

负荷大鼠脑组织的 MAO-B 活性,对抗铝过负荷引起的大鼠脑组织 MAO-B mRNA 和蛋白表达的增加。结果提示,小檗碱对慢性铝过负荷致神经元退变有明显的保护作用,其作用机制可能与增强胆碱能神经元功能、抗氧化应激损伤及抑制 MAO-B 活性与表达,从而增加多巴胺递质的量有关。

参考文献:

- [1] Golde T E. Inflammation takes on Alzheimer disease [J]. *Nat Med*, 2002, 8(9): 936-938.
- [2] 沈映君. 中药药理与临床 [M]. 上海:上海科学技术出版社, 1995.
- [3] 徐静华, 李立志. 黄连解毒汤提取物对脑缺血小鼠学习记忆的促进作用 [J]. 中国临床药理, 1998, 14(6): 6-8.
- [4] 邵 兰, 于庆海. 黄连解毒汤及其提取部位益智作用 [J]. 沈阳医学院学报, 1998, 15(1): 35-37.
- [5] 肖小华, 张 静, 杨俊卿. 慢性铝过负荷致大鼠认知功能损伤及尼莫地平保护作用观察 [J]. 第三军医大学学报, 2007, 29(11): 1028-1031.
- [6] Yang Z Q, Yang S F, Yang J Q, et al. Protective effects and mechanism of total Coptis alkaloids on A β -(25-35) induced learning and memory dysfunction in rats [J]. *Chin J Integr Med*, 2007, 13(1): 50-54.
- [7] 康 宏, 李舜伟. 儿茶酚胺类神经递质与 Alzheimer 病 [J]. 北京医学, 1997, 19(1): 36-38.
- [8] Riederer P, Konradi C, Heberstreit G, et al. Neurochemical perspectives to the function of monoamine oxidase [J]. *Acta Neurol Scand Suppl*, 1989, 126: 42-45.
- [9] Hong G, Guam D U. PN10 screening for MAO-A and MAO-B inhibitors by high throughput screening methods [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2004, 25(11): 1525-1568.
- [10] Star K, Rothe T, Wagner T, et al. Learning a new behavioral strategy in the shuttle-box increases prefrontal dopamine [J]. *Neuroscience*, 2004, 126: 21-29.
- [11] Daberkow D P, Kesner R P, Keefe K A. Relation between methamphetamine-induced monoamine depletions in the striatum and sequential motor learning [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2005, 81: 198-204.
- [12] Cunha D C, Wiczkowski S, Wietzikowski E C, et al. Evidence for the substantia nigra pars compacta as an essential compensate of a memory system independent of the hippocampal memory system [J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2003, 79(3): 236-242.
- [13] Ben H J, James O S, Trevor N R, et al. Selective effects of acute serotonin and catecholamine depletion on memory in healthy women [J]. *J Psychopharmacol*, 2004, 18: 32-39.
- [14] Kurth J H, Kurth M C, Poduslo S E, et al. Association of a monoamine oxidase B allele with Parkinson's disease [J]. *Ann Neurol*, 1993, 33: 368-372.
- [15] Yang J Q, Zhou Q X. Protective effect of nimodipine against cerebral injury induced by subacute carbon monoxide intoxication in mice [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2001, 22(5): 423-437.

淫羊藿提取物对小鼠 T 淋巴细胞体外活化和增殖的影响

滕 菲, 曾耀英*, 黄秀艳, 杨 志, 姚满林, 宋 兵, 李 林

(暨南大学 组织移植与免疫中心, 广东 广州 510632)

摘 要:目的 研究淫羊藿水溶性提取物对刀豆蛋白 A (Con A) 刺激的小鼠 T 淋巴细胞体外早期活化和增殖的影响。方法 无菌分离小鼠各部位淋巴结, 制备单细胞悬液, 加入不同终质量浓度 (5、25、50 mg/L) 的淫羊藿提取物, 以 MTT 法检测药物对 T 细胞活性的影响; 利用流式细胞术 (FCM) 结合双色荧光抗体染色技术检测早期活化标志 CD69 分子的表达; 运用流式细胞术结合活体染料 CFDA-SE 染色技术和荧光抗体染色技术检测 T 细胞增殖。结果 MTT 法检测淫羊藿提取物在 50 mg/L 时细胞存活率达 52.36%。Con A 作用 6 h 后, 对照组 CD69⁺ 表达率为 (4.61 $\pm$ 0.85)%, Con A 组 CD69⁺ T 细胞的比率上升至 (38.30 $\pm$ 2.54)%, 淫羊藿提取物在终质量浓度 5、25、50 mg/L 时均抑制 Con A 诱导的 CD3⁺ T 淋巴细胞 CD69 的表达 ($P<0.01$), 其表达率分别下调为 (36.16 $\pm$ 2.14)%, (30.5 $\pm$ 1.72)%, (15.99 $\pm$ 0.87)%。培养 48、72 h 后, 对照组增殖指数 (PI) 分别为 1.01 $\pm$ 0.01 和 1.05 $\pm$ 0.01, Con A 组 PI 分别达到 1.42 $\pm$ 0.01、2.32 $\pm$ 0.01, 淫羊藿提取物在终质量浓度 5、25、50 mg/L 均抑制 T 淋巴细胞增殖 ($P<0.01$), 48 h 时 PI 分别为 1.28 $\pm$ 0.01、1.26 $\pm$ 0.01、1.21 $\pm$ 0.01; 72 h 时 PI 分别为 2.30 $\pm$ 0.03、2.13 $\pm$ 0.02、2.10 $\pm$ 0.01。结论 淫羊藿提取物能明显抑制 Con A 刺激的小鼠 T 淋巴细胞的早期活化和增殖, 并呈剂量依赖性。

关键词:淫羊藿提取物; T 淋巴细胞; 活化; 增殖

中图分类号: R286.95

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)09-1355-05

收稿日期: 2007-11-02

基金项目: “973”国家重点基础研究项目 (2006CB504201 和 2004CB720100); 广东省基金资助项目 (2006B36030016); 广州市科技局科技攻关重点资助项目 (2006Z-E0091)

作者简介: 滕 菲 (1984—), 女, 山东淄博人, 硕士生, 主要研究免疫分子识别和免疫调节药物研发。

Tel: (020) 85220732 E-mail: tengfei_19840210@163.com

* 通讯作者 曾耀英 E-mail: tzengyy@jnu.edu.cn

Effect of extract from *Herba Emidemii* on activation and proliferation of mouse T lymphocytes *in vitro*

TENG Fei, ZENG Yao-ying, HUANG Xiu-yan, YANG Zhi, YAO Man-lin, SONG Bing, LI Lin

(Institute of Tissue Transplantation and Immunology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: Objective To study the effect of water extract from *Herba Emidemii* on the early activation and proliferation of mouse T lymphocytes stimulated by concanavalin A (Con A) *in vitro*. **Methods** Single cell suspension was prepared from mouse lymphoid nodes in germ free condition. The drug toxicity of water extract from *Herba Emidemii* (5, 25, and 50 mg/L) on T lymphocytes was measured by MTT. The expression of CD69, the marker of early activation of T lymphocytes was measured by flow cytometry (FCM) combined with two-colour immunofluorescent staining of cell surface antigen. The proliferation of T lymphocytes was measured by FCM combined with carboxyl fluorescein diacetate succinimidyl ester (CFDA-SE) staining and immunofluorescent staining. **Results** The survival ratio of T lymphocytes in 50 mg/L was 52.36%. After 6 h culture, the expression rate of CD69⁺ T cell in control group was $(4.61 \pm 0.85)\%$, that in Con A group was $(38.30 \pm 2.54)\%$, water extract from *Herba Emidemii* (5, 25, and 50 mg/L) inhibited the expression of CD69 in CD3⁺ T lymphocytes stimulated by Con A ($P < 0.01$), the expression rates were $(36.16 \pm 2.14)\%$, $(30.5 \pm 1.72)\%$, and $(15.99 \pm 0.87)\%$, respectively. After 48 and 72 h culture, the proliferation index (PI) of control group were 1.01 ± 0.01 and 1.05 ± 0.01 , of Con A group were 1.42 ± 0.01 and 2.32 ± 0.01 , respectively. Water extract from *Herba Emidemii* (5, 25, and 50 mg/L) inhibited the proliferation of T lymphocytes ($P < 0.01$), the PI of 48 h were 1.28 ± 0.01 , 1.26 ± 0.01 , 1.21 ± 0.01 ; the PI of 72 h were 2.30 ± 0.03 , 2.13 ± 0.02 , 2.10 ± 0.01 , respectively. **Conclusion** Water extract from *Herba Emidemii* could significantly inhibit Con A-induced early activation and proliferation of mouse T lymphocytes *in vitro* in a dose dependent manner.

Key words: extract from *Herba Emidemii*; T lymphocytes; activation; proliferation

淫羊藿 (*Herba Epimedii*) 具有补肾阳、强筋骨、祛风湿的功效。现代药理研究表明淫羊藿对于改善心血管系统功能、调节内分泌、增强免疫能力、促进代谢功能、抗骨质疏松、抗衰老等均表现出生理活性。它还具有明显的抗肿瘤功效,是一种很有潜力的抗癌药物^[1,2]。淫羊藿提取物中含有多种成分,其主要有效成分为淫羊藿黄酮和淫羊藿苷,其中活性特征成分为淫羊藿苷,具有调节性激素、调节免疫功能、抗肿瘤、舒张血管等药理作用^[1,2]。T细胞在适应性免疫应答中起关键作用,T细胞接触抗原后,经双信号刺激活化后,克隆扩增并分化成效应T细胞,发挥细胞免疫功能。同时,活化T细胞还通过分泌细胞因子及细胞间相互作用,辅助B细胞活化、增殖,促进体液免疫应答。因此,T细胞活化是免疫应答发生的关键环节^[3]。本研究通过对小鼠T淋巴细胞活化和增殖测定等实验,进一步研究淫羊藿水溶性提取物对小鼠免疫功能的调节作用及机制。

1 材料

1.1 实验动物:清洁级 BALB/cJ (H-2K^d, I-A^d, 以下简称为 BALB/c) 近交系小鼠,雄性,8~10 周龄,体质量 (20 ± 2) g,购自广东省实验动物中心。

1.2 主要药物、试剂与仪器:淫羊藿提取物(主要成

分为淫羊藿黄酮和淫羊藿苷)由广州健心药业有限公司馈赠;刀豆蛋白 A (Con A)、L-谷氨酰胺、 β -二巯基乙醇均购自美国 Sigma 公司;羧基荧光素双醋酸琥珀酰亚胺酯 (CFDA-SE) 购自美国 Invitrogen-Molecular Probes 公司;RPMI-1640 培养基、胎牛血清 (FBS) 为美国 GibcoBRL 公司产品;抗小鼠 CD3-PE、CD69-FITC,单克隆抗体购自美国 BD-PharMingen 公司。FACSCalibur 流式细胞仪为美国 Becton Dickinson 公司产品。

2 方法

2.1 小鼠淋巴细胞悬液的制备:将 BALB/cJ 小鼠断颈处死,无菌分离小鼠颈部、双侧颌下、锁骨下、腋窝、腹股沟浅淋巴结及肠系膜淋巴结,在盛有预冷的 PBS 的无菌平皿中,去掉被膜,200 目尼龙网滤过,收集细胞,用冷的 PBS 洗涤细胞两次 ($250 \times g$, 5 min) 后,用 PBS 重悬,得到淋巴细胞悬液。

2.2 MTT 法测定药物对 T 细胞活性的影响:将淋巴细胞悬液用 RPMI-1640 完全培养基 (含 10% FBS、2 mmol/L L-谷氨酰胺、5 μ mol/L β -二巯基乙醇、 1×10^5 U/L 青霉素、100 mg/L 链霉素) 洗涤 2 次 ($250 \times g$, 5 min),重悬于 RPMI-1640 完全培养基中,吹匀并计数,调整细胞悬液浓度为 2×10^6 /L,

接种于 96 孔板,每孔 180 μL 。实验共分 5 组:空白组,只加 200 μL 培养基;对照组;终质量浓度为 5、25、50 mg/L 淫羊藿提取物组。每孔定容至 200 μL 体系。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱培养 48 h。然后每孔加 5 mg/L 的 MTT 各 20 μL ,在培养箱中避光染色 4 h 后,300 $\times g$ 离心 5 min,将上清液倒净,每孔加 100 μL DMSO,振荡器上振荡 10 min,酶标仪 490 nm 检测吸光度 (A) 值。计算细胞存活率。

细胞存活率 = $(A_{\text{药物组}} - A_{\text{空白组}}) / (A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白组}}) \times 100\%$

2.3 T 细胞 CD69 表达测定:采用直接免疫荧光标记法染色,接种方法同 2.2 项。实验共分 5 组:对照组,Con A 组 (终质量浓度 5 mg/L),Con A+淫羊藿提取物 (5、25、50 mg/L) 组。每孔定容至 200 μL 体系。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱预孵 4 h 使药物充分作用,然后加入刺激剂 Con A (终质量浓度 5 mg/L),在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱培养 6 h 后取上清,并收集细胞,离心,弃上清,重悬于 50 μL PBS,按每 1×10^6 个细胞加入 1 μg 抗小鼠 CD3-PE、CD69-FITC 单克隆抗体,混匀后室温下避光放置 30 min, PBS 洗涤 2 次,重悬于 300 μL PBS 中,立即上流式细胞仪检测。

2.4 CFDA-SE 染色测定 T 细胞增殖:按文献方法^[4],CFDA-SE 用 DMSO 溶解成 10 mmol/L 的储存液,-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。临用前,取适量用 PBS 稀释成 1 mmol/L 的工作液,备用。PBS 调整淋巴细胞密度为 $1 \times 10^{10}/\text{L}$,加入 CFDA-SE 工作液 (终浓度为 1 $\mu\text{mol}/\text{L}$),充分混匀后在 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下避光轻轻振荡 10 min。然后用 RPMI-1640 完全培养基洗涤 2 次,250 $\times g$ 离心 5 min,重悬并计数,调整细胞悬液浓度为 $2 \times 10^9/\text{L}$,接种于 96 孔板,每孔 180 μL 。实验分组同 2.3 项,每孔定容至 200 μL 体系。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱预孵 4~6 h,然后加入 Con A (终质量浓度 5 mg/L),在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱培养 48、72 h 后收集细胞,用 PBS 洗涤细胞 2 次,离心,弃上清,重悬于 50 μL PBS,按每 1×10^6 细胞加入 1 μg 抗小鼠 CD3-PE 单克隆抗体,混匀后室温下避光放置 30 min, PBS 洗涤细胞 2 次,300 μL PBS 重悬细胞,立即上流式细胞仪检测。

2.5 流式细胞术检测及分析:所有样品经 FACS Calibur 流式细胞仪获取和 Cell Quest 软件分析,其中 CFDA-SE 和 FITC 为荧光 1 (FL1) 通道,PE 为荧光 2 (FL2) 通道。每管样品检测 10 000 个细胞,获得的数据用 Cell Quest 及 Mod FitL T3.2 软件

进行分析。

2.6 统计学处理:全部数据使用 Excel 和 SPSS 10.1 做统计学处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间的比较采用配对 t 检验。

3 结果

3.1 对 T 淋巴细胞活性的影响:与药物共培养 48 h 后,加药组 A 值均低于对照组 ($P < 0.05$),见表 1。淫羊藿提取物最高质量浓度 50 mg/L 时细胞存活仍有 52.36%。因此,药物对 T 细胞的作用不是由于药物对细胞活性的影响引起的。

表 1 淫羊藿提取物对 T 淋巴细胞活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)
Table 1 Effect of extract from *Herba Epimedii* on activity of T lymphocytes ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	剂量/(mg $\cdot$ L $^{-1}$)	A 值	细胞存活率/%
空白	—	0.115 $\pm$ 0.009	—
对照	—	0.369 $\pm$ 0.017	100.00
淫羊藿提取物	5	0.338 $\pm$ 0.009*	87.80
	25	0.276 $\pm$ 0.020*	63.39
	50	0.248 $\pm$ 0.013**	52.36

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

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

3.2 对 T 淋巴细胞 CD69 表达的影响:细胞培养 6 h 后,对照组 CD69 表达率为 (4.61 $\pm$ 0.85)%, Con A 组 CD69 表达率达到 (38.30 $\pm$ 2.54)%,淫羊藿提取物在终质量浓度 5、25、50 mg/L 时均抑制 Con A 诱导的 CD3 $^{+}$ T 淋巴细胞 CD69 的表达,并有明显的剂量依赖性,其表达率分别下调为 (36.16 $\pm$ 2.14)%、(30.5 $\pm$ 1.72)%、(15.99 $\pm$ 0.87)%,与 Con A 组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。见图 1。另外,淫羊藿提取物在低质量浓度,即 5、25 mg/L 时,CD3 $^{+}$ CD69 $^{+}$ T 淋巴细胞的平均荧光强度 (mean fluorescence intensity, MFI) 比 Con A 组有所上升,但在高质量浓度 50 mg/L 时, MFI 明显下降。

3.3 对 T 淋巴细胞增殖的影响:CFDA-SE 属活性染料,是一种非极性分子,可自由穿透细胞膜并在细胞内被酯酶转化成带负电荷的 CFSE。CFSE 可自发不可逆的通过赖氨酸侧链或其他可利用的胺,偶联到细胞蛋白质上。利用 CFSE 在细胞分裂时可以平均的分配到两个子代细胞,从而荧光强度随之减半的特性^[4],通过流式细胞术在 488 nm 激发光和荧光 1 (FL1) 检测通道分析 T 淋巴细胞群中,增殖的子代所中的比率,即增殖率。经 ModFit LT3.2 分析处理后,得到各代细胞 (亲代细胞, G_2 代表子一代细胞, G_3 代表子二代细胞, G_4 代表子三代细胞, G_5 代表子四代细胞) 所占的百分率和增殖指数 (PI)。药物培养 48 h 后 (表 2),对照组只有一个亲代峰,

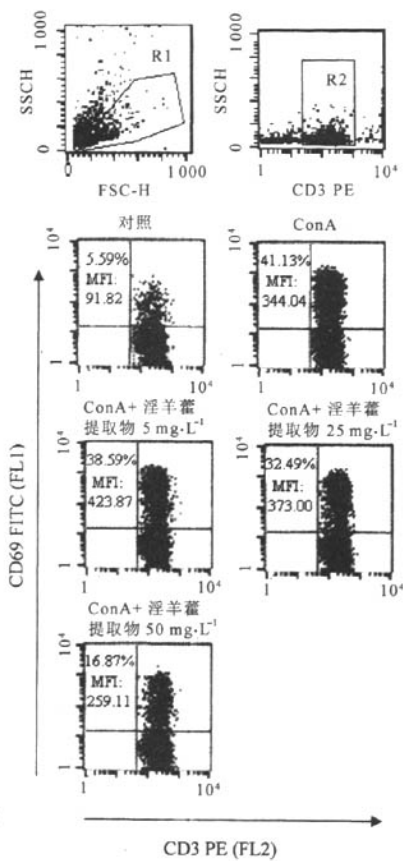


图 1 淫羊藿提取物对 Con A 刺激的 CD3⁺ T 淋巴细胞 CD69 表达的影响
Fig. 1 Effect of extract from *Herba Epimedii* on CD69 expression in CD3⁺ T lymphocytes stimulated by Con A

PI 只有 1.01 ± 0.01 , Con A 组出现两个子代峰, PI 达到 1.42 ± 0.01 , 淫羊藿提取物在终质量浓度 5、25、50 mg/L 均抑制 T 淋巴细胞增殖, PI 分别为 1.28 ± 0.01 、 1.26 ± 0.01 、 1.21 ± 0.01 , 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 从表 2 中可看出, 随着淫羊藿提取物的质量浓度升高, G₂、G₃ 细胞百分比逐渐减少, 有明显的剂量依赖效应, 其中 50 mg/L 时抑制效果最明显。药物培养 72 h 后 (表 2), 对照组 PI 为 1.05 ± 0.01 , Con A 组出现 3 个子代峰, PI 达到 2.32 ± 0.01 , 淫羊藿提取物在 5、25、50 mg/L 时 PI 分别下降为 2.30 ± 0.03 、 2.13 ± 0.02 ($P < 0.01$)、 2.10 ± 0.01 ($P < 0.01$), 淫羊藿提取物质量浓度越高, 子代细胞百分比逐渐减少, 亲代比例增大, 有明显的剂量依赖效应, 其中 50 mg/L 时抑制效果最明显。

4 讨论

淋巴结是成熟 T 细胞和 B 细胞的主要定居部位, T 淋巴细胞约占淋巴结内淋巴细胞总数的 75%, B 细胞约占 25%^[5]。抗原对 T 淋巴细胞的刺激作用是需要抗原呈递细胞 (APCs) 的呈递, 而 B 细胞可作为 APC 呈递抗原给 T 细胞, 因此, 淋巴结是研究淋巴细胞行为较好的细胞来源。

CD69 是由二硫键联接的同二聚体跨膜糖蛋白, 属 C 型凝集素家族成员, 主要表达于淋巴细胞活化早期, 在多克隆刺激剂下会迅速表达, 而在静止期 T 细胞几乎不表达, 是 T 细胞活化的重要标志^[3]。一些研究认为 CD69 表达的增加与细胞介导的自身免疫和炎症性疾病以及同种异体移植排斥有关^[6~8]。丝裂原 Con A 作为一种抗原蛋白, 可启动经典的信号传导级联反应, 从而使 T 淋巴细胞活化^[6]。

表 2 淫羊藿提取物对 Con A 刺激 T 淋巴细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)
Table 2 Effect of extract from *Herba Emimedii* on proliferation of T lymphocytes stimulated by Con A for 48 and 72 h ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组 别	剂量/ (mg · L ⁻¹)	48 h			72 h				
		亲代/%	G ₂ /%	G ₃ /%	亲代/%	G ₂ /%	G ₃ /%	G ₄ /%	G ₅ /%
对照	—	99.04 ± 0.38	0.69 ± 0.32	0.24 ± 0.08	93.44 ± 1.41	1.80 ± 0.27	2.10 ± 0.54	1.77 ± 0.43	0.43 ± 0.12
Con A	—	46.17 ± 0.67	44.54 ± 0.62	90.07 ± 0.89	18.23 ± 0.64	27.48 ± 0.47	37.11 ± 0.31	16.31 ± 0.25	0.83 ± 0.19
Con A + 淫羊藿提取物	5	57.78 ± 0.64*	38.34 ± 1.13**	3.70 ± 0.69**	19.98 ± 1.46*	23.31 ± 2.59*	36.40 ± 0.41*	18.94 ± 0.79*	1.32 ± 0.37
	25	61.01 ± 0.74*	35.90 ± 1.53**	2.98 ± 0.78**	22.15 ± 0.35*	28.14 ± 0.85	36.26 ± 0.47*	12.88 ± 0.94*	0.52 ± 0.12**
	50	65.84 ± 0.71*	32.55 ± 0.62**	1.54 ± 0.43**	22.62 ± 1.21*	28.68 ± 2.33	36.02 ± 0.10*	12.29 ± 0.99*	0.36 ± 0.06*

与 Con A 组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs Con A group

本实验结果表明淫羊藿提取物明显抑制 Con A 诱导的小鼠 T 淋巴细胞早期活化和增殖, 降低活化率和增殖率, 并有明显的剂量依赖效应。在本实验

的后续试验 (未发表) 中, 用 fluo-4/am 标记胞内钙离子, 结果显示淫羊藿提取物降低了 Con A 刺激下胞内钙离子浓度, 提示淫羊藿提取物可能是影响了

胞内钙离子的浓度进而影响T细胞活化和增殖。Meng等^[9]报道淫羊藿提取物在体外具有雌激素效应,可以防止老年鼠和绝经期妇女的骨质疏松症。Ye等^[10]报道淫羊藿提取物或制剂在体内可以引起类似雌激素效应,提示淫羊藿可能与Genistein作用路径相似,即通过抑制PTK活性,阻断活化信号的传递。

淫羊藿提取物对Con A刺激的小鼠T淋巴细胞早期活化和增殖都是有抑制作用的,具有开发为免疫调节剂的潜能,其抗肿瘤、抗氧化作用也十分显著,但具体作用靶点和路径尚不清楚,有待于进一步探索和研究。

参考文献:

- [1] 李作洲,徐艳琴,王瑛,等.淫羊藿属药用植物的研究现状与展望[J].中草药,2005,36(2):289-295.
- [2] Nada Kovacevic, Miodrag Colic, Aleksandar Backovic, et al. Immunomodulatory effects of the methanolic extract of *Epimedium alpinum* in vitro [J]. Fitoterapia, 2006, 77: 561-567.
- [3] 王青,何贤辉,肇静娴,等.染料木黄酮对小鼠T细胞体外活化剂增殖的影响[J].中国病理生理杂志,2004,20(2):186-190.
- [4] 肇静娴,曾耀英,何贤辉,等.活体染料CFDA-SE在淋巴细胞增殖中的应用[J].细胞与分子免疫学杂志,2003,19(2):109-111.
- [5] 陈慰峰,金伯泉.医学免疫学[M].北京:人民卫生出版社,2005.
- [6] Marzio R, Mauel J, Betz-Corradin S. CD69 and regulation of the immune function [J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 1999, 21: 565-582.
- [7] Schowengerdt K O, Fricker F J, Bahjat K S, et al. Increased expression of the lymphocyte early activation marker CD69 in peripheral blood correlates with histologic evidence of cardiac allograft rejection [J]. Transplantation, 2000, 69: 2102-2107.
- [8] Posselt A M, Vincenti F, Bedolli M, et al. CD69 expression on peripheral CD8 T cells correlates with acute rejection in renal transplant recipients [J]. Transplantation, 2003, 76: 190-195.
- [9] Meng F H, Li Y B, Xiong Z L, et al. Osteoblastic proliferate activity of *Epimedium brevicornum* Maxim [J]. Phytomedicine, 2005, 12: 189-193.
- [10] Ye H Y, Lou Y J. Estrogenic effects of two derivatives of icariin on human breast cancer MCF-7 cells [J]. Phytomedicine, 2005, 12: 735-741.

基因芯片技术分析青蒿琥酯抑癌作用机制

陈立军,姚丽,新秋月,谢红,呼文亮*

(中国人民武装警察部队医学院生化教研室,天津 300162)

摘要:目的 利用基因芯片检测青蒿琥酯作用于K562细胞后的基因表达情况,从基因水平上探讨青蒿琥酯抑制K562细胞增殖的作用机制。方法 K562细胞经不同浓度青蒿琥酯处理24 h,倒置光显微镜和荧光显微镜观察细胞形态学变化,流式细胞仪检测细胞周期变化。提取总RNA,逆转录生成cDNA,cDNA与基因芯片杂交,扫描仪检测杂交结果。结果 倒置光显微镜观察到青蒿琥酯处理的K562细胞出现不同程度的皱缩,核分裂相减少,细胞密度下降,漂浮细胞增多。荧光显微镜观察到青蒿琥酯处理的K562细胞染色质高度浓缩、边缘化,凝聚成明亮的团块,即凋亡小体。流式细胞仪检测青蒿琥酯处理K562细胞G₂期细胞的比例明显增加。扫描信号,分析数据显示10条基因表达有差异,p21、chk1表达上调,cyclinB1、cyclinE1、E2F1、DNA-PK、hTERT、bcl-2、jnk、VEGF表达下调。结论 青蒿琥酯可以抑制K562细胞增殖,作用机制与改变细胞周期某些调控物质的基因表达、诱导K562细胞凋亡有关。

关键词:基因芯片;青蒿琥酯;细胞周期;细胞凋亡

中图分类号:R286.91 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2008)09-1359-06

Analysis on mechanism related to anti-cancer effect of artesunate using gene chip technology

CHEN Li-jun, YAO Li, JIN Qiu-yue, XIE Hong, HU Wen-liang

(Department of Biochemistry, Medical College of Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin 300162, China)

Abstract: Objective In order to understand how artesunate inhibited leukaemia cell line K562, on the molecular level, the gene chip was used to detect the gene expression of leukaemia cell line K562 treated by artesunate. **Methods** K562 Cells were treated with artesunate for 24 h, and then modality changes were

收稿日期:2007-12-20

基金项目:天津市科委课题资助项目(05YFJMJ08200)

作者简介:陈立军(1967—),女,副教授,研究方向为肿瘤相关基因表达。Tel: (022) 60578076 E-mail: chenlijun67@eyou.com

* 通讯作者 呼文亮

淫羊藿提取物对小鼠T淋巴细胞体外活化和增殖的影响

作者：[滕菲](#), [曾耀英](#), [黄秀艳](#), [杨志](#), [姚满林](#), [宋兵](#), [李林](#), [TENG Fei](#), [ZENG Yao-ying](#), [HUANG Xiu-yan](#), [YANG Zhi](#), [YAO Man-lin](#), [SONG Bing](#), [LI Lin](#)

作者单位：[暨南大学组织移植与免疫中心](#), 广东, 广州, 510632

刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**

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

年, 卷(期): 2008, 39(9)

被引用次数: 1次

参考文献(10条)

1. 李作洲;徐艳琴;王璞 [淫羊藿属药用植物的研究现状与展望](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2005(02)
2. Nada Kovacevic;Miodrag Colic;Aleksandar Backovic [Immunomodulatory effects of the methanolic extract of Epimedium alpinum in vitro](#)[外文期刊] 2006
3. 王青;何贤辉;肇静娴 [染料木黄酮对小鼠T细胞体外活化剂增殖的影响](#)[期刊论文]-[中国病理生理杂志](#) 2004(02)
4. 肇静娴;曾耀英;何贤辉 [活体染料CFDA-SE在淋巴细胞增殖中的应用](#)[期刊论文]-[细胞与分子免疫学杂志](#) 2003(02)
5. 陈慰峰;金伯泉 [医学免疫学](#) 2005
6. Marzio R;Mauel J;Betz-Corradin S [CD69 and regulation of the immune function](#)[外文期刊] 1999(3)
7. Schowengerdt K O;Fricker F J;Bahjat K S [Increased expression of the lymphocyte early activation marker CD69 in peripheral blood correlates with histologic evidence of cardiac allograft rejection](#)[外文期刊] 2000
8. Posselt A M;Vincenti F;Bedolli M [CD69 expression on peripheral CD8 T cells correlates with acute rejection in renal transplant recipients](#)[外文期刊] 2003(1)
9. Meng F H;Li Y B;Xiong Z L [Osteoblastic proliferate activity of Epimedium brevicornum Maxim](#) 2005
10. Ye H Y;Lou Y J [Estrogenic effects of two derivatives of icariin on human breast cancer MCF-7 cells](#)[外文期刊] 2005(10)

本文读者也读过(10条)

1. [赵良中](#). [赵良化](#). [蒋辛](#). [潘兴瑜](#). [Zhao Liang-zhong](#). [Zhao Liang-hua](#). [Jiang Xin](#). [Pan Xing-yu](#) [玉竹提取物A对小鼠单核细胞体外诱导血栓素B2分泌量的影响](#)[期刊论文]-[中国临床康复](#)2005, 9(47)
2. [杨志](#). [黄秀艳](#). [曾耀英](#). [YANG Zhi](#). [HUANG Xiu-yan](#). [ZENG Yao-ying](#) [红车轴草提取物对小鼠淋巴细胞活化与增殖及巨噬细胞分泌NO的影响](#)[期刊论文]-[药学报](#)2008, 43(10)
3. [梁文杰](#). [单保恩](#). [任凤芝](#). [任金荣](#) [北豆根提取物对小鼠脾细胞、腹腔巨噬细胞和人淋巴细胞作用的体外实验研究](#)[会议论文]-2004
4. [叶纯](#). [苏进](#). [王凡](#). [YE Chun](#). [SU Jin](#). [WANG Fan](#) [淫羊藿影响去势大鼠椎骨微环境中TNF- \$\alpha\$ 、TGF- \$\beta\$ 1表达的研究](#)[期刊论文]-[中国临床解剖学杂志](#)2006, 24(6)
5. [林长乐](#). [曾耀英](#). [曾祥凤](#). [赵令斋](#). [黄秀艳](#). [叶雪仪](#). [LIN Chang-le](#). [ZENG Yao-ying](#). [ZENG Xiang-feng](#). [ZHAO Ling-zhai](#). [HUANG Xiu-yan](#). [YE Xue-yi](#) [鹰嘴豆芽素A对小鼠T淋巴细胞体外活化增殖和细胞周期的影响](#)[期刊论文]-[暨南大学学报（自然科学与医学版）](#) 2007, 28(2)
6. [李际君](#). [周计春](#). [张盛君](#). [王奇君](#). [LI Jiun](#). [ZHOU Jichun](#). [ZHA NG Shengjun](#). [WANG Qijun](#) [中药启膈散免疫调节作用的体外实验研究](#)[期刊论文]-[中国医药导报](#)2009, 6(18)
7. [蒋翎翎](#). [单保恩](#). [张淑芳](#). [姚敏](#). [邓碧兰](#). [余杏](#). [魏小斌](#). [JIANG Fei-ling](#). [SHAN Bao-en](#). [ZHANG Shu-fang](#). [YAO Min](#). [DENG Bi-lan](#). [YU Xing](#). [WEI Xiao-bin](#) [卡介苗提取物对小鼠脾细胞免疫调节作用的体外实验研究](#)[期刊论文]-[中华肿瘤防治杂志](#)2007, 14(11)

8. [李小燕](#), [陈贤均](#) [机械剪切对脾、肝、肾细胞DNA损伤程度的比较](#)[期刊论文]-[卫生研究](#)2004, 33(4)
9. [徐玉凤](#), [刘家国](#), [王德云](#), [赵彪](#), [张玉清](#), [胡元亮](#), [徐树培](#), [XU Yu-feng](#), [LIU Jia-guo](#), [WANG De-yun](#), [ZHAO Biao](#), [ZHANG Yu-qing](#), [HU Yuan-liang](#), [XU Shu-pei](#) [芪蓝抗毒饮及其组分对鸡外周血淋巴细胞增殖的影响](#)[期刊论文]-[江苏农业学报](#)2011, 27(2)
10. [朱升](#), [欧海军](#), [赵淑儿](#), [左华庭](#), [祝金龙](#), [ZHU Sheng](#), [OU Hai-jun](#), [ZHAO Shu-er](#), [ZUO Hua-ting](#), [ZHU Jin-long](#) [高效液相色谱法测定不同产地淫羊藿中淫羊藿苷的含量](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#)2008, 19(9)

引证文献(1条)

1. [张萍](#), [孔维军](#), [鄢丹](#), [王晶彬](#), [任永申](#), [赵艳玲](#), [肖小河](#), [周旭](#) [基于淫羊藿苷测定及HPLC指纹图谱分析的淫羊藿药材质量差异评价](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2010(11)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200809026.aspx