

• 药理与临床 •

通腑醒神胶囊对急性缺血损伤大鼠脑钠离子通道基因表达的影响

尤劲松¹, 胡建芳¹, 汪峰¹, 危建安², 韩凌²

(1. 广州中医药大学第二附属医院 神经一科, 广东 广州 510120; 2. 广州中医药大学第二附属医院 中心实验室, 广东 广州 510120)

摘要:目的 探讨通腑醒神胶囊对大鼠急性局灶性脑缺血再灌注损伤的神经保护作用是否与调节神经细胞膜上Na⁺离子通道基因表达有关。方法 观察通腑醒神胶囊治疗对大鼠中动脉阻塞模型大鼠各时间点神经功能缺损评分、脑含水量、脑梗死体积的影响;运用荧光定量RT-PCR技术检测各组动物损伤侧及健侧大脑神经细胞膜上Na⁺离子通道 α 亚基因各亚型(Nav1.1、Nav1.2、Nav1.3、Nav1.7、Nav1.8)mRNA在不同时间点的表达水平。结果 治疗组在1、2、3、7 d时神经功能缺损评分,3 d时脑含水量,3、7 d时的脑梗死体积均较模型组低,差异显著($P < 0.01$);治疗组损伤侧脑组织在1、2 d时Nav1.1 mRNA表达水平高于模型组,其中2 d时差异显著($P < 0.05$),但低于健侧、假手术组及对照组($P < 0.05$);模型组及治疗组损伤侧Nav1.2、Nav1.3、Nav1.7、Nav1.8 mRNA的表达水平与健侧、假手术组及对照组相比,在各时间点均未见显著性差异($P > 0.05$)。结论 通腑醒神胶囊对缺血性神经细胞具有保护作用,可能与调节Nav1.1表达有关。

关键词:通腑醒神胶囊; 脑缺血损伤; 钠离子通道基因

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)07-1031-05

Effects of Tongfu Xingshen Capsula on expression of sodium channel genes in rats with acute ischemic brain injury

YOU Jin-song¹, HU Jian-fang¹, WANG Feng¹, WEI Jian-an², HAN Ling²

(1. The First Department of Neurology, the Second Affiliated Hospital, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China; 2. The Central Laboratory, the Second Affiliated Hospital, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China)

Abstract: **Objective** To study the relationship between the neural protection of Tongfu Xingshen Capsula and the expression of sodium channel genes in rats with acute ischemic brain injury. **Methods** The neurologic impairment score, brain water content, and infarct volume were observed at different time points in the right middle cerebral artery occlusion (MCAO) rats. Using fluorescence quantitative RT-PCR technique to measure the expression of sodium channel genes (Nav1.1, Nav1.2, Nav1.3, Nav1.7, and Nav1.8) mRNA in both injured and contralateral hemispheres at different time points. **Results** At 1, 2, 3, and 7 d time-points, the neurologic impairment scores of rats in Tongfu Xingshen Capsula group were lower than those in model group with significant differences ($P < 0.01$). At 3 d time-point, the brain water content of rats in Tongfu Xingshen Capsula group was decreased significantly ($P < 0.01$) comparing with model group. At 3 and 7 d time-points, the infarct volume of rats in Tongfu Xingshen Capsula group was significantly lower than those in model group ($P < 0.01$). At 1 and 2 d time-points, the expression of Nav1.1 mRNA in injured hemisphere of rats in Tongfu Xingshen Capsula group was higher than that in model group especially significant at 2 d time point ($P < 0.05$), but was lower than that in contralateral side, Sham-operated group, and normal control group ($P < 0.05$). However, there were no significant differences among the expression of Nav1.2, Nav1.3, Nav1.7, and Nav1.8 mRNA in injured and contralateral hemispheres of all groups at all observed time-points ($P > 0.05$). **Conclusion** The findings suggest that the neural protection of Tongfu Xingshen Capsula on ischemic injury brain maybe contributes to regulate the expression of Nav1.1 sodium channel gene.

Key words: Tongfu Xingshen Capsula; ischemic brain injury; sodium channel genes

收稿日期:2007-10-26

基金项目:国家自然科学基金项目(30400583)

作者简介:尤劲松(1973—),男,医学博士,副主任医师,主要从事脑血管疾病的中西医结合临床及实验研究。

Tel: (020) 81887233-34530 E-mail: youjs73@yahoo.com.cn

中风急性期以标实为主,腑实证为常见证候,其病机特点是痰热腑实、气血逆乱,采用通腑法治疗中风,可以明显提高临床疗效。通腑醒神胶囊是广东省中医院中医脑病中心根据多年临床实践研制而成的处方,由番泻叶、虎杖、人工牛黄等组成,具有通腑醒神、豁痰开窍的功能。本课题组在承担的“九五”、“十五”攻关课题中均使用通腑醒神胶囊作为中风急性期综合治疗方案中的主要药物,应用于中风急性期伴有痰热腑实证候的患者的治疗,经多中心临床验证,临床疗效显著,有降低患者并发症和并发症致死率、致残率,提高生活质量等作用^[1]。

脑缺血时,电压门控钠离子通道开放导致的钠离子内流可以促进兴奋性氨基酸等神经递质的释放,进而导致钙内流,从而损伤神经细胞。电压门控钠离子通道,由 α 和 β 亚基组成, α 亚基为钠通道的主亚基,编码 α 亚基的为一个多基因家族,啮齿类动物有10种亚型(Nav1.1~Nav1.9, Navx)存在于中枢^[2]。 β 亚基为辅助亚基,有 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 3$ 3种亚型^[3]。在脑缺血损伤中,钠通道的不同亚型可能起着不同的作用^[4]。实验研究表明,缺血脑损伤可能导致电压依赖性的钠通道某些亚型选择性的减少,而一些钠离子的特异性阻断剂具有神经保护作用^[5]。为进一步明确通腑醒神胶囊的药理作用机制,本研究探讨了通腑醒神胶囊对大鼠急性局灶性脑缺血再灌注损伤模型的神经保护作用,试图从调节神经细胞膜上钠通道 α 亚基各亚型基因表达的异常来诠释通腑法治疗急性缺血性中风的可能作用机制。

1 材料

1.1 实验动物:SPF级雄性SD大鼠192只,体质量250~300 g,由广州中医药大学动物实验中心提供。

1.2 仪器、试剂与药品:动物手术器械、直径0.22~0.28 mm 渔线、微动脉夹、PE7000全自动荧光定量PCR仪等;逆转录试剂盒、PCR扩增试剂盒购于Invitrogen公司;Na⁺通道各亚型引物及探针由上海生工生物有限公司合成。通腑醒神胶囊由广东省中医院药剂科提供[采用紫外分光光度法测定药品中总蒽醌苷的量及薄层扫描法测定大黄素的量来控制药品质量^[6],本实验所用通腑醒神胶囊含总蒽醌苷(8.085±0.055) mg/g,含大黄素(0.974±0.040) mg/g]。

2 方法

2.1 动物分组与给药:SPF级雄性SD大鼠192只,随机分为对照组($n=12$)、假手术组($n=48$)、模型组($n=66$)、通腑醒神胶囊治疗组(简称治疗

组, $n=66$)。通腑醒神胶囊按大鼠每日1.5 g/kg计算药量(按胶囊药剂量),按动物系数折算相当于70 kg成人临床剂量的3倍。均于术后麻醉清醒后,每日分两次ig给药(2 mL)或蒸馏水2 mL,上、下午各1次。

2.2 大鼠大脑中动脉缺血再灌注模型制备:参照Koizumi^[7]线栓法稍作修改,栓塞右侧大脑中动脉,2 h后拔出线栓约1.5 cm长度形成再灌注。术中及清醒前均给予头灯(100 W)照射,保持肛温36℃左右,室温25℃。假手术组渔线插入颈总动脉深度为0.5 cm,其余操作均同手术组。各组动物如有死亡应及时补充。

2.3 观察指标

2.3.1 神经病学评分:参照Longa 5分制评分标准^[8]。累计1分以上即为成功模型。0分者为模型不成功,剔除,并及时补充。动物清醒后观察拔线时、再灌注12 h、1 d、2 d、3 d、7 d时的神经功能缺失评分。

2.3.2 脑含水量的测定:模型组、治疗组及假手术组于术后1、3、7 d时间点各取6只大鼠,对照组取第7天时间点大鼠6只,断头取脑,去除脑表面的硬脊膜、小脑及脑干部分,立即用微量精密天平称取脑湿质量,然后放置烘箱里,80℃烘72 h至恒质量,计算脑含水量[脑含水量=(湿质量-干质量)/湿质量×100%]。

2.3.3 梗死体积的判定:模型组和治疗组大鼠在缺血再灌注后1、3、7 d时间点各取6只断头取脑,置-20℃冰箱固定15 min,除去额极,每间隔2 mm做连续冠状切片5片,置入2% TTC PBS(pH 7.4)溶液中,37℃恒温避光孵育15~30 min,正常组织染色成红色,梗死灶染成白色,后将脑片置于10%福尔马林液中固定24 h后拍照并用图像分析仪计算出脑片上梗死灶体积与大脑半球体积的百分比。梗死体积计算参照Swanson等方法^[9]。

2.3.4 Na⁺离子通道各亚型mRNA表达的实时定量RT-PCR检测:模型组、治疗组及假手术组大鼠于术后12 h、1 d、2 d、3 d、7 d各取6只,对照组取第7天时间点大鼠6只,断头处死,取距额极5 mm的2 mm厚大脑冠状切面片,分别取梗死侧及对侧提取总RNA,合成cDNA按试剂盒说明操作。Na⁺离子通道 α 亚基各亚型引物及探针序列均按文献方法合成^[10],阳性标准品由英韦创津公司提供。采用不同浓度的阳性标准品(浓度分别为 1×10^7 、 1×10^6 、 1×10^5 、 1×10^4 拷贝/mL)制作标准曲线,荧光定量RT-PCR反应总体积50 μ L,循环条件:50℃、2 min,

95 ℃、10 min,40 个循环(90 ℃、15 s,60 ℃、60 s)。PCR 仪在反应结束后,将参照标准曲线,计算各组不同时间点 Na 离子通道 α 亚基各亚型基因表达的起始拷贝数(以 RNA 拷贝数的对数表示表达水平)。

2.4 统计学方法:计量资料数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示,两样本均数间比较采用 t 检验,多组总体比较用方差分析,两两比较用 q 检验。统计分析用 SPSS 13.0 软件完成。

3 结果

表 1 治疗组及模型组大鼠不同时间点神经功能缺损评分比较

Table 1 Comparison of neurologic impairment score of rats between treatment groups and model groups at different time points

组别	神经功能缺损评分					
	拔线 ($n=66$)	12 h ($n=66$)	1 d ($n=60$)	2 d ($n=42$)	3 d ($n=36$)	7 d ($n=18$)
治疗	2.00 $\pm$ 0.82	1.67 $\pm$ 0.82	1.52 $\pm$ 0.83**	1.10 $\pm$ 0.82**	0.56 $\pm$ 0.69**	0.11 $\pm$ 0.32**
模型	2.03 $\pm$ 0.78	2.17 $\pm$ 0.75	2.30 $\pm$ 0.79	2.17 $\pm$ 0.91	1.81 $\pm$ 1.01	0.78 $\pm$ 0.73

与模型组比较: ** $P<0.01$

** $P<0.01$ vs model group

表 2 各组大鼠在不同时间点脑含水量的比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Table 2 Comparison of brain water content of rats among groups at different time points ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	脑含水量/%		
	1 d	3 d	7 d
治疗	80.22 $\pm$ 1.02*	81.28 $\pm$ 0.60** Δ	78.12 $\pm$ 0.80
模型	81.07 $\pm$ 0.83**	85.97 $\pm$ 2.00**	78.33 $\pm$ 0.65
假手术	78.67 $\pm$ 0.46	78.42 $\pm$ 0.38	78.56 $\pm$ 0.32
对照	—	—	78.03 $\pm$ 0.62

与假手术组及对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

与模型组比较: $\Delta P<0.05$

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

$\Delta P<0.05$ vs model group

可见,造模后模型组及治疗组大鼠平均脑含水量在 1 d 时即明显升高,与假手术组及对照组相比,差异显著($P<0.05, 0.01$),3 d 时的脑含水量最高,7 d 时两组的脑含水量与假手术组及对照组相比无明显差异($P>0.05$)。而治疗组的脑含水量在 3 d 时与模型组相比有明显下降($P<0.05$)。假手术组在任何时间点与对照组相比均无明显差异($P>0.05$)。

3.3 治疗组与模型组大鼠在不同时间点脑梗死体积比较:经 TTC 染色后,脑梗死区呈白色,正常脑组织呈现红色,两组大鼠在手术后 1 d 的平均脑梗死体积无显著性差异($P>0.05$),而治疗组在 3、7 d 时的脑梗死体积明显低于模型组($P<0.01$),结果见表 3。

3.4 钠通道 α 亚基 Nav1.1 亚型在不同时间点的表达水平:造模 12 h 后即可见模型组和治疗组大鼠损

3.1 治疗组及模型组大鼠在不同时间点神经功能缺损评分:治疗组及模型组大鼠拔线时的平均神经功能缺损评分无显著性差异($P>0.05$)。假手术组未出现明显神经功能缺损症状。再灌注损伤后 12 h 时两组大鼠的神经功能缺损评分亦未见显著性差异($P>0.05$),而再灌注 1、2、3、7 d 时治疗组大鼠的神经功能缺损评分均低于模型组,具有显著性差异($P<0.01$),结果见表 1。

3.2 各组大鼠在不同时间点脑含水量比较:由表 2

表 3 治疗组及模型组大鼠在不同时间点脑梗死体积比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Table 3 Comparison of infarct volume of rats between treatment groups and model groups at different time points ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	脑梗死体积/%		
	1 d	3 d	7 d
治疗	24.37 $\pm$ 3.25	19.42 $\pm$ 0.91**	9.78 $\pm$ 0.85**
模型	23.72 $\pm$ 4.72	26.57 $\pm$ 3.27	18.94 $\pm$ 3.10

与模型组比较: ** $P<0.01$

** $P<0.01$ vs model group

伤侧 Nav1.1 mRNA 表达水平的降低,与健侧、对照组及假手术组相比差异显著($P<0.05$),以后继续下降,2 d 时最低,以后逐渐上升;3 d 时仍稍低于正常,但与健侧、对照组及假手术组相比差异无显著性($P>0.05$);7 d 时基本正常,与健侧、假手术组及对照组相比,均未见显著性差异($P>0.05$)。与同时时间点的模型组相比,2 d 时治疗组损伤侧 Nav1.1 mRNA 的表达水平有所升高($P<0.05$)。假手术组损伤侧 Nav1.1 mRNA 的表达水平在各个时间点与健侧及与对照组相比均未见显著性差异($P>0.05$),结果见表 4。

3.5 不同组别大鼠脑组织 Nav1.2、Nav1.3、Nav1.7、Nav1.8 mRNA 在不同时间点表达水平:治疗组、模型组、假手术组在各时间点 Nav1.2、Nav1.3、Nav1.7、Nav1.8 mRNA 的表达水平损伤侧与健侧及对照组相比均无明显差异($P>0.05$)。

表4 Nav1.1 在各组别不同时间点表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)Table 4 Comparison of Nav1.1 mRNA expression in groups at different time points ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别		Nav1.1 mRNA				
		12 h	1 d	2 d	3 d	7 d
治疗	健侧	15.63±1.71	15.79±0.53	15.80±0.66	15.79±0.55	15.47±1.07
	损伤侧	14.41±0.43*	14.00±0.85**	14.49±0.84* ^{△△}	15.52±1.07	15.43±0.29
模型	健侧	15.81±0.54	15.80±0.68	15.43±0.85	15.70±0.37	15.31±0.22
	损伤侧	14.34±0.68*	14.00±0.68*	13.49±0.69**	14.34±0.24	15.22±0.10
假手术	健侧	15.82±0.34	15.57±0.19	15.38±0.89	14.95±1.19	15.57±0.19
	损伤侧	15.47±0.95	15.41±0.31	15.47±0.95	15.14±2.10	15.31±0.12
对照	健侧	15.48±0.31	15.48±0.31	15.48±0.31	15.48±0.31	15.48±0.31
	损伤侧	—	—	—	—	15.45±0.20

与治疗组健侧、模型组健侧、假手术组及对照组双侧比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与模型组损伤侧比较: $\Delta\Delta P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs healthy side of treatment group, healthy side of model group, two sides of Sham group and control group;

$\Delta\Delta P<0.01$ vs injured side of model group

4 讨论

通腑醒神胶囊是一种治疗中风急性期痰热腑实证的制剂,其中以番泻叶通腑泄浊为君药,虎杖活血祛瘀、清热通下为臣药,人工牛黄化痰、开窍醒神为佐,诸药共奏下腑实、清瘀热、化痰开窍的功效。研究表明通腑醒神胶囊对中风病急性期痰热腑实证模型的神经体征和粪便干结、烦躁、鼻分泌物多、喉中痰鸣等痰热腑实证有明显治疗作用^[11]。梁伟雄等^[12]研究表明通腑醒神胶囊能减轻脑出血大鼠脑组织的病理形态学改变,促进血肿吸收,减轻脑水肿,减轻脑组织受压,改善微循环和脑组织供血供氧,促进脑组织修复而达到改善神经功能的目的。本研究结果亦表明通腑醒神胶囊能减轻局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠3 d时的脑含水量,对脑水肿高峰的形成有抑制作用,减少3、7 d时的脑梗死体积,减轻神经功能缺损症状,具有保护急性缺血性脑损伤作用。

本研究发现模型大鼠损伤侧 Nav1.1 mRNA 的表达在缺血再灌注12 h时即明显下降,与健侧、假手术及对照组相比具有显著性差异,以后继续下降,2 d时达最低峰,3 d时仍稍低于健侧,但无统计学差异,7 d时恢复正常。这与 YAO 等^[10]研究 MCAO 后大鼠脑损伤侧 Nav1.1 mRNA 的表达在6 h即下降,48 h达最低峰的结果相一致,表明局灶性脑缺血再灌注损伤早期(48 h内)时确实存在 Nav1.1 mRNA 表达的下调,其下调的机制可能由于缺氧时持续 Na^+ 内流导致细胞兴奋性增高而引起大脑对缺氧产生的兴奋性毒性的一种即刻反应,是机体对缺氧的一种自我保护机制。但是持续的 Nav1.1 基因的下调可能与减慢大脑神经生理的恢复有关,而 Na^+ 通道阻滞剂在随后的阶段(缺血再灌注损伤后24~48 h时)可以逆转 Na^+ 通道基因表达的下调,从而发挥神经保护作用^[5]。与模型组相

比,通腑醒神胶囊治疗后可明显逆转2 d时 Nav1.1 基因表达的下降($P<0.01$),表明通腑醒神胶囊可以调节神经细胞膜上 Nav1.1 mRNA 基因的表达失调,逆转缺血性 Nav1.1 mRNA 基因表达的过度下调,使其功能恢复正常,防止持续的 Nav1.1 mRNA 基因表达下调所带来的神经损害。研究结果同时表明,局灶性脑缺血再灌注损伤后大鼠脑损伤侧 Na^+ 离子通道 α 亚基的其他亚型(Nav1.2、Nav1.3、Nav1.7、Nav1.8) mRNA 的表达在观察时间点内与健侧相比并未出现明显差异($P>0.05$)。这与 YAO 等^[10]的研究发现 Nav1.2 mRNA 的表达在 MCAO 24 h 时亦有明显下调的结果不太一致,其原因尚有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 刘茂才,黄燕,杜宝新,等.中西医结合综合治疗高血压性中、大量脑出血201例临床研究[J].广州中医药大学学报,2001,18(1):7-13.
- [2] Goldin A L, Barchi R L, Caldwell J H, et al. Nomenclature of voltage-gated sodium channels [J]. *Neuron*, 2000, 28: 365-368.
- [3] Catterall W A. From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-based sodium channel [J]. *Neuron*, 2000, 26(1): 13-25.
- [4] Novakovic S D, Eglén R M, Hunter J C. Regulation of Na^+ channel distribution in the nervous system [J]. *Trends Neurosci*, 2001, 24: 473-478.
- [5] Yao C, Williams A J, Lu X C, et al. The sodium channel blocker RS100642 reverses down-regulation of the sodium channel α -subunit $\text{Na}(\nu)$ 1.1 expression caused by transient ischemic brain injury in rats [J]. *Neurotox Res*, 2003, 5(4): 245-253.
- [6] 丘小惠,赵瑞芝,林华.通腑醒神胶囊定性、定量方法研究[J].中国实验方剂学杂志,2001,7(1):22-24.
- [7] Kuge Y, Minematsu K, Yamaguchi T, et al. Nylon monofilament for intraluminal middle cerebral artery occlusion in rats [J]. *Stroke*, 1995, 26: 1655-1657.
- [8] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20: 84-91.
- [9] Swanson R A, Morton M T, Tsao-Wu G, et al. A

- semiautomated method for measuring brain infarct volume [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1990, 10(2): 290-293.
- [10] Yao C, Williams A J, Cui P, *et al*. Differential pattern of expression of voltage-gated sodium channel genes following ischemic brain injury in rats [J]. *Neurotox Res*, 2002, 4(1): 67-75.
- [11] 孙景波, 华荣, 黄培新. 通腑醒神胶囊对中风病痰热腑实证大鼠的治疗作用. [J]. 中国中西医结合急救医学杂志, 2001, 8(6): 341-343.
- [12] 梁传雄, 陈根成, 黄燕, 等. 通腑醒神胶囊对高血压性脑出血大鼠脑组织病理及超微结构的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2002, 18(1): 8-12.

香加皮羽扇豆烷乙酸酯对人外周血淋巴细胞免疫调节功能的影响

单保恩¹, 赵连梅¹, 艾军², 何兰欣², 陈书红³, 丁春艳¹

(1. 河北医科大学第四医院 科研中心, 河北 石家庄 050011; 2. 河北省肿瘤研究所, 河北 石家庄 050011;
3. 华北制药集团新药研究开发有限责任公司, 河北 石家庄 050015)

摘要:目的 研究香加皮中提取的羽扇豆烷乙酸酯(CPLA)对正常人外周血淋巴细胞和吞噬细胞免疫调节功能的影响。方法 无菌分离人外周血淋巴细胞和巨噬细胞,加入PHA和不同质量浓度的CPLA,MTT法检测其对淋巴细胞增殖及巨噬细胞对食管癌细胞株ECA-109生长的影响;RT-PCR法检测CPLA对 γ -干扰素(INF- γ) mRNA表达的影响;ELISA法检测CPLA作用后淋巴细胞和巨噬细胞培养上清液中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-2(IL-2)等细胞因子分泌的变化。结果 5~40 μ g/mL CPLA能明显增强PHA活化的人外周血淋巴细胞的增殖($P<0.01$);20、40 μ g/mL的CPLA能使淋巴细胞INF- γ mRNA的表达水平明显升高($P<0.01$);用CPLA处理后的巨噬细胞对肿瘤细胞的杀伤功能明显增强($P<0.01$),并证实了该作用可能与CPLA促进巨噬细胞分泌TNF- α 增多有关;CPLA能促进淋巴细胞产生IL-2和TNF- α ,并呈现浓度依赖性($P<0.01$)。结论 CPLA能增强人外周血淋巴细胞和巨噬细胞的免疫功能,发挥抗肿瘤作用。

关键词: CPLA; 外周血; 淋巴细胞; 增殖; 抗肿瘤免疫

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2008)07-1035-05

Effect of *Cortex Periplocae* lupane acetate on immunoregulation of human peripheral blood lymphocytes

SHAN Bao-en¹, ZHAO Lian-mei¹, AI Jun², HE Lan-xin², CHEN Shu-hong³, DING Chun-yan¹

(1. Research Center, The Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China; 2. Hebei Provincial Cancer Institute, Shijiazhuang 050011, China; 3. New Drug Research and Development Co., Ltd. of North China Pharmaceutical Corporation, Shijiazhuang 050015, China)

Abstract: **Objective** Effect of *Corlex Periplocae* lupane acetate (CPLA) on immunoregulation of human peripheral blood lymphocytes was studied. **Methods** Lymphocytes from human peripheral blood were isolated and co-incubated with phytohemagglutinin (PHA) and different concentration of CPLA. The effect of CPLA on the proliferation of lymphocytes and phagocytosis of macrophage to the growth of human esophageal carcinoma cells ECA-109 were measured by MTT method. Effect of CPLA on INF- γ mRNA expression was determined by using RT-PCR. TNF- α and IL-2 secretion in supernatant of lymphocytes and macrophage culture after CPLA treatment were determined with ELISA assay. **Results** The proliferation of lymphocytes was enhanced by 5~40 μ g/mL CPLA after activation of the proliferation of lymphocytes from human peripheral blood with PHA in a dose dependent manner ($P<0.01$). The expression of INF- γ mRNA in lymphocytes was enhanced by 20 and 40 μ g/mL CPLA ($P<0.01$). CPLA could strengthen the macrophage to inhibit the proliferation of esophageal carcinoma cells significantly ($P<0.01$), which may be related with TNF- α production. The production of IL-2 and TNF- α by lymphocytes could be augmented by CPLA treatment in a dose dependent manner ($P<0.01$). **Conclusion** CPLA could regulate the immune response of lymphocytes and macrophage from human peripheral blood, which may be related with killing carcinoma cells.

收稿日期: 2007-12-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30371753); 河北省自然科学基金资助项目(C2004000610); 河北省高校强势特色项目

作者简介: 单保恩(1962-), 男, 河北邯郸人, 博士, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为肿瘤基因诊断与免疫生物治疗、抗肿瘤生物治疗。

Tel: (0311) 86095283 E-mail: baoenshan@yahoo.com.cn

通腑醒神胶囊对急性缺血损伤大鼠脑钠离子通道基因表达的影响

作者：[尤劲松](#)，[胡建芳](#)，[汪峰](#)，[危建安](#)，[韩凌](#)，[YOU Jin-song](#)，[HU Jian-fang](#)，[WANG Feng](#)，[WEI Jian-an](#)，[HAN Ling](#)

作者单位：[尤劲松, 胡建芳, 汪峰, YOU Jin-song, HU Jian-fang, WANG Feng \(广州中医药大学第二附属医院神经一科, 广东广州, 510120\)](#)，[危建安, 韩凌, WEI Jian-an, HAN Ling \(广州中医药大学第二附属医院中心实验室, 广东, 广州, 510120\)](#)

刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**

英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)

年，卷(期)：2008, 39 (7)

被引用次数：1次

参考文献(12条)

1. [刘茂才;黄燕;杜宝新](#) [中西医结合综合治疗高血压性中、大量脑出血201例临床研究](#)[期刊论文]-[广州中医药大学学报](#) 2001 (01)

2. [Goldin A L;Barchi R L;Caldwell J H](#) [Nomenclature of voltage-gated sodium channels](#)[外文期刊] 2000 (2)

3. [Catterall W A](#) [From ionic currents to molecular mechanisms:the structure and function of voltage-based sodium channel](#)[外文期刊] 2000 (01)

4. [Novakovic S D;Eglen R M;Hunter J C](#) [Regulation of Na⁺ channel distribution in the nervous system](#)[外文期刊] 2001

5. [Yao C;Williams A J;Lu X C](#) [The sodium channel blocker RS100642 reverses down-regulation of the sodium channel alpha-subunit Na\(v\) 1.1 expression caused by transient iscbemic brain injury in rats](#) [外文期刊] 2003 (04)

6. [丘小惠;赵瑞芝;林华](#) [通腑醒神胶囊定性、定量方法研究](#)[期刊论文]-[中国实验方剂学杂志](#) 2001 (01)

7. [KugeY;Minematsu K;Yamaguchi T](#) [Nylon monofilament for intraluminal middle cerebral artery occlusion in rats](#) 1995

8. [Longa E Z;Weinstein P R;Carlson S](#) [Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats](#) 1989

9. [Swanson RA;Morton M T;Tsao-Wu G A](#) [A semiautomated method for measuring brain infarct volume](#) 1990 (02)

10. [Yao C;Williams A J;Cui P](#) [Differential pattern of expression of voltage-gated sidium channel genes following ischemic brain injury in rats](#)[外文期刊] 2002 (01)

11. [孙景波;华荣;黄培新](#) [通腑醒神胶囊对中风病痰热腑实证大鼠的治疗作用](#)[期刊论文]-[中国中西医结合急救杂志](#) 2001 (06)

12. [梁传雄;陈根成;黄燕](#) [通腑醒神胶囊对高血压性脑出血大鼠脑组织病理及超微结构的影响](#)[期刊论文]-[广州中医药大学学报](#) 2002 (01)

引证文献(1条)

1. [代允义, 黄汉津, 王小同, 郑国庆](#) [三化汤对大鼠脑梗死区钠离子通道表达的影响](#)[期刊论文]-[中华临床医师杂志 \(电子版\)](#) 2011 (14)