

参考文献:

- [1] 陈玉英, 杨洁, 胡庆沈, 等. 大黄素增强神剂对食道癌细胞的促凋亡作用 [J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2006, 26(11): 1227-1233.
- [2] 李家宁, 吕福祯, 肖金玲. 大黄素对人肺腺癌细胞 Anip 973 增殖周期及凋亡基因的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2006, 26(11): 1015-1017.
- [3] 刘剑波, 高学岗, 连涛, 等. 大黄素在体外诱导人肝癌细胞 HepG2 发生凋亡的初步研究 [J]. 癌症, 2003, 22(12): 1280-1283.
- [4] 朱峰, 刘新光, 梁念慈. 大黄素、芹菜素抑制人卵巢癌细胞侵袭的体外实验研究 [J]. 癌症, 2003, 22(4): 358-362.
- [5] Xu S H, Qian L J, Mou H Z, et al. Establishment of a highly metastatic human ovarian cancer cell line (HO-8910PM) and its characterization [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 1999, 18(2): 233-239.
- [6] Baek S J, Kim K S, Nixon J B, et al. Cyclooxygenase inhibitors regulate the expression of a TGF-beta superfamily member that has proapoptotic and antitumor activities [J]. *Mol Pharmacol*, 2001, 59(4): 901-908.
- [7] Lim J H, Park J W, Min D S, et al. NAG-1 up-regulation mediated by EGR-1 and p53 is critical for quercetin-induced apoptosis in HCT116 colon carcinoma cells [J]. *Apoptosis*, 2007, 12(2): 411-421.
- [8] Liu T, Bauskin A R, Zaunders J, et al. Macrophage inhibitory cytokine 1 reduces cell adhesion and induces apoptosis in prostate cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(16): 5034-5040.
- [9] Turley R S, Finger E C, Hempel N, et al. The type II transforming growth factor-beta receptor as a novel tumor suppressor gene in prostate cancer [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(3): 1090-1098.
- [10] Dong M, How T, Kirkbride K C, et al. The type II TGF-beta receptor suppresses breast cancer progression [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(1): 206-217.

当归多糖对脐血造血细胞冷冻损伤的可恢复性研究

杨慧, 吴宏

(重庆医科大学干细胞与组织工程研究室, 组织胚胎学教研室, 重庆 400016)

摘要:目的 探讨当归多糖 (APS) 是否具有恢复脐血造血细胞冷冻损伤的作用及与造血生长因子 (HGFs) 联合促进冷冻复苏后脐血单个核细胞 (MNC) 体外扩增的效应。方法 将冷冻 30 d 的脐血 MNC 复苏后, 立即在常规培养体系中分别加入 APS 0.50、100、200、400 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 或同时加入 HGFs 组合, 培养 24 h 或 14 d, 采用 MNC 计数, 台盼蓝拒染实验、MTT 法、CFU-Mix 集落形成实验以及流式细胞术计数 CD34⁺ 细胞等方法分别观察 APS 促进冷冻损伤的脐血造血细胞恢复的能力以及 APS 联合 HGFs 对脐血造血细胞的扩增能力。结果 冷冻复苏后加入一定质量浓度的 APS 可使脐血 MNC 数量与台盼蓝拒染率明显增加, 造血细胞的增殖能力显著提高, CFU-Mix 集落产率明显提高 ($P < 0.05$), 且能明显提高冻存脐血 MNC 中 CD34⁺ 细胞率 ($P < 0.05$); 一定质量浓度的 APS 联合 HGFs 可显著提高冷冻复苏后的脐血 MNC 扩增倍数及 CFU-Mix 集落产率 ($P < 0.05$), 其作用无明显量效关系。结论 APS 能提高冷冻复苏后脐血造血细胞的活力、增殖能力以及 CD34⁺ 细胞率, 可促进脐血造血细胞冷冻损伤的恢复; 与 HGFs 联合可促进冷冻复苏后的脐血 MNC 体外扩增。

关键词: 当归多糖 (APS); 脐血; 造血细胞; 冷冻保存

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)11-1684-05

Effect of APS on recoverable ability from cryopreservation damage of UCB hematopoietic cells

YANG Hui, WU Hong

(Laboratory of Stem Cell and Tissue Engineering, Department of Histology and Embryology, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: **Objective** To study the effect of angelica polysaccharides (APS) on recoverable ability from cryopreservation damage of umbilical cord blood (UCB) hematopoietic cells and APS with hematopoietic growth factors (HGFs) on *in vitro* expansion of UCB mononuclear cells (MNC) after thawing. **Methods** Thawed UCB MNC were cultured 24 h or 14 d with various concentration of APS (0, 50, 100, 200, and 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$) or with APS and HGFs. The MNC counting assay, typan blue exclusion assay, colorimetric MTT assay for cell proliferation, CFU-Mix colong-forming assay, and flow cytometry for CD34⁺ cell rate were detected. **Results** After adding certain concentration APS in thawed UCB cells,

收稿日期: 2008-01-08

作者简介: 吴宏 (1963—), 女, 浙江义乌人, 硕士, 教授, 主要研究方向为干细胞生物学以及中药有效成分对血细胞发生及调控的影响, 发表相关论文 20 余篇, 研究成果获重庆市人民政府自然科学三等奖和中国中西医结合学会科学技术三等奖。
Tel: (023) 68485050 E-mail: wuhong6368@126.com

the number of MNC, the rate of trypan blue exclusion, the proliferation of MNC, and the colony production of CFU-Mix were significantly enhanced ($P < 0.05$). The percentage of CD34⁺ cells in UCB was markedly higher than that of control group ($P < 0.05$). The certain concentration APS combined with HGFs could significantly raise the expansion fold and the colony production of CFU-Mix of thawed UCB hematopoietic cells ($P < 0.05$). There is no dose-response relation. **Conclusion** APS could raise the post-freezing recoverable ability of UCB hematopoietic cells. And APS combined with HGFs could promote the *in vitro* expansion of hematopoietic cells after thawed.

Key words: angelica polysaccharides (APS); umbilical cord blood (UCB); hematopoietic cells; cryopreservation

广泛地开展脐血造血干细胞移植必需建立脐血库,因而需长期低温保存脐血造血细胞,这使得脐血造血细胞必然要经历进入深低温状态和复苏两个过程,因此将不可避免地引起细胞理化性质的变化,这可能影响脐血造血细胞的生物特性,尤其是增殖能力^[1]。既往研究证明当归多糖(angelica polysaccharides, APS)是当归中促进造血的有效成分,APS在体内外均能刺激造血干/祖细胞(HSPC)的增殖和分化^[2]。在有外源性造血生长因子(HGFs)存在的条件下,APS可促进脐血单个核细胞(MNC)总数、CFU-GM、CFU-E集落数量增多,且可使脐血单个核细胞形成大量基质细胞贴壁^[3]。本实验深入研究在冷冻复苏后的脐血MNC中加入APS是否能促进冷冻损伤的造血细胞的复苏、增殖,提高造血细胞冷冻损伤的可恢复性,以期APS在造血细胞冷冻保护中的应用提供实验依据。

1 材料

1.1 实验标本:所有实验标本脐血来源于重庆医科大学附属第二医院妇产科。脐血收集适应证参考Thierry等介绍的标准^[4]。

1.2 药品与试剂:APS,重庆医科大学化学教研室分离、提取、纯化(质量分数>90%)。淋巴细胞分离液,上海华精生物高科技公司产品。明胶、L-谷氨酰胺、甲基纤维素、二甲基亚砷(DMSO)、MTT,美国Sigma公司产品。RPMI-1640培养基,美国Gibco公司产品。马血清、胎牛血清(FBS),美国Hyclone公司产品。2-巯基乙醇,上海化学试剂采购供应站进口分装。重组人粒-巨噬细胞集落刺激因子(rhGM-CSF),日本麒麟株式会社产品。重组人白细胞介素-3(rhIL-3)、重组人粒细胞集落刺激因子(rhG-CSF)、干细胞生长因子(SCF),中国军事医学科学院基础研究所提供。红细胞生成素(EPO)Amgen公司产品。FITC标记的小鼠抗人CD34抗体、FITC标记的小鼠IgG2a(阴性对照),美国BD公司产品。

2 方法

2.1 脐血MNC的分离:所有脐血标本均在采集6h内分离。分离方法为明胶法,即采集脐血后用PBS(1:1)稀释,与37℃3%明胶溶液等比混合,室温下静置30min,吸取血浆层,以2000r/min离心10min,弃上清液后用PBS重悬。按1:1的比例加到淋巴细胞分离液表面,然后以2000r/min离心25min。离心后轻轻吸取中间白膜层,再用RPMI-1640培养液洗涤2次,重新悬浮即得到脐血MNC悬液。

2.2 脐血MNC的冷冻保存:冻存时临时配制冷冻保护液(其中DMSO及FBS终体积分数分别为5%和20%)。将等体积的MNC悬液和冷冻保护液分别装入两支试管中,置冰水中预冷。待温度平衡后,将冷冻保护液缓慢加入细胞悬液中。体系配制后装入低温冷冻管中,在4℃冰箱中平衡30min,依次转入-20℃冰箱,液氮冻存罐中的气相空间过夜,最后投入液氮(-196℃)中保存。

2.3 脐血MNC的融冻与复苏:将冻存30d的MNC从液氮中取出,迅速置于40℃水浴中复温至全部融化(3min内完成),用含10%FBS的RPMI-1640培养液[含不同质量浓度的APS(终质量浓度分别为50、100、200、400μg/mL)]缓慢稀释10倍,1500r/min离心10min,弃上清液,用RPMI-1640培养液洗涤2次待用。

2.4 实验分组:将脐血标本用明胶分离法分离出脐血MNC(见2.1项),按2.2项冷冻保存脐血MNC30d。

2.4.1 将冷冻30d的脐血MNC复苏后随机分成5组:APS50、100、200、400μg/mL组和对照组。在含10%FBS的RPMI-1640培养液中分别加入不同质量浓度的APS,对照组加入等量的RPMI-1640培养液,置于37℃、5%CO₂、饱和湿度的培养箱中培养24h,测定并比较各组MNC数,台盼蓝拒染率,增殖能力(MTT法),脐血混合集落形成单位

(CFU-Mix) 集落产率(体外半固体培养法)和 CD34⁺细胞率(流式细胞术)。从而观察 APS 促进冷冻损伤的造血细胞恢复的能力。

2.4.2 将冷冻复苏后的脐血 MNC 随机分成 5 组: APS 50 μg/mL + HGFs 组、APS 100 μg/mL + HGFs 组、APS 200 μg/mL + HGFs 组、APS 400 μg/mL + HGFs 组和对照组(HGFs 组);HGFs 包括:SCF、IL-3、GM-CSF、G-CSF、EPO,同时在每组分别加入不同质量浓度的 APS,对照组仅加入 HGFs,不加 APS。在含 30% FBS 的 RPMI-1640 培养液中,置于 37 °C、5% CO₂、饱和湿度条件的培养箱中培养 14 d,测定并比较各组 MNC 数、CFU-Mix 集落产率(体外半固体培养法)和 CD34⁺细胞率(流式细胞术)。从而了解 APS 联合 HGF 对脐血造血细胞的扩增能力。

2.5 脐血 MNC 计数:用常规方法进行脐血 MNC 计数。

2.6 台盼蓝拒染实验:先取 9 滴 MNC 悬液移入小离心管中,再加入 1 滴 0.4% 台盼蓝溶液,混匀,在 3 min 内用血球计数板分别计数活细胞和死细胞。镜下观察死细胞被染成蓝色,而活细胞拒染。计算台盼蓝拒染率(活细胞率)[台盼蓝拒染率=活细胞总数/(活细胞总数+死细胞总数)×100%]。

2.7 MTT 比色试验:复苏后的脐血 MNC 用含 10% FBS 的 RPMI-1640 培养液(含不同质量浓度的 APS)配成细胞悬液,同时设立对照组,以每孔 1×10³~1×10⁴个细胞接种于 96 孔培养板中,每孔体积 200 μL,每组复种 3 孔。将培养板放入 37 °C、5% CO₂、饱和湿度的培养箱中培养 24 h,先离心弃培养液后加入无血清的培养液,每孔加入 MTT 溶液(5 mg/mL)20 μL,37 °C 继续孵育 4 h,终止培养,1 000 r/min 离心 5 min,后弃去孔内培养液,每孔加入 150 μL DMSO,震荡 10 min。选择 490 nm 波长,在酶标仪上测定各孔吸光度(A)值。

2.8 CFU-Mix 体外培养与计数:按常规方法略有改进。甲基纤维素体系中依次加入 2-ME 1×10⁻⁴ mol/L、3% L-谷氨酰胺、马血清、EPO、IL-3、GM-CSF、2×10⁶个脐血 MNC、0.9% 甲基纤维素,总体积 2 mL,充分混匀后,接种于 96 孔板,每孔 0.2 mL,置于 37 °C、5% CO₂、饱和湿度的培养箱中培养 14 d 后,于倒置显微镜下计数每孔 CFU-Mix 集落数。

2.9 流式细胞术检测脐血 CD34⁺细胞百分率:将分离的脐血 MNC 悬液分成两管,一管加 FITC 标记的 CD34 抗体,另一管加入 FITC 标记的小鼠 IgG2a(设为对照),用流式细胞仪定量检测 CD34⁺细胞百分率。

2.10 脐血造血细胞体外扩增:培养体系为含有 30% FBS 的 RPMI-1640 培养液;HGFs 的终质量浓度分别为 SCF:100 ng/mL, IL-3: 2 ng/mL, GM-CSF: 40 ng/mL, G-CSF: 20 ng/mL, EPO: 2 U/ml;各 APS 组加入不同质量浓度的 APS(50、100、200、400 μg/mL)。设立对照组不加 APS,只加 HGFs。MNC 浓度为 2×10⁶/mL,置于 24 孔培养板中,每孔 1 mL,复种 3 孔,于 37 °C、5% CO₂、饱和湿度的培养箱中培养 14 d,每周半量换液,进行细胞计数和流式细胞仪检测。

2.11 统计学方法:所获数据经 SAS 8.2 统计软件进行方差分析和 t 检验。

3 结果

3.1 APS 对冻存复苏的脐血 MNC 数量、活细胞率和增殖能力的影响:检测冻存复苏后脐血 MNC 的数量、活细胞率和增殖能力,结果显示:APS 100、200 μg/mL 组的脐血 MNC 数量、台盼蓝拒染率和 A 值与对照组比较,差异有统计学意义(P<0.05),但作用无明显量效关系(表 1)。

3.2 APS 对冻存复苏的脐血 CFU-Mix 集落产率和 CD34⁺细胞率的影响:检测冻存复苏的脐血

表 1 APS 对冻存复苏的脐血 MNC 数量、活细胞率、增殖能力、CFU-Mix 集落产率、CD34⁺细胞率的影响($\bar{x} \pm s, n=9$)

Table 1 Effect of APS on number, viability, and reproductive activity, plating efficiency of CFU-Mix, and percentage of CD34⁺ cell of UCB MNC after cryopreserved ($\bar{x} \pm s, n=9$)

组别	$\rho/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	MNC 数($\times 10^6$)	台盼蓝拒染率/%	A 值	CFU-Mix/孔	CD34 ⁺ 细胞率/%
对照	—	7.53±0.35	84.48±1.87	0.45±0.09	42.80±3.39	0.88±0.09
APS	50	7.81±0.73	86.07±2.27	0.45±0.03	42.00±5.87	0.90±0.14
	100	12.27±0.80*	92.39±1.29*	0.92±0.08*	59.90±8.74*	1.13±0.17*
	200	10.84±0.89*	90.10±1.86*	0.90±0.09*	56.80±9.37*	0.86±0.05
	400	7.29±0.97	85.62±2.51	0.40±0.05	47.20±4.92	0.91±0.09

与对照组比较: *P<0.05

*P<0.05 vs control group

CFU-Mix 集落产率和 CD34⁺细胞率,结果显示 APS 100 μg/mL 组的脐血 CD34⁺细胞率明显高于对照组 ($P < 0.05$); APS 100、200 μg/mL 组的脐血 CFU-Mix 集落产率明显高于对照组 ($P < 0.05$),见表 1。

3.3 APS 联合 HGFs 对冷冻复苏的脐血造血细胞体外扩增的影响:对冷冻复苏后的脐血造血细胞在体外扩增,14 d 后计数 MNC 数、CFU-Mix 数和 CD34⁺细胞率。结果显示:APS 100 μg/mL+HGFs 组和 APS 200 μg/mL+HGFs 组 MNC 数和 CFU-Mix 数在扩增后明显高于对照组 ($P < 0.05$); APS 400 μg/mL+HGFs 组 CFU-Mix 数明显低于对照组 ($P < 0.05$); APS 各组和对对照组相比 CD34⁺细胞率差异无显著性 ($P > 0.05$),见表 2。

表 2 APS 对冷冻复苏的脐血造血细胞体外扩增的影响 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 2 Effects of APS on *in vitro* expansion of UCB hematopoietic cells after cryopreserved ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	MNC 数 ($\times 10^6$)	CFU-Mix/孔	CD34 ⁺ 细胞率/%
对照 (HGFs)	130.50±2.18	122.00±3.74	1.70±0.14
APS (50 μg·mL ⁻¹)+HGFs	132.72±5.18	114.60±6.35	1.84±0.21
APS (100 μg·mL ⁻¹)+HGFs	185.36±5.40*	186.60±5.94*	2.00±0.19
APS (200 μg·mL ⁻¹)+HGFs	152.52±5.95*	142.20±3.11*	1.85±0.09
APS (400 μg·mL ⁻¹)+HGFs	130.02±2.02	110.60±5.13*	1.87±0.17

与对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group

4 讨论

长期的临床实践证明,脐血造血干细胞是治疗白血病、恶性肿瘤、重型地中海贫血等多种疾病的有效方法,提高脐血干细胞冻存后的回收率和克隆形成能力具有重要的临床意义。近年来低温保存技术已取得很大的进展,如使用程序降温仪控制冻存温度,改良冷冻保护剂,或在冻存液中加入膜稳定剂和生物抗氧化剂,均能显著改善细胞回收率^[5,6]。尽管如此,复苏后 24 h 内仍有相当比例的冻存细胞死亡。研究发现,细胞冷冻过程中在外界因素的作用下,如氧化应激反应、渗透性损伤、Na⁺, K⁺-ATP 酶抑制导致离子内环境紊乱等,均可导致细胞的损伤。

低温保存细胞是否成功首先看复苏后细胞的数量和存活率,在保证数量和存活率的基础上再进一步探讨如何更好地使冻存细胞在复苏后能执行其正常功能。冻存复苏后的脐血 MNC,立即加入不同质量浓度的 APS 共同培养 24 h 后检测脐血 MNC 的数量,旨在了解 APS 能否促进冷冻复苏的脐血 MNC 数量的恢复。实验结果显示一定质量浓度的 APS 能使冻存复苏后的脐血 MNC 数量明显增加。

可能的原因有:①在细胞冻存和复苏过程中最容易受损的是细胞膜,细胞膜对于低温有高度的敏感性,是细胞受到低温损伤的主要部位。在降温过程中由于细胞外溶质的浓缩,细胞处于一个高渗透压状态,细胞膜存在一定的损害甚至完全破裂,其通透性较正常时略高。细胞在复苏过程中,要经过与冷冻过程相反的变化,细胞从高渗状态回到正常渗透压时导致细胞外水分内流,使细胞膨胀乃至破裂。商澎等^[7]从新鲜当归中分离纯化得到当归多糖亚组分 AP-0、AP-1、AP-2、AP-3,并分别测定了各组份中的总糖、糖醛酸、蛋白质的量及其单糖组分和糖苷键的构成,证明 APS 主要由葡萄糖、阿拉伯糖、少量糖醛组成。在复苏过程冲洗的培养液中加入一定浓度的葡萄糖,可以减少渗透性休克,将细胞放入一种接近等渗、含有非渗透性溶质(如蔗糖)的溶液中,使低温保护剂扩散出细胞的同时,能够保持细胞不发生肿胀。故在本研究中,在细胞冲洗和培养中均加入不同质量浓度的 APS,可能在细胞表面形成一层保护层,稳定细胞膜从而保护了细胞。②既往的研究已经证实:APS 可促进人红系、粒单系及混合系造血祖细胞的增殖分化,故推测 APS 使冷冻复苏后脐血 MNC 数量增加的原因可能也与 APS 促进了脐血 MNC 的增殖有关。台盼蓝拒染实验结果显示 APS 在增加脐血 MNC 数量的同时,也保证了细胞的存活率。MTT 实验结果再一次证明适宜浓度的 APS 能增强冷冻复苏 MNC 的活性和增殖能力。

CFU-Mix 是由一个多潜能干/祖细胞发育成熟的多系细胞集落,具有造血干细胞的部分功能,但比最原始的造血干细胞趋向成熟。单位种植细胞数量形成的 CFU-Mix 集落数可间接反映细胞群中早期 HSPC 数量及其生物学活性,体外半固体培养方法为检出 HSPC 提供了方便,同时为观察 HSPC 自我更新和多向分化能力提供了可能性。本研究采用体外 CFU-Mix 集落半固体培养,检测在冷冻复苏后,立即加入 APS 共同培养的脐血造血细胞中 HSPC 的数量及生物学活性。结果证明了适宜质量浓度的 APS 不仅能够增加脐血 MNC 数和活细胞率,而且还能增加或恢复脐血 MNC 中造血干/祖细胞的数量或活性。在此基础上通过流式细胞术研究 APS 是否作用在 CD34⁺细胞阶段,实验结果表明 APS 在使冷冻复苏的脐血 MNC 数量和活性得到提高和恢复的同时,也使 CD34⁺细胞数得到提高。对于脐血移植中 HSPC 的回输有两种观点^[8]:一种是复苏后不经任何处理,直接快速地输给患者,主要是担心处

理过程会增加 HSPC 的丢失,从而影响患者的造血恢复;另一种是要求洗去冷冻保护剂后回输,认为冷冻保护剂对人体可能有一定程度的副作用。本研究提示:洗去冷冻保护剂和在外与 APS 共培养的过程,不但不会造成造血细胞数量的减少,还能提高 CD34⁺细胞的量。故认为回输时洗去冷冻保护剂并在体外和适宜质量浓度的 APS 共同培养,可能更有利于造血的恢复。

体外扩增是克服脐血干细胞数量不足,限制其应用的主要途径^[9,10],联合多种 HGFs 选择适宜的培养条件及扩增时间,可以在有效地扩增其数量的同时保证其质量。APS 能否和 HGFs 发挥协同作用,增强脐血造血细胞冷冻后的扩增潜能,值得进一步探讨。本实验以冷冻复苏的脐血 MNC 作为培养的起始细胞,加入不同质量浓度的 APS 联合 HGFs 组合 (SCF + IL-3 + GM-CSF + G-CSF + EPO) 进行体外扩增。实验结果说明适宜质量浓度的 APS 能与 HGFs 组合发挥协同作用,促进冷冻复苏后的脐血造血细胞的体外扩增。但 CD34⁺细胞率增加不明显。Gilmore 等^[11]认为,用 SCF 联合 IL-3、IL-6、GM-CSF 等扩增脐血 CD34⁺细胞,主要导致造血干细胞发生分化,而不是增殖;APS 在实验中可能和以上细胞因子发生了协同作用,促进 CD34⁺细胞发生的分化效应强于增殖效应,从而导致 CD34⁺细胞率变化不显著;也可能是 CD34⁺细胞的扩增和 MNC 的扩增不同步,造成了 CD34⁺细胞在 MNC 的比例发生了不同步的变化,从而各个组 CD34⁺细胞率变化不明显。

综上所述,APS 能促进冷冻脐血造血细胞的复苏、增殖,提高脐血造血细胞冷冻损伤的可恢复性。且能与 HGFs 协同,提高冷冻复苏的脐血造血细胞的体外扩增潜力。但其作用机制有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Broxmeyer H E, Srour E F, Hangoc G, *et al.* High-efficiency recovery of functional hematopoietic progenitor and stem cells from human cord blood cryopreserved for 15 years [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2003, 100(2): 645-650.
- [2] 郑敏, 王亚平. 当归多糖对髓系多向造血祖细胞增殖分化的影响及其机理研究 [J]. *解剖学杂志*, 2002, 25(2): 105-109.
- [3] 刘蓓, 侯相麟, 赵丽, 等. 当归多糖对脐血单个核细胞的体外扩增研究 [J]. *中华实用中西医结合杂志*, 2004, 4(17): 937-939.
- [4] Thierry D, Hervatin F, Traineau R, *et al.* Hematopoietic progenitors cells in cord blood [J]. *Bone Marrow Transplant*, 1992, 9 (Suppl 1): 101-105.
- [5] Mino E, Kobayashi R, Yoshida M, *et al.* Umbilical cord blood stem cell transplantation from unrelated HLA-matched donor in an infant with severe congenital neutropenia [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2004, 33(9): 969-971.
- [6] Liao C, Liu B, Huang Y N, *et al.* Establishment of cord blood stem cell bank and its clinical application [J]. *Chin J Hematol*, 2001, 22 (8): 411-414.
- [7] 商澎, 杨铁虹, 贾敏, 等. 当归多糖的分离、纯化及分析鉴定 [J]. *第四军医大学学报*, 2001, 22(14): 1311-1314.
- [8] Bubnic S J, Keating A. Donor stem cells home to marrow efficiently and contribute to short and long-term hematopoiesis after low-cell dose unconditioned bone marrow transplantation [J]. *Exp Hematol*, 2002, 30(6): 606-611.
- [9] Zhai Q L, Qiu L G, Li Q, *et al.* Short-term ex vivo expansion sustains the homing-related properties of umbilical cord blood hematopoietic stem and progenitor cells [J]. *Haematologica*, 2004, 89(3): 265-273.
- [10] 刘英, 裴雪涛. Flt-3 配基和促血小板生成素对脐血造血祖细胞的协同扩增作用 [J]. *中华儿科杂志*, 2000, 38(2): 89-91.
- [11] Gilmore G L, DePasquale D K, Lister J, *et al.* Ex vivo expansion of human umbilical cord blood and peripheral blood CD34⁺ hematopoietic stem cells [J]. *Exp Hematol*, 2000, 28 (11): 1297-1305.

龙葵碱对人肝癌 HepG2 细胞 N-乙酰基转移酶活性的影响

高世勇^{1,2}, 季宇彬^{1,2}

(1. 哈尔滨商业大学生命科学与环境科学研究中心 药物研究所博士后科研工作站, 黑龙江 哈尔滨 150076;

2. 国家教育部抗肿瘤天然药物工程研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150076)

摘要:目的 探讨龙葵碱对 HepG2 细胞 N-乙酰基转移酶 (NAT) 活性的影响。方法 采用 HPLC 方法, 以 2-氨基苄 (2-AF) 为底物, 以 2-AF 被 NAT 乙酰化为 2-乙酰氨基苄 (2-AAF) 的量来反应 NAT 的活性。结果 龙葵碱能显著降低 HepG2 完整细胞 NAT 的活性; 龙葵碱能够降低 HepG2 细胞质内 NAT 的活性, 作用具有剂量依赖性。结论 龙葵碱通过抑制 HepG2 细胞 NAT 的活性发挥细胞毒作用。

关键词: 龙葵碱; HepG2 细胞; N-乙酰基转移酶 (NAT)

中图分类号: R286.91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)11-1688-04

收稿日期: 2008-05-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30400591); 黑龙江省自然科学基金资助项目 (D2004-13); 哈尔滨市青年基金资助项目 (2004AFQXJ035)

作者简介: 高世勇 (1975-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向为肿瘤药理学。Tel: (0451) 84800297 E-mail: sygao2002@163.com