

- 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

Key words: *Cortex Periplocae* lupane acetate (CPLA); human peripheral blood; lymphocytes; proliferation; anti-tumor immunity

香加皮是植物杠柳 *Periploca sepium* Bunge 的干燥根皮。《中国药典》记载,香加皮主要功能为祛风湿、强筋骨,常用于风寒湿痹、腰膝酸软、心悸气短、下肢浮肿的治疗。本课题组在分离纯化香加皮有效成分的过程中,获得了数个单体成分,通过活性筛选实验发现,香加皮水提物及醇提物中的杠柳苷对人胃癌细胞 BCG-823、乳腺癌细胞 MCF-7、食管癌细胞 TE-13 等均具有良好的抑制效应^[1,2]。进一步研究发现,其中的羽扇豆烷乙酸酯(lupane acetate)是一种三萜类化合物,可刺激 DC 细胞(树突状细胞)分化成熟,增加 DC 细胞产生白细胞介素-12(IL-12)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等细胞因子^[3]。结果提示香加皮具有巨大的开发潜力和实用价值,但其免疫调节作用和作用机制尚不十分清楚。本实验旨在进一步研究香加皮羽扇豆烷乙酸酯(*Cortex Priplocae* lupane acetate, CPLA)对人外周血淋巴细胞的免疫功能的调节作用,为其开发利用提供实验依据。

1 材料

健康人外周血采自 20~30 岁健康志愿者。人食管癌细胞株 ECA-109 由本课题组提供。香加皮羽扇豆烷乙酸酯(CPLA)由华北制药集团新药研究开发中心分离纯化,质量分数为 95% 以上。RPMI-1640 为 Gibco 公司产品。植物凝集素(PHA)、MTT 试剂均为 Sigma 公司产品。人重组白介素-2(rIL-2)购自美国 Peprotech 公司。人 IL-2 和 TNF- α ELISA 试剂盒购自晶美生物工程有限公司。淋巴细胞分离液为上海生化试剂二厂产品。胎牛血清(FBS)为杭州四季青公司产品。 γ -干扰素(IFN- γ)基因扩增引物由上海生物工程公司合成。RT-PCR 试剂盒购自华美生物工程有限公司。

2 方法

2.1 人外周血淋巴细胞的分离和增殖反应:无菌采取健康人外周血约 5 mL,肝素抗凝,加入等体积 PBS 混匀,用淋巴细胞分离液经密度梯度离心法分离外周血单核细胞(PBMC)^[4],取白细胞层用 PBS 洗涤两次,加入含 10% FBS 的 RPMI-1640 培养基,置于饱和湿度、37℃、5% CO₂培养箱中培养 2 h,贴壁细胞作为巨噬细胞,收集备用。未贴壁细胞重悬于培养液中,2% 台盼蓝试验证实细胞存活率>95%,调整浓度为 2×10^6 /mL。加入 96 孔板

中,每孔 100 μ L,实验孔加入不同质量浓度的 CPLA,加入或不加 PHA,CPLA 终质量浓度分别为 40、20、10、5 μ g/mL,每组均设 4 个复孔。常规培养 72 h,各孔加入 MTT (5 mg/mL) 20 μ L,培养过夜,离心弃去培养上清,每孔加入 DMSO 150 μ L,混匀后以测定波长 570 nm,参考波长 620 nm 检测各孔吸光度(A)值,并计算增殖指数。

增殖指数=实验组 A 值/对照组 A 值 $\times 100\%$

2.2 RT-PCR 检测淋巴细胞 IFN- γ mRNA 的表达:实验分组及培养方法同 2.1 项,收集各组细胞,Trizol 分离总细胞 RNA,经 RT-PCR 扩增。IFN- γ 扩增引物序列参考文献方法^[5],上游:5'-ATGAAATATACAAGTTATATCTTGGCTT-3';下游:5'-GATGCTCTTCGACCTCGAAACAGCAT-3',扩增片段为 494 bp。以 β -actin 为内参照(正: TGAGACCTTCAACACCCCAG;反: GCCATCTCTTGCTCGAAGTC,扩增片段 309 bp)。PCR 反应条件:95℃ 预变性 30 s,94℃ 变性 1 min,63℃ 退火 1 min,72℃ 延伸 30 s,40 个循环,扩增产物均用 1% 琼脂糖凝胶电泳,用凝胶成像系统观察电泳结果,并用分析系统测出各泳带的吸光度值,根据 IFN- γ mRNA 与 β -actin mRNA 吸光度的比值,对其进行半定量分析,实验重复 3 次。

2.3 巨噬细胞吞噬作用分析:将 2.1 项分离贴壁细胞作为巨噬细胞,用 RPMI-1640 培养基调整细胞浓度为 2.5×10^6 /mL,接种于 96 孔培养板中,每孔 80 μ L,实验孔分别加入 20 μ L 对照剂(培养基及 20 μ g/mL rIL-2)和不同质量浓度(40、20、10、5 μ g/mL)的 CPLA,培养 24 h 后,分别加入 ECA-109 细胞悬液(1×10^5 /mL) 100 μ L,使效、靶比为 20:1。每孔液体终体积为 200 μ L,不足者用培养基补齐,每组均设 4 个复孔。置于饱和湿度、37℃、5% CO₂培养箱中培养 48 h 后,进行如下处理:(1)取各组培养上清 100 μ L,ELISA 法测定 TNF- α 水平;(2)各孔加 MTT (5 mg/mL) 20 μ L,培养过夜,离心弃去培养上清,每孔加入 DMSO 150 μ L,混匀后以测定波长 492 nm,参比波长 620 nm 检测各孔 A 值,并计算对肿瘤细胞抑制率。

抑制率=[1-(肿瘤细胞与巨噬细胞混合孔 A 值-巨噬细胞孔 A 值)/肿瘤细胞孔 A 值] $\times 100\%$

2.4 细胞因子的分泌和测定:按 2.1 项方法培养淋

巴细胞,所得到的培养上清用 ELISA 法测定 IL-2、TNF- α 水平,在酶标测试仪上测定 570 nm 处 A 值。根据标准曲线计算出培养上清液中细胞因子的量。

2.5 统计学处理:采用 SPSS 11.5 统计软件进行单因素方差分析和 LSD,实验结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 CPLA 对人外周血淋巴细胞增殖的影响:在 5~40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度下,CPLA 可显著促进 PHA 活化的淋巴细胞增殖 ($P < 0.01$),见表 1。

表 1 CPLA 对人外周血淋巴细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Table 1 Effect of CPLA on proliferation of human peripheral blood lymphocytes ($\bar{x} \pm s, n = 4$)			
组别	$\rho/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	A 值	增殖指数
对照	—	0.332 $\pm$ 0.012	—
PHA	0.050	0.340 $\pm$ 0.007	1.03
CPLA	5	0.338 $\pm$ 0.017	1.01
	10	0.341 $\pm$ 0.011	1.03
	20	0.344 $\pm$ 0.030	1.04
	40	0.335 $\pm$ 0.010	1.00
	5+0.050	0.376 $\pm$ 0.040**	1.14
CPLA+PHA	10+0.050	0.392 $\pm$ 0.017** $\Delta\Delta$	1.18
	20+0.050	0.418 $\pm$ 0.030** $\Delta\Delta$	1.26
	40+0.050	0.419 $\pm$ 0.130** $\Delta\Delta$	1.21

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与 PHA 组比较: $\Delta\Delta P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs PHA group

3.2 CPLA 对人外周血淋巴细胞 IFN- γ mRNA 表达的影响:如图 1 所示,人外周血淋巴细胞有较低 IFN- γ mRNA 的表达,经 PHA 活化后,IFN- γ mRNA 表达水平有增高趋势,但没有统计学意义 ($P > 0.05$)。20、40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ CPLA 能增强 PHA 的活化作用,使淋巴细胞 IFN- γ mRNA 的表达明显增强 ($P < 0.01$),半定量结果见表 2。

3.3 CPLA 增强人外周血巨噬细胞的吞噬作用:经不同质量浓度 CPLA 作用 72 h 后,巨噬细胞对肿

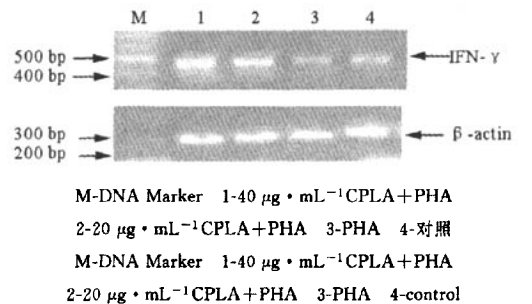


图 1 不同刺激物对人外周血淋巴细胞 IFN- γ mRNA 表达的影响

Fig. 1 Effects of different stimulators on expression of IFN- γ mRNA in human peripheral blood lymphocytes

瘤细胞的吞噬作用明显增强 ($P < 0.01$),20、40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ CPLA 刺激后,巨噬细胞的吞噬作用明显大于阳性对照组 (rIL-2) ($P < 0.01$),见表 3。20、40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ CPLA 组肿瘤细胞与巨噬细胞培养上清液中 TNF- α 的量与对照组相比明显增高 ($P < 0.01$),但 20、40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ CPLA 组与 rIL-2 组相比没有显著差异 ($P > 0.05$),见图 2。

表 2 CPLA 对人外周血淋巴细胞 IFN- γ mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effect of CPLA on expression of IFN- γ mRNA in human peripheral blood lymphocytes ($\bar{x} \pm s, n = 6$)		
组别	$\rho/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	IFN- γ/β -actin
对照	—	0.308 $\pm$ 0.024
PHA	—	0.318 $\pm$ 0.009
CPLA+PHA	20	0.842 $\pm$ 0.022**
	40	1.010 $\pm$ 0.056

与对照组比较: ** $P < 0.01$

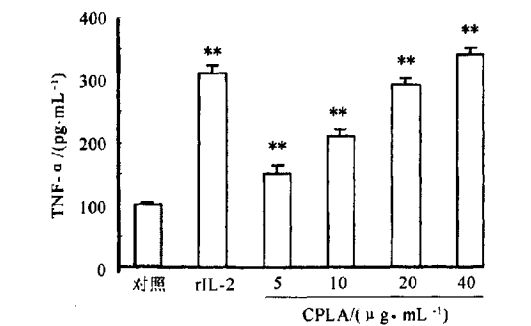
** $P < 0.01$ vs control group

表 3 CPLA 对人外周血巨噬细胞吞噬作用的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Table 3 Effect of CPLA on phagocytosis of macrophages from human peripheral blood ($\bar{x} \pm s, n = 4$)					
组别	$\rho/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	A 值		吞噬细胞	
		巨噬细胞+肿瘤细胞	巨噬细胞	肿瘤细胞	抑制率/%
对照	—	0.826 $\pm$ 0.045	0.165 $\pm$ 0.014	0.703 $\pm$ 0.038	5.97
rIL-2	—	0.521 $\pm$ 0.004**	0.291 $\pm$ 0.007	0.568 $\pm$ 0.009	43.66**
CPLA	5	0.731 $\pm$ 0.014**	0.152 $\pm$ 0.016	0.688 $\pm$ 0.027	15.84**
	10	0.702 $\pm$ 0.031**	0.158 $\pm$ 0.008	0.685 $\pm$ 0.010	20.58**
	20	0.540 $\pm$ 0.021**	0.184 $\pm$ 0.011	0.694 $\pm$ 0.007	48.70**
	40	0.527 $\pm$ 0.012**	0.235 $\pm$ 0.005	0.700 $\pm$ 0.014	54.00**

与对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group



与对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group

图 2 CPLA 对人外周血巨噬细胞 TNF- α 产生的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 Effect of CPLA on production of TNF- α by macrophages from human peripheral blood ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

3.4 CPLA 对人外周血淋巴细胞 TNF- α 和 IL-2 产生的影响:PHA 对淋巴细胞产生 TNF- α 和 IL-2 没有明显影响 ($P>0.05$),经 CPLA 作用后,淋巴细胞产生的 TNF- α 和 IL-2 水平显著升高 ($P<0.01$),且有明显的量效关系,见表 4。

表 4 CPLA 对人外周血淋巴细胞产生 TNF- α 和 IL-2 的影响 ($\bar{x}\pm s, n=4$)

Table 4 Effect of CPLA on production of TNF- α and IL-2 by lymphocytes from human peripheral blood ($\bar{x}\pm s, n=4$)

组别	$\rho/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	IL-2/ $(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$	TNF- $\alpha/(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$
对照	—	7.06 $\pm$ 1.25	1.05 $\pm$ 0.12
PHA	0.050	7.89 $\pm$ 1.65	1.23 $\pm$ 0.65**
CPLA	5	8.35 $\pm$ 0.69**	1.52 $\pm$ 0.56**
	10	10.78 $\pm$ 1.32**	2.38 $\pm$ 0.45**
	20	11.52 $\pm$ 2.35**	2.95 $\pm$ 0.89**
	40	15.26 $\pm$ 1.38**	3.75 $\pm$ 0.15**

与对照组比较: ** $P<0.01$

** $P<0.01$ vs control group

4 讨论

肿瘤患者在接受放射线和化疗药物治疗时,射线和药物对机体的免疫系统有抑制作用,致使机体的免疫功能进一步下降,影响了治疗效果并可导致一些不良反应。所以,解决肿瘤患者免疫功能低下问题成为治疗肿瘤非常关键的环节。最近,国内外学者提出生物反应调节剂(biological response modifier, BRM)的概念,强调在肿瘤放疗及手术治疗的同时应用 BRM,不但能提高患者的免疫功能,还可减轻上述治疗对免疫系统及造血系统的损害,从而提高治疗效果。在我国,中药取自天然,来源广泛、容易获得、不良反应小。因此,从中药中提取有效成分作为 BRM 显示其明显优势。为此,本实验室对几十种中药的免疫调节作用进行了研究,其中香加皮显示了很好的免疫促进作用,为进一步研究作用机制,本实验研究了香加皮提取成分 CPLA 对人外周血淋巴细胞增殖及功能的影响。

本实验结果显示,CPLA 单独诱导淋巴细胞活化和增殖不明显,而与 PHA 协同作用后可使淋巴细胞明显增殖。PHA 是 T 细胞非特异性有丝分裂原,能与 T 细胞表面 CD3/TCR 复合体结合,导致包括 CD3、CD4、CD8 以及 LAF-1 等细胞表面分子磷酸化,通过激活 PKC 途径引起细胞活化。该结果提示 CPLA 可能强化了这种活化作用,促进淋巴细胞进入增殖周期而发生增殖。肿瘤患者免疫功能下降常伴随一些细胞因子(cytokines, CKS)水平的变化,如 IL-2、IL-12、IFN、TNF 等^[6],为此,本实验研

究了 CPLA 对人外周血淋巴细胞细胞因子产生的影响。结果显示,在 CPLA 与 PHA 协同作用下,淋巴细胞 IFN- γ mRNA 表达水平明显增高,IL-2 和 TNF- α 的产生也明显增加。IL-2 和 IFN- γ 是 Th1 细胞分泌的主要淋巴因子,在抗肿瘤免疫中发挥着重要作用^[7,8]。Nakayama 等^[9]研究表明,胃肠肿瘤患者肿瘤引流淋巴结和外周血中 IL-2 和 IFN- γ 的产生均明显减少,这是由于该部位的 CD4⁺ Th1 型细胞减少,Th2 细胞增多所导致。IFN- γ 可以促进 Th0 细胞向 Th1 方向分化,抑制其向 Th2 方向分化^[10]。CPLA 通过增强外周血中 IFN- γ 的产生,可保持 Th1/Th2 平衡,有助于免疫系统发挥抗肿瘤作用。Nakayama 等^[9,11]概述,提高 IL-2 等细胞因子水平,能够增强 T 细胞的激活信号,解除肿瘤对 T 细胞的抑制作用,并促进 T 细胞对肿瘤抗原的反应,是提高机体抗肿瘤作用的有效方法。本实验结果提示,CPLA 可通过促进外周血中 IL-2 的产生,发挥抗肿瘤效应。TNF- α 能够直接杀死病毒和肿瘤,最近文献指出,TNF- α 在 CD8+T 的成熟阶段发挥着重要的信号作用,TNF- α 缺乏时会导致效应性 CD8+T 细胞产生下降,影响其转化为记忆性 T 细胞^[12]。可见,TNF- α 除了对肿瘤细胞具有直接毒性和生长抑制作用外,还可以通过增强 CD8+T 细胞的细胞毒作用抵抗肿瘤的生长。

本研究结果显示,在 5~40 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度下,CPLA 可显著提高巨噬细胞对肿瘤细胞的杀伤功能并增强巨噬细胞 TNF- α 的分泌。该结果提示 CPLA 除可以直接增强巨噬细胞的吞噬功能以外,还可能通过促进巨噬细胞分泌 TNF- α 来间接杀伤肿瘤细胞。

本研究结果证实,CPLA 能促进活化的外周血 T 淋巴细胞增殖,增强其 IFN- γ mRNA 的表达及 IL-2 和 TNF- α 的产生,能够增强巨噬细胞对肿瘤细胞的杀伤功能。该实验结果提示,CPLA 可作为 BRM,发挥免疫调节功能而增强抗肿瘤作用。但其具体的作用机制尚需进一步研究证实。

参考文献:

[1] 张 静,单保恩,刘刚叁,等.香加皮提取物抗肿瘤活性的研究[J].癌变·畸变·突变,2006,2(12):108-111.
[2] 单保恩,李俊新,张 静.香加皮水提物诱导人胃癌细胞 BGC-823 凋亡及其作用机制[J].中草药,2005,36(8):1184-1187.
[3] 张 静,单保恩,张 超.香加皮羽扇豆烷乙酸酯(CPLA)对树突状细胞分化成熟的影响[J].细胞与分子免疫学杂志,2006,26(1):26-32.
[4] 巴德年.当代免疫学技术与应用[M].北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1998.

- [5] Philippe M, Christian J M. Data on cytokine mRNA expression in CSF and peripheral blood mononuclear cells from MS patients as detected by PCR [J]. *Mult Scler*, 1998, 45(21): 143-146.
- [6] 王学宏, 李明春. 中药多糖的免疫及抗肿瘤作用研究进展 [J]. *浙江中西医结合杂志*, 2003, 23(6): 56-59.
- [7] Palladian S R. Interleukin-4 and interferon-gamma: the quintessence of a mutual antagonistic relationship [J]. *Scand J Immunol*, 1998, 6(48): 459-468.
- [8] Fearon E R, Pardoll D M, Itaya T, et al. Interleukin-2 production by tumor cells by passes T helper function in the generation of an antitumor response [J]. *Cell*, 1990, 60: 397-403.
- [9] Nakayama H, Kitayma J, Muto T, et al. Characterization of intracellular cytokine profile of CD4 (+) T cells in peripheral blood and tumor-draining lymph nodes of patients with gastrointestinal cancer [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2000, 30 (7): 301-305.
- [10] Sun C F, Hsieh Y Y, Ngan K W, et al. Search for immunomodulatory effects of blood transfusion in gastric cancer patients, flow cytometry of Th1/Th2 cells in peripheral blood [J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2001, 31(2): 171-178.
- [11] Waldmann T A. The IL-2/IL-2 receptor system: a target for rational immune intervention [J]. *Immunol Today*, 1993, 14 (5): 159-164.
- [12] Shi M, Ye Z, Umeshappa K S, et al. Alpha tumor necrosis factor contributes to CD8⁺ T cell survival in the transition phase [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 360(3): 702-707.

芡苡宁对高脂血症大鼠血脂代谢及其相关基因表达的影响

麻春杰¹, 哈斯阿古拉², 张立全², 博日吉汗格日勒图^{1*}, 苏日娜¹

(1. 内蒙古大学 高分子化学及蒙药研究所, 内蒙古 呼和浩特 010021; 2. 内蒙古大学 生物工程中心, 内蒙古 呼和浩特 010021)

摘要:目的 观察芡苡宁对实验性高脂血症大鼠血脂代谢及其相关基因表达的影响。方法 饲喂高脂饲料建立高脂血症大鼠模型, 芡苡宁分别按 2.5、5、10 mg/kg 给大鼠连续 ig 4 周。实验结束, 取空腹血, 检测血清总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、载脂蛋白 A1 (ApoA1)、载脂蛋白 B (ApoB); 利用反转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 测定大鼠肝脏低密度脂蛋白受体 (LDLR)、ApoB 和 3-羟基-3-甲基-戊二酰辅酶 A 还原酶 (HMG-CoAR) mRNA 的表达。结果 与模型组相比, 芡苡宁能降低血清 TC、TG、LDL-C、ApoB 水平及 ApoB/ApoA1 的值 ($P < 0.05$), 升高 HDL-C、ApoA1 ($P < 0.05$), 能增强高脂血症大鼠 LDLR mRNA 表达 ($P < 0.05$), 降低 ApoB mRNA 表达 ($P < 0.05$), 但对 HMG-CoAR mRNA 的影响不明显 ($P > 0.05$)。结论 芡苡宁具有调节高脂血症大鼠血脂代谢的作用, 其机制可能与提高 LDLR 基因转录水平, 降低 ApoB mRNA 表达有关。

关键词: 芡苡宁; 脂代谢; 高脂血症

中图分类号: R286.26

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)07-1039-05

Effect of piperlonguminine on blood lipid metabolism and its related genes expression in hyperlipidemia rats

MA Chun-jie¹, HASI Agula², ZHANG Li-quan², BORIJIHAN Gereltu¹, Surina¹

(1. Institute of Macromolecular Chemistry and Mongolian Medicine, Inner Mongolia University, Huhhot 010021, China;

2. Biotechnology Center, Inner Mongolia University, Huhhot 010021, China)

Abstract: **Objective** To observe the effects of piperlonguminine on the blood lipid metabolism and its related genes expression in hyperlipidemia rats. **Methods** The hyperlipidemia models induced by high-fat feeding were established. The piperlonguminine group was fed continuously with piperlonguminine (2.5, 5, and 10 mg/kg) for four weeks. At the last day, all the rats fasted for at least 12 h and the blood was drawn for the measurement of total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), apolipoprotein A1 (ApoA1), and apolipoprotein B (ApoB); The mRNA expression of low density lipoprotein cholesterol receptor (LDLR), ApoB, and 3-hydroxy 3-methylglutaryl co-enzyme A reductase (HMG-CoAR) were measured by RT-

收稿日期: 2007-09-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30160103)

作者简介: 麻春杰 (1965—), 女, 内蒙古赤峰人, 副教授, 博士在读, 研究方向为中蒙药调血脂药理学。

Tel: 13514819729 Fax: (0471) 4992570 E-mail: mcj2007@yahoo.com.cn

* 通讯作者 博日吉汗格日勒图 Tel: 13704750866 Fax: (0471) 4992570 E-mail: borjihan@imu.edu.cn

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

作者：[单保恩](#), [赵连梅](#), [艾军](#), [何兰欣](#), [陈书红](#), [丁春艳](#), [SHAN Bao-en](#), [ZHAO Lian-mei](#), [AI Jun](#), [HE Lan-xin](#), [CHEN Shu-hong](#), [DING Chun-yan](#)

作者单位：[单保恩, 赵连梅, 丁春艳, SHAN Bao-en, ZHAO Lian-mei, DING Chun-yan\(河北医科大学第四医院科研中心, 河北, 石家庄, 050011\)](#), [艾军, 何兰欣, AI Jun, HE Lan-xin\(河北省肿瘤研究所, 河北, 石家庄, 050011\)](#), [陈书红, CHEN Shu-hong\(华北制药集团新药研究开发有限责任公司, 河北, 石家庄, 050015\)](#)

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: 5次

参考文献(12条)

1. [张静;单保恩;刘刚叁](#) [香加皮提取物抗肿瘤活性的研究](#)[期刊论文]-[癌变·畸变·突变](#) 2006 (12)
2. [单保恩;李俊新;张静](#) [香加皮水提物诱导人胃癌细胞BGC-823凋亡及其作用机制](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2005 (08)
3. [张静;单保恩;张超](#) [香加皮羽扇豆烷乙酸酯\(CPLA\)对树突状细胞分化成熟的影响](#)[期刊论文]-[细胞与分子免疫学杂志](#) 2006 (01)
4. [巴德年](#) [当代免疫学技术与应用](#) 1998
5. [Philippe M;Christian J M](#) [Data on cytokine mRNA expression in CSF and peripheral blood mononuclear cells from MS patients as detected by PCR](#) 1998 (21)
6. [王学宏;李明春](#) [中药多糖的免疫及抗肿瘤作用研究进展](#) 2003 (06)
7. [Palladian S R](#) [Interleukin-4 and interferon-gamma:the quintessence of a mutual antagonistic relationship](#)[外文期刊] 1998 (48)
8. [Fearon E R;Pardoll D M;Itaya T](#) [Interleukin-2 production by tumor cells by passes T helper function in the generation of an antitumor response](#)[外文期刊] 1990
9. [Nakayama H;Kitayma J;Muto T](#) [Characterization of intracellular cytokine profile of CD4 \(+\) T cells in peripheral blood and tumor-draining lymph nodes of patients with gastrointestinal cancer](#)[外文期刊] 2000 (07)
10. [Sun C F;Hsieh Y Y;Ngan K W](#) [Search for immunomodulatory effects of blood transfusion in gastric cancer patients,flow cytometry of Th1/Th2 cells in peripheral blood](#) 2001 (02)
11. [Waldmann T A](#) [The IL-2/IL-2 receptor system:a target for rational immune intervention](#) 1993 (05)
12. [Shi M;Ye Z;Umeshappa K S](#) [Alpha tumor necrosis factor contributes to CD8+ T cell survival in the transition phase](#)[外文期刊] 2007 (03)

本文读者也读过(10条)

1. [李晓卉. 殷中琼. LI Xiao-hui. YIN Zhong-qiong](#) [青刺果黄酮对鸡红细胞免疫及外周血淋巴细胞免疫功能的影响](#)[期刊论文]-[中国兽医杂志](#)2009, 45 (3)
2. [杨晓鲲. 郑峻松. 张新. 蒲晓允. YANG Xiao-kun. ZHENG Jun-song. ZHANG Xin. PU Xiao-yun](#) [GITR抗体介导增强NK细胞杀伤活性的实验研究](#)[期刊论文]-[第三军医大学学报](#)2006, 28 (23)
3. [路金才. 王春阳. 张志诚. 孙启时](#) [几种羽扇豆烷型三萜化合物对中性粒细胞过氧化物产生的影响](#)[会议论文]-2003
4. [李俊新 单保恩. LI Jun-xin. SHAN Bao-en](#) [香加皮水提物抑制诱导红白血病细胞K562分化的初步研究](#)[期刊论文]

5. 国明明, 华欲飞. 大豆肽的电荷及相对分子质量对小鼠脾淋巴细胞增殖的影响[期刊论文]-细胞与分子免疫学杂志 2007, 23(9)
6. 许福泉, 刘海洋, 滕菲, 陈昌祥, 钟惠民, XU Fu-quan, LIU Hai-yang, TENG Fei, CHEN Chang-xiang, ZHONG Hui-min 酸叶胶藤的三萜成分研究[期刊论文]-天然产物研究与开发2007, 19(3)
7. 张静, 单保恩, 张超, 赵瑞攀, 李启亮, 刘江惠, 李巧敏, 李润青, ZHANG Jing, SHAN Bao-en, ZHANG Chao, ZHAO Rui-nian, LI Qi-liang, LIU Jiang-hui, LI Qiao-min, LI Run-qing 香加皮羽扇豆烷乙酸酯(CPLA)对树突状细胞分化成熟的影响[期刊论文]-细胞与分子免疫学杂志2006, 22(1)
8. 葛飞, 桂琳, 李婉珍, 樊美珍, GE Fei, GUI Lin, LI Wan-zhen, FAN Mei-zhen 中国被毛孢菌丝体对小鼠免疫功能的影响[期刊论文]-中国临床药理学与治疗学2008, 13(8)
9. 门金娥, 张向阳, 悦隼士, 郑海萍 香加皮水提取物诱导人食管癌细胞TE-13凋亡的实验研究[期刊论文]-现代预防医学2008, 35(5)
10. 冯颖, 陈晓鸣, 马艳, 何钊, FENG Ying, CHEN Xiao-ming, MA Yan, HE Zhao 白蜡虫免疫调节作用试验研究[期刊论文]-林业科学研究2006, 19(2)

引证文献(6条)

1. 张静, 杨光, 单保恩, 张超, 赵瑞攀, 刘江惠 杠柳苷对H22荷瘤小鼠的抑瘤作用及其机制研究[期刊论文]-中草药 2010(8)
2. 刘晓霞, 张永泽, 李振红, 李菊梅, 陈剑华, 单保恩 宝藿苈-I对人食管癌细胞Eca-109Wnt/ β -catenin信号转导通路的影响[期刊论文]-中草药 2011(1)
3. 刘晓霞, 张永泽, 李振红, 李菊梅, 陈剑华, 单保恩 宝藿苈-I对人食管癌细胞Eca-109Wnt/ β -catenin信号转导通路的影响[期刊论文]-中草药 2011(1)
4. 刘晓霞, 刘红珍, 陈剑华, 陈育民, 单保恩 宝藿苈-I对人食管癌细胞Eca-109增殖及细胞周期的影响[期刊论文]-中草药 2009(10)
5. 阎雪梅 香加皮的化学成分药理作用及临床应用研究进展[期刊论文]-天津药学 2011(5)
6. 李超, 潘桂湘, 何新 香加皮的化学成分及药理作用研究进展[期刊论文]-药物评价研究 2010(1)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200807028.aspx