

芦荟大黄素对T淋巴细胞增殖和细胞 $[Ca^{2+}]_i$ 变化的影响

李臣宇, 李 新, 刘丽军, 邹 洁, 胡 芬, 李俊英*

(南开大学生物物理系 生物活性材料教育部重点实验室, 天津 300071)

摘 要:目的 研究芦荟大黄素对植物血凝素(PHA)引起的大鼠T淋巴细胞增殖和细胞内 Ca^{2+} 浓度($[Ca^{2+}]_i$)变化的影响,探讨芦荟大黄素对T淋巴细胞增殖的作用和机制。方法 采用MTT法检测细胞增殖,用单细胞钙成像系统记录细胞胞浆 $[Ca^{2+}]_i$ 。结果 芦荟大黄素对PHA引起的细胞增殖有显著抑制作用,且其抑制作用与剂量有关;加入PHA引起细胞 $[Ca^{2+}]_i$ 迅速升高,并持续维持高 $[Ca^{2+}]_i$ 水平,芦荟大黄素对PHA引起的 $[Ca^{2+}]_i$ 升高有显著抑制作用,其作用途径包括阻断胞内 Ca^{2+} 释放和抑制胞外 Ca^{2+} 内流。结论 芦荟大黄素可抑制T淋巴细胞增殖,其作用机制可能与抑制淋巴细胞内 $[Ca^{2+}]_i$ 升高相关。

关键词:芦荟大黄素; T淋巴细胞; 细胞内游离 Ca^{2+} 浓度 $[Ca^{2+}]_i$; 增殖

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)08-1192-05

Effect of aloe-emodin on proliferation and $[Ca^{2+}]_i$ mobilization of T lymphocytes

LI Chen-yu, LI Xin, LIU Li-jun, ZOU Jie, HU Fen, LI Jun-ying

(Department of Biophysics, Key Laboratory of Bioactive Materials, Ministry of Education, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of aloe-emodin on PHA-induced proliferation and intracellular Ca^{2+} mobilization of T lymphocytes. **Methods** The proliferation of T cell was tested by MTT assay. The $[Ca^{2+}]_i$ mobilization was recorded by single cell Ca^{2+} image system using Fura-2 as Ca^{2+} probe. **Results** Aloe-emodin inhibited PHA-induced proliferation in a dose-dependent manner. PHA triggered a rapid $[Ca^{2+}]_i$ rise followed by a sustain high $[Ca^{2+}]_i$ level. The rapid Ca^{2+} rise was caused by Ca^{2+} release from intracellular store and the sustain high $[Ca^{2+}]_i$ level was due to Ca^{2+} influx. Aloe-emodin inhibited both Ca^{2+} release and Ca^{2+} influx. **Conclusion** Aloe-emodin blocks PHA-induced proliferation of T lymphocytes and the mechanism for this may be due to its inhibition on PHA-induced $[Ca^{2+}]_i$ mobilization.

Key words: aloe-emodin; T lymphocyte; intracellular Ca^{2+} concentration; proliferation

T淋巴细胞在抗原或有丝分裂原的刺激下活化和增殖是机体重要的免疫反应,对其分子机制的研究表明,细胞内游离 Ca^{2+} 浓度($[Ca^{2+}]_i$)的升高是T淋巴细胞活化和增殖的早期反应,植物血凝素(PHA)等有丝分裂原首先引起T细胞持续性 $[Ca^{2+}]_i$ 升高,胞内游离的 Ca^{2+} 使钙调素(CaM)和蛋白激酶激活,继而引起细胞增殖^[1~4]。阻断细胞 $[Ca^{2+}]_i$ 升高可抑制T细胞的增殖作用^[5]。

大黄在临床上有抗炎、抑菌、保肝等多种疗效,其中含有芦荟大黄素、大黄素、大黄酸等蒽醌类成分,芦荟大黄素(aloe-emodin)是大黄中的游离型单蒽醌类有效成分之一。研究表明大黄单蒽醌类化合物有调节机体免疫、抗炎、抗肿瘤等多种生物活性^[6~8],笔者曾研究过该类化合物对巨噬细胞的作

用,发现大黄素、芦荟大黄素可影响巨噬细胞分泌细胞因子,其作用的机制与调节巨噬细胞 $[Ca^{2+}]_i$ 变化相关^[9,10]。本研究芦荟大黄素对大鼠脾T淋巴细胞增殖的作用,并检测了药物对细胞 $[Ca^{2+}]_i$ 变化的影响,探讨了其对免疫系统的作用和机制。

1 材料与方法

1.1 材料:Wistar大鼠,雌雄兼有,体质量160~180g,由军事医学科学院卫生学环境医学研究所提供(二级);含酚红RPMI-1640培养基、Fura-2/AM、PHA、HEPES、SDS、MTT购自美国Sigma公司;L-谷氨酰胺购于美国Gibco公司;芦荟大黄素由天津药物研究院提供,质量分数98%;环孢霉素A(Cyclosporin A)购自Ruibio公司,其他试剂为国产分析纯。

收稿日期:2007-10-18

基金项目:天津市科委重点科技攻关项目(983113411)

作者简介:李臣宇(1983—),男,贵州省人,研究生,从事细胞信号转导研究。

*通讯作者 李俊英 Tel: (022) 23508390 E-mail: jyli04@nankai.edu.cn

1.2 T淋巴细胞的制备:T淋巴细胞的制备参照文献方法^[11]进行。将大鼠脱颈椎处死后,无菌条件下立即解剖取出脾脏,置于PBS溶液中,切碎后匀浆,将匀浆液1 000 r/min离心10 min,弃上清,加入红细胞裂解液(NH_4Cl 140 mmol/L, Tris 21 mmol/L)放置10 min,以去除红细胞,然后于1 000 r/min离心10 min,弃去上清,将沉淀悬浮于含10%小牛血清的RPMI-1640培养液中。将细胞悬液通过尼龙毛柱,分离出T淋巴细胞,加入PBS液,1 000 r/min离心10 min,弃上清,重复3次以充分洗涤T淋巴细胞,然后加入RPMI-1640培养液配成细胞悬液待用。

1.3 T淋巴细胞的增殖检测:T细胞增殖采用MTT比色法检测,以570 nm处的吸光度(A)值表征活细胞数。将T淋巴细胞悬液调到浓度为 $1 \times 10^5/\text{mL}$,按每孔100 μL 加入到96孔平底培养板中,每组设5个复孔。实验分组为:不加任何药物的对照组;单独PHA (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)处理组;1、10、100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 芦荟大黄素单独处理组;1、10、100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 芦荟大黄素与PHA (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)共处理组;1、10 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 环孢霉素A与PHA (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)共处理组;按以上分组每孔加入药物后,将96孔板置于5% CO_2 的培养箱中37 $^\circ\text{C}$ 培养72 h,终止培养前4 h每孔加入5 mg/mL MTT溶液20 μL 。培养结束后每孔加入100 μL SDS-DMF溶解液(含10% SDS, 50% DMF, pH 2.0)过夜,然后在酶联仪上测定各孔570 nm处的 A 值($A_{570\text{ nm}}$)。

1.4 T淋巴细胞胞浆内的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 变化检测:Fura-2/AM可以进入细胞并在紫外光激发下可发射荧光,Fura-2/AM进入细胞后与胞浆内游离 Ca^{2+} 特异结合,未结合 Ca^{2+} 的Fura-2-特异激发波长为380 nm,而与 Ca^{2+} 结合后的激发波长为340 nm,二者的发射波长均为510 nm,分别检测在340 nm和380 nm下Fura-2发射的荧光强度 F_{340} 和 F_{380} ,其比值(F_{340}/F_{380})与细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 成正比,可表征细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 变化。将盖玻片放入6孔板中,每孔加入50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 多聚赖氨酸液50 μL ,使其均匀包被盖玻片。然后将 $2 \times 10^5/\text{mL}$ T细胞悬液每孔2 mL培养于包被后的盖玻片上,待细胞贴壁后,每孔加入2 mL含Fura-2/AM (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的HBSS溶液(NaCl 110 mmol/L、 KCl 5.4 mmol/L、 Na_2HPO_4 0.15 mmol/L、 KH_2PO_4 0.4 mmol/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.8 mmol/L、 CaCl_2 1.3 mmol/L、 NaHCO_3 4.2 mmol/L、葡萄糖 $\cdot \text{H}_2\text{O}$ 5.5 mmol/L、HEPES 15 mmol/L, pH 7.2~7.4)避光室温下放置50 min

进行负载。负载后用HBSS洗涤3次,去掉细胞外的Fura-2/AM,每孔中加入2 mL HBSS液待测。细胞外无钙的条件下用不含 Ca^{2+} 的HBSS洗3次,培养于含有5 mmol/L EGTA的无钙HBSS中。

将负载好的细胞放于倒置显微镜上,用单细胞钙离子成像分析系统检测细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 变化。由480 TVL Colour Digital CCD实时拍摄细胞内荧光强度动态变化,并用Matefluor分析软件(美国通用公司)进行实时采集和分析。先分别用1、10、100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 芦荟大黄素处理细胞5 min,然后再加入5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ PHA,测定单细胞在激发光分别为340 nm和380 nm条件下的胞内发射光的强度 F_{340} 和 F_{380} 的动态变化,用其比值 F_{340}/F_{380} 表示细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 。

1.5 数据处理:检测单细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的实验中,每个实验条件均做3次取自不同动物的细胞检测,每次检测10个左右细胞,选取1例作为代表性结果示于图中,基础值标准化为1.0。细胞增殖的结果为相同条件下3次实验,每次5个孔数据的平均值,用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验。

2 结果

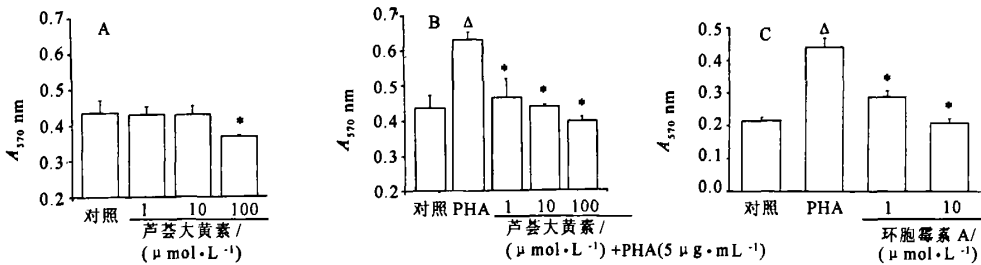
2.1 芦荟大黄素对T淋巴细胞增殖的影响:本实验首先检测了不同浓度的芦荟大黄素对未经有丝分裂原活化的T淋巴细胞的影响。分离的T淋巴细胞不加任何药物,培养72 h后细胞数量无明显改变,说明未经有丝分裂原活化,T淋巴细胞无明显的增殖。在细胞培养液中分别加入1、10、100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 芦荟大黄素,培养72 h后检测细胞的增殖情况,并与不加芦荟大黄素的对照组进行比较,结果见图1-A。1、10 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 芦荟大黄素对细胞数量无显著影响,100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 芦荟大黄素则使细胞数量下降,表明芦荟大黄素不引起静息的T淋巴细胞增殖,且高浓度药物反而会引起细胞死亡。

PHA是常用的诱发淋巴细胞增殖的有丝分裂原,本实验结果表明5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ PHA可显著引起大鼠T淋巴细胞增殖(图1-B),但在细胞培养液不含 Ca^{2+} 的情况下,PHA不能引起细胞增殖,说明细胞培养液中的 Ca^{2+} 是细胞增殖必要的条件。已知环孢霉素A具有抑制淋巴细胞增殖的作用,本实验以环孢霉素A作为阳性对照,结果显示,与单独PHA处理组相比,1 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 环孢霉素A使细胞数目下降46%,10 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 环孢霉素A完全抑制了PHA诱发的细胞增殖(图1-C)。

在细胞培养液中同时加入PHA和芦荟大黄素,培养72 h后检测细胞增殖情况,结果表明:在芦

荟大黄酒存在的条件下,PHA 诱发T淋巴细胞增殖的作用明显下降,与单独 PHA 组相比,芦荟大黄酒 1、10、100 $\mu\text{mol/L}$ 使细胞数目分别下降了 25%、

30%、37% (图 1-B),表明芦荟大黄酒对 PHA 引起的淋巴细胞增殖有显著抑制作用,且其抑制效果与药物剂量相关。



A-未加 PHA 处理 T 淋巴细胞 B-PHA 活化 T 淋巴细胞 C-环孢霉素 A 处理 T 淋巴细胞

与对照组比较: $\Delta P < 0.05$ 与 PHA 组比较: * $P < 0.05$

A-T lymphocytes were not treated with PHA B-T lymphocytes were stimulated with PHA

C-T lymphocytes were treated with ciclosporin A $\Delta P < 0.05$ vs control group * $P < 0.05$ vs PHA group

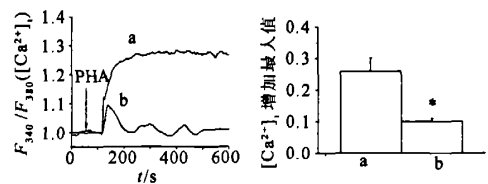
图 1 芦荟大黄酒对 T 淋巴细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=15$)

Fig. 1 Effect of aloe-emodin on T lymphocytes proliferation ($\bar{x} \pm s$, $n=15$)

2.2 PHA 对 T 淋巴细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 影响: 由于 Ca^{2+} 在 T 淋巴细胞活化和增殖中起重要作用, 本实验检测了 PHA 对 T 淋巴细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的影响。在正常细胞外液条件下加入 5 $\mu\text{g/mL}$ PHA, T 淋巴细胞内 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 迅速升高, 并维持细胞内 Ca^{2+} 高浓度的状态, 形成平台 (图 2-a)。对所检测的 15 个细胞统计显示, PHA 可使细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高至基础值的约 1.26 倍。为研究 PHA 引起的 Ca^{2+} 升高的来源, 本实验去除细胞外 Ca^{2+} , 在此条件下 PHA 引起暂时性 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高到峰值后又下降至基础值, 并在基础值附近波动, 持续高 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 状态消失, 且无钙条件下 PHA 引起的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 变化的最大值显著低于正常条件 (图 2-b)。

正常条件下 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高的来源包括胞内 Ca^{2+} 释放和胞外 Ca^{2+} 内流, 而无 Ca^{2+} 条件下 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高主要源自胞内 Ca^{2+} 释放, 比较正常和无 Ca^{2+} 情况下的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 变化形式, 说明 PHA 可引起细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高的途径包括胞内 Ca^{2+} 释放胞外 Ca^{2+} 内流, 其中开始的快速上升过程由两种机制共同参与, 而持续高 Ca^{2+} 平台的维持则主要依靠胞外 Ca^{2+} 内流。

2.3 芦荟大黄酒对 T 淋巴细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 变化的影响: 为研究芦荟大黄酒抑制 T 细胞增殖的作用机制, 本实验检测了芦荟大黄酒对 PHA 引发的淋巴细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高的影响。首先检测芦荟大黄酒对 T 细胞内 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的作用, 在细胞培养液中加入 1、10、100 $\mu\text{mol/L}$ 芦荟大黄酒后, 细胞的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 无显著变化, 说



a-正常培养液 b-无 Ca^{2+} 培养液

与 a 比较: * $P < 0.05$ ($n=15$)

a-normal HBSS solution b- Ca^{2+} -free HBSS solution

* $P < 0.05$ vs a ($n=15$)

图 2 PHA 对 T 淋巴细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的影响

Fig. 2 Effect of PHA on $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in T lymphocytes

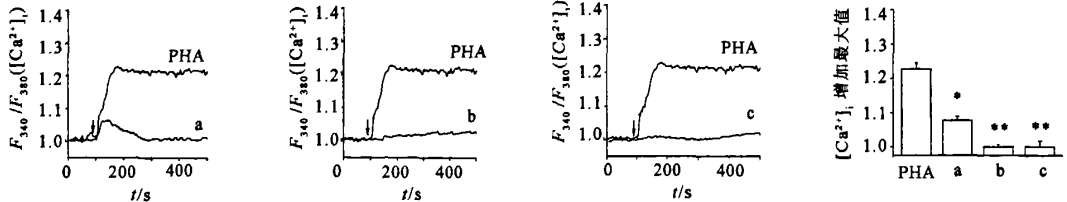
明芦荟大黄酒本身对 T 细胞的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 无显著作用。

2.3.1 正常细胞外液条件下芦荟大黄酒对 T 淋巴细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 变化的影响: 在正常细胞外液的条件下, 先用芦荟大黄酒处理细胞 5 min, 再加入 PHA, 此时 PHA 引起的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高显著降低或消失, 如图 3 所示。1 $\mu\text{mol/L}$ 芦荟大黄酒使 PHA 引起的持续性高 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 状态消失, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 暂时性升高后又下降至基础值附近, 并且 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高的最大值也显著低于单独 PHA 处理组。10、100 $\mu\text{mol/L}$ 的芦荟大黄酒则完全抑制了 PHA 引起的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高。表明芦荟大黄酒可阻断 PHA 引起的淋巴细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高, 并且药物的作用与剂量有关; 因为 PHA 引起的持续高 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 平台由胞外 Ca^{2+} 内流所介导, 芦荟大黄酒对此有显著抑制作用, 说明药物可阻断 PHA 引起的胞外 Ca^{2+} 内流。

2.3.2 无钙条件下芦荟大黄酒对 T 淋巴细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 变化的影响: 为进一步研究芦荟大黄酒对

PHA 引起的细胞内 Ca^{2+} 释放的影响,本实验检测了在细胞外无钙条件下芦荟大黄素的作用。培养液中加入 EGTA 去除 Ca^{2+} ,在此条件下,1 $\mu\text{mol/L}$ 芦荟大黄素使 PHA 引起的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高峰值下降 28%,但 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 变化的形式没有显著改变。10、100

$\mu\text{mol/L}$ 的芦荟大黄素则能完全抑制 PHA 引起的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高(图 4)。因为,在胞外无钙的条件下,PHA 引起的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高是由胞内钙释放所至,以上结果表明芦荟大黄素对 PHA 引起的胞内钙释放也有阻断作用。



a-PHA+1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 芦荟大黄素 b-PHA+10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 芦荟大黄素 c-PHA+100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 芦荟大黄素

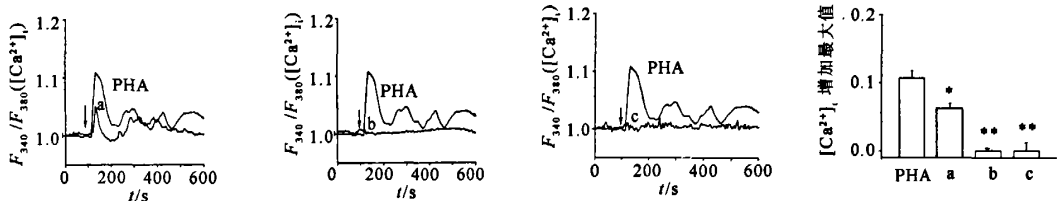
与 PHA 组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ ($n = 10$)

a-PHA+1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ aloe-emodin b-PHA+10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ aloe-emodin c-PHA+100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ aloe-emodin

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs PHA group ($n = 10$)

图3 芦荟大黄素对 PHA 引起的 T 淋巴细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高的作用

Fig. 3 Effect of aloe-emodin on increase of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in T lymphocytes induced by PHA



a-PHA+1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 芦荟大黄素 b-PHA+10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 芦荟大黄素 c-PHA+100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 芦荟大黄素

与 PHA 组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ ($n = 10$)

a-PHA+1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ aloe-emodin b-PHA+10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ aloe-emodin c-PHA+100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ aloe-emodin

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs PHA group ($n = 10$)

图4 无钙条件下芦荟大黄素对 PHA 引起的 T 淋巴细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高的作用

Fig. 4 Effect of aloe-emodin on increase of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in T lymphocytes induced by PHA in Ca^{2+} -free HBSS solution

3 讨论

细胞内游离 Ca^{2+} 是重要的第二信使,与多种重要的细胞生理过程相关。关于淋巴细胞活化增殖分子机制的研究表明,细胞内 Ca^{2+} 浓度升高是淋巴细胞活化与增殖前提,有丝分裂原与 T 细胞膜上的相应受体结合后,通过 G 蛋白耦联的磷酸肌醇通路诱导胞内钙库释放 Ca^{2+} ,使 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高。 Ca^{2+} 的释放继而引起 T 细胞膜上 Ca^{2+} 通道开放,胞外 Ca^{2+} 流入胞内,导致 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 进一步升高,细胞维持高 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 状态, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高可促进细胞内 Ca^{2+} 与 CaM、蛋白激酶 C (PKC) 等的结合,PKC、CaM 与 Ca^{2+} 结合后被激活,继而活化 NF-AT 等一系列转录因子,引起 T 细胞的活化和增殖,其中细胞持续高 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 状态是活化和增殖关键因素^[1~4]。本实验结果显示 T 细胞的增殖状态与 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 密切相关:在无钙条件下,PHA 不能引起细胞增殖;芦荟大黄素对

静息的 T 细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 无显著影响,同时也不能使细胞增殖;芦荟大黄素能抑制 PHA 引起 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高,同时对 PHA 引起的细胞增殖也有抑制作用。这些结果提示芦荟大黄素抑制淋巴细胞增殖作用的机制可能与抑制细胞内 Ca^{2+} 升高有关。

前期曾研究过芦荟大黄素对巨噬细胞的作用,发现芦荟大黄素可通过影响巨噬细胞内 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 变化而起到调节细胞因子分泌的作用^[12],联系本实验的研究结果,提示芦荟大黄素调节免疫细胞活性的作用机制可能与其影响细胞内 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 变化相关。Kuo 等^[13]报道过大黄素对 T 淋巴细胞增殖的影响,发现大黄素对 T 淋巴细胞的增殖有抑制作用,其作用机制与降低细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高有关,这与本实验的结果有一定的相似性,提示这一类药物可能有相似的作用机制。

关于淋巴细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 变化的机制,研究表明,

PHA 首先通过 T 细胞受体引起胞内钙库释放 Ca^{2+} , 形成 $[\text{Ca}^{2+}]$ 快速升高, Ca^{2+} 释放进一步激活了细胞膜 CRAC 通道 (Ca^{2+} release activated Ca^{2+} channel, CRAC), Ca^{2+} 由胞外流入胞内, 形成持续高 Ca^{2+} 状态^[14], 此外 T 细胞上还存在类似电压依赖性钙通道的通道, 参与 Ca^{2+} 内流, 与 CRAC 通道共同形成高 Ca^{2+} 状态^[15]。当细胞内 Ca^{2+} 升高到一定程度后, 细胞膜和内质网上的钙泵被激活, Ca^{2+} 被泵出细胞或泵入钙池中, 使 $[\text{Ca}^{2+}]$ 达到稳定状态^[1]。由于芦荟大黄素使 PHA 引起的 $[\text{Ca}^{2+}]$ 下降至基础值附近, 但不会使 $[\text{Ca}^{2+}]$ 低于基础值, 提示芦荟大黄素降低 $[\text{Ca}^{2+}]$ 可能不是通过提高钙泵的活性来实现的, 而是通过抑制钙升高途径实现的, 结果也显示芦荟大黄素对 PHA 引起的胞内 Ca^{2+} 释放和胞外 Ca^{2+} 内流均有抑制作用, 芦荟大黄素作用具体的靶点和分子机制还需要进一步的研究。

参考文献:

- [1] Lewis R S. Calcium signaling mechanisms in T lymphocytes [J]. *Annu Rev Immunol*, 2001, 19(1): 497-521.
- [2] György P, Zoltán V, Rezső G. Ionchannels and lymphocyte activation [J]. *Immunol Lett*, 2004, 92(1): 55-56.
- [3] Dolmetsch R E, Lewis R S, Goodnow C C, et al. Differential activation of transcription factors induced by Ca^{2+} response amplitude and duration [J]. *Nature*, 1997, 386(6627): 855-858.
- [4] Winslow M M, Neilson J R, Crabtree G R, et al. Calcium signaling in lymphocytes [J]. *Curr Opin Immunol*, 2003, 15(3): 299-307.
- [5] Zitt C, Strauss B, Schwarz E C, et al. Potent inhibition of Ca^{2+} release-activated Ca^{2+} channels and T-lymphocyte activation by the pyrazole derivative BTP2 [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(13): 12427-12437.
- [6] 李淑娟, 董晓华, 武海霞, 等. 大黄及其有效成分药理作用研究进展 [J]. 医学综述, 2005, 11(1): 76-78.
- [7] 郭美姿, 徐海荣, 李孝生. 大黄酸药理作用的研究进展 [J]. 国外医学: 中医中药分册, 2002, 24(3): 139-143.
- [8] 胡 芬, 孙文武, 宋志成, 等. 芦荟大黄素对 Jurkat T 细胞增殖和凋亡的作用及机制 [J]. 中草药, 2008, 39(2): 231-236.
- [9] 王 辉, 董志勇, 余 奕, 等. 大黄素影响巨噬细胞升高 $[\text{Ca}^{2+}]$ 和释放 $\text{TNF-}\alpha$ 的作用特征 [J]. 生物物理学报, 2002, 18(3): 345-349.
- [10] 杨文修, 李晓东, 刘保华, 等. 大黄酸抑制脂多糖刺激巨噬细胞升高 $[\text{Ca}^{2+}]$ 和释放 $\text{TNF-}\alpha$ 的作用特征 [J]. 南开大学学报, 2003, 36(3): 111-116.
- [11] 薛庆善. 体外培养的原理与技术 [M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [12] 陈立君, 孙文武, 胡 芬, 等. 芦荟大黄素对大鼠巨噬细胞 $[\text{Ca}^{2+}]$ 和释放 $\text{TNF-}\alpha$ 的影响 [J]. 中草药, 2007, 37(9): 1359-1364.
- [13] Kuo Y C, Meng H C, Tsai W J. Regulation of cell proliferation inflammatory cytokine production and calcium mobilization in primary human T lymphocytes by emodin from *Polygonum hypoleucum* Ohwi [J]. *Inflam Res*, 2001, 50(1): 73-82.
- [14] Badou A, Basavappa S, Desai R, et al. Requirement of voltage-gated calcium channel beta 4 subunit for T lymphocyte functions [J]. *Science*, 2005, 307(5706): 117-121.
- [15] Kotturi M F, Hunt S V, Jefferies W A. Roles of CRAC and Ca_v -like channels in T cells; more than one gatekeeper? [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2006, 27(7): 360-367.

积雪草苷对脂多糖诱导小鼠急性肺损伤的影响

章 卓, 万敬员, 罗福玲, 李洪钟, 周岐新, 吴 柯

(重庆医科大学药学院 药理教研室, 重庆 400016)

摘 要:目的 观察积雪草苷对脂多糖 (LPS) 诱导急性肺损伤 (ALI) 小鼠的保护效应。方法 56 只 Balb/c 小鼠随机分为对照、假手术、模型、溶媒、积雪草苷 (5、15、45 mg/kg) 7 组, 每组 8 只。LPS (2.5 mg/kg) 气管滴注造 ALI 模型, 24 h 后 HE 染色观察小鼠肺组织病理改变, 计算肺湿质量/干质量值; 收集支气管肺泡灌洗液 (BALF) 后行白细胞计数和分类, BCA 法检测其蛋白的量; 化学法检测肺组织髓过氧化物酶 (MPO) 活性。结果 积雪草苷各剂量组呈剂量依赖性减轻 LPS 所致 ALI 模型肺组织病变情况, 减轻肺水肿, 减轻中性粒细胞的浸润, 抑制蛋白渗出。抑制肺组织中 MPO 活性。结论 积雪草苷对 LPS 诱导 ALI 有保护效应。

关键词:积雪草苷; 脂多糖; 急性肺损伤; 髓过氧化物酶

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)08-1196-04

收稿日期: 2007-10-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30500463)

作者简介: 章 卓 (1979—), 男, 四川泸州人, 讲师, 硕士, 泸州医学院药学院药理教研室工作, 主要从事免疫和神经药理研究。

Tel: (023) 68485038 E-mail: zhangzhuo100@163.com

* 通讯作者 万敬员 Tel: (023) 68485038

芦荟大黄素对T淋巴细胞增殖和细胞[Ca2+]i变化的影响

作者：[李臣宇](#)，[李新](#)，[刘丽军](#)，[邹洁](#)，[胡芬](#)，[李俊英](#)
作者单位：[南开大学生物物理系生物活性材料教育部重点实验室, 天津, 300071](#)
刊名：[中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年，卷(期)：2008, 39(8)
被引用次数：2次

参考文献(15条)

1. [Lewis R S](#) [Calcium signaling mechanisms in T lymphocytes](#)[外文期刊] 2001(01)
2. [Gyorgy P](#);[Zolt n V](#);[Rezs~o G](#) [Ionchannels and lymphocyte activation](#) 2004(01)
3. [DolmetschRE](#);[Lewis R S](#);[Goodnow C C](#) [Differential activation of transcription factors induced by Ca2+ response amplitude and duration](#)[外文期刊] 1997(6627)
4. [Winslow M M](#);[Neison J R](#);[Crabtree G R](#) [Calcium signaling in lymphocytes](#)[外文期刊] 2003(03)
5. [Zitt C](#);[Strauss B](#);[Schwarz E C](#) [Potent inhibition of Ca2+ release-activated Ca2+ channels and T- lymphocyte activation by the pyrazole derivative BTP2](#)[外文期刊] 2004(13)
6. [李淑娟](#);[董晓华](#);[武海霞](#) [大黄及其有效成分药理作用研究进展](#)[期刊论文]-[医学综述](#) 2005(01)
7. [郭美姿](#);[徐海荣](#);[李孝生](#) [大黄酸药理作用的研究进展](#)[期刊论文]-[国外医学\(中医中药分册\)](#) 2002(03)
8. [胡芬](#);[孙文武](#);[宋志成](#) [芦荟大黄素对Jurkat T细胞增殖和凋亡的作用及机制](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2008(02)
9. [王辉](#);[董志勇](#);[余奕](#) [大黄素影响巨噬细胞升高\[Ca2+\]. 和释放TNF-a的作用特征](#)[期刊论文]-[生物物理学报](#) 2002(03)
10. [杨文修](#);[李晓东](#);[刘保华](#) [大黄酸抑制脂多糖刺激巨噬细胞升高\[Ca2+\]i和释放TNF-a的作用特征](#)[期刊论文]-[南开大学学报](#) 2003(03)
11. [薛庆善](#) [体外培养的原理与技术](#) 2001
12. [陈立君](#);[孙文武](#);[胡芬](#) [芦荟大黄素对大鼠巨噬细胞\[Ca2+\]i和释放TNF-a的影响](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2007(09)
13. [Kuo Y C](#);[Meng H C](#);[Tsai W J](#) [Regulation of cell proliferation inflammatory cytokine production and calium mobilization in primary human T lymphocytes by emodin from Polygonum hypoleucum Ohwi](#)[外文期刊] 2001(01)
14. [Badou A](#);[Basavappa S](#);[Desai R](#) [Requirement of voltagegated calcium channel beta 4 subunit for T lymphocyte functions](#)[外文期刊] 2005(5706)
15. [Kotturi M F](#);[Hunt S V](#);[Jefferies W A](#) [Roles of CRAC and Cav-like channels in T cells:more than one gatekeeper?](#)[外文期刊] 2006(07)

本文读者也读过(8条)

1. [王敬政](#);[贺吉香](#);[江崇球](#) [芦荟大黄素与血清白蛋白的相互作用](#)[期刊论文]-[分析化学](#)2001, 29(7)
2. [张承玉](#);[富泽龙](#);[郑学芝](#);[刘晓霓](#);[Zhang Chengyu](#);[Fu Zelong](#);[Zheng Xuezhi](#);[Liu Xiaoni](#) [芦荟大黄素抑制人胃癌细胞株SGC-7901增殖研究](#)[期刊论文]-[中国药师](#)2008, 11(12)
3. [张佩君](#);[白丽丽](#);[乔琦](#);[陈德坤](#);[ZHANG Pei-jun](#);[BAI Li-li](#);[QIAO Qi](#);[CHEN De-kun](#) [犬红细胞培养上清液对淋巴细胞增殖转化的影响](#)[期刊论文]-[西北农林科技大学学报（自然科学版）](#) 2007, 35(4)
4. [李锦山](#);[李国辉](#);[缪英年](#);[吴志光](#);[李亮](#);[LI Jin-shan](#);[LI Guo-hui](#);[MIAO Ying-nian](#);[WU Zhi-guang](#);[LI Liang](#) [芦荟大黄素对大鼠实验性急性胰腺炎的作用](#)[期刊论文]-[中国医药导报](#)2009, 6(6)

5. [赖大年](#), [赵华栋](#), [付强](#), [崔玉辉](#), [LAI Da-nian](#), [ZHAO Hua-dong](#), [FU Qiang](#), [CUI Yu-hui](#) 芦荟大黄素对结肠癌细胞株SW620 FasL基因表达和侵袭能力的影响[期刊论文]-临床肿瘤学杂志2008, 13(9)
6. [邓家刚](#), [杨柯](#), [阎莉](#), [郭力城](#), [唐慧勤](#) 芒果苷对免疫抑制小鼠T淋巴细胞增殖的影响[期刊论文]-中药药理与临床2007, 23(5)
7. [南菁](#), [秦云霞](#), [刘晶](#), [赵颖娜](#), [付强](#), [赵华栋](#), [NAN Jing](#), [QIN Yun-xia](#), [LIU Jing](#), [ZHAO Ying-na](#), [FU Qiang](#), [ZHAO Hua-dong](#) 芦荟大黄素对人胃癌细胞HGC-27增殖周期及凋亡的影响[期刊论文]-现代肿瘤医学2008, 16(6)
8. [胡芬](#), [孙文武](#), [宋志成](#), [杨文修](#), [HU Fen](#), [SUN Wen-wu](#), [SONG Zhi-cheng](#), [YANG Wen-xiu](#) 芦荟大黄素对Jurkat T细胞增殖和凋亡的作用及机制[期刊论文]-中草药2008, 39(2)

引证文献(3条)

1. [李新](#), [温寅飞](#), [满媛](#), [胡芬](#), [王新宇](#), [李俊英](#) 芦荟大黄素对白细胞介素-2引起大鼠T细胞增殖和细胞内Ca²⁺浓度变化的影响[期刊论文]-中草药 2010(12)
2. [邹洁](#), [李新](#), [李唐宁](#), [刘张骞](#), [孙文武](#), [李俊英](#) 大黄酸对IL-2诱发T淋巴细胞增殖和细胞[Ca²⁺]_i变化的作用[期刊论文]-南开大学学报(自然科学版) 2010(6)
3. [李月珍](#), [刘志新](#), [蔡克瑞](#), [梁军](#) 高浓度芦荟大黄素诱导胃癌细胞凋亡的作用[期刊论文]-中华肿瘤防治杂志 2010(12)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200808027.aspx