射线可通过直接和间接作用, 损伤细胞DNA、生物膜以及其他生物分子, 引起细胞周期紊乱, 从而造成细胞坏死和凋亡^[5-7], 而免疫器官(胸腺和脾脏)和造血器官(骨髓)对放射线又极为敏感, 故射线很容易加重机体免疫功能低下或紊乱, 使淋巴细胞失去调节机体免疫的作用, 使造血干细胞失去造血活性, 进而加速这些细胞的凋亡。

胸腺和脾脏作为参与免疫功能调节的重要免疫器官, 是高辐射敏感的细胞群。一般情况下, 机体受辐射后会引起胸腺、脾脏指数下降, 细胞凋亡增加, 机体免疫功能降低。本实验中辐照小鼠胸腺、脾脏指数的急剧下降证明了这一点。卷柏组小鼠的胸腺和脾脏指数高于模型组, 胸腺和脾脏细胞凋亡率明显低于模型组, 表明卷柏有效部位能够显著抑制辐射造成的小鼠胸腺、脾脏细胞的凋亡, 从而减轻照射损伤小鼠胸腺、脾脏的萎缩, 即其对免疫器官有辐射保护作用。卷柏有效部位可降低辐射小鼠骨髓细胞凋亡率, 即卷柏有效部位对造血组织也具有辐射防护

作用。

综上所述, 卷柏有效部位即水部位具有抗辐射作用, 其抗辐射作用的机制可能与其能抑制机体因受辐照造成的正常免疫细胞凋亡, 提高机体免疫功能和保护造血组织, 从而提高了小鼠因放疗的适应性和对有害刺激的抵御能力有关^[8], 至于其具体的机制有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 郑晓珂, 史社坡, 毕跃峰, 等. 卷柏中黄酮类成分研究[J]. 中草药, 2004, 35(7): 742-743.
- [2] 郑晓珂, 毕跃峰, 冯卫生, 等. 卷柏化学成分研究[J]. 药学学报, 2004, 39(4): 266-268.
- [3] 郑晓珂, 吕鹏飞, 王玲巧, 等. 卷柏等5种中药植物雌激素活性筛选的实验研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(13): 30-32.
- [4] 郑虎占, 董泽宏, 余靖. 中药现代研究与应用[M]. 北京: 学苑出版社, 1997.
- [5] Cook T, Wang Z, Alber S, et al. Nitric oxide and ionizing radiation synergistically promote apoptosis and growth inhibition of cancer by activating p53[J]. Cancer Res, 2004, 64(21): 8015-8021.
- [6] Landsverk K S, Lyng H, Stoke T. The response of malignant B lymphocytes to ionizing radiation: cell cycle arrest, apoptosis and protection against the cytotoxic effects of the mitotic inhibitor nocodazole[J]. Radiat Res, 2004, 162(4): 405-415.
- [7] Yamauchi R, Morita A, Yasuda Y, et al. Different susceptibility of malignant versus normal human T cells toward ultraviolet A-1 radiation-induced apoptosis[J]. Invest Dermatol, 2004, 122(2): 477-483.
- [8] 王 晓, 周银平, 万小龙. 鼻咽净对受照射小鼠的防护作用[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2003, 23(2): 140.

知母总黄酮对溴酸钾诱发小鼠肝损伤的保护作用

李满妹¹, 江 涛¹, 黄杰昌², 姚新生^{1*}, 栗原博^{1*}

(1. 暨南大学中药及天然药物研究所, 广东 广州 510632; 2. 广州莱泰制药有限公司, 广东 广州 510635)

摘 要: 目的 研究知母总黄酮对溴酸钾(KBrO_3)诱发小鼠肝损伤的保护作用。方法 200 mg/kg KBrO_3 诱发小鼠肝损伤模型, 分别测定小鼠血浆丙氨酸氨基转移酶(ALT)、NO、肝组织丙二醛(MDA)水平、抗氧化能力指数(ORAC)、谷胱甘肽(GSH)及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性。结果 与模型组相比, 知母总黄酮可以明显降低因 KBrO_3 引起的小鼠血浆ALT水平, 保护因 KBrO_3 诱发的肝损伤。此外, 知母总黄酮有效地提高应激小鼠肝组织匀浆的ORAC、GSH及GSH-Px活性, 降低血浆中NO及MDA水平。结论 知母总黄酮对 KBrO_3 诱发的小鼠肝损伤具有一定的保护作用, 其作用机制可能部分来自于清除自由基和抑制脂质过氧化过程。

关键词: 知母; 总黄酮; 肝损伤; 氧化应激; KBrO_3

中图分类号: R 285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)02-0252-04

知母为百合科植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bunge 的干燥根茎, 知母中富含皂苷和黄酮类化合物, 临床上用于清热泻火、生津润燥^[1]。近年

来国内外对知母皂苷的药理活性已有一些研究报道, 但有关知母总黄酮研究工作甚少。基于黄酮类化合物的抗氧化活性, 本研究以溴酸钾(KBrO_3)诱发