

caspase-3 和 caspase-9 活性均逐渐提高,但 caspase-8 活性并不随时间的延长而提高。该结果说明,冬凌草甲素可能是经 fas/fasL-线粒体途径诱发 MB49 细胞凋亡的。

上述实验结果表明,冬凌草甲素有明显的抑制膀胱癌 MB49 细胞株生长作用,主要作用机制为促进 MB49 细胞凋亡,可能是经 fas/fasL-线粒体途径诱发 MB49 细胞凋亡的。本研究为冬凌草甲素临床预防和治疗膀胱肿瘤提供了实验依据。

参考文献:

- [1] 张春玲,吴立军,左海军,等.冬凌草甲素通过线粒体途径诱导人黑色素瘤 A375-S2 细胞凋亡[J].中草药,2004,35

(4): 423-426.

- [2] Marks L S, DiPaola R S, Nelson P, et al. PC-SPES: herbal formulation for prostate cancer [J]. *Urology*, 2003, 61(6): 1292-1300.
- [3] 徐培元,赵高贤,常连胜,等.冬凌草液热疗预防浅表性膀胱癌术后复发的非随机同期对照研究[J].中国中西医结合杂志,2005,25(12): 1115-1117.
- [4] 李瑞芳,王庆瑞.冬凌草甲素对 K562 细胞端粒酶活性调控及细胞周期的影响[J].药学报,2004,39(11): 865-868.
- [5] Ikezoe T, Chen S S, Tong X J, et al. Oridonin induces growth inhibition and apoptosis of a variety of human cancer cells [J]. *Int J Oncol*, 2003, 23: 1187-1193.
- [6] Huschtscha L I, Jeitner T M, Andersson C E, et al. Identification of apoptotic and necrotic human leukemic cells by flow cytometry [J]. *Exp Cells Res*, 1994, 212(1): 161-165.

芝麻素对肝癌 H₂₂细胞增殖及 H₂₂荷瘤小鼠肿瘤生长的影响

魏艳静¹, 卞红磊², 余文静¹, 王建华¹

(1. 河北医科大学, 河北 石家庄 050017; 2. 河北医科大学第三医院, 河北 石家庄 050051)

摘要:目的 观察芝麻提取物芝麻素对小鼠肝癌 H₂₂细胞增殖的影响及其对 H₂₂荷瘤小鼠肿瘤生长的抑制作用。方法 用 MTT 法检测不同质量浓度的芝麻素对小鼠肝癌 H₂₂细胞体外增殖的影响;同时将移植 H₂₂瘤株的昆明种小鼠分成:模型组(生理盐水)、环磷酰胺(30 mg/kg)组、芝麻素高、低剂量(150、15 mg/kg)组、观察芝麻素对荷瘤小鼠的抑瘤作用。结果 芝麻素在体外对 H₂₂肝癌细胞的增殖有显著的抑制作用,以 8、16、32 μg/mL 组在 48 h 的抑制率最显著;芝麻素在体内对 H₂₂肿瘤细胞的生长有明显的抑制作用,芝麻素低剂量组的小鼠皮下瘤质量较模型组低($P < 0.05$),但仍比环磷酰胺组高($P < 0.05$),芝麻素高剂量组和模型组比较无显著差异($P > 0.05$)。结论 芝麻素有明显抑制肝癌 H₂₂细胞增殖的作用。

关键词: 芝麻素; H₂₂肝癌细胞; 细胞增殖

中图分类号: R286.91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)07-1222-03

芝麻素是从芝麻 *Sesamum indicum* Linn. 中提取的一种木脂素类化合物,是芝麻中的主要活性成分,具有抗高血压、保护肝脏、抗氧化、降低胆固醇等功效^[1]。日本东京大学医学院研究证实芝麻素能抑制 DEN 诱导的前期肝癌病变,认为低浓度的芝麻素饮食可能抑制肝癌的形成^[2]。但我国对芝麻的利用仅处于其保健作用,作为药物使用的研究极少,所以本研究观察了芝麻素对小鼠肝癌 H₂₂细胞体外增殖的影响,同时观察了芝麻素对 H₂₂荷瘤小鼠的抗肿瘤作用,为其药用功效的开发提供依据。

1 材料

1.1 动物和细胞株:健康昆明种小鼠,雌雄各半,体质量 18~22 g,由河北医科大学实验动物中心提

供,一级动物,合格证号编号 604192。小鼠肝癌 H₂₂细胞株由河北医科大学实验动物中心提供。

1.2 药物与试剂:芝麻素(开鲁兴利制药有限责任公司提供,质量分数 99%);环磷酰胺(江苏恒瑞医药股份有限公司生产,批号 06011221);MTT (Sigma 公司);DMSO (上海化学试剂厂);RPMI-1640 培养基 (Hyclone 公司)。

2 方法

2.1 芝麻素对体外 H₂₂细胞增殖的抑制作用:实验组芝麻素在 RPMI-1640 培养基中的质量浓度分别为 8、16、32、64、128 μg/mL,设对照组(不加芝麻素的 RPMI-1640 培养基)。取对数生长期的 H₂₂细胞,用含有 10% 小牛血清的 RPMI-1640 培养液配成

收稿日期:2007-11-16

基金项目:河北省科技厅技术研究与发展基金资助项目(07276173)

作者简介:魏艳静(1966—),女,河北石家庄人,副教授,硕士学位,河北省临床免疫学会委员,主要从事肿瘤中药药理研究。

Tel: 13932116607 E-mail: weiyj559@sohu.com

单细胞悬液,细胞计数后,将细胞浓度调整至 $5 \times 10^4/\text{mL}$ 。取 $200 \mu\text{L}$ 细胞悬液接种于 96 孔细胞培养板(每孔 1×10^4 个细胞),移入 CO_2 孵箱培养。待细胞生长良好,达孔底面积的 $2/3$ 时,吸去原培养液,按实验分组加入相应的含不同质量浓度芝麻素 RPMI-1640 培养液,每组设 6 个复孔。在继续培养后的 24、48 h 两个时间点,于每孔中加入 MTT 溶液 (5 mg/mL) $20 \mu\text{L}$,继续孵育 4 h,小心吸弃孔内培养上清液,每孔加入 $150 \mu\text{L}$ DMSO,震荡 10 min,使结晶物充分溶解。选择 490 nm 波长,以对照孔调零,在全自动酶标仪上测定各孔吸光度(A)值,计算各组 6 个复孔 A 值的平均值,计算细胞生长抑制率。

细胞生长抑制率 = (对照组 A 值 - 实验组 A 值) / 对照组 A 值 $\times 100\%$

2.2 芝麻素对皮下 H_{22} 荷瘤小鼠的抗肿瘤作用

2.2.1 肿瘤接种:无菌条件下抽取 6~8 d 传代接种的 H_{22} 肝癌小鼠腹水,用生理盐水稀释细胞悬液,将细胞浓度调整为 $1.0 \times 10^7/\text{mL}$,每只小鼠右腋下接种 0.2 mL ,共接种 64 只(雌雄各 32 只)。

2.2.2 动物分组及给药:动物接种后 24 h,按随机数字表分成 4 组:模型组、环磷酰胺组、芝麻素高、低剂量组,每组 16 只,雌雄各半且分笼饲养,同时,取正常的 16 只(雌雄各 8 只)小鼠作为对照组。其中对照组、模型组每天 ig 0.2 mL 生理盐水;环磷酰胺组每日 ip 环磷酰胺生理盐水溶液 30 mg/kg ;芝麻素高、低剂量组每日 ig 150 、 15 mg/kg 芝麻素甲基纤维素悬浊液,连续 10 d。

2.2.3 检测指标:末次给药 24 h 后,取小鼠尾血,计数白细胞。颈椎脱臼处死小鼠,剥瘤称定质量,计算抑瘤率。

抑瘤率 = (模型组平均瘤质量 - 给药组平均瘤质量) / 模型组平均瘤质量 $\times 100\%$

2.3 统计学处理:计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间均数比较采用 SAS8.0 软件中的单因素方差分析。

3 结果

3.1 对 H_{22} 肝癌细胞体外生长的抑制作用:MTT 法检测结果显示,芝麻素对 H_{22} 细胞生长具有抑制作用(表1)。8、16、32 $\mu\text{g/mL}$ 芝麻素在作用 24 h 后即表现出抑制 H_{22} 细胞生长的作用,48 h 后抑制作用更强,此 3 个剂量在两个时间点对 H_{22} 细胞的抑制作用均无显著差异。64、128 $\mu\text{g/mL}$ 芝麻素在 24、48 h 均未表现出抑制作用。

3.2 芝麻素对 H_{22} 肝癌荷瘤小鼠肿瘤的抑制作用及对荷瘤小鼠外周血白细胞的影响:接种 H_{22} 肝癌

细胞后,经 2~3 d 的潜伏期,肿瘤迅速增长,芝麻素高剂量组瘤质量与模型组差异无统计学意义 ($P > 0.05$);芝麻素低剂量组瘤质量较模型组、芝麻素高剂量组均低 ($P < 0.05$),但仍比环磷酰胺组高 ($P < 0.05$)。芝麻素低剂量组抑瘤率为 41.96%,高于高剂量组 (4.18%),但仍低于环磷酰胺 (67.25%) 组。结果见表2。模型组小鼠白细胞较对照组高 ($P < 0.05$);环磷酰胺组较对照组低 ($P < 0.05$);芝麻素高、低剂量组均与对照组无差异 ($P > 0.05$),但均比环磷酰胺组白细胞高 ($P < 0.05$),结果见表2。

表1 芝麻素对 H_{22} 肝癌细胞的生长抑制作用 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 1 Inhibition of sesamin on growth of H_{22} hepatocarcinoma cells ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	$\rho/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	24 h		48 h	
		A	生长抑制率/%	A	生长抑制率/%
芝麻素	8	$0.118 \pm 0.007^*$	46.7	$0.189 \pm 0.005^*$	60.2
	16	$0.097 \pm 0.012^*$	70.9	$0.118 \pm 0.009^*$	75.2
	32	$0.108 \pm 0.009^*$	67.7	$0.134 \pm 0.016^*$	71.8
	46	0.352 ± 0.021	-5.4	0.498 ± 0.033	-4.84
	128	0.391 ± 0.029	-17.1	0.436 ± 0.028	8.21
对照	-	0.334 ± 0.007	-	0.475 ± 0.014	-

与对照组比较: $^*P < 0.05$

$^*P < 0.05$ vs control group

表2 芝麻素对 H_{22} 荷瘤小鼠瘤质量及外周血白细胞的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=16$)

Table 2 Effect of sesamin on tumor weight and peripheral white blood cells of H_{22} tumor-bearing mice ($\bar{x} \pm s$, $n=16$)

组别	剂量/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	白细胞数/($\times 10^9 \cdot \text{L}^{-1}$)	瘤质量/g	抑瘤率/%
对照	-	14.77 ± 2.03	-	-
模型	-	$21.98 \pm 8.22^*$	0.51 ± 0.38	-
芝麻素	150	17.61 ± 3.39	0.49 ± 0.31	4.18
	15	18.11 ± 3.79	$0.29 \pm 0.16^\Delta$	41.96
环磷酰胺	30	$7.48 \pm 4.96^*$	$0.17 \pm 0.09^\Delta$	67.25

与对照组比较: $^*P < 0.05$; 与模型组比较: $^\Delta P < 0.05$

$^*P < 0.05$ vs control group; $^\Delta P < 0.05$ vs model group

4 讨论

芝麻素是芝麻油中所含的一种木脂素类化合物,是芝麻中的主要活性成分,其质量分数虽然仅为 0.5% 左右,但其在生物体内呈现较强的抗氧化作用^[3],因此芝麻素主要被用于抗高血压及心血管疾病、保肝、抗氧化、降低胆固醇、抗癌等保健领域。近几年有关芝麻素的保肝作用广泛引起关注,发现芝麻素能够使乙醇所致急性肝损伤大鼠血清丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST) 明显减低,肝匀浆丙二醛 (MDA) 量显著降低,谷胱甘肽 (GSH) 的量显著增高;并且能显著降低 CCl_4 对肝脏的慢性损伤,抑制或延缓肝脏的纤维化^[4]。因此芝

麻素作为一种新型的肝细胞保护药物,其抗肝癌作用也受到人们的关注,日本东京大学石川隆俊研究证实芝麻素能抑制前期肝癌病变。采用二乙基亚硝胺对大鼠进行诱发肝癌试验,同时在癌细胞形成期、生长期饲料中投入芝麻素,喂养大鼠17周,结果发现食用芝麻素的大鼠癌症发病率降到对照组的50%以下,且大鼠的体质量、肝脏质量均无变化^[2]。这一研究结果首次证实了芝麻素的抗癌功效。

本研究采用MTT法检测了芝麻素对体外培养的肝癌H₂₂细胞的杀伤作用,结果表明8、16、32 μg/mL芝麻素在作用24 h后即表现出抑制H₂₂细胞生长的作用,48 h后抑制作用更强,此3个剂量在两个时间点对H₂₂细胞的杀伤作用均无显著差异。64、128 μg/mL芝麻素组在24、48 h均未表现出抑制作用。证实了较低质量浓度的芝麻素对H₂₂肝癌细胞有较好的抑制作用。本研究还观察了芝麻素对H₂₂肝癌荷瘤小鼠的抑癌作用以及对荷瘤小鼠白细胞的影响,结果表明小剂量的芝麻素对H₂₂肝癌细胞的

生长有一定的抑制作用,小鼠瘤质量明显低于模型组,但其作用不及传统抗癌药物环磷酰胺,较高剂量芝麻素对肿瘤的抑制作用较小,但芝麻素对人体正常免疫细胞(白细胞)的杀伤作用较环磷酰胺小。本实验结果提示芝麻素有望成为治疗肿瘤的一种新药。

芝麻作为天然植物在我国资源丰富,但我国对芝麻素的利用仅处于其保健作用,作为药物使用的研究极少。目前芝麻素的提供纯度已高达99%,所以芝麻素有可能成为一种新型的肝细胞保护药物,其抑制肝癌细胞生长的机制有待研究和深入。

参考文献:

- [1] 张世卿,张水成.芝麻素的研究进展[J].氨基酸和生物资源,2005,27(3):17-21.
- [2] 沈旭丽.芝麻的营养成分及保健价值[J].中国食物与营养,2006,(7):51-52.
- [3] Kiso Y. Antioxidative role of sesamin, a functional lignan in sesame seed and its effect on lipid- and alcohol-metabolism in the liver: a DNA microarray study[J]. *Biofactors*, 2001, 21(1-4):191-196.
- [4] 汪五三,宋建国.芝麻素保肝作用的实验研究[J].中药药理与临床,2006,22(3,4):27-31.

咳喘灵对实验性哮喘模型豚鼠支气管肺泡灌洗液嗜酸性粒细胞凋亡的影响

朱振刚,刘贵颖,乔亚珍

(天津中医药大学第一附属医院 呼吸科,天津 300193)

支气管哮喘是一种以嗜酸性粒细胞(EOS)浸润为主,多种细胞(肥大细胞、T淋巴细胞、中性粒细胞、气道上皮细胞等)和细胞组分参与的气道慢性炎症性疾病^[1],无论是急性期还是缓解期,肺组织内均有明显的EOS浸润,并与病情的严重程度相平行。EOS释放的各种介质可发挥其炎症效应,并可以在气道重塑中起一定作用。近年来,中药治疗哮喘的实验研究日渐增多,但着眼点在支气管肺泡灌洗液EOS的并不多。咳喘灵是本院多年临床经验积累的院内制剂,已应用多年,临床疗效显著,多年的临床观察未发现不良反应,临床治疗哮喘有效率达86%。为进一步探讨咳喘灵的作用机制,本实验进行了咳喘灵对实验性哮喘模型豚鼠支气管肺泡灌洗液EOS凋亡的影响,从分子水平上阐明咳喘灵治疗哮喘是通过诱导EOS凋亡实现的。

1 材料

1.1 主要试剂和仪器:强的松(天津氨基酸公司)用生理盐水配成10%混悬液备用;卵白蛋白(华美生物工程公司,批号990218)实验前用生理盐水配成1%和10%的卵白蛋白溶液;EOS分离液、细胞凋亡检测试剂盒均购自武汉博士德生物工程公司;PA18067雾化器,美国;Leitz切片机,德国;Olympus CH显微镜,日本;Olympus, Vanox PM-10AD摄影显微镜,日本;HPIAS-100病理图文分析系统,同济医科大学千屏影像工程公司。

1.2 咳喘灵制备:黄芩、地龙、当归、蝉衣、细辛、半夏、五味子等,水提取,浓缩至含生药1、2、3 g/L,本院药厂自制。

2 方法

按Barnes^[2]和吕宝璋^[1]方法略加改良造模。豚

芝麻素对肝癌H22细胞增殖及H22荷瘤小鼠肿瘤生长的影响

作者：[魏艳静](#)，[卞红磊](#)，[余文静](#)，[王建华](#)
作者单位：[魏艳静, 余文静, 王建华\(河北医科大学, 河北石家庄, 050017\)](#)，[卞红磊\(河北医科大学第三医院, 河北石家庄, 050051\)](#)
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：4次

参考文献(4条)

1. [张世卿;张水成](#) [芝麻素的研究进展](#)[期刊论文]-[氨基酸和生物资源](#) 2005 (03)
2. [沈旭丽](#) [芝麻的营养成分及保健价值](#)[期刊论文]-[中国食物与营养](#) 2006 (07)
3. [Kiso Y](#) [Antioxidative role of sesamin, a functional lignan in sesame seed and its effect on lipid- and alcohol-metabolism in the liver: a DNA microarray study](#) 2001 (1-4)
4. [汪五三;宋建国](#) [芝麻素保肝作用的实验研究](#)[期刊论文]-[中药药理与临床](#) 2006 (3-4)

本文读者也读过(9条)

1. [施汀兰](#). [杨雪](#). [冉长清](#). [SHI Tinglan](#). [YANG Xue](#). [RAN Changqing](#) [生肌化痰汤对荷H22及荷S180小鼠肿瘤的影响](#)[期刊论文]-[白求恩医学院学报](#)2006, 4 (4)
2. [魏艳静](#). [卞红磊](#). [赵春芳](#). [WEI Yan-jing](#). [BIAN Hong-lei](#). [ZHAO Chun-fang](#) [芝麻素对H22荷瘤小鼠的抑瘤作用及其机制](#)[期刊论文]-[山东医药](#)2008, 48 (19)
3. [崔艳](#). [肖曼丽](#) [瘤体内注射消痔灵对荷H22肝癌小鼠凋亡蛋白表达的影响](#)[期刊论文]-[中医药学刊](#)2006, 24 (9)
4. [康红钰](#). [任亮](#). [刘春杰](#). [王雁梅](#). [KANG Hongyu](#). [REN Liang](#). [LIU Chunjie](#). [WANG Yanmei](#) [番茄红素对环磷酰胺治疗小鼠肉瘤H22的影响](#)[期刊论文]-[郑州大学学报 \(医学版\)](#) 2008, 43 (4)
5. [蒋时红](#). [刘旺根](#). [谢慧珏](#). [张文娟](#) [不同治法方药抑制肝癌H22荷瘤小鼠瘤细胞增殖的实验研究](#)[期刊论文]-[中国实验方剂学杂志](#)2009, 15 (10)
6. [魏艳静](#). [卞红磊](#). [张君平](#). [王建华](#). [WEI Yanjing](#). [BIAN Honglei](#). [ZHANG Junping](#). [WANG Jianhua](#) [芝麻素对H22肝癌荷瘤小鼠抑瘤作用的实验研究](#)[期刊论文]-[天津医药](#)2008, 36 (4)
7. [孟庆宇](#). [程晓峰](#). [张佳锴](#). [庄国洪](#). [MENG Qing-Yu](#). [CHENG Xiao-Feng](#). [ZHANG Jia-Kai](#). [ZHUANG Guo-Hong](#) [抗人死亡受体5单抗抗体ZF1对鼠H22肝癌细胞的作用分析](#)[期刊论文]-[中国免疫学杂志](#)2010, 26 (9)
8. [于英君](#). [负可力](#). [周群](#). [宋高臣](#) [半枝莲多糖辅助环磷酰胺对H22小鼠血清IL-2、IL-12含量的影响](#)[期刊论文]-[中医药信息](#)2009, 26 (6)
9. [刘浩](#). [韩雅莉](#). [丁鸿](#). [黎子蔚](#). [LIU Hao](#). [HAN Ya-li](#). [DING Hong](#). [LI Zi-wei](#) [地鳖纤溶蛋白对荷S180和H22小鼠的抑瘤作用研究](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#)2010, 21 (9)

引证文献(4条)

1. [杨慧](#). [杨解人](#). [唐丽娟](#). [张俊秀](#). [李文星](#). [王宏婷](#). [陈国祥](#) [芝麻素对C57BL/6小鼠Lewis肺癌的抑制作用及其机制](#)[期刊论文]-[皖南医学院学报](#) 2012 (2)
2. [余少冲](#). [钟玲](#). [李迎霞](#). [葛发欢](#) [芝麻中芝麻素含量的高效液相色谱法测定](#)[期刊论文]-[分析测试学报](#) 2010 (5)
3. [白金权](#). [车成日](#) [芝麻素的提取及药理作用研究现状](#)[期刊论文]-[延边大学医学学报](#) 2012 (3)
4. [张文娟](#). [张琰](#). [王庆伟](#) [芝麻素的药理学研究进展](#)[期刊论文]-[中国药业](#) 2011 (8)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200808035.aspx