JIANG SU YAO LI TONG XUN

JIANGSU RMACOLOGICAL BULLITIN

第七期

# 江苏药理通讯

江苏省药理学会主办

7

2009

主办单位：江苏省药理学会

“江苏药理通讯”编委会

主　编：

王广基　中国药科大学教授

编　委：

胡　刚　南京医科大学教授
顾振纶　苏州大学教授
方泰惠　南京中医药大学教授
张洪泉　扬州大学教授
徐　强　南京大学教授
印晓星　徐州医学院教授
季　晖　中国药科大学教授
徐济良　南通大学教授
朱萱萱　江苏省中医院教授
徐　立　南京中医药大学副教授
邱召娟　江苏省中医院主任药师

内部资料　免费交流

本期协办单位：

苏州大学医学部药理学系

# 目　录

江苏省药理学会 2008 年度工作总结 ..... 2
实验大鼠生长过程中血浆代谢组变化规律的研究 ..... 5
人参皂苷 Rg1 在大鼠体内药物代谢动力学及脑转运的研究 ..... 5
亨廷顿蛋白氨基末端片段——Htt-552 和 Htt-171 对 CER 介导的基因转录的影响 ..... 6
Cathepsin L 在 6-OHDA 损伤 SH-SY5Y 细胞中的作用 ..... 7
NF-κB 对成年大鼠神经干细胞增殖和分化的影响及自噬在其中的作用 ..... 7
积雪草酸对帕金森样的损伤细胞和突变果蝇的神经保护作用 ..... 8
齐留通对星形胶质细胞缺氧缺糖损伤的保护作用 ..... 9
铁离子对二氢青蒿素神经毒性的作用 ..... 9
红景天苷对谷氨酸诱导神经元凋亡的抑制作用 ..... 10
氯胺酮致小鼠类似精神分裂症症状在及其机制研究 ..... 11
氯胺酮致小鼠精神分裂症样症状及对 MAPK 信号通路影响的研究 ..... 11
CaMKⅡδ同工酶在 AngⅡ或 EFS 诱导的心肌细胞肥大中的作用 ..... 12
CaMKⅡδ同工酶对心肌纤维化的作用与分子机制研究 ..... 14
厄贝沙坦联合螺内酯逆转肾性高血压大鼠血管重塑 ..... 14
螺内酯与厄贝沙坦对肾血管性高血压大鼠心肌重构及 SGK1 表达的影响 ..... 15
阿司匹林抑制兔动脉粥样斑块破裂及其机制研究 ..... 16
自噬/cathepsins 激活机制在姜黄素抗内皮细胞缺血再灌注损伤中的作用 ..... 17
自噬和内质网应激在大鼠脑缺血预适应中的作用和药物干预 ..... 18

苦参碱抗大鼠局灶性缺血性脑损伤的作用及其保护星形胶质细胞的机制.....19
SMAD 蛋白在心脏中的效应（综述）.....20
联苯双酯偶联的一氧化氮供体化合物抗肝纤维化活性研究.....21
江苏地产白首乌总苷对大鼠肝纤维化的作用研究.....21
FAC 及 EGCG 对 CCl4 致小鼠肝纤维化的干预作用及其机制研究.....22
表没食子儿茶素没食子酸酯对大鼠高脂性脂肪肝的治疗作用及其机制研究.....23
生姜油三个不同提取部位对急性实验性肝损伤的保护作用比较.....24
南瓜多糖对链脲菌素诱导的大鼠胰岛 β 细胞损伤的保护作用.....24
高脂饲料诱导的胰岛素抵抗大鼠骨骼肌己糖胺通路流量的检测.....25
大黄酸精氨酸预防大鼠实验性肠粘连的抗炎机制.....26
阿司匹林抑制小鼠腹腔巨噬细胞 MMP-2/9 表达及其机制研究.....26
异丁斯特对哮喘豚鼠 Th2 型细胞因子白介素 4/13 及嗜酸性粒细胞趋化因子的影响.....27
茶多酚对实验性肺纤维化的影响及其机制研究.....27
EGCG 对实验性肺纤维化的干预作用及其机制研究.....28
用生物信息学方法探索博莱霉素致 C57 小鼠肺纤维化的分子靶点.....29
Endostar 对 NSCLC 转移的影响及 OPN 相关机制研究.....30
吡啶衍生物-铜配合物抗肿瘤作用的线粒体机制.....31
新合成的 7-氮杂靛玉红衍生物抗肿瘤作用及机制的研究.....31
噁二唑并[3，4-d]嘧啶衍生物抑制肿瘤细胞增殖及其作用机制的初步研究.....32
OPDO 诱导 HepG2 细胞自噬和 G2/M 期阻滞与释放 NO 介导的线粒体损伤有关.....32
阿司匹林诱导人胶质瘤细胞 U251 凋亡和自噬.....33
阿司匹林经核因子-κB 信号通路抑制胃癌细胞 AGS 生长.....34
纤维连接蛋白对 RhoA 活性的影响及其机制探讨.....34
柑橘类黄酮诺必擂停对 K562 裸鼠移植瘤的抑制作用.....35
23-羟基白桦酸协同增敏抗肿瘤药的体外药效学研究.....35
TGF-β1、Smad4 在宫颈鳞状细胞癌中的表达和熊果酸对 SiHa 细胞的作用.....36
hTERT、Bcl-2 在宫颈鳞癌中的表达及冬凌草甲素抑制人 SiHa 细胞增殖作用研究.....37
熊果酸对乳腺癌 SK-BR-3 细胞增殖、调亡的影响及其机制研究.....37
熊果酸对人胰腺癌细胞株 SW1990 的作用及其机制研究.....38
运脾温阳方及其拆方对脾虚大鼠胃肠激素干预的研究.....39
化瘀通络法对脑缺血再灌损伤大鼠的实验研究.....39
津血源颗粒对干燥综合症模型鼠的干预研究.....40
三拗汤类方对卵蛋白致敏哮喘模型作用的物质基础与作用机理研究.....40
三拗汤及类方对 TMA 致哮喘模型大鼠作用、作用机理及物质基础研究.....41
通塞脉片对动脉粥样硬化大鼠 MMP-9/TIMP-1 的影响.....42
生津润燥颗粒对干燥综合症大鼠模型的影响.....42
黄芩苷的解热作用与内生致热原的关系研究.....43
赤芍治疗黄疸型肝炎有效部位筛选及提取工艺研究.....43
关于召开“江苏省药理学会中药药理专业第二届学术会议”第二轮通知.....45

# 江苏省药理学会2008年度工作总结

2008年是改革开放30周年，我国成功举办奥运会，但也经历特大雪灾、地震灾害，以及受到席卷全球的金融风暴的影响。可以说是大事多，难事多，喜事也多。江苏省药理学会在江苏省科协、民政厅、卫生厅、药监局等各级领导的帮助和支持下，在2008年中也有了很大的发展，取得了长足的进步。

## 一、加强学会建设

1、江苏省药理学会坚持把服从和服务于国家医药卫生事业发展作为学会工作的根本宗旨，坚持把团结和动员广大药学科技工作者，推进药学科技进步为学会工作的中心任务，坚持把整合资源和完善组织建设作为学会改革的首要任务，在组织建设、学术交流、编辑出版、科学普及、继续教育、科技发展等多方面取得了较好成绩，为学会工作健康和可持续发展打下了重要基础。

2、按照省科协的指示精神，2008年应进行江苏省药理学会换届选举工作，2008年1月19日在中国药科大学召开了江苏省药理学会第一届常务理事、秘书长会议，商讨和产生第二届江苏省药理学会理事长、副理事长、秘书长、副秘书长候选人名单和修订江苏省药理学会章程。

3、根据江苏省药理学会章程规定，换届选举应召开江苏省药理学会会员代表大会，2008年3月14日召开江苏省药理学会副理事、秘书长，临床药理和中药药理分会主任委员和秘书长会议，成立江苏省药理学会第二届会员代表大会筹备小组，并分工负责，议定各有关单位推荐江苏省药理学会理事名单。2008年4月5日再次召开筹备小组会议，会议上议定了选举日程。并决定同时召开第三届江苏省药理学会学术会议，以及临床药理第六届和中药药理第一届学术会议。

4、根据省民政厅和省科协有关规定，通过广泛征求意见、民主协商，2008年5月24日召开江苏省药理学会第二届会员代表大会，参会代表共144人，会议邀请了省科协和兄弟学会的有关领导出席。

原江苏省药理学会理事长刘国卿教授因病逝世，由原江苏省药理学会副理事长凌树森教授主持工作，并在大会上作近五年的工作总结汇报。

代表大会通过等额选举产生新一届理事长、副理事长、秘书长和副秘书长以及江苏省药理学会理事82名、常务理事39名。新一届理事长、副理事长、秘书长和副秘书长名单上报省科协批准并备案。新一届江苏省药理学会理事长中国药科大学副校长王广基教授当选为第二届江苏省药理学会理事长并代表第二届理事会对江苏省药理学会今后的发展做了重要讲话，指出新一届理事会将按照“为经济社会发展服务，为全民科学素质服务，为科技工作者服务，加强自身建设”的工作定位，积极探索建立适应社会主义市场经济体制、符合科技团体发展规律、具有学术影响力、会员凝聚力、社会公信力和自主发展能力的现代科技社团，切实提高学会“自主、自立、自强、自律”的能力。原省政协主席沙人麟、江苏省食品药品监督局叶耀宇副局长、江苏省科协詹庚庆秘书长、中国药科大学吴晓明校长、南京中医药大学蔡宝昌副校长等领导出席了会员代表大会并发表了热情洋溢的讲话，对本次江苏省药理学会换届选举圆满成功表示了热烈的祝贺。

## 二、学会学术工作

1、2008 年 5 月 23 日~25 日“江苏省药理学会第三届学术会议暨临床药理第六届和中药药理第一届学术会议”在南京中国药科大学隆重召开。来自全省各地近 200 名药理学工作者参加了本次会议，收到论文 123 篇。与会的专家学者围绕心血管药理、内分泌药理、神经药理、肿瘤药理、免疫药理、药代动力学、中药药理、临床药理等领域进行了广泛、深入的交流。大会报告由南京医科大学副校长胡刚教授作了《神经药理学基础面临的挑战》的学术报告，就胶质递质与胶质传递全面阐述了神经药理学面临的挑战。南京大学生命科学学院副院长、长江学者徐强教授作了《免疫调控的分子基础与选择性免疫抑制剂》的学术报告，对免疫药物的调控提出了全新的概念，并发现了一些中药或天然产物具有独特的选择性免疫调控活性，证实其对于相关免疫性疾病具有显著的治疗作用而没有现有的免疫抑制剂严重的毒副作用。扬州大学张洪泉教授作了《支气管哮喘的免疫治疗进展》的学术报告，就哮喘的免疫调节的治疗方法及其取得的一些进展为与会代表作了详细的报告，使大家对哮喘的免疫治疗有了更深入地了解。中国药科大学副校长王广基教授作了《中药药代动力学研究新思路与新方法的探索》的学术报告，从血塞通注射液的研究入手，提出了“整合药代动力学”的概念，为指导临床用药奠定了理论基础。南京中医药大学许立教授作了《黄杨星 D 的药理及毒理研究概况》的学术报告，对继麻黄素和青蒿素之后，又一个从我国中药宝库中发掘出来具有划时代意义的单体化合物环维黄杨星 D 的药理毒理研究进行了深入的探讨，为临床提供合理的用药参考。苏州大学秦正红教授作了《自噬与神经特异性疾病》的学术报告，探讨了神经药理与脑血管神经递质的相关性。

2、5 月 25 日，江苏省药理学会临床药理和中药药理学术会也分别进行了学术交流。会议上南京中医药大学陆茵教授、卞慧敏教授、朱萱萱教授以及江苏省中医药研究院沈明勤研究员、江苏大学高静教授、南京市第一医院肖大伟主任药师分别作了精彩的学术报告。报告内容丰富、学术气氛活跃，大家踊跃参会，认真听讲，深入讨论，为今后江苏省药理学的发展奠定了良好的基础。

3、通过大会学术组评议，评出优秀论文一等奖 3 名、二等奖 6 名、三等奖 6 名，并颁发了证书和奖金，对药理学领域的学术发展起到积极地促进作用。

4、学会成立了新一届江苏省药理通讯编委会，成员由理事长王广基教授、副理事长胡刚教授、方泰惠教授、徐强教授、季晖教授、秘书长朱萱萱教授、徐立副教授、邱召娟主任药师组成。并于 2008 年 7 月出版了《江苏药理通讯》第 6 期 100 册，分别发送学会理事和相关人员，通讯主要介绍了江苏省药理学会第一届理事工作总结、江苏省药理学会第二届会员代表大会通过的江苏省药理学会章程和学会理事名单，及关于召开“江苏省药理学会中药药理专业第二届学术会议”第一轮通知。期刊还介绍了最新药理学进展。

5、2008 年江苏省药理学会会员王广基教授荣获第二届明康德生命化学研究奖特等奖、2007 年度国家科技进步二等奖。会员郝海平荣获“全国百篇优秀博士论文奖”以及中国药理学会施维雅青年药理学工作者奖。会员顾秩和周芳获“江苏省优秀博士”；会员李鹏获“江苏省优秀硕士”称号。这是他们在药理学研究领域刻苦努力、勤奋钻研，取得的丰硕成果。

**三、学会财务工作**

江苏省药理学会是江苏省药理学工作者聚会的平台，坚持以会员为本，应暂未实行交纳会费制度，学术会议等所有支出从开会所收的会务费和省科协拨款中支取，不足部分由企业支付的技术咨询费用支出。江苏省药理学会挂靠中国药科大学，2008 年在江苏省药理学会第二届会员代表大会前进行财务交接，由江苏同仁会计师事务所有限公司进行审计。学会财

务管理现由中国药科大学财务处具备会计上岗证的人员担当，确保学会资金公开透明，使用安全有效。经审计 2007 年底结余资金 35099.65 元，至 2008 年末为 46703.70 元（其中收取会费 22000 元，政府补助 16000 元，技术咨询 10000 元）。

**四、2009 年学会工作计划**

2009 年将全面贯彻执行胡锦涛总书记在全国科协成立 50 周年大会上的讲话和江苏省科协第七届五次全委扩大会议的工作报告，坚持“三服务一加强”的工作定位和建设“服务科协、创新科协、活力科协、和谐科协”的工作目标，坚持“搭建平台、资源共享”的工作思路和“大联合、大协作”的工作方法，团结带领全省广大药理工作者，解放思想，开拓创新，坚定信心，扎实工作。力争为江苏率先发展、科学发展、和谐发展作出积极贡献。

1、坚持以会员为本

会员是学会的立会之本，联系会员、服务会员、发展会员是学会的基础性工作，把会员是否满意作为衡量学会工作的主要标准，努力建设充满生机和活力的现代科技社团，把江苏省药理学会建设成为江苏药理学工作者的“和谐大家庭”。积极做好会员发展工作，建立会员和团体会员的收费制度。

2、坚持搭建平台

学会是国家创新体系的重要组成部分，学会作为科技工作者自愿组成的社会团体，是科学共同体的重要组织形式，负有推进自主创新、传播科学文化，规范学术行为、提供服务和反映诉求的重要职责，在国家创新体系建设中发挥着重要作用。充分发挥学会的学科优势、人才自愿优势和组织网络优势，积极搭建不同层次、不同形式的服务平台，为开展学术交流、促进创新人才成长服务，为开展科普活动、提高全民科学素质服务，为开展决策咨询和建言献策，增强自主创新能力服务，实现自愿共建共享。2009 年 5 月拟举办江苏省药理学会中药药理专业第二届学术研讨会。2009 年 10 月拟举办江苏省药理学会临床药学专业委员会第七届学术研讨会。

3、坚持创新发展

围绕党和国家工作的大局，不断深化学会改革，创新工作机制和方式，建立健全学会规章制度，民主办会，规范学会工作，提高学会自主活动、自主发展、自我约束的能力，自觉制止学术上的不正之风和不端行为，营造民主讨论、平等代人、严肃批评的学术氛围，加强科学道德建设，促进科学技术健康发展。

4、坚持落实各项规章制度

强化责任意识和服务意识，严格按照所制定的职责分工和各项规章制度，认真履行各项职责和义务。增强全体会员参与学会工作的责任感和积极性，积极为学会工作建言献策，并对理事会的工作进行监督，不断提高学会工作的水平和规范程度。增加科普活动和技术咨询。

5、规范学会财务管理制度

不断完善财务管理制度，促进财务管理制度化，规范化，不断提高财务管理水平，确保学会资金公开透明使用安全有效。

总之，在省科协、民政厅、卫生厅、药监局等部门的领导下，在新一届药理学会理事会及全省药理工作者的共同努力下，我省药理学会的工作将会取得更好更大的成绩！

**江苏省药理学会**

2008–12–31

# 实验大鼠生长过程中血浆代谢组变化规律的研究

黄 青[1.2] 陆益红[1.2] 王广基[2]* 王新文[3] 孟 楠[3] 高 洁[3] 卢 迪[3]
闫 鑫[3] 张 颖[2] 刘林生[2] 郝 刚[2] 严 蓓[2] 顾胜华[2] 阿基业[2]
（1.江苏省食品药品检验所 江苏南京 210008 2.中国药科大学药物代谢动力学重点实验室 江苏南京 210009， 3.中国药科大学-大学生实践创新训练计划项目成员 江苏南京 210009 ）

**目的：**对 Wistar 大鼠 12 到 20 周龄间血浆中小分子化合物的变化进行代谢组学研究，寻找与鼠龄增长相关的代谢成分差异，揭示实验大鼠生长过程中对应的机体内源性物质基础的变化。

**方法：**以 12 周龄雄性 Wistar 大鼠为模型,分别于其 12、14、16、18、20 周龄采集血浆，运用基于气相色谱/飞行时间质谱(GC/TOF-MS)检测技术的代谢组学方法，检测血浆中的内源性小分子代谢物。数据采集和进行前处理后，应用 Simca 软件对其进行主成分分析。

**结果：** Wistar 大鼠不同周龄的血浆代谢产物谱能够相互区分。其中 20 周龄大鼠血浆中的柠檬酸，乌头酸，苹果酸，花生四烯酸，3-羟基丁酸，十六碳烯酸，丝氨酸，苯丙氨酸，羟脯氨酸等化合物含量明显低于 12 周龄；α-生育酚，精氨酸，吲哚丙酸，己二酸等化合物的含量明显高于 12 周龄。

**结论：** 12、14、16、18、20 周龄 Wistar 大鼠内源性代谢谱出现明显的动态变化轨迹，代谢组学可以敏锐、清晰地反映出实验动物生长过程中相关的体内代谢物小分子总体状态逐渐变化的进程。在此过程中柠檬酸，十六碳烯酸，羟脯氨酸，α-生育酚等代谢成分也在血浆中发生了明显的改变，这些化合物与能量代谢、脂质过氧化、抗氧化平衡等密切相关，提示大鼠在生长过程中这些代谢/功能出现了相应变化。本研究一方面为运用基于气相色谱/飞行时间质谱的代谢组学探索实验大鼠生长过程中的生理变化以及生物学本质提供了更为丰富的物质基础，为构建抗衰老药物药效的评价技术平台提供了新的研究依据；另外提示即便是生理学上正常的动物，其体内的代谢组水平也不是恒定不变的。因此在进行单、多个时间点上相关毒性或药效生物标志物的寻找时，需结合正常对照组的动态变化进行研究，以便作出独立于生长因素的正确判断。

**关键词：**代谢组学；生长老化；气相色谱/飞行时间质谱

# 人参皂苷 Rg1 在大鼠体内药物代谢动力学及脑转运的研究

王 睿 郝海平 吴晓兰 周 芳 王广基
（中国药科大学药物代谢动力学重点实验室 江苏 南京 210009）

**目的：**研究人参皂苷 Rg1 在正常及病理大鼠体内药物代谢动力学及其在体内外模型中脑部转运的特性。

**方法：**采用 SD 雄性大鼠大脑中动脉短暂性闭塞法复制大鼠局灶性脑缺血/再灌注模型。大鼠随机分为 2 组：假手术组、脑缺血/再灌注病理组，缺血 2 h 复灌 22 h 后，尾静脉注射

45 mg/kg 人参皂苷 Rg1，于给药后 2、5、8、15、30、45、60、90、120、240、360、480 和 720 min 取血，测定血药浓度，于 15、60 和 360 min 取大鼠脑组织，测定脑内含量。体外采用过氧化氢(H2O2)损伤大鼠脑微血管内皮细胞(rat Brain Microvascular Endothelial Cells, rBMEC)诱导的脑缺血/再灌注损伤模型，以荧光黄为小分子示踪剂，牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)为大分子示踪剂验证模型并用于人参皂苷 Rg1 体外脑转运的研究。

**结果：**正常组大鼠体内 Rg1 的血药浓度曲线与脑缺血病理组类似。静脉注射 45 mg/kg Rg1 后，估算的正常组和病理组的 t1/2 分别为 4.66 ± 0.73 h 和 4.66 ± 1.27 h，实测得静脉注射后 2min 的血浆药物浓度(C2min)分别为 72.10 ± 16.19 μg/mL 和 75.32 ± 14.19 μg/mL，两种状态下其药物代谢动力学特性没有明显差别。同时，在最低定量浓度为 5 ng/mL 的条件下，无论是正常状态或脑缺血病理状态下，脑内均测不到人参皂苷 Rg1。体外转运模型中，人参皂苷 Rg1 的 Papp 略有升高，但与模型组相比，统计学上差异无显著性意义。

**结论：**人参皂苷 Rg1 在正常状态和脑缺血病理状态下药物代谢动力学特性没有明显差异，且体内外数据表明人参皂苷 Rg1 在这两种状态下均不易转运入脑。

**关键词：**人参皂苷 Rg1；药物代谢动力学；脑部转运；大鼠脑微血管内皮细胞

# 亨廷顿蛋白氨基末端片段--Htt-552 和 Htt-171 对 CER 介导的基因转录的影响

陈鑫[1,2] 秦正红[1,2] 林芳[1,2]

（1. 苏州大学医学部药理学系 江苏苏州 215123 2. 苏州市衰老与神经退行性疾病重点实验室 江苏苏州 215123）

**目的：**研究亨廷顿蛋白(Hungting, Htt)氨基末端片段--Htt-552 片段和 Htt-171 片段对 CRE 介导的基因转录的影响，评估该基因转录调节通路在亨廷顿舞蹈病致病机制中的作用。

**方法：**采用脂质体转染的方法将 pGL4[luc2P/CRE/Hygro]荧光素酶基因报告质粒转染到 PC12 细胞中，经过潮霉素筛选后得到稳定表达该质粒的 PC12 细胞(简称为 PC12-CRE)。用腺病毒介导野生型与突变型 Htt-552 片段和 Htt-171 片段感染的方法制作亨廷顿舞蹈病的 PC12-CRE 细胞模型。利用荧光素酶报告基因检测试剂盒检测其荧光值，观察突变型 Htt-552 片段和 Htt-171 片段在正常情况下以及细胞应激情况下对 CRE 介导的基因转录的影响。用 Real-time PCR 的方法检测 Htt-552 片段和 Htt-171 片段对 BDNF mRNA 表达的影响。

**结果：**稳定表达 pGL4[luc2P/CRE/Hygro]质粒的 PC12 细胞构建成功。腺病毒成功介导野生型与突变型 Htt-552 片段和 Htt-171 片段在 PC12-CRE 细胞中表达。免疫组织化学结果显示 Htt-552 片段在细胞内主要分布于细胞浆，细胞核内表达较少，无聚集体形成，而 Htt-171 片段尤其是突变型在胞浆中有大量聚集体产生，胞核中表达较少，无聚集体。免疫组化结果显示 Htt-552 片段和 Htt-171 片段在核内与 CBP 仅存在微弱的共定位。荧光素值结果显示突变型 Htt-552 片段和 Htt-171 片段对 cAMP 反应元件调节的转录无影响。即使在环境应激情况下，包括添加 3-硝基丙酸(3-NP)、海人藻酸(KA)、多巴胺(Dopamine)、金属离子(CuSO4、FeSO4.7H2O)和 NH4Cl，突变型 Htt-552 片段和 Htt-171 片段对 cAMP 反应元件相关性转录也无影响。野生型 Htt-552 片段和 Htt-171 片段上调 BDNF mRNA 的表达，而突变型下调其表达。

**结论：**突变型 Htt-552 片段和 Htt-171 片段无论是在正常情况或某些细胞应激情况下对 cAMP 反应元件相关性转录均无影响。突变型 Htt-552 片段和 Htt-171 片段降低了 BDNF 的表达。

**关键词：**亨廷顿舞蹈病；CRE；基因转录

# Cathepsin L 在 6-OHDA 损伤 SH-SY5Y 细胞中的作用

项蓓[1.2] 梁中琴[1.2]
（1. 苏州大学医学部药理学系 江苏苏州 215123 2. 苏州市衰老与神经退行性疾病重点实验室 江苏苏州 215123）

**目的：**研究溶酶体组织蛋白酶 L(Cathepsin L)在 6-羟基多巴胺（6-OHDA）诱导的 SH-SY5Y 细胞死亡中的作用，初步探讨 Cathepsin L 在帕金森病发病中的机制。

**方法：**采用 6-OHDA 处理人神经母细胞瘤株 SH-SY5Y 细胞建立帕金森病(PD)细胞模型，处理组在 6-OHDA 给药前加入选择性 Cathepsin L 抑制剂 Z-FY-DMK（10μM），用乳酸脱氢酶（LDH）活性检测法及 Annexin V 和 PI 双染的方法观察 Z-FY-DMK 对 6-OHDA 诱导的 SH-SY5Y 细胞死亡的作用。免疫组化、Western blot 法观察 Cathepsin L 在 6-OHDA 诱导的 SH-SY5Y 细胞死亡中的分子机制。

**结果：**用 6-OHDA 处理后，免疫组化结果显示，Cathepsin L 从溶酶体异位到细胞质，Western Blot 结果显示，Cathepsin L 表达量明显增加。LDH 和 Annexin V、PI 双染结果显示，Z-FY-DMK 能减轻 6-OHDA 的细胞毒性，并且部分抑制 6-OHDA 所诱导的凋亡。Western Blot 结果表明，Z-FY-DMK 处理组全长 Bid 表达增加，且部分抑制了 6-OHDA 所诱导的 NF-kB 核转位，而 IkB-α的表达恢复到正常水平，凋亡相关蛋白 Bax、P53、PUMA 、Caspase-3 表达量减少及抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达上调。

**结论：**Cathepsin L 在 6-OHDA 诱导的 SH-SY5Y 细胞死亡过程中发挥重要作用。在 6-OHDA 的作用下，激活的 Cathepsin L 一方面从溶酶体释放到细胞质，降解 IKB-α，与 NF-κB 介导的神经元凋亡通路相关联，共同调控 SH-SY5Y 细胞死亡，另一方面，Cathepsin L 可能通过剪切 Bid 成为 tBid，最终激活内在凋亡通路。

**关键词：**帕金森病；SH-SY5Y 细胞；6-羟基多巴胺；Cathepsin L；凋亡

# NF-κB 对成年大鼠神经干细胞增殖和分化的影响及自噬在其中的作用

郝军荣[1.2] 秦正红[1.2]
（1. 苏州大学医学部药理学系 江苏苏州 2151232. 苏州市衰老与神经退行性疾病重点实验室 江苏苏州 215123）

**目的：**本文在 QA 损伤大鼠纹状体所导致的病理模型上，就 NF-κB 在大鼠脑内 NSCs 的增殖和分化中所起到的作用进行研究，并初步研究自噬在该过程中的作用。

**方法：**采用纹状体注射 QA(60 nmol)的方法建立脑损伤的病理模型，脑损伤后第六天在大鼠的损伤同侧侧脑室中注射 NF-κB 抑制剂 SN50(10 nmol/μl)或者生理盐水，并且每隔 8 小时在大鼠腹腔注射一次 BrdU(50 mg/kg)，第七天进行灌流固定。用 4%多聚甲醛后固定 6-9 小时后依次用 20%和 30%的蔗糖脱水过夜直至脑组织下沉至容器底部，然后在恒冷切片机上切片(20 μm)，贴在明胶处理过的载玻片上。我们分别用尼氏染色和免疫组织化学染色法检测模型的成败及 NSCs 的增殖情况；用免疫荧光双标的方法检测 NF-κB(p65)及其抑制剂 SN50 对 NSCs 的增殖与分化的影响；通过检测自噬蛋白(LC3)的表达情况来观察自噬在其中的作用。并从同样的动物模型中提取其纹状体组织，用 Western blot 法检测自噬相关蛋白的表达情况，来量化分析自噬在 NSCs 细胞中的表达。

**结果：**免疫组织化学 DAB 染色结果显示在 QA 损伤大鼠纹状体后第二天，侧脑室和纹状体中就有大量细胞的增殖。在此模型基础上行 NF-κB 抑制剂 SN50 侧脑室注射，免疫荧光染色结果显示：在 QA 损伤纹状体后侧脑室注射 SN50 处理组中同时表达 BrdU 和 Nestin 的细胞数量明显比 QA 损伤后侧脑室注射生理盐水(NS)组减少；在侧脑室注射 SN50 后，同时表达 NF-κB (p65) 和 BrdU 的细胞的数量与 NS 对照组相比明显减少，并且 SN50 组中 NF-κB (p65) 蛋白在细胞核内表达明显减少；通过比较 SN50 组与 NS 组中 BrdU 和 GFAP 双阳性细胞数与同组 BrdU 和 Nestin 双阳性细胞数的比值，发现 SN50 组的比值与 NS 对照组相比没有差别；通过比较两组 BrdU 和 β-Ⅲ-tublin 双阳性细胞数与同组 BrdU 和 Nestin 双阳性细胞数的比值发现 SN50 组的比值注射组大于 NS 对照组。并且在增殖的细胞中自噬相关蛋白 LC3 表达增强。

**结论：**抑制 NF-κB 信号传导通路可以抑制神经干细胞的增殖，但是有利于 NSCs 向神经元方向分化，在增殖的细胞中自噬被激活。

**关键词：**喹啉酸(quinolinic acid，QA)；NF-κB；增殖；分化；自噬

# 积雪草酸对帕金森样的损伤细胞和突变果蝇的神经保护作用

熊御云　徐敏芳　丁红群　高静
（江苏大学药学院　江苏镇江　212013）

**目的：**帕金森氏症（ Parkinson's Disease，PD）是一种慢性进行性的神经退变病，50 岁以上人群的发病率为 1-2%。α-synuclein（α-syn）是 Lewy 小体的主要组成成份，Lewy 小体与 PD 的发病有着重要的关系。细胞中α-syn 的过表达会导致线粒体中氧自由基的过量产生以及线粒体结构和功能的异常。越来越多的证据表明，线粒体缺陷、兴奋性氨基酸神经毒性和氧化应激等均参与了 PD 的发病机制。积雪草酸（asiatic acid，AA），是积雪草提取物中的五环三萜烯类组分，具有清除自由基、保护线粒体的作用，可以防治抑郁症，对于 PD 的防治作用研究尚未见报道。

**方法：**本研究首先利用过表达α-synuclein 的转基因 PD 果蝇，通过监测果蝇攀爬能力和寿命，检测 AA 抗 PD 的作用。然后采用 SH-SY5Y 细胞，用线粒体 complex I 抑制剂鱼藤酮诱导线粒体缺陷、用 H2O2 诱导细胞氧化损伤、谷氨酸（Glu）诱导兴奋性神经毒性，通过细胞活性检测（MTT 法）分析 AA 的神经保护作用；荧光染料 JC-1 测定线粒体膜电位

（Mitochondrial membrane potential，MMP）、RT－PCR 及 Western blot 分析线粒体外膜电压依赖性阴离子通道（voltage-dependent anion channel，VDAC）的表达，Glu 诱导的线粒体肿胀分析 AA 与线粒体的直接作用，探讨 AA 神经保护作用的线粒体机制。

**结果：**在体研究中，与对照组果蝇相比，PD 果蝇的攀爬能力随着年龄的增长明显降低。1 mg/100 g 培养基的 AA 处理组可使 PD 果蝇攀爬能力明显提高，在羽化后 24 天到 42 天改善最明显，同时 AA 能够显著延长 PD 果蝇的寿命。离体研究发现，预先给予或者后加 AA（0.01–100 nmol/L）均能够对抗鱼藤酮、H2O2 或者 Glu 介导的细胞损伤。其次，AA 能够对抗鱼藤酮诱导的 MMP 的降低、抑制鱼藤酮或者 H2O2 介导的 VDAC 表达量的上调。说明 AA 对线粒体具有保护作用。另外，分离制备线粒体的研究发现，AA 可以对抗 Glu 诱导的线粒体肿胀，说明 AA 可能直接作用在线粒体。

**结论：**AA 具有抗 PD 样损伤的作用，能够保护神经细胞对抗线粒体缺陷损伤、氧化应激损伤和兴奋性神经毒性损伤，其机制可能与清除自由基、调控线粒体外膜 VDAC 表达有关。同时提示了 AA 有可能研发成为一种预防或治疗 PD 的新型药物。

**关键词：**帕金森氏病，线粒体，积雪草酸，α-synuclein，SH-SY5Y 细胞，转基因果蝇

# 齐留通对星形胶质细胞缺氧缺糖损伤的保护作用

黄晓佳 李永金

（江苏大学基础医学与医学技术学院药理学系 江苏镇江 212013）

**目的：**探讨 5-脂氧酶抑制剂齐留通对星形胶质细胞缺氧缺糖损伤的作用。

**方法：**原代培养大鼠皮层星形胶质细胞以缺氧缺糖（oxygen glucose deprivation, OGD）处理，以噻唑蓝比色法和乳酸脱氢酶漏出检测法细胞活力和细胞死亡，采用 4',6-二脒基-2-苯基吲哚（DAPI）染色法检测细胞凋亡，免疫印迹法检测细胞凋亡相关蛋白 Bax 和 Bcl-2 的表达。观察不同浓度齐留通的作用，以及齐留通对细胞凋亡的影响。

**结果：**齐留通（1–5 μmol/L）明显抑制 OGD 诱导的星形胶质细胞凋亡，降低了 Bax/Bcl-2 表达的比例。

**结论：**齐留通对大鼠星形胶质细胞缺血性损伤具有保护作用，该作用与抑制细胞凋亡有关。

**关键词：**齐留通；星形胶质细胞；缺氧缺糖

# 铁离子对二氢青蒿素神经毒性的作用

黄晓佳 李永金

（江苏大学基础医学与医学技术学院药理学系 江苏镇江 212013）

**目的：**探讨二氢青蒿素对大鼠嗜铬细胞瘤 PC12 细胞生长的作用，以及铁离子对二氢青蒿素作用的影响。

**方法：**在体外培养的 PC12 细胞以二氢青蒿素处理 24、48、72 h，采用台盼蓝细胞计数

和噻唑蓝比色法观察细胞生长和细胞存活率，采用 2，7－二氯二氢荧光素乙酰乙酸氧化试验检测细胞内氧自由基的变化。加入硫酸亚铁和铁离子螯合剂—转铁铵预处理细胞，观察其对二氢青蒿素作用的影响。

**结果：**二氢青蒿素可剂量依赖性抑制 PC12 细胞的生长和增殖，同时可增高细胞内的氧自由基。硫酸亚铁和转铁铵可分别增加和降低二氢青蒿素对 PC12 细胞的抑制作用，也可促进和抑制二氢青蒿素诱导的 PC12 细胞内氧自由基的产生。

**结论：**二氢青蒿素能抑制 PC12 细胞的生长和增殖，其毒性作用与铁离子介导的细胞内氧自由基增高有关。

**关键词：**铁离子；二氢青蒿素；神经毒性

# 红景天苷对谷氨酸诱导神经元凋亡的抑制作用

陈 霞

（南通大学医学院药理学教研室 江苏南通 226001）

红景天苷是藏药红景天的主要有效成份，具有抗疲劳、耐缺氧和增强免疫力等作用。新近研究发现，红景天苷可加速氧自由基清除和抑制细胞内钙超载，对脑缺血/ 再灌流损伤大鼠大脑有一定的保护作用。但脑缺血损伤的病理机制非常复杂，涉及自由基损害、兴奋性氨基酸毒性、钙超载、炎症反应等诸多方面。因此红景天苷产生脑保护作用的机制还有待于进一步的研究。Glu 是哺乳动物脑内主要的兴奋性氨基酸，参与中枢神经系统的信息传递。但 Glu 过度释放可产生神经兴奋性毒性，引起神经细胞凋亡和坏死。观察红景天苷对 Glu 诱导海马神经元凋亡的影响，

**目的：**通过建立 Glu 诱导的神经元凋亡模型，观察红景天苷（Salidroside）对谷氨酸（glumatate，Glu）诱导海马神经元凋亡的影响，以阐明红景天苷的药理作用和其对脑组织损伤的保护作用。

**方法：**（1）将原代培养胚鼠海马神经元分成正常对照组和不同浓度 Glu 损伤组，通过镜下形态观察和 MTT 比色法检测细胞活力，摸索诱导 Glu 兴奋性毒性的适当浓度及时间，建立原代培养海马神经元谷氨酸诱导的神经元凋亡模型。（2）将原代培养胚鼠海马神经元分成五组：正常对照组、Glu 损伤组和不同浓度的红景天苷(10、20、40μg/ml)组。给药组加入相应浓度药物孵育 24h 后，与损伤组一起加入 125μMGlu 作用 15min 洗去，加入原培养基继续培养 24h。通过形态学分析、细胞活力的 MTT 检测、LDH 释放量的检测，观察红景天苷预处理对谷氨酸损伤后海马神经元形态和细胞活力的影响；通过 Hoechst 染色、TUNEL 标记和 Annexin V+PI 的流式定量分析，观察红景天苷预处理对 Glu 损伤的海马神经元凋亡的影响；；通过 western blotting 检测，观察红景天苷对 Glu 损伤海马神经元凋亡相关蛋白 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的影响；比色法检测 Caspase-3 活性，评价 Glu 损伤后不同时间细胞凋亡的程度及红景天苷对 Glu 诱导的 Caspase-3 活性的影响。

**结果：**不同浓度的红景天苷与海马神经元共培养 24h，海马神经元生长状态良好，随着红景天苷浓度的增加，神经元活力呈增加趋势，但与空白对照相比无明显统计学差异。细胞活力检测、Hoechst 染色、TUNEL 染色和 caspase-3 活性测定结果一致表明，Glu 诱导了神经元

凋亡，红景天苷预处理可抑制 Glu 诱导的神经元凋亡，呈现良好的量效关系。125μmol/LGlu 损伤 15min 不影响 Bcl-2 和 Bax 蛋白的表达，红景天苷预处理 24h 也不影响这两个蛋白的表达。

**结论：**红景天苷可明显拮抗 Glu 诱导的海马神经元凋亡，对 Glu 损伤海马神经元有保护作用。

**关键词：**红景天苷；谷氨酸；神经元凋亡

# 氯胺酮致小鼠类似精神分裂症症状及其机制研究

刘伟丽[1] 卞士中[1] 蒋小岗[2,3] 顾振纶[2,3]

（1. 苏州大学医学部法医学系 江苏苏州 215123 2. 苏州大学医学部药理学系 江苏苏州 215123 3. 苏州中药研究所 江苏苏州 215007）

**目的：**观察氯胺酮单次或连续给药后小鼠产生的类似精神分裂症症状，并对其可能机制进行探讨。

**方法：**昆明种小鼠随机分为生理盐水对照组、氯胺酮小剂量（25 mg/kg）、中剂量（50 mg/kg）、大剂量（100 mg/kg）组，生理盐水组予以生理盐水，不同剂量氯胺酮组腹腔注射给药，1 次/天，连续给药 7 天。观察小鼠的行为学变化；采用比色法测定血清及脑组织中超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)水平；HE 染色观察海马神经元形态学变化；逆转录－聚合酶链式反应（RT-PCR）检测海马中 NRG1 及 ErbB4 mRNA 的表达；免疫组织化学技术（SABC 法）检测 NOX4 及 ErbB4 的表达水平。

**结果：**（1）氯胺酮单次或连续给药可诱导小鼠产生活动增加、刻板行为、四肢无力和共济失调现象($P<0.05$)。（2）血清及脑组织生化指标测定表明，大剂量氯胺酮组可显著降低 SOD 活性（$P<0.01$），氯胺酮组 MDA 含量随给药剂量的增加而增大，但无显著性差异。（3）大剂量氯胺酮组可显著降低海马区 NRG1 及 ErbB4 mRNA 的表达（$P<0.05$）。（4）不同剂量氯胺酮组可显著增加 NOX4 蛋白的表达（$P<0.01$），降低 ErbB4 蛋白的表达，且均有一定的剂量依赖趋势($P<0.01$)。

**结论：**氯胺酮可诱导小鼠产生类似精神分裂症的症状，这可能与海马区 NRG1 及 ErbB4 的表达减少及氧化应激相关。

**关键词：**氯胺酮；精神分裂症；氧化应激；NRG1；ErbB4

# 氯胺酮致小鼠精神分裂症样症状及对 MAPK 信号通路影响的研究

张健[1] 卞士中[1] 蒋小岗[2,3] 顾振纶[2,3]

（1. 苏州大学医学部法医学系 江苏苏州 215123 2. 苏州大学医学部药理学系 江苏苏州 215123 3. 苏州中药研究所 江苏苏州 215007）

**目的：**建立氯胺酮致精神分裂症的小鼠模型，并探讨对 MAPK 信号通路的影响。

**方法：**取 50 只昆明种小鼠随机分为生理盐水对照组、氯胺酮大、中、小三个剂量组以

及氯氮平组，观察腹腔注射氯胺酮 7 天后行为学改变，而氯氮平组先腹腔注射氯胺酮 7 天，再灌胃氯氮平 7 天后观测；测定血清与脑组织中肌酸激酶（CK）、一氧化氮（NO）水平；RT–PCR 和免疫组织化学法检测对小鼠脑组织中 MAPK 信号通路相关蛋白表达的影响。

**结果：**（1）行为观察表明：氯胺酮组诱导了小鼠精神分裂症样的行为学反应，即小鼠的自主活动增多（P<0.01）、定型行为评分增高（P<0.01）、强迫游泳不动时间延长（P<0.01）、Y 迷宫学习正确次数减少（P<0.01,P<0.05）；氯氮平治疗组，其行为学改变有一定好转，与氯胺酮大剂量组相比，有显著性差异（P<0.01,P<0.05）。（2）生化指标检测结果：氯胺酮组的小鼠血清 CK 活性增加，以大剂量组增加显著（P<0.01）；NO 含量显著增加（P<0.01）。氯胺酮组的小鼠脑组织中 CK 活性增加（P<0.01,P<0.05）；而 NO 含量以氯胺酮大剂量组增加显著（P<0.01）。氯氮平治疗组并无好转，差异无统计学意义。（3）RT–PCR 结果：氯胺酮大剂量组明显下调了 ERK1/ERK2 信号通路的基因表达，MEK1、ERK2、C–JUN 表达明显降低（P<0.01,P<0.05）；在 ERK5 信号通路中，MEK5α 表达减少（P<0.05），而 MEF2C 的表达变化无显著性差异。（4）免疫组织化学结果也证实 ERK2 在蛋白水平上表达减少（P<0.05）。

**结论：**氯胺酮可诱导小鼠产生精神分裂症样症状，这些症状可能与血清和脑组织中 CK 活性、NO 含量增加有关，其机制可能与抑制小鼠脑组织中 ERK1/ERK2 信号通路中的基因表达有关。

**关键词：**氯胺酮；小鼠；精神分裂症；MAPK 信号通路

# CaMKIIδ 同工酶在 AngII 或 EFS 诱导的心肌细胞肥大中的作用

祁 峰 张 伟 朱卫忠

（南通大学医学院药理学室 江苏南通 226001）

**目的：**采用体外培养新生大鼠心肌细胞，以血管紧张素 II（Angiotensin II, Ang II）或电场刺激（electric field stimulation, EFS）引起细胞肥大为模型，观察钙-钙调素依赖性蛋白激酶 IIδB 或 C 同工酶（$Ca^{2+}$-calmodulin dependent kinase II δB,C, CaMKIIδB,δC）对心肌细胞肥大的影响及其基因调节作用，并探讨其可能的分子机制，旨在为 CaMK IIδ 成为临床上心肌肥大预防和治疗的重要靶向蛋白提供实验依据。

**方法：**实验分为两部分。第一部分：CaMKII 参与了 Ang II 或 EFS 诱导的心肌细胞肥大:药理学方法。体外培养 Sprague-Dawley 大鼠（1-3d）心肌细胞。分别以胎盼蓝法和免疫组化法鉴定心肌细胞成活率和百分率。心肌细胞培养 72 小时后，加入 CaMK II 抑制剂 KN93 和 AIP，及 KN93 的无活性类似物 KN92，一小时后加入 Ang II 和 EFS。实验分 12 组：（1）低血清对照组；（2）KN92（0.5μmol/l）组；（3）KN93（0.5μmol/l）组；（4）AIP（10 μmol/l）组；（5）Ang II(0.1 μmol/l)组；（6）Ang II(0.1 μmol/l)+ KN92（0.5μmol/l）组; (7) Ang II(0.1 μmol/l)+ KN93（0.5μmol/l）组; (8) Ang II(0.1 μmol/l)+ AIP（10 μmol/l）组; (9) EFS(10V 0.5Hz)组; (10)EFS(10V 0.5Hz)+ KN92（0.5μmol/l）组; (11) EFS(10V 0.5Hz)+ KN93（0.5μmol/l）组; (12) EFS(10V 0.5Hz)+ AIP（10 μmol/l）组。继续培养 48 小时后分别检测以下指标：①用图象分析软件测量心肌细胞的体积。②抗心肌细胞特异性 α-actinin 抗体免疫荧光染色，检测心肌细胞特异性结构肌节的含量。③BCA 法测量心肌细胞的蛋白含量。④Western blotting 法

检测心肌细胞中 PLB 蛋白的磷酸化。⑤RT-PCR 法检测肥大基因 ANPmRNA 和 β-MHCmRNA 的表达⑥实时荧光定量 PCR 法检测 CaMKIIδBmRNA 和 CaMKIIδCmRNA 的表达。第二部分：CaMKII 亚型参与了 Ang II 或 EFS 诱导的心肌细胞肥大：腺病毒转染的基因学方法。采用 293 细胞，扩增纯化五种腺病毒(GFP-adenovirus, 高表达 β-gal, 高表达 HA-CaMKIIδB, 高表达 HA-CaMKIIδC, 表达无活性 HA-CaMKIIδC)，并检测其浓度和对心肌细胞的感染率。体外培养 Sprague-Dawley 大鼠（1-3d）心肌细胞 72 小时后，加入病毒，24 小时后加入 Ang II 和 EFS。实验分 15 组：(1)低血清对照组；(2)高表达 β-gal 病毒组；(3)高表达 HA-CaMKIIδB 病毒组；(4) 高表达 HA-CaMKIIδC 病毒组 (5) 表达无活性 HA-CaMKIIδC 病毒组 (6) Ang II(0.1 μmol/l)组；(7) Ang II(0.1 μmol/l)+ 高表达 β-gal 病毒组; (8) Ang II(0.1 μmol/l)+ 高表达 HA-CaMKIIδB 病毒组; (9) Ang II(0.1 μmol/l)+ 高表达 HA-CaMKIIδC 病毒组; (10) Ang II(0.1 μmol/l)+ 表达无活性 HA-CaMKIIδC 病毒组; (11) EFS(10V 0.5Hz)组; (12)EFS(10V 0.5Hz)+ 高表达 β-gal 病毒组; (13) EFS(10V 0.5Hz)+ 高表达 HA-CaMKIIδB 病毒组; (14) EFS(10V 0.5Hz)+ 高表达 HA-CaMKIIδC 病毒组; (15) EFS(10V 0.5Hz)+ 表达无活性 HA-CaMKIIδC 病毒组。继续培养 24 小时后分别检测以下指标：①通过抗 HA 免疫荧光染色，观察 CaMKII δB 和 δC 在心肌细胞内的表达分布。②Western blotting 法检测感染心肌细胞中 HA-CaMKII δB 、HA-CaMKIIδC 及无活性 HA-CaMKIIδC 的表达情况。③用图象分析软件测量心肌细胞的体积。④抗心肌细胞特异性 α-actinin 抗体免疫荧光染色，检测心肌细胞特异性结构肌节的含量。⑤BCA 法测量心肌细胞的蛋白含量。⑥Western blotting 法检测心肌细胞中 PLB 蛋白的磷酸化。⑦RT-PCR 法检测肥大基因 ANPmRNA 和 β-MHCmRNA 的表达。

**结果：**1. Ang II 或 EFS 能够显著性引起心肌细胞的体积、特异性结构肌节含量、蛋白含量的增加（P<0.05），而这种作用可以显著性被 CaMK II 抑制剂 KN93 和 AIP 抑制（P<0.05）；2. Ang II 或 EFS 能够显著性增加心肌细胞内 CaMK II 的激活，这可以通过 PLB 蛋白磷酸化增加（P<0.05）来反映，而这种作用可以显著性被 CaMK II 抑制剂 KN93 和 AIP 抑制（P<0.05）；3. Ang II 或 EFS 能够显著性引起新生鼠心肌细胞内标志性肥大基因 ANPmRNA 和 β-MHCmRNA 的表达增加（P<0.05），而这种作用可以显著性被 CaMK II 抑制剂 KN93 和 AIP 抑制（P<0.05）；4. Ang II 或 EFS 能够显著性引起心肌细胞内 CaMKIIδBmRNA 和 CaMKIIδCmRNA 的表达增加（P<0.05），这种作用可以显著性被 CaMK II 抑制剂 KN93 和 AIP 抑制（P<0.05）；5.病毒扩增纯化成功，可以较好地感染心肌细胞，免疫荧光观察 CaMKIIδB 在心肌细胞核内分布，而 CaMKIIδC 在心肌细胞膜和细胞浆表达；6.高表达 CaMKIIδB 或 CaMKIIδC 可以显著性引起引起心肌细胞的体积、特异性结构肌节含量、蛋白含量及 ANPmRNA 和 β-MHCmRNA 的表达的增加（P<0.05），而 Ang II 或 EFS 可以进一步加强这种作用（P<0.01）；7.表达无活性 CaMKIIδC 可以显著性抑制 Ang II 或 EFS 引起的心肌细胞体积、特异性结构肌节含量、蛋白含量以及 ANPmRNA 和 β-MHCmRNA 表达的增加（P<0.05）；8. 高表达 CaMKIIδC 能够显著性引起心肌细胞内 PLB 蛋白磷酸化增加（P<0.05），而 Ang II 或 EFS 可以进一步加强这种作用（P<0.01），而高表达 CaMKIIδB 无此作用。同样地，表达无活性 CaMKIIδC 可以显著地抑制 Ang II 或 EFS 引起的新生鼠心肌细胞内 PLB 蛋白磷酸化增加（P<0.05）。

**结论：**CaMKIIδ 同工酶 CaMKIIδB,δC 在 Ang II 或 EFS 引起新生鼠心肌细胞肥大反应中都起着及其重要的作用，因此，它们很可能是心肌细胞肥大反应中的关键酶。

**关键词：**钙-钙调素依赖性蛋白激酶 IIδ，同工酶，心肌肥大，电场刺激，血管紧张素 II

# CaMKⅡδ同工酶对心肌纤维化的作用与分子机制研究

陈东芹 张 伟 朱卫忠
（南通大学医学院药理学室 江苏南通 226001）

**目的：**观察钙-钙调素依赖性蛋白激酶（CaMK）Ⅱδ 同工酶在大鼠心肌成纤维细胞增殖中的作用及对胶原合成的影响；观察电场刺激（electric field stimulation，EFS）和 G 蛋白偶联受体激活时心肌成纤维细胞增殖的变化；以探讨钙-钙调素依赖性蛋白激酶（CaMK）在心肌纤维化（MF）中的作用及其分子机制。

**方法：**采用培养新生 1-3 天乳鼠心肌成纤维细胞（3 代），随机分组（每组 6 孔）分别以 EFS,G 蛋白偶联受体（Angiotensin II, Ang II）刺激为手段，刺激心肌成纤维细胞增殖，同时以 CaMKⅡ抑制剂（KN93，AIP）抑制心肌成纤维细胞增殖；细胞记数法及 MTT 法分别测定心肌成纤维细胞增殖，同时测定细胞上清中 TGFβ1 和 TNF-a 含量；采用 Western blot 法检测大鼠心肌成纤维细胞 MMp-2、MMp-9 的表达；用 RT-PCR 法检测大鼠心肌成纤维细胞 MMp-2mRNA、MMp-9mRNA、CaMKⅡδB,C mRNA 、collagenⅠ, Ⅲ mRNA 、MMP-1mRNA 水平。

**结果：**1. $10^{-7}$mol/l AngⅡ和 10V1.0Hz EFS 均能促进心肌成纤维细胞增殖，且两者有协同作用，CaMKⅡ抑制剂（0.5uM KN93，0.5uM AIP）能抑制心肌成纤维细胞增殖；2. AngⅡ$10^{-7}$ mol/l—$0^{-5}$ mol/l 剂量均可促进心肌成纤维细胞增殖并呈剂量依赖，而 $10^{-8}$ mol/l AngⅡ对心肌成纤维细胞增殖差别无统计学意义，3. 从 10V1.0Hz 到 40V1.0Hz 不同电压 EFS 都能促进心肌成纤维细胞增殖并呈电压依赖；4. $10^{-7}$mol/l AngⅡ和 10V1.0Hz ES 都能促进心肌成纤维细胞分泌 TGFβ1 和 TNF-a，CaMKⅡ抑制剂（0.5uM KN93，0.5uM AIP）能抑制其作用；5. $10^{-7}$mol/l AngⅡ和 10V1.0Hz EFS 都能增加 CaMKⅡδB,C mRNA 的表达，KN93 和 AIP 能抑制其作用；6. $10^{-7}$mol/l AngⅡ和 10V1.0Hz ES 能增加 collagenⅠ, Ⅲ mRNA 的表达，（KN93，AIP）能抑制其作用；7. $10^{-7}$mol/l AngⅡ和 10V1.0Hz ES 都能增加 MMP-1、MMp-2、MMp-9 mRNA ，MMp-2、MMp-9、的表达，（KN93，AIP）能抑制其作用。

**结论：**电场刺激，G 蛋白偶联受体(AngⅡ)促进心肌纤维化，其机制可能与 CaMKⅡδB,C 过度表达而引起的细胞因子（TGFβ1 和 TNF-a）的量变化以及细胞外基质（MMp-1、2、9 ，collagenⅠ、Ⅲ）的表达有关。

**关键词：**心肌成纤维细胞；心肌纤维化；电场刺激; 钙-钙调素依赖性蛋白激酶Ⅱ；MMP-1；MMP-2；MMP-9；collagenⅠ；collagenⅢ

# 厄贝沙坦联合螺内酯逆转肾性高血压大鼠血管重塑

吴 锋 赵 喜 孟国梁 乔 进 薛 华 陈 扬 徐济良
（南通大学医学院药理学教研室 江苏南通 226001）

**目的：**比较厄贝沙坦、螺内酯单用及联合应用对肾性高血压大鼠（renal hypertensive rat, RHR）大、小血管重塑的疗效，体现两者合用的优势，并探讨血管紧张素Ⅱ受体拮抗剂和醛

固酮受体拮抗剂合用治疗 RHR 血管重塑的分子机制。

**方法：**采用 2K1C 改良造模法制备 RHR 模型，9 周后随机分为高血压对照组、厄贝沙坦对照组（厄贝沙坦：50mg.kg$^{-1}$.d$^{-1}$）、螺内酯对照组（螺内酯：20mg.kg$^{-1}$.d$^{-1}$）、联合治疗组（厄贝沙坦 50mg.kg$^{-1}$.d$^{-1}$、螺内酯 20mg.kg$^{-1}$.d$^{-1}$），同时设置假手术对照组，每两周测定尾动脉收缩压。治疗 8 周后，大鼠处死取血清测定Ⅰ型前胶原羧基端肽、Ⅲ型前胶原氨基端肽水平；准确称量胸主动脉湿重；分别测量胸主动脉、3 级肠系膜动脉中膜厚度、壁/腔比值和中膜面积；饱和苦味酸-天狼猩红染色测量动脉中膜胶原纤维面积百分比；免疫组化法测定胸主动脉、3 级肠系膜动脉中Ⅰ型胶原、纤维连接蛋白（fibronectin，FN）、CTGF、P-p38MAPK 蛋白的表达；蛋白印迹法测定胸主动脉中 CTGF、p38MAPK、P-p38MAPK 蛋白的表达情况。

**结果：**①单用厄贝沙坦可以有效降低 RHR 动脉血压、加用螺内酯对血压没有影响。②厄贝沙坦、螺内酯单用可以降低血管湿重，血管中膜厚度、壁/腔比值和中膜面积，联合用药产生协同作用，更有效改善血管重塑。③厄贝沙坦、螺内酯单用可以降低血清Ⅰ型前胶原羧基端肽、Ⅲ型前胶原氨基端肽浓度，降低动脉中膜胶原纤维面积百分比，Ⅰ型胶原、FN 表达，抑制血管纤维化，两药合用有协同效应。④厄贝沙坦、螺内酯单用均可下调血管 CTGF、P-p38MAPK 蛋白表达，联合使用具有协同作用。

**结论：**厄贝沙坦和螺内酯均可减少血管细胞外基质（extracellular matrix, ECM）沉积，改善 VR，联合应用具有协同效应；其机制可能和两者均可下调 P-p38MAPK、CTGF 蛋白表达，协同阻断血管纤维化信号转导通道有关。

**关键词：**厄贝沙坦；螺内酯；肾性高血压；大鼠；血管重塑

# 螺内酯与厄贝沙坦对肾血管性高血压大鼠心肌重构及 SGK1 表达的影响

赵 喜 吴 锋 孟国梁 薛 华 乔 进 罗 佳 徐济良

（南通大学医学院药理学教研室 江苏南通 226001）

**目的：**比较螺内酯、厄贝沙坦单用及联合应用对肾血管性高血压大鼠（renovascular hypertensive rat, RHR）心肌重构的疗效，观察心肌组织 AT1R、ACE、SGK1 及 CTGF 蛋白表达的变化，探讨螺内酯及厄贝沙坦抗高血压心肌重构的深入机制。

**方法：**采用两肾一夹（2K1C）法在 SD 大鼠中建立肾血管性高血压大鼠模型。随机分为假手术组（Sham 组）、肾血管性高血压模型组（RHR 组）、螺内酯治疗组（Spi 组 20mg.kg-1.d-1）、厄贝沙坦治疗组（Irb 组 50mg.kg-1.d-1）及联合治疗组（Com 组 20mg.kg-1.d-1+50mg.kg-1.d-1），治疗组灌胃给予相应药物，每两周测定尾动脉收缩压。治疗 8w 后经颈动脉插管测定血流动力学参数；检测心脏指数、心肌细胞大小、心室总蛋白含量等心肌肥厚指标；测定心室组织羟脯氨酸含量，限制性胃蛋白酶降解法评估心肌胶原交联程度，饱和苦味酸-天狼猩红染色下比较各组心肌胶原容积分数及心肌内血管周围胶原面积大小，评价心肌组织的纤维化程度；免疫组织化学法测定心肌组织中 I 型、III 型胶原、SGK1 和 CTGF 蛋白水平变化；蛋白印迹法检测心肌中 SGK1、CTGF、AT1R 和 ACE 蛋白的表达。

**结果：**1.RHR 组大鼠血压显著升高；Irb 和 Com 组血压较 RHR 组明显下降，但 Spi 组与

RHR 组相比无统计学差异。

2.与 Sham 组相比，RHR 组心脏指数、心肌细胞大小、心室总蛋白含量、心肌羟脯氨酸含量、心肌间质和血管周围胶原面积以及胶原交联程度明显增加；各治疗组均能使上述指标降低，联合用药明显优于单用，进而改善心肌肥厚和纤维化。

3.与 Sham 组相比，RHR 组心肌 AT1R 和 ACE 表达明显升高；Spi 和 Com 组 AT1R 和 ACE 表达均明显下降，而厄贝沙坦只能下调 ACE 的表达，不影响 AT1R 的表达。

4. RHR 组心肌组织 I 型、III 型胶原、SGK1 和 CTGF 表达明显高于 Sham 组，各治疗组均能降低上述指标的表达，且联合应用明显优于单用。

**结论**：螺内酯与厄贝沙坦单用均可减轻 RHR 心肌肥厚和心肌纤维化，改善心功能，联合应用明显优于单用，可能与调节 RHR 循环和心肌局部 AngⅡ、醛固酮水平，影响心肌 I 型、III 型胶原、SGK1 和 CTGF 的表达有关。

**关键词**：螺内酯；厄贝沙坦；肾血管性高血压；大鼠；心肌重构

# 阿司匹林抑制兔动脉粥样斑块破裂及其机制研究

薛洁[1,2] 谢梅林[1,2] 顾振纶[1,2] 吴开云[3]

（1.苏州大学医学部药理学系 江苏苏州 215123 2. 苏州中药研究所 江苏苏州 215007
3. 苏州大学医学部人体解剖学与组织胚胎学系 江苏苏州 215123）

**目的**：从体内外分别研究阿司匹林增加动脉粥样斑块稳定性作用及其可能的分子机制，并观察其发挥作用的最佳剂量。

**方法**：体内实验采用雄性新西兰兔高脂饮食加腹主动脉内膜剥脱术制成高脂性动脉粥样硬化模型，然后分别给予阿司匹林 5-20mg/kg 治疗 4 周，实验末诱发斑块破裂，运用图像分析方法观察阿司匹林对粥样斑块破裂处血栓形成面积的影响；利用光镜观察破裂斑块的形态学特征；用比浊法检测血小板聚集性；用免疫组化方法测定巨噬细胞的蛋白表达；原位杂交方法分别测定 COX-2mRNA 和 MMP-2mRNA 表达。

体外实验采用人单核细胞 THP-1 细胞株，用 RPMI1640 培养基适应性培养后，利用佛波酯促使其分化为巨噬细胞后，分别用含阿司匹林 12.5-200μg/ml 的培养基孵育 24h，用 ELISA 法分别测定细胞培养上清液中 MMP-2、MMP-9、PGE2 和 PGD2 含量；用 RT-PCR 法分别检测细胞中 MMP-2、MMP-9、PPARα、PPARγ、COX-1、COX-2、mPGES-1 和 L-PGDS mRNA 表达；用 Western blot 法分别测定 PPARα、PPARγ、NF-κB、mPGES-1 和 L-PGDS 蛋白表达。

**结果**：(1) 阿司匹林 5mg/kg 和 10mg/kg 组可以抑制粥样斑块破裂处血栓的形成，且 5mg/kg 组的作用更明显。

(2) 阿司匹林可以抑制斑块中泡沫细胞的形成和聚集，使纤维帽尤其是肩部区的结构保持得较为完整。

(3)阿司匹林 5mg/kg 和 10mg/kg 组对 ADP 或 AA 诱导的血小板聚集均有较好的抑制作用，当剂量增加至 20mg/kg 时，阿司匹林对血小板的聚集抑制作用反而减弱。

(4) 阿司匹林 5mg/kg 和 10mg/kg 组可明显减少斑块内巨噬细胞数目；阿司匹林也能降低

斑块中 COX-2mRNA 的表达，且随着剂量的增加作用增强，在 10-20 mg/kg 组的作用较为明显；还能明显降低粥样斑块中 MMP-2 mRNA 表达，但以阿司匹林 5 mg/kg 组的作用较好。

(5)阿司匹林可抑制 THP-1 源性巨噬细胞分泌 MMP-2 和 MMP-9，并且降低 MMP-2 和 MMP-9 mRNA 表达。

(6)阿司匹林可以通过增加 PPARα和 PPARγ mRNA 和蛋白表达，来抑制 NF-κB 的蛋白表达。预先给予 PPARα或/和 PPARγ拮抗剂后能减弱阿司匹林抑制巨噬细胞源性 MMP-9mRNA 表达和释放作用，相反 PPARα和 PPARγ激动剂能抑制 MMP-9 的表达和释放。

(7) 阿司匹林还可以通过抑制 COX-1 和 COX-2 mRNA 表达，抑制 mPGES-1 mRNA 和蛋白表达，从而抑制 PGE2 的释放而减少 PGE2 依赖性的 MMPs 表达。同时阿司匹林亦能增加 L-PGDSmRNA 和蛋白表达，从而增加 PGD2 释放，PGD2 的代谢产物 15d-PGJ2，能抑制 MMP-9 的表达和释放。

(8) 上述这些体外实验结果均以阿司匹林 50μg/ml 的浓度较好。

**结论：**阿司匹林具有稳定动脉粥样斑块作用，其机制可能与减少斑块区巨噬细胞数量，以及降低粥样斑块中 MMPs 表达有关，尤其是阿司匹林可能通过增加巨噬细胞 PPARα/γ表达后抑制 NF-κB，从而抑制 MMPs 的产生和分泌；阿司匹林也可以通过抑制 COXs-mPGES-1/PGE2 途径，减少 PGE2 生成而减少 MMP-2 和 9 的表达和释放，从而稳定粥样斑块。这些体外作用的最佳浓度为 50μg/ml，可能与阿司匹林对 mPGES-1/L-PGDS 比值的影响有关。

**关键词：**阿司匹林；斑块稳定性；巨噬细胞；基质金属蛋白酶；过氧化物酶体增殖物激活受体；核因子-κB；前列腺素 E 合酶；前列腺素 D 合酶；前列腺素 E2；前列腺素 D2

# 自噬/cathepsins 激活机制在姜黄素抗内皮细胞缺血再灌注损伤中的作用

华文敏[1,2] 梁中琴[1,2]

（1. 苏州大学医学部药理学系 江苏苏州 215123 2. 苏州市衰老与神经退行性疾病重点实验室 江苏苏州 215123）

**目的：**研究自噬/cathepsins 激活机制在姜黄素（curcumin, Cur）抗人脐静脉内皮细胞（HUVEC）在缺血再灌注(ischemia /reperfusion ,I/R)过程中的作用。

**方法：**建立缺氧复氧(hypoxia/reoxygenation，H/R)损伤模型，用 MTT 法观察不同的缺氧和复氧时间对 HUVEC 的损伤作用以及 Cur 对 HUVEC 在 H/R 模型中的保护作用；应用免疫荧光和 Western Blot 法观察 Cur 预给药后 H/R 对 HUVEC 的微管相关蛋白 LC3、溶酶体酶 cathepsin B、cathepsin L、促凋亡蛋白 Bax、抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达的影响。Western Blot 法检测在 H/R 过程加入自噬特异性抑制剂 3-MA 后 Bax、Bcl-2 的表达。

**结果：**单纯缺氧后 LC3、Beclin 1、cathepsin B、Bax/Bcl-2 表达增强，cathepsin L 被激活并发生核转位，H/R 后 LC3、Beclin 1、cathepsin B、Bax/Bcl-2 表达进一步增强，cathepsin L 核转位现象更为明显，给与 3-MA 后，HUVEC 单纯缺氧和 H/R 诱导表达的 Bax/Bcl-2 比值升高；Cur（1.25～5μmol·L-1）可剂量依赖性的保护 H/R 的 HUVEC；Cur 预处理后在增

强 LC3 表达的同时，明显抑制 cathepsin B 和 Bax/Bcl-2 的表达、并抑制 cathepsin L 的核转位。

**结论：**缺氧诱导发生自噬，复氧后自噬表达进一步增强，用 3-MA 抑制自噬后，Bax/Bcl-2 表达升高，说明自噬在单纯缺氧阶段和复氧阶段都是起保护作用的，H/R 后 cathepsin B、L 表达上调，启动凋亡程序。Cur 能有效提高 HUVEC 在 H/R 损伤中的存活率，并通过诱导其自噬活性、下调 cathepsin B、L 来抑制 Bax/Bcl-2 的表达保护内皮细胞。

**关键词：**姜黄素；HUVEC；缺氧复氧；自噬；溶酶体

# 自噬和内质网应激在大鼠脑缺血预适应中的作用和药物干预

张立沙[1,2] 秦正红[1,2]

（1. 苏州大学医学部药理学系 江苏苏州 215123 2. 苏州市衰老与神经退行性疾病重点实验室 江苏苏州 215123）

**目的：**观察大鼠脑缺血预适应中自噬的激活，探讨自噬激活在脑缺血预适应诱导的神经保护中的作用，以及脑缺血预适应模型中自噬与内质网应激、热休克蛋白 HSP70 之间的内在联系，探索自噬诱导剂能否模拟缺血预适应的生物效应用于防治缺血性脑中风引起的神经损伤。

**方法：**本实验中采用两次插入线栓的方法制备局灶性脑缺血预适应模型；首次预缺血（IPC）时间为 10 min，预缺血 10 min 后拔出线栓实现再灌，24 h 后行再次插入线栓永久性阻塞大脑中动脉（PFI），自噬抑制剂 3-methyladenin (3-MA)、自噬激活剂 rapamycin(雷帕霉素)侧脑室注射给药，通过神经症状评分、脑梗塞体积、脑含水量测定以及脑组织形态学检测脑损伤程度。用电镜观察大鼠脑缺血预适应模型中自噬激活和内质网应激情况，采用 Western blot 法检测大鼠脑缺血预适应模型中自噬相关蛋白、内质网应激相关蛋白及热休克蛋白 HSP70 的表达。

**结果：**电镜观察显示，IPC 6 h 和 24 h 皮层神经元胞浆内均有双层膜结构的自噬小体出现和内质网应激表现。PFI 组 6 h 神经元内也有自噬小体和内质网应激表现，而在 PFI 组 24 h，神经元出现为凋亡或坏死的形态特征。IPC+PFI 组与 PFI 组相比较，神经元核膜比较完整，细胞器结构相对正常，在 6 h 和 24 h 胞浆内均出现自噬小体，内质网腔扩张，腔内出现灰白色聚集物。IPC + PFI 可显著改善大鼠的神经行为学障碍，减小脑梗塞体积，减轻脑水肿(与 PFI 相比，$P<0.01$)，提示缺血预适应可诱导神经保护作用。但 3-MA(200 和 400 nmol)，则显著加重缺血大鼠的行为学障碍，使脑梗塞体积增大，脑水肿严重(与溶剂 + IPC + PFI 组相比，$P<0.01$)，提示自噬抑制剂取消了缺血预适应诱导的神经保护作用。Western blot 结果显示，缺血后 6 h， IPC，PFI，IPC + PFI 以及溶剂 + IPC + PFI 组，LC3 和 Beclin 1 的表达均上调(与假手术组相比，$P<0.01$)，各组间无显著差异，但缺血 24 h，仅 IPC，IPC + PFI 组 LC3、Beclin 1 表达上调(与假手术组相比，$P<0.01$)，且 IPC + PFI 组较 PFI LC3、Beclin 1 上调组更为显著($P<0.01$)；3-MA 不论在 6 h 还是 24 h 都明显抑制 LC3、Beclin 1 的表达(与溶剂 + IPC + PFI 组相比，$P<0.01$)。缺血 24 h，IPC，PFI 组 HSP70 均显著上调(与假手术组相比，$P<0.01$)，IPC + PFI 以及溶剂 + IPC + PFI 组 HSP70 表达则更加增强(与 PFI 组相比，$P<0.01$)，但 3-MA 则明显抑制 HSP70 的表达(与溶剂 + IPC + PFI 组相比，$P<0.01$)。缺血后 24 h，caspase-12 在 PFI 组表达显著升高(与假手术组相比，$P<0.01$)，但 IPC + PFI 组 caspase-12 表达下降(与 PFI 组相比，$P<0.01$)，3-MA 则增加 caspase-12 的表达(与溶剂 + IPC + PFI 组相比，$P<0.01$)。提示 3-MA

阻断缺血预适应的神经保护作用与抑制自噬有关。自噬诱导剂雷帕霉素(8、16 和 32 ng)在 PFI 24 h 前给药，与单纯缺血组相比较，能显著改善大鼠的神经行为学障碍，减小脑梗塞的面积，减轻脑水肿(与 PFI 组相比，P<0.01)，提示预先激活自噬能产生对缺血的耐受。

**结论：**1. 脑缺血预适应能诱导自噬激活和内质网应激。 2. 自噬抑制剂 3-MA 能阻断脑缺血预适应诱导的神经保护作用，可能是通过抑制 LC3、Beclin 1 的表达，即通过抑制自噬－溶酶体途径实现的。3. 缺血预适应能诱导适宜的 ER 应激，上调 HSP70，下调 caspase-12 的表达，减轻致死性缺血时过度 ER 应激引起的细胞死亡。4. 自噬诱导剂雷帕霉素在永久性脑缺血前预防给药能减小脑缺血面积，减轻脑水肿，对脑损伤有一定的保护作用。

**关键词：**缺血预适应；自噬；内质网应激；神经保护；3-MA；LC3；Beclin1；caspase-12；HSP70；雷帕霉素

# 苦参碱抗大鼠局灶性缺血性脑损伤的作用及其保护星形胶质细胞的机制

赵晓媛[1] 张慧灵[1,2] 秦正红[1,2] 顾振纶[2]

(1. 苏州大学医学部药理学系 江苏苏州 215123 2. 苏州中药研究所 江苏苏州 215007)

**目的：**研究苦参碱(Matrine)抗大鼠局灶性脑缺血的作用及其保护星形胶质细胞的机制。

**方法：**采用线栓法建立大鼠永久性大脑中动脉阻塞（permanent middle cerebral artery occlusion , pMCAO）模型。大鼠脑缺血后 10 min 静脉注射 Matrine，以脑梗塞体积、脑水肿及行为学症状等指标评价 Matrine 对脑缺血的神经保护作用。应用相对脑血流（relative cerebral blood flow，rCBF）检测观察 Matrine 对 pMCAO 大鼠局部脑血流的影响。采用原代培养的新生大鼠皮层星形胶质细胞缺氧缺糖(oxygen-glucose deprivation，OGD)方法，建立脑缺血的细胞模型。免疫荧光法分析 NF-κB 的核转位及 GFAP 的表达。Real-Time PCR 测定 OGD 诱导的星形胶质细胞 p53 mRNA 的表达。LDH 法检测 OGD 诱导的星形胶质细胞乳酸脱氢酶漏出率。

**结果：**Matrine (12.5-50 mg/kg)可剂量依赖性地改善 pMCAO 大鼠行为障碍，减小脑梗死体积和减轻脑水肿 (P< 0.05, P< 0.01)。Matrine50 mg/kg 对 pMCAO 大鼠 rCBF 无明显影响。Matrine (25-50 mg/kg)组大鼠大脑皮层缺血区 GFAP 阳性细胞明显多于模型组(P< 0.01)。OGD 6h 后，星形胶质细胞数明显减少，Matrine (50-200 μM)显著增加星形胶质细胞数(P< 0.05, P< 0.01)。LDH 结果显示，OGD 1h 后星形胶质细胞 LDH 的漏出率明显增加，以后逐渐增加，12h 达高峰（P<0.05，P<0.01）；Matrine (50-200 μM)能剂量依赖性地降低星形胶质细胞 OGD6h 后 LDH 的漏出率（P<0.01）。免疫荧光结果表明： OGD 3h NF-κB 的核转位显著增加，6-12h 达高峰（P<0.01）;Matrine 可显著抑制 OGD 6h 诱导的 NF-κB 核转位(P< 0.05, P< 0.01)。Real-Time PCR 结果显示：与 NF-κB 核转位的高峰时间相一致，OGD 6h 明显诱导星形胶质细胞 NF-κB 的靶基因 p53 mRNA 表达（P<0.01），Matrine 可显著下调 p53 mRNA 的表达(P< 0.05, P< 0.01)。

**结论：**本文首次证实 Matrine 对缺血性脑损伤具有保护作用；Matrine 的神经保护作用可能与抑制星形胶质细胞 NF-κB 激活及其促凋亡靶基因 p53 mRNA 的表达，从而保护星形胶质细胞有关。

**关键词：**苦参碱；脑缺血；神经保护；星形胶质细胞；细胞凋亡；NF-κB；p53

# SMAD 蛋白在心脏中的效应（综述）

孟国梁 徐济良
（南通大学医学院药理学教研室 江苏南通 226001）

Smad 蛋白家族是将 TGF-β超家族成员与其受体结合后产生的信号从胞质传至细胞核内的中介分子，是迄今为止唯一已被证明的受 TGF-β受体作用的底物。目前有研究发现，在心肌梗塞、心肌纤维化或某他类型的心肌病中，Smad 蛋白表达增高；但亦有发现，Smad 对心肌细胞有杀伤效应，进而能够调节心肌细胞肥大及血管增生。

（一）Smad 与心肌纤维化 有研究发现，心肌梗塞后，在 TGF-β、activin 等水平升高的同时，存在着 Smad2、Smad3 以及 Smad4 的活化；利用 TGF-β的 II 型受体的胞外域转染细胞后发现，TGF-β活性则受到抑制，且这种抑制的程度与心肌肥厚及间质纤维化的下降呈正相关，最终未发展为左室肥厚与心力衰竭。另外，运用血管紧张素受体 I 拮抗剂洛沙坦阻断肾素-血管紧张素通路后，再灌注心脏中 TGF-β及 Smad 活性与心肌纤维化程度均明显下降；如果过表达抑制性蛋白 Smad7，胶原的合成明显降低。以上证据均表明，胶原的合成是通过 Smad 信号介导的，TGF-β/Smad 信号通路的转导可能与心肌纤维化的发生及严重程度有关，最终影响心肌组织的僵硬度以及心脏功能。

（二）Smad 与心肌细胞凋亡 Smad 信号尚能诱导心肌细胞的凋亡，从而加重 TGF-β对心脏的损伤作用。此凋亡过程，是由兴奋 Bcl 家族中促凋亡因子及抑制抗凋亡因子所介导的，且与死亡相关蛋白（Death-associating protein, DAP）激酶有关。若抑制 DAP 激酶的活性，则 TGF-β/Smad 介导的心肌细胞凋亡现象明显减少。

（三）Smad 与心肌细胞肥大 大量证据表明，TGF-β/Smad 水平增高对心脏功能存在着损害作用。在编码 A 型核纤层蛋白 LMNA 基因突变的小鼠扩张性心肌病模型中，病变进展与细胞核内 Smad2 和 Smad3 的异常积聚程度相一致；在患有遗传性心肌病的仓鼠中，Smad2 和 Smad4 的水平异常增高；在纯合型 REN2 大鼠中，AngII 诱导的左室肥厚依赖于 Smad2 的活化，进而发展为心力衰竭。以上均提示，心脏中 TGF-β及 Smad2/3-Smad4 复合物的表达，与心室功能的恶化程度呈正相关。

（四）Smad 与心脏发育 与 TGFβ/activin 对心脏的损害效应相反，BMP 亚家族在心脏发育过程中发挥着重要作用。Monzen K 等在胚胎细胞中加入 BMP 后发现，细胞会经由 Smad1/4 信号转导诱导分化成为心肌细胞；Galvin KM 等证实，过表达 BMP/Smad 信号特异性抑制蛋白 Smad6，会妨碍心肌细胞分化。

Smad 作为 TGF-β超家族信号转导的重要中介分子，在心血管疾病中的表达、活化已受到越来越广泛的重视。但是，Smad 活化后产生的效应不尽相同：若 Smad 被 BMP 活化，则调节心脏的发育过程；若被 TGF-β活化，则产生纤维化、细胞凋亡，调节心肌肥厚等效应，进而加重心肌重构，加速心力衰竭的进展，最终表现为对心脏的损害效应。这些效应的差异可能主要与 Smad 亚型、Smad 与转录因子的相互作用、激酶对 Smad 活性的调节有关。

**关键词：**SMAD 蛋白；心脏；心肌细胞

# 联苯双酯偶联的一氧化氮供体化合物抗肝纤维化活性研究

戴 丽 季 晖
（中国药科大学药理学教研室 江苏南京 210009）

**目的：**研究联苯双酯偶联的一氧化氮供体化合物抗肝纤维化活性。

**方法：**①应用 MTT 法和鼠肝星状细胞株（HSC-T6），对使用氨基酸将联苯双酯与各类 N-氧化物偶联合成的 55 个系列化合物，进行体外细胞毒性初筛和评估。②在体外检测目标化合物 $ZK_{14}$ 诱导 HSC-T6 细胞株的凋亡作用，并探讨其可能的凋亡机制。③通过腹腔注射 14%四氯化碳和 350mg/L 苯巴比妥钠常规饮水 6 周，建立肝纤维化大鼠模型。将造模成功的大鼠随机分成 4 组：即模型对照组、$ZK_{14}$ 高剂量组（20mg/kg）、$ZK_{14}$ 低剂量组（10mg/kg）、联苯双酯对照组（5mg/kg），连续灌胃给药 4 周，检测大鼠血液中一氧化氮含量、肝组织中一氧化氮合酶活性、肝功能生化指标、肝纤维化生化指标及肝脏病理组织学变化，评价 $ZK_{14}$ 的抗肝纤维化作用。

**结果：**①体外初筛试验结果表明，化合物 $ZK_{14}$ 体外抑制细胞增殖的作用最强。②100 μM $ZK_{14}$ 作用于 HSC-T6 细胞 18h 后，细胞凋亡率在 50%以上；在诱导 HSC-T6 细胞凋亡时，呋咱氮氧化物单体和联苯双酯具有协同增强作用。100 μM $ZK_{14}$ 作用 HSC-T6 细胞 12h 后，应用 TUNEL 检测凋亡细胞 DNA 断裂，并被染成深棕色；$ZK_{14}$ 在体外稳定并有效释放 NO，350min 内最高值达 0.06 μM。$ZK_{14}$ 作用 HSC-T6 细胞后，其线粒体跨膜电位下降，caspase-9 及 caspase-3 活性增强。结果表明，$ZK_{14}$ 以时间依从性和浓度依从性诱导 HSC-T6 细胞凋亡，并可降低线粒体膜电位，增强 caspase-9 和 caspase-3 活性，通过 caspase 依赖性的内源性途径诱导 HSC-T6 细胞凋亡。③与肝纤维化模型组相比，$ZK_{14}$（20mg/kg）对大鼠的肝纤维化指标和肝脏病理分级有明显改善作用，对肝功能有明显改善作用。$ZK_{14}$ 通过释放 NO 诱导 HSC 凋亡，显著减轻肝纤维化程度；并通过母体联苯双酯稳定肝细胞膜，改善肝功能，表明一氧化氮供体型联苯双酯衍生物 $ZK_{14}$ 对四氯化碳诱导的大鼠早期肝纤维化有较好的改善作用。

**结论：**联苯双酯偶联的一氧化氮供体化合物 $ZK_{14}$ 具有抗肝纤维化活性。

**关键词：**联苯双酯偶联；一氧化氮供体化合物；肝纤维化

# 江苏地产白首乌总苷对大鼠肝纤维化的作用研究

吕伟红[1] 张爱香[2] 徐 姗[1] 张洪泉[1]
（1.扬州大学医药研究所 江苏扬州 225001；2.新疆医科大学附属医院 新疆乌鲁木齐 830002）

**目的：**研究江苏地产白首乌总苷对四氯化碳所致大鼠肝纤维化的保护作用。

**方法：**将 72 只 Wistar 大鼠随机分为 6 组，即正常组（10 只），模型组（14 只），阳性组（12 只），白首乌低，中，高剂量组（每组 12 只）。除正常组外，各组采用体积分数 50%CCl4 花生油 2mL·$kg^{-1}$ 每周灌胃 2 次，持续 8 周。造模与给药同时进行。正常组和模型组给予 1%CMC-Na，阳性对照组给予氢化可的松 3.5mg·$kg^{-1}$，白首乌低，中，高剂量组分别给予白首乌总苷 4mg·$kg^{-1}$，8mg·$kg^{-1}$，16mg·$kg^{-1}$。8 周后摘眼球取血，处死大鼠，迅速摘取大鼠

肝和脾，计算大鼠的肝脾指数，检测大鼠血清中谷丙转氨酶（GPT），谷草转氨酶（GOT）的活力；检测血清中透明质酸(HA)、Ⅲ型前胶原（PCⅢ）的含量；检测肝脏组织中超氧化物歧化酶（SOD）活性、羟脯氨酸(HyP)和丙二醛（MDA）含量。观察大鼠肝组织病理变化。

**结果：**江苏地产白首乌总苷能明显降低 CCl4 所致肝纤维化大鼠的肝脾指数（$P < 0.05$）和血清中 GPT，GOT 活性（$P < 0.01$）,降低血清中 HA，PCⅢ的含量（$P < 0.01$）；降低肝组织中 MDA 的水平和 HyP 的含量（$P < 0.01$），亦能升高肝组织中 SOD 的活性（$P < 0.01$）。

**结论：**江苏地产白首乌总苷具有显著的抗肝纤维化的作用。

**关键词：**肝纤维化；白首乌；脂质过氧化

# FAC 及 EGCG 对 CCl4 致小鼠肝纤维化的干预作用及其机制研究

孙利兵[1] 王尉平[1] 顾振纶[2,3]

（1. 苏州大学医学部生物化学与分子生物学系 江苏苏州 215123 2. 苏州大学医学部药理学系 江苏苏州 215123 3. 苏州中药研究所 江苏苏州 215007）

**目的：**探讨沙苑子黄酮（FAC）及表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG)对 CCl4 致小鼠肝纤维化的干预作用及其机制研究。

**方法：**昆明种小鼠随机分成正常对照组、模型组、FAC-1 低剂量组、FAC-2 中剂量组、FAC-3 高剂量组、EGCG-1 低剂量组、EGCG-2 中剂量组、EGCG-3 高剂量组和阳性对照药秋水仙碱组，共 9 组。除模型组 20 只外，其余每组均 12 只。小鼠腹腔注射 50% CCl4 橄榄油溶液(1 ml/kg)诱导肝纤维化模型，正常对照组给予等量生理盐水腹腔注射，每周 2 次，持续 6 周。自造模当日起，给药组每天分别灌服 FAC、EGCG 和秋水仙碱（0.1 ml/10g）。实验结束后，称小鼠体重及肝重计算肝系数，检测各组小鼠血清丙氨酸氨基转移酶（ALT）、天门冬氨酸氨基转移酶（AST）、白蛋白（ALB）以及肝组织中羟脯氨酸(HYP)、丙二醛(MDA)、过氧化物歧化酶(SOD)水平，并进行组织病理学相关检测。应用免疫组织化学技术(SABC 法)检测肝组织中过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)和 β -连蛋白(β -catenin)的表达。

**结果：**（1）对肝重、肝系数水平的影响：与正常对照组相比，模型组小鼠肝重、肝系数明显升高，FAC 及 EGCG 各剂量组能不同程度地降低肝纤维化小鼠肝重、肝系数。（2）光镜观察显示:模型组小鼠肝组织病理损害严重，肝索排列紊乱，肝小叶结构破坏，肝小叶周围明显坏死，且有假小叶形成，FAC 及 EGCG 各剂量组均在不同程度上减轻了上述病理状况，FAC-3 高剂量组、EGCG-2 中剂量组和 EECG-3 高剂量组效果显著（$P<0.01$）。（3）透射电镜观察显示：FAC 及 EGCG 各剂量组可减轻肝纤维化小鼠肝细胞受损程度。（4）对血清 ALT、AST、ALB 水平的影响:与正常对照组相比，模型组小鼠血清中的 ALT、AST 水平显著升高，ALB 水平明显降低。FAC 及 EGCG 各剂量组小鼠血清中 ALT、AST 显著降低（$P<0.01$），血清 ALB 水平不同程度地降低。（5）对肝组织 SOD、MDA、HYP 水平的影响：肝组织生化测定显示 FAC 及 EGCG 各剂量组可显著提高肝组织中 SOD 活性，降低 MDA、HYP 的含量（$P<0.01$，$P<0.05$）。（6）免疫组化结果显示：FAC 及 EGCG 各剂量组可显著升高 PPAR γ 、降低 β -catenin 在肝组织中的表达（$P<0.01$）。

**结论：**通过对肝组织光镜和透射电镜观察，显示 FAC 及 EGCG 抑制了 CCl4 诱导的小鼠

肝纤维化的形成和发展。其作用机制可能与降低血清 ALT、AST 水平，抗肝细胞损伤；增强肝组织中 SOD 活性，降低 MDA、HYP 的含量，提高抗氧化能力及抑制胶原蛋白过度沉积；抑制 β–catenin 的表达、提高 PPAR γ 的含量，干预 wnt 信号转导通路有关。FAC 及 EGCG 各剂量组对各项指标的作用有所差异。

**关键词：**肝纤维化；沙苑子黄酮；表没食子儿茶素没食子酸酯；过氧化物酶体增殖物激活受体 γ；β–连蛋白

# 表没食子儿茶素没食子酸酯对大鼠高脂性脂肪肝的治疗作用及其机制研究

葛斌[1] 谢梅林[1,2] 钱培刚[1,2] 顾振纶[1,2]

（1. 苏州大学医学部药理学系 江苏苏州 215123 2. 苏州中药研究所 江苏苏州 215007）

**目的：**研究表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)对大鼠高脂性脂肪肝的治疗作用及其作用机制。

**方法：**以脂肪乳剂灌胃建立高脂性脂肪肝大鼠模型，将造模成功的大鼠分为 EGCG（10 mg/kg、20 mg/kg 和 40 mg/kg）三个剂量组、阳性药非诺贝特组（20 mg/kg）以及脂肪肝模型组，给药 6 周后分别观察 EGCG 对高脂性脂肪肝大鼠血脂、肝功能、肝脂和抗氧化能力的影响；光镜和电镜观察肝组织脂肪变性程度和超微结构改变；分别采用 Real time–PCR 和免疫组化的方法观察肝组织中腺苷酸活化蛋白激酶（AMPK）mRNA 和蛋白表达的影响，以及过氧化物酶体增生物激活受体–α（PPARα）、胆固醇 7α–羟化酶（CYP7A）、二酰基甘油酰基转移酶（DGAT）和肉碱棕榈酰转移酶（CPT–I）mRNA 表达的影响。

**结果：**EGCG 10–40 mg/kg 治疗 6 周后，高脂性脂肪肝大鼠的血清 TC、TG、LDL–C、FFA、AST、ALT、肝脏系数以及肝组织中 TC 和 TG 含量显著降低（P<0.05 或 P<0.01），血清 HDL–C 有所升高（P<0.05），肝组织中 SOD 的含量明显升高（P<0.05 或 P<0.01），同时肝组织中 MDA 含量显著降低（P<0.05 或 P<0.01），并有一定的剂量依赖趋势。光镜和电镜检查结果显示，给予 EGCG 治疗的大鼠肝细胞脂肪变性程度和超微结构改变明显减轻（P<0.01）。免疫组化检测结果表明，给予 EGCG 的大鼠肝脏 AMPK 蛋白表达明显增加。Real time–PCR 结果表明，EGCG 可明显上调高脂性脂肪肝大鼠肝组织中的 AMPK、PPARα、CYP7A 和 CPT–I mRNA 的表达（P<0.05 或 P<0.01），下调 DGAT mRNA 的表达（P<0.05 或 P<0.01）。

**结论：**EGCG 10–40 mg/kg 治疗 6 周后，对大鼠高脂性脂肪肝有一定的治疗作用，其作用机制可能与其上调肝脏中 AMPK mRNA 和蛋白表达，激活并上调 PPARα mRNA 表达，进而调节其下游靶基因 CPT–I、CYP7A 和 DGAT mRNA 的表达；以及与增强机体的抗氧化能力有关。

**关键词：**EGCG；高脂性脂肪肝；药效学；作用机制；大鼠

# 生姜油三个不同提取部位对急性实验性肝损伤的保护作用比较

沈洪[1] 谢梅林[1]
(苏州大学医学部药理学系 江苏苏州 215123)

**目的：**研究并比较生姜油三个不同部位对急性肝损伤的保护作用，并探讨其可能的作用机制。

**方法：** 通过复制四氯化碳和扑热息痛急性肝损伤小鼠模型以及四氯化碳体外急性大鼠肝细胞损伤模型，观察并比较预先给不同部位生姜油后，对肝组织或肝细胞保护作用的差异。采用比色法测定 ALT、AST、SOD 和 MDA 含量，光镜检查急性肝损伤肝组织的形态学改变。

**结果：**生姜油 A 部位对四氯化碳和扑热息痛两种急性肝损伤小鼠模型的血清 ALT 和 AST 及肝组织中的 MDA 含量均有显著的降低作用，也可提高肝损小鼠肝组织中的 SOD 活性，其含药血清能显著降低四氯化碳致培养大鼠肝细胞急性损伤产生的 ALT 和 AST 水平升高，并可提高 SOD 活力，抑制 MDA 的产生。B 部位对扑热息痛肝损小鼠血清 AST 的升高未见有明显的降低作用，但可明显降低两种肝损模型小鼠血清 ALT 水平，提高两种肝损小鼠肝组织中的 SOD 活性，还能使四氯化碳肝损小鼠肝组织中的 MDA 含量下降，其含药血清能显著降低四氯化碳致大鼠肝细胞损伤引起的 ALT 和 AST 水平升高，提高 SOD 活力，但对 MDA 未见有明显的影响。C 部位可增加四氯化碳肝损小鼠肝组织中的 SOD 活性，也可降低扑热息痛肝损小鼠肝组织中的 MDA 含量，但对两种肝损小鼠血清 ALT 和 AST 的降低作用均不如 A 部位，其含药血清仅能降低四氯化碳致培养大鼠肝细胞损伤的 AST 水平，提高 SOD 活力。光镜下生姜油各部位给药组与模型组相比，仅 A 部位给药组可见炎性细胞明显减少，肝细胞坏死程度明显减轻，对两种肝损模型的肝细胞具有较好的保护作用。

**结论：**生姜油三个不同部位对四氯化碳和扑热息痛引起的小鼠急性肝损伤以及四氯化碳体外急性大鼠肝细胞损伤均有不同程度的保护作用，但以 A 部位的效果较好，其保护机制可能与其抗氧化作用有关。

**关键词：**生姜油；含药血清；肝损伤；四氯化碳；扑热息痛

# 南瓜多糖对链脲菌素诱导的大鼠胰岛 β 细胞损伤的保护作用

朱红艳 徐济良 顾锦华 孟国良
(南通大学医学院药理教研室 江苏南通 226001)

**目的：**在原代培养的大鼠胰岛细胞上，观察南瓜多糖(Pumpkin polysaccharide, PP)对链脲菌素(Streptozotocin, STZ)损伤的大鼠胰岛 β 细胞的保护作用，及其对胰岛细胞凋亡调控基因 Bax/Bcl-2 表达的影响。

**方法：**将原代培养的大鼠胰岛细胞分为 6 组：即正常对照组(0.5%二甲基亚砜(Dimetnyl sulfoxide, DMSO)培养液)；STZ 损伤模型组(8mmol/l STZ)；灵芝多糖(Ganoderma lucidum polysaccharide, Gl-PS)阳性对照组(0.5mg/ml Gl-PS)；PP 小剂量组(0.25mg/ml PP)；PP 中剂量组(0.5mg/ml PP)；PP 大剂量组(1mg/ml PP)。测定各组胰岛细胞培养液中的超氧化物歧化酶

(Superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、一氧化氮(Nitric oxide, NO)含量；采用 MTT、Hochest 染色、PI 单染流式细胞仪(Flow cytometry, FCM)检测各组细胞活力、凋亡率；采用逆转录–聚合酶链式反应（Reverse transcription– Polymerase chain reaction，RT–PCR）的方法观察 PP 对 STZ 诱导的大鼠胰岛细胞损伤的凋亡调控基因 Bax/Bcl–2 表达的影响。

**结果：**（1）MTT 比色实验显示：PP 可以增强 STZ 损伤的胰岛细胞的活力；（2）PP 中剂量、大剂量组胰岛细胞培养基内 SOD 值明显增加，MDA、NO 的量显著减少；（3）Hochest 染色后，观察到 PP 可以减少 STZ 损伤的胰岛细胞的凋亡率；（4）PI 单染 FCM 检测结果显示，PP 可以减少 STZ 损伤的胰岛细胞的凋亡率；（5）RT–PCR 测定显示 PP 可减少胰岛细胞 Bax、增加胰岛细胞 Bcl–2 基因的表达。

**结论：**南瓜多糖对链脲菌素损伤的大鼠胰岛 β 细胞具有保护作用，能减少链脲菌素诱导的大鼠胰岛 β 细胞的凋亡，其机制可能与 PP 调节胰岛细胞凋亡调控基因 Bax/Bcl–2 的表达有关。

**关键词：**南瓜多糖；链尿菌素；大鼠；胰岛 β 细胞

# 高脂饲料诱导的胰岛素抵抗大鼠骨骼肌己糖胺通路流量的检测

顾锦华　施建华　朱清　徐济良
（南通大学医学院药理学教研室　江苏南通　226001）

**目的：**胰岛素抵抗(Insulin Resistance ,IR)为 2 型糖尿病的病理生理基础，但至今其发病机制依然不清楚。己糖胺通路（hexosamine biosynthetic pathway, HBP）是机体葡萄糖代谢途径之一，大量的体内外实验均发现 HBP 介导 IR 的现象。除了高血糖可以诱发 IR 外，肥胖和高脂血症也与胰岛素抵抗的发生关系密切。本实验应用高脂饲料诱导的胰岛素抵抗动物模型，并给予罗格列酮进行干预，观察动物骨骼肌中 HBP 的流量的变化，以探讨 HBP 对高脂饲料诱发大鼠胰岛素抵抗形成的作用。

**方法：**雄性 SD 大鼠按照体重随机分为 3 组：正常饲养组（Normal）、高脂饲养组(IR)，高脂+罗格列酮干预组（RO）。13 周后，检测大鼠血清甘油三酯（TG）、总胆固醇（TC）、游离脂肪酸（FFA）和骨骼肌中 TC 和 FFA 的含量，胰岛素敏感性用胰岛素敏感指数(ISI)和正常血糖–高胰岛素钳夹技术稳态时的葡萄糖输注率(GIR)来评价，骨骼肌 HBP 的流量用 GFAT mRNA 的表达水平、UDP–GlcNAc 的含量及蛋白 O–GlcNAc 糖基化水平来衡量。

**结果：**模型组大鼠与正常组大鼠相比，血清 TG、TC、FFA 以及骨骼肌 TG、FFA 均升高（$P < 0.01$）；ISI 增加、GIR 降低($-4.86 \pm 0.62$ vs $-3.85 \pm 0.46$；$13.45 \pm 2.93$ vs $24.16 \pm 2.87$ $P < 0.01$)；GFATmRNA 的表达、UDP–GlcNAc 含量以及蛋白 O–GlcNAc 糖基化水平均明显升高（$P < 0.01$）。罗格列酮干预组大鼠与模型组相比，血清和骨骼肌 TG、FFA 明显降低（$P < 0.01$），胰岛素敏感性提高(ISI：$4.31 \pm 0.61$ VS $4.86 \pm 0.62$ ；GIR:$17.93 \pm 2.32$ VS $13.45 \pm 2.93$ $P < 0.05$），GFATmRNA 的表达、UDP–GlcNAc 含量以及蛋白 O–GlcNAc 糖基化水平均明显降低（$P < 0.05$）。

**结论：**(1)、高脂饲料能诱导大鼠产生胰岛素抵抗，并引起骨骼肌 HBP 的流量的增加；(2)、罗格列酮能提高高脂喂养大鼠胰岛素的敏感性，降低其骨骼肌 HBP 的流量；(3)、HBP 流量的增加与高脂诱发的 IR 相关。

**关键词：**高脂饲料；胰岛素抵抗；大鼠；骨骼肌；己糖胺通路

# 大黄酸精氨酸预防大鼠实验性肠粘连的抗炎机制

尹家乐[1] 张爱香[2] 王毓炜[1] 张洪泉[1]
(1. 扬州大学医药研究所 江苏扬州，225001 2. 新疆医科大学第六附属医院 新疆乌鲁木齐 830002)

**目的：**研究大黄酸精氨酸预防大鼠实验性肠粘连的作用并探讨其抗炎机制。

方法：雄性 SD 大鼠 60 只，随机分为 6 组：正常对照组、模型组、阳性对照组和大黄酸精氨酸低、中、高剂量组。除正常对照组外，其余大鼠均制备肠粘连模型。正常对照组和模型组腹腔注射生理盐水，阳性对照组腹腔注射地塞米松磷酸钠（10 mg·kg−1），大黄酸精氨酸低、中、高剂量组腹腔注射大黄酸精氨酸(7.5 mg·kg−1、15 mg·kg−1、30mg·kg−1)，连续给药 1 周。各组于术后第 8 天取血，酶联免疫吸附法测定血清白介素−1β（interleukin−1β，IL−1β）、白介素−4（interleukin−4，IL−4)及肿瘤坏死因子−α（tumor necrosis factor−α，TNF−α）含量，肉眼观察肠粘连的程度分级；同时取盲肠与腹壁切口组织测定羟脯氨酸（hydroxyproline，Hyp）含量，并做病理观察。

**结果：**大黄酸精氨酸能显著减轻肠粘连大鼠肠粘连程度，明显降低肠粘连大鼠 IL−1β 和 TNF−α 的表达水平（P<0.01），但对 IL−4 的表达水平几乎没有影响。与阳性组相比，大黄酸精氨酸对 Hyp 的含量无显著影响，可抑制纤维结缔组织的增生。

**结论：**大黄酸精氨酸可减轻大鼠肠粘连程度，降低 IL−1β 和 TNF−α 的表达水平，抑制纤维结缔组织的增生，这可能是其预防肠粘连的机制。

**关键词：**大黄酸，精氨酸，肠粘连，抗炎

# 阿司匹林抑制小鼠腹腔巨噬细胞 MMP−2/9 表达及其机制研究

姚义琴[1] 谢梅林[2]
(苏州大学医学部药理学系 江苏苏州 215123)

**目的：**研究阿司匹林对小鼠腹腔巨噬细胞 MMP−2/9 基因表达及分泌的影响及其可能的作用机制。

**方法：**用小鼠腹腔收集的巨噬细胞进行原代培养，经阿司匹林处理 24 h 后，采用 RT−PCR 方法检测 MMP−2/9、TIMP−1 和 PPARα/γ mRNA 表达，用 ELISA 方法测定细胞培养上清液中 MMP−2/9 和 TIMP−1 的蛋白含量。预先用 MK886 (PPARα 阻断剂) 和/或 GW9662 (PPARγ 阻断剂)对小鼠腹腔巨噬细胞进行预处理 2 h，再经阿司匹林处理 24 h 后，测定 MMP−2/9 mRNA 表达和 MMP−9 蛋白分泌的含量。

**结果：**小鼠腹腔巨噬细胞经用阿司匹林 12.5−200 μg/ml 处理 24 h 后，MMP−2/9 mRNA 表达及分泌至培养上清液中的蛋白含量均可见降低，而 PPARα 和 PPARγ mRNA 表达可见增加，尤以 50 μg/ml 的浓度作用更为明显（P<0.05 或 P<0.01），TIMP−1 mRNA 表达及分泌也可见增加，但后者的作用以 12.5 μg/ml 的浓度为较强（P<0.01）。巨噬细胞若预先经 MK886 1 μmol/l 和/或 GW9662 4 μmol/l 处理 2 h 后，阿司匹林 50 μg/ml 对小鼠腹腔巨噬细胞 MMP−2/9 mRNA 表达和 MMP−9 蛋白分泌的抑制作用将被明显减弱（P<0.05 或 P<0.01）。

**结论：**阿司匹林可抑制小鼠腹腔巨噬细胞 MMP-2/9 的表达及活性，它的作用机制可能主要通过上调 PPAR α / γ 降低 MMP-2/9 的基因表达和 MMP-9 释放，通过增加 TIMP-1 基因表达及蛋白分泌抑制 MMP-2/9 的活性。

**关键词：**阿司匹林；基质金属蛋白酶；组织金属蛋白酶抑制剂；巨噬细胞；过氧化物酶体增殖物激活受体

# 异丁斯特对哮喘豚鼠 Th2 型细胞因子白介素 4、白介素 13 及嗜酸性粒细胞趋化因子的影响

徐姗[1] 苏梦琪[2] 吕伟红[1] 张洪泉[1]
(1.扬州大学医药研究所 江苏扬州 225001 2.丽珠医药市场部 广东省珠海 519020)

**目的：**探讨异丁斯特（Ibudilast）对支气管哮喘（简称哮喘）豚鼠 Th2 型细胞因子白介素 4（interleukin-4，IL-4）、IL-13 及嗜酸性粒细胞趋化因子（eotaxin）的影响。

**方法：**Hartley 豚鼠，随机分为正常对照组、哮喘模型组、异丁斯特 10、20、30 mg/kg 组及地塞米松（DXM）给药组。用卵白蛋白致敏制备豚鼠哮喘模型，给药后观察各组肺组织的病理变化；收集肺泡灌洗液（BALF），并对其中的嗜酸性粒细胞（eosinophil，EOS）进行计数；采用酶联免疫吸附试验（ELISA）法测定 BLAF 中 IL-4、IL-13 的含量；双抗体夹心 ABC-ELISA 法检测 Eotaxin 水平。

**结果：**HE 染色显示，模型组豚鼠支气管壁及管腔内、血管周围可见大量炎症细胞浸润，平滑肌肥厚，黏膜、肺组织充血水肿，异丁斯特各剂量组及 DXM 给药组较模型组炎症表现明显减轻；与模型组比较，异丁斯特各剂量组及 DXM 给药组均能显著降低哮喘豚鼠 BALF 中 EOS 的数量；与模型组比较，异丁斯特各剂量组及 DXM 给药组均能显著降低哮喘豚鼠 BALF 中 IL-4、IL-13 含量及 eotaxin 水平。

**结论：**异丁斯特对哮喘豚鼠有治疗作用，其机制可能与降低 IL-4、IL-13 含量及 eotaxin 水平，减少气道 EOS 浸润，从而减轻哮喘气道炎症有关。

**关键词：**哮喘；异丁斯特；嗜酸性粒细胞；白介素 4；白介素 13；嗜酸性粒细胞趋化因子

# 茶多酚对实验性肺纤维化的影响及其机制研究

曹志飞[1] 张洪涛[1] 蒋小岗[2,3] 顾振纶[2,3]
(1. 苏州大学医学部生物化学与分子生物学系 江苏苏州 215123 2. 苏州大学医学部药理学系 江苏苏州 215123 3. 苏州中药研究所 江苏苏州 215007)

**目的：**研究茶多酚对博莱霉素（Bleomycin，BLM）所致肺纤维化动物模型的干预作用，并探讨其作用机制。

**方法：**昆明种小鼠随机分为假手术组、模型组、醋酸泼尼松组、茶多酚大、中、小剂量组；SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、醋酸泼尼松组、茶多酚大、小剂量组。经气管内一次性灌注 BLM 复制肺纤维化动物模型，造模后第二天起各给药组给予相应药物灌服给药，

药物干预后第 7、14、28 天分别处死动物，观察肺系数、肺组织羟脯氨酸（HYP）含量、谷胱甘肽（GSH）含量和总抗氧化能力（T-Aoc）的变化；取固定部位肺组织作病理切片和透射电镜观察其病理形态；免疫组织化学技术测定肺组织中α-平滑肌肌动蛋白（α-SMA）、转化生长因子β1(TGF-β1)和Ⅰ型胶原（Col-Ⅰ）蛋白的表达；半定量 RT-PCR 检测 TGF-β1、α-SMA mRNA 的表达；免疫印迹法检测 TGF-β1、α-SMA、Col-Ⅰ、Ⅳ型胶原（Col-Ⅳ）、过氧化物酶体增生物激活受体γ（PPAR-γ）蛋白的表达。

**结果：**茶多酚可显著降低肺纤维化小鼠、大鼠的肺系数、肺组织中 HYP 的含量，显著提高肺组织的 T-Aoc 和 GSH 含量（P<0.01，P<0.05）。光镜和电镜观察显示，给予茶多酚干预的小鼠、大鼠的肺泡炎程度、肺纤维化程度和超微结构改变明显减轻（P<0.01，P<0.05）。免疫组织化学结果显示茶多酚能显著抑制肺组织中α-SMA、TGF-β1 和 Col Ⅰ蛋白的表达(P<0.01，P<0.05)。茶多酚可显著下调肺纤维化大鼠肺组织中 TGF-β1 mRNA 和蛋白、α-SMA mRNA 和蛋白、Col-Ⅰ蛋白和 Col-Ⅳ蛋白的表达(P<0.01，P<0.05)，显著上调 PPAR-γ蛋白的表达(P<0.01，P<0.05)。

**结论：**茶多酚对博莱霉素所致小鼠、大鼠肺纤维化具有一定的干预作用，其作用机制可能与下调 TGF-β1 和α-SMA mRNA 和蛋白的表达，抑制肺肌成纤维细胞的活化、下调其下游靶基因 Col-Ⅰ蛋白和 Col-Ⅳ蛋白以及上调 PPAR-γ蛋白的表达，从而抑制细胞外基质的过度生成以及增加机体的抗氧化能力有关。

**关键词:** 肺纤维化；茶多酚；博莱霉素；TGF-β1；α-SMA；PPAR-γ

# EGCG 对实验性肺纤维化的干预作用及其机制研究

连丽燕[1] 冯一中[1] 蒋小岗[2,3] 顾振纶[2,3]

（1. 苏州大学医学部病理学系 江苏苏州 215123 2. 苏州大学医学部药理学系 江苏苏州 215123
3. 苏州中药研究所 江苏苏州 215007）

**目的：**观察表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG) 对博莱霉素（BLM）致实验性大鼠肺纤维化的干预作用，探讨表没食子儿茶素没食子酸酯抗肺纤维化的作用机制。

**方法：**选清洁级 Sprague-Dawley 雄性大鼠 126 只，随机分为 6 组，即正常对照组、模型组、EGCG 大剂量（100 $mg.kg^{-1}.d^{-1}$）组、中剂量（50 $mg.kg^{-1}.d^{-1}$）组及小剂量（25 $mg.kg^{-1}.d^{-1}$）组和醋酸泼尼松（3.36 $mg.kg^{-1}.d^{-1}$）组。采用气管内注射博莱霉素（BLM）方法制备肺纤维化动物模型。造模后第二天起各治疗组给予相应药物灌服治疗，正常对照组及模型组灌胃给予生理盐水。各实验组大鼠分别于给药后 7 天、14 天、28 天各处死 7 只，进行 HE、Masson 染色和透射电镜观察其病理形态；取肺组织称取肺湿重，计算肺系数：肺重(mg)／体重(g)；测定大鼠肺组织中总抗氧化能力(T-AOC)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛（MDA）、髓过氧化物酶（MPO）的水平；测定大鼠肺组织中羟脯氨酸（HYP）的含量；应用免疫组织化学技术（SABC 法），检测转化生长因子β1 (TGF-β1)、Smad2/3、 Smad7 蛋白在肺组织中的表达。

**结果：**（1）与模型组相比，EGCG 各给药组均能降低肺纤维化大鼠的肺系数（P<0.01,P<0.05）；（2）给药后第 7 天，各给药组肺间质及肺泡腔中炎症细胞较模型组有不同程度的减轻（P<0.01,P<0.05），第 14 天至 28 天时，EGCG 各给药组与模型组相比，肺组织中肺纤维化的程度和范围均减轻（P<0.01,P<0.05）；电镜观察显示：EGCG 各给药组可减

轻肺泡上皮细胞损伤及间质中胶原的沉积；（3）EGCG 各给药组可降低 TGF-β1、Smad2/3 蛋白在肺组织中的表达，同时可提高 Smad7 蛋白的含量（P<0.01,P<0.05）；（4）生化指标测定显示 EGCG 各给药组可显著提高 T-AOC、SOD 的活力（P<0. 01,P<0. 05），降低 MDA、MPO 的含量（P<0.01,P<0.05）；（5）EGCG 各给药组实验大鼠肺组织中 HYP 含量较模型组明显降低（P<0.01,P<0.05）。

**结论：**表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)对博莱霉素致大鼠肺纤维化具有一定的防治作用，其可能的作用机制是增强肺组织中 T-AOC、SOD 的活力，降低 MDA、MPO 的含量，提高抗氧化能力；抑制 TGF-β1 、Smad2/3 蛋白的表达、提高 Smad7 蛋白的含量，从而减少肺泡间质胶原沉积、减轻肺泡上皮损伤。

**关键词：**肺纤维化；表没食子儿茶素没食子酸酯；博莱霉素；大鼠

# 用生物信息学方法探索博来霉素致 C57 小鼠肺纤维化的分子靶点

黄冬冬[1.2] 王尉平[1] 蒋小岗[2.3] 顾振纶[2.3]

(1.苏州大学医学部生物化学与分子生物学系 江苏苏州 215123 2.苏州中药研究所 江苏苏州 215007
3.苏州市衰老与神经疾病实验室 江苏苏州 215123)

博来霉素(Bleomycin,BLM)致小鼠肺纤维化模型被广泛应用于肺纤维化发病机制研究和药物筛选中[1]，然而从分子水平分析该类模型肺纤维化分子机制的研究不多[2]。应用基因芯片技术可大规模检测基因转录水平表达丰度，是一种分析发掘疾病发生机制的有效研究方法[3]。本文从高通量基因表达数据库(Gene Expression Omnibus，GEO)公共数据库，下载公开而未分析的 BLM 致 C57 小鼠肺纤维化基因芯片表达谱数据集 GSE485，进行数据挖掘，探求 BLM 致 C57 小鼠肺纤维化的分子靶点，并为肺纤维化发病机制和药物研究提供有价值的信息。

**目的：**探索 BLM 致 C57 小鼠肺纤维化分子靶点。

**方法：**用 BRB-ArrayTools 软件中 justRMA 算法分析 BLM 实验组和生理盐水对照组作用于 C57 小鼠 1、3、14 天后肺组织基因表达谱数据集 GSE485，找出差异表达基因，并用 DAVID 在线工具对这些基因进行功能聚类，结合 KEGG 和 BioCarta 进行生物学通路分析，应用 MSigDB 搜寻[-2kb,2kb]区域富集的转录因子结合位点。

**结果：**分别筛选出 190、345、527 个差异表达基因；按功能显著聚集的有趋化因子、膜蛋白、血清蛋白、补体成分、免疫球蛋白、钙粘蛋白、基质金属蛋白酶、前胶原类；受调控的有 Toll 样受体、CCR5、ECM 受体、补体途径和 TGF-β 生物学通路；富集度较高的转录因子有 AP1、SRF、NFKAPPAB。

**结论：**应用生物信息学方法，推测转录因子 AP1、SRF 和 RhoA 蛋白可能是 BLM 致 C57 小鼠肺纤维化的分子靶点。

**关键词：**生物信息学；肺纤维化；差异表达基因；生物学通路；转录因子

# Endostar 对 NSCLC 转移的影响及 OPN 相关机制研究

倪庆桂 季 晖
(中国药科大学药理学教研室 江苏南京 210009)

**目的:** 研究早期应用Endostar对非小细胞性肺癌（NSCLC）转移的影响及可能的骨桥蛋白（OPN）相关机制。

**方法:** ①采用Endostar早期给药方式，以绿色荧光蛋白（GFP）标记的高转移细胞系H460接种于重症联合免疫缺陷（SCID）小鼠皮下，影像成像观察原位成瘤及肿瘤生长情况，荧光显微镜下观察肺转移。同时，检测肿瘤组织微血管密度（MVD）、血管内皮生成因子（VEGF）和OPN的表达（免疫组织化学分析），并检测小鼠血中OPN水平（ELISA法）和H460细胞与肺微血管内皮细胞（HPMEC）的粘附。②在人NSCLC细胞系A549与人HPMEC共培养体系中，观察Endostar对OPN诱导的HPMEC迁移、小管形成和HPMEC凋亡抑制（流式细胞术分析）作用的影响，并通过ELISA法检测培养液中VEGF的浓度及Western Blot分析内皮细胞血管内皮生长因子受体-2（KDR）的表达、磷酸化。③观察Endostar对NSCLC体外侵袭的影响以及可能的OPN相关的非血管生成机制。

**结果:** ①Endostar 能显著抑制原发肿瘤的生长，肺转移灶显著减少；原发灶 MVD 降低，VEGF 表达下调，体外 H460 细胞与 HPMEC 的粘附被抑制。提示早期应用 Endostar 可抑制 NSCLC 的转移，原发灶血管生成抑制、肿瘤细胞与内皮细胞的粘附减少可能与此作用有关。原发灶 OPN 表达下调，荷瘤 SCID 小鼠血中 OPN 水平显著下降，说明 OPN 可能也发挥重要的作用。②Endostar 能抑制 OPN 诱导的 HPMEC 迁移和小管的形成，促进 HPMEC 的凋亡。同时，培养液 VEGF 水平降低，HPMEC 的 KDR 表达和磷酸化明显受到抑制。表明 Endostr 可能通过 OPN 机制抑制肿瘤血管的生成，VEGF 及其受体表达、磷酸化的抑制可能也与这一作用有关。③Endostar 能明显抑制高转移 H460 体外侵袭，这一作用与培养液中 OPN 水平下降有关，OPN 水平的下降可能是由于 OPN 在基因和蛋白水平的表达下调所致。OPN 诱导的低转移细胞系 A549 细胞侵袭也被抑制，说明 Endostar 抑制 NSCLC 侵袭具有其它不同的 OPN 相关机制。体外粘附实验结果显示，与 Endostar 共孵育，OPN 对 H460 的粘附被抑制。流式细胞术分析揭示，OPN 受体 CD44v6 和 $\alpha_v\beta_3$ 整合素的表达下调可能导致了粘附的减少。明胶酶实验结果发现，MMP-2 和 MMP-9 表达及活化明显降低，表明 Endostar 能抑制 NSCLC 细胞的体外侵袭，且这一作用与 OPN 表达下调以及 OPN 相关的信号通路的启动和传导阻断有关。

**结论:** 早期应用Endostar 可抑制NSCLC转移，OPN的相关机制可能起着重要的作用。Endostar除抑制血管生成作用外，还具有内在的非血管生成相关的抑制肿瘤转移的活性。本研究结果对于将Endostar用于NSCLC或其它肿瘤转移的治疗和预防具有一定的指导意义。

**关键词:** Endostar；非小细胞性肺癌（NSCLC）；肿瘤转移；骨桥蛋白（OPN）

# 吡啶衍生物-铜配合物抗肿瘤作用的线粒体机制

郭文洁[1] 高 静[1] 黄娟[2] 陈秋云[2]
(1.江苏大学药学院 江苏镇江 212013 2.化学化工学院 江苏镇江 212013)

**目的：**研究新合成的吡啶衍生物–铜配合物(LCu)的抗肿瘤活性及其机制

**方法：**采用 MTT 法检测化合物体外抗肿瘤活性；细胞核形态观察、MDC 染色、western blot 方法鉴定 LC3 的表达；采用 DCFH–DA 探测细胞内 ROS 水平、JC–1 评价线粒体膜电位等方法初步探寻化合物诱导细胞死亡的机制及线粒体在此过程中的作用。

**结果：**MTT 结果显示化合物 LCu 能时间剂量依赖性的抑制肿瘤细胞增殖。HeLa 细胞经化合物处理后，MDC 染色明显增强，LC3 蛋白表达升高并由Ⅰ型向Ⅱ型转变，用自噬阻断剂 3–MA 预处理后，细胞的存活率显著升高，LC3 的表达也出现下降；LCu 处理后细胞内 ROS 产生增加，线粒体膜电位下降；抗氧化剂 NAC 预处理后细胞存活率增加，LC3 的表达下降。

**结论：**二(2–吡啶甲基)胺–铜配合物具有良好的抗肿瘤效果，其机制可能与破坏线粒体，产生 ROS 进而引发细胞自噬有关，是一种具有一定应用前景的抗肿瘤先导化合物

**关键词：**铜；配合物；抗肿瘤；线粒体；活性氧（ROS）；自噬

# 新合成的 7-氮杂靛玉红衍生物抗肿瘤作用及机制的研究

徐晶晶[1] 戴小敏[1] 高 静[1] 李文赟[2] 姚其正[2]
(1.江苏大学药学院 江苏镇江 212013 2.中国药科大学药学院 江苏南京 210009)

**目的：**从天然植物中分离得到的靛玉红具有较强的抗肿瘤活性，已用于慢性白血病的治疗，但是它的溶解吸收较差，因此，对其结构的优化越来越受到关注，但已被国外公司抢先申请了专利，本课题从新合成 7–氮杂靛玉红衍生物（7–Azaindirubin derivatives， 7–AD）中筛选得到 7–AD–6，并通过对细胞死亡方式及线粒体功能变化的研究，初步探索抗肿瘤的机制，为研发具有自主知识产权的靛玉红类抗肿瘤新药奠定基础。

**方法：**MTT 法测定 7–AD–6 对肿瘤细胞株的生长抑制作用；用活细胞工作站（Live Cell System, LCS）长时间，动态，定点观察细胞形态的变化；通过 Hoechest 染色观察细胞核形态的变化，流式细胞术检测细胞凋亡，并用 western blot 检测细胞胞浆内细胞色素 C 的含量变化；另外对于给药后线粒体功能进行了评价，检测了线粒体膜电位、细胞内 ROS 以及 ATP 水平的变化情况。

**结果：**7–AD–6 能以剂量时间依赖的方式抑制肿瘤细胞增殖，观察到细胞核形态出现了典型的凋亡，流式结果显示凋亡率随时间延长而增加，并且 western blot 结果表明线粒体中的细胞色素 C 转位至胞浆。另外，细胞线粒体膜电位、细胞内 ATP 含量下降，ROS 明显增多。

**结论：**新合成的 7–氮杂靛玉红衍生物保持了传统靛玉红的抗肿瘤活性；其诱导肿瘤细胞凋亡可能与破坏线粒体功能有关。

**关键词：**7–氮杂靛玉红衍生物；抗肿瘤；凋亡；线粒体；细胞色素 C

# 噁二唑并[3，4-d]嘧啶衍生物抑制肿瘤细胞增殖及其作用机制的初步研究

刘海亮[1] 徐晶晶[1] 戴小敏[1] 高 静[1] 石静波[2] 姚其正[2]
(1.江苏大学药学院 江苏镇江 212013 2.中国药科大学药学院 江苏南京 210009)

**目的：**研究从新合成的噁二唑[3,4-d]嘧啶苷类衍生物中通过 MTT 法筛选出了 2 种有抑制肿瘤细胞增殖的化合物，分别为 4-(2,3,5-三-O-苯甲酰基-1-β-D-呋喃核糖基)-[1,2,5]噁二唑[3,4-d]嘧啶-5(4H),7(6H)-二酮 1-氧化物和 6-甲基-4-(2-氟-3,5-二-O-苯甲酰基-1-β-D-呋喃阿拉伯糖基)-[1,2,5]噁二唑[3,4-d]嘧啶-5(4H),7(6H)-二酮 1-氧化物，观察了新合成的核苷类似物一氧化氮供体（MOPDO）抑制人肝癌 HepG2 细胞增殖、诱导细胞凋亡的作用，并探讨其可能的机制。

**方法：**不同浓度的 MOPDO 作用于人肝癌细胞 HepG2，MTT 检测与相差显微镜观察相结合，分析 MOPDO 对 HepG2 细胞增殖的影响；PI 单染流式细胞术分析细胞周期的变化；Annexin-V/PI 双染检测细胞凋亡率；JC-1 染色检测线粒体膜电位（ΔΨm）变化；硝酸酶法测定细胞培养液中 NO 的含量。

**结果：**果发现，MOPDO 以时间和剂量依赖性方式抑制 HepG2 细胞的增殖，细胞形态出现相应的变化；细胞周期分析直方图上可见 Sub-G1 凋亡峰；细胞凋亡率的增加呈时-效和量-效关系；MOPDO 可以引起胞质内 Ca2+ 浓度的升高；同时 JC-1 染色显示，线粒体膜电位随着 MOPDO 剂量的增加降低； MOPDO 释放的 NO 量呈剂量依赖性增加。

**结论：**明 MOPDO 抑制 HepG2 细胞的增殖，并诱导其凋亡，其机制与 MOPDO 释放 NO，引起胞内 Ca2+超载，线粒体膜电位下降有关。

**关键词：**嘧啶苷；一氧化氮；凋亡；自噬；线粒体

# OPDO 诱导 HepG2 细胞自噬和 G2/M 期阻滞与释放 NO 介导的线粒体损伤有关

刘海亮[1] 徐晶晶[1] 戴小敏[1] 石静波[1] 高 静[1] 姚其正[2] 刘 凤[3]
(1.江苏大学药学院 江苏镇江 212013 中国； 2.中国药科大学药学院 江苏南京 210009 中国
3.加州大学欧文分校 CA 92868 美国)

**目的：**研究新合成的糖苷化一氧化氮(NO)供体，噁二唑并[3,4-d]嘧啶核苷(OPDO)在体外诱导肝癌细胞 HepG2 自噬和周期阻滞的作用，并探讨其机制。

**方法：**以不同浓度的 OPDO 作用于体外培养的肝癌细胞 HepG2，食管癌细胞 ECA109，宫颈癌 Hela，白血病细胞 K562，直肠癌细胞 Lovo，非小细胞肺癌细胞 A459，通过 MTT 法检测 OPDO 对 6 种肿瘤细胞增殖的抑制作用，计算其半数抑制率；MDC 染色检测其自噬小泡产生；western blotting 检测 LC3 蛋白表达；JC-1 染色法检测线粒体膜电位变化；硝酸酶法测定细胞培养液中 NO 的含量；DCFH-DA 染色检测细胞内 ROS 含量；荧光素酶法检测细胞

内 ATP 含量。

**结果：**OPDO 抑制 6 种肿瘤细胞增殖，其半数抑制率在 30–70 μmol/L 左右。60 μmol/L OPDO 可以诱导 HepG2 细胞内自噬小泡产生，LC3 蛋白表达量增加，并且 OPDO 释放 NO，诱导 HepG2 细胞内 ROS 含量增加，线粒体膜电位和 ATP 含量降低。另外，OPDO 诱导肿瘤细胞 G2/M 期阻滞，一氧化氮阻断剂 PTIO 可以逆转 OPDO 诱导的 G2/M 期阻滞。

**结论：**OPDO 抑制肿瘤细胞增殖，诱导 HepG2 细胞自噬和 G2/M 期阻滞，其机制与释放 NO 介导的线粒体损伤有关。

**关键词:** 嘧啶核苷；一氧化氮（NO）；活性氧（ROS）；自噬；线粒体；周期阻滞；HepG2 细胞

# 阿司匹林诱导人胶质瘤细胞 U251 凋亡和自噬

吴伟伦[1,2] 梁中琴[1,2]

（1. 苏州大学医学部药理学系 江苏苏州 215123 2. 苏州市衰老与神经退行性疾病重点实验室 江苏苏州 215123）

**目的：**研究阿司匹林(Aspirin)体外抑制 U251 胶质瘤细胞的作用及其机制，探讨自噬在阿司匹林诱导的 U251 细胞死亡中的作用。

**方法：**用不同浓度的 Aspirin 处理人胶质瘤细胞株 U251 细胞，采用 MTT 法观察药物对人胶质瘤细胞 U251 的增殖抑制作用；采用流式细胞仪检测 U251 细胞周期分布的变化；FITC–AnnexinⅤ/PI 双标记检测 U251 细胞的凋亡；应用 MDC 荧光染色检测自噬的发生，Western Blot 检测凋亡相关蛋白 Bcl–2、Caspase–3、LC3、Beclin1 的表达。提取 U251 细胞的 RNA, 应用 Real Time PCR 方法检测 LC3 及 Beclin1 的 mRNA 表达。台盼蓝染色和 3H–TDR 观察用自噬特异性抑制剂 3–MA 阻断自噬后 Aspirin 抑瘤作用的变化。

**结果：**Aspirin 可明显抑制人胶质瘤细胞 U251 的增殖，且此作用呈明显的时间、剂量依赖性；Aspirin 可使 U251 细胞阻滞在 G2/M 期；诱导细胞发生凋亡，下调凋亡相关蛋白 Bcl–2 的表达以及诱导 Caspase–3 激活体增加。MDC 荧光染色结果显示，Aspirin 给药后可诱导 U251 细胞发生自噬；Aspirin 诱导 U251 细胞发生自噬时，自噬特异性蛋白 MAP LC3、Beclin 1 被激活，同时它们的 mRNA 水平与对照组相比也明显升高。用 3–MA 预先抑制自噬后与 Aspirin 单独给药组相比，Aspirin 对 U251 细胞的抑瘤率增加。

**结论：**Aspirin 在体外对胶质瘤细胞 U251 有明显的抑制作用并可能是通过线粒体凋亡途径诱导其凋亡，自噬在此过程中发挥着一定的作用，用自噬抑制剂预处理使 Aspirin 对 U251 细胞的抑瘤率增加说明自噬在早期对胶质瘤 U251 细胞有保护作用。

**关键词：**阿司匹林；细胞周期；细胞凋亡；U251 细胞；自噬；胶质瘤细胞

# 阿司匹林经核因子-κB信号通路抑制胃癌细胞AGS生长

李永金 姚红波 陶燕 黄晓佳 陈永昌
（江苏大学基础医学与医学技术学院 江苏镇江 212013）

**目的：**探讨阿司匹林对胃癌细胞AGS增殖的影响及其对核因子-κB p65（NF-κB p65）表达的影响。

**方法：**培养胃癌细胞株AGS，采用MTT法检测阿司匹林在不同浓度和不同作用时间下对胃癌细胞增殖的影响；流式细胞术检测阿司匹林对细胞周期的影响；Western blotting法和免疫荧光法检测阿司匹林对胃癌细胞NF-κB p65表达的影响。

**结果：**MTT结果显示，在0.1mmol/L至10mmol/L浓度区间内，随浓度增加和时间的延长，阿司匹林对AGS细胞的抑制率逐渐增加。细胞周期中DNA合成前期(G0/ G1期)的比例增加，DNA合成期（S期）比例下降。随着阿司匹林作用浓度增加和作用时间延长，胃癌细胞NF-κB p65的表达逐渐降低。

**结论：**阿司匹林对胃癌细胞AGS的增殖具有抑制作用，阻滞细胞周期,且与阿司匹林的作用浓度和作用时间呈正相关，其作用机制可能是通过抑制胃癌细胞NF-κB p65的表达实现的。

**关键词：**阿司匹林；核因子-κB；信号通路；胃癌细胞AGS

# 纤维连接蛋白对RhoA活性的影响及其机制探讨

李永金 陈永昌 王瑛 陶燕 许文荣
（江苏大学基础医学与医学技术学院药理学系 江苏镇江 212013）

**目的:**研究纤维连接蛋白（Fibronectin）对人胃癌细胞(SGC-7901) RhoA活性的影响，并检测cAMP浓度的变化，探讨其信号转导机制。

**方法：**使用GST Pull down assay检测RhoA活化程度变化，放射免疫方法检测cAMP浓度的变化。

**结果：**在实验中，我们发现与对照组相比，分别向细胞培养液中加入可溶性纤维连接蛋白0.2 μg/ml，1.0 μg/ml作用15分钟，可使胃癌细胞系SGC-7901中的RhoA由GDP结合的非活性形式转变为GTP结合的活性形式，与其底物结合的量增加，有一定的剂量依从关系，而α5β1整合素的抗体可以阻断这一活化过程；同时发现Fibronectin可降低腺苷酸环化酶激动剂forskolin提高胃癌细胞SGC-7901中的cAMP浓度。

**结论：**以上结果显示可溶性纤维连接蛋白能与α5β1整合素结合并诱导RhoA介导的信号转导，其信号通路与cAMP通路有关。

**关键词：**纤维连接蛋白；RhoA

# 柑橘类黄酮诺必擂停对 K562 裸鼠移植瘤的抑制作用

王毓炜[1] 苏梦琪[2] 尹家乐[1] 张洪泉[1]
（1.扬州大学医药研究所 江苏扬州 225001； 2.丽珠医药市场部 广东珠海 519020）

**目的：**观察柑橘类黄酮诺必擂停对 K562 裸鼠移植瘤的抑制作用并探讨其在抑制肿瘤血管生成方面的作用及机制。

**方法：**构建 K562 裸鼠移植瘤模型，25 只裸鼠分为模型组、诺必擂停低剂量组、中剂量组、高剂量组和阳性对照组（n=5），造模 24 h 后分别给与 1%羧甲基纤维素钠溶剂、诺必擂停（12.5、25、50 mg·kg−1）和环磷酰胺（20 mg·kg−1），连续给药 18d，处死，取肿瘤称重计算抑瘤率；免疫组化法检测药物对肿瘤组织 VEGF 表达及 MVD 的影响；鸡胚绒毛尿囊膜实验测定药物对血管新生的作用。

**结果：**诺必擂停可显著抑制 K562 裸鼠移植瘤的生长：抑瘤率达到 36～58％，与模型组比较有显著差异($P < 0.01$)；能显著降低肿瘤组织内微血管生成：诺必擂停低、中、高剂量组 CD34 表达均低于模型组（中、高剂量组分别 $P<0.05$，$P<0.01$）；抑制 VEGF 的表达：诺必擂停低、中、高剂量组 VEGF 均低于模型组（分别 $P<0.05$，$P<0.01$ 和 $P<0.01$）；抑制 CAM 血管新生：2 μg 及 4 μg 作用下 CAM 微血管数显著低于对照组（$P<0.01$）。

**结论：**诺必擂停可以抑制 K562 裸鼠移植瘤的生长以及肿瘤血管的生成，其作用机制可能与下调肿瘤组织 VEGF 的表达有关。

**关键词：**诺必擂停；K562；裸鼠；血管内皮生长因子；微血管密度；鸡胚绒毛尿囊膜

# 23-羟基白桦酸协同增敏抗肿瘤药的体外药效学研究

郑媛婷 吴晓兰 周芳 王广基
（中国药科大学药物代谢动力学重点实验室 江苏南京 210009）

**目的：**研究 23-羟基白桦酸（23-HBA）和抗肿瘤药联合用药的体外药效学。

**方法：**选择多种不同组织来源的肿瘤细胞包括 NCI-H460、SGC7901、HepG2、Sarcoma180，采用 MTT 法进行 23-HBA 对阿霉素（DOX）协同增敏作用的药效学研究，并采用联合指数（Combination Index）的方法进行定量药效学评价。

**结果：**23-HBA（0.2，2，20μM）浓度依赖性地增加了 DOX 在 NCI-H460、SGC7901、HepG2、Sarcoma180 细胞上的细胞毒作用。两药合用在上述四种细胞上的联合指数 CI 值均小于 1，说明两药具有药效学协同作用。进一步的研究发现 23-HBA 对 P-gp 底物型抗肿瘤药 DOX、紫杉醇具有协同增敏的作用，而对非 P-gp 底物的抗肿瘤药 5-氟尿嘧啶却没有明显的增敏作用。

**结论：**23-HBA 体外协同增敏 P-gp 底物型抗肿瘤药。

**关键词：**23-羟基白桦酸，协同增敏；抗肿瘤药

# TGF-β1、Smad4 在宫颈鳞状细胞癌中的表达和熊果酸对 SiHa 细胞的作用

杜秀銮[1] 王修珍[1] 蒋小岗[2,3] 顾振纶[2,3]
（1. 苏州大学医学部病理学系 江苏苏州 215123 2. 苏州大学医学部药理学系 江苏苏州 215123
3. 苏州中药研究所 江苏苏州 215007）

**第一部分**

**目的：**讨 TGF-β1、Smad4 蛋白在宫颈鳞癌中的表达及其与临床病理的关系。

**方法：**用免疫组化 S-P 法检测 TGF-β1、Smad4 蛋白在 89 例宫颈鳞癌组织和 19 例正常宫颈组织中的表达，分析它们的表达情况与患者临床病理的关系，以及 TGF-β1 和 Smad4 蛋白表达的相关性。

**结果：**GF-β1 蛋白在宫颈鳞癌组织中的阳性表达率为 71.9%，与正常宫颈组织的阳性表达率(31.1%)有显著差异(P<0.01)，且表达强度与病理分级和浸润深度相关(P<0.05)，与宫颈鳞癌的临床分期、淋巴结转移及患者年龄无关(P>0.05)。Smad4 蛋白在宫颈鳞癌组织中的阳性表达率为 32.6%，与正常宫颈组织的阳性表达率(100%)有显著差异(P<0.01)，且表达强度与病理分级有关(P<0.05)，与临床分期、浸润深度、淋巴结转移、年龄均无关(P>0.05)。TGF-β1 和 Smad4 蛋白的表达无相关性(r=0.11, P>0.05)。

**结论：**GF-β1 和 Smad4 蛋白的表达均与宫颈鳞癌的病理分级相关，有望作为判断宫颈鳞癌恶性程度的指标，TGF-β1 在宫颈鳞癌生长、浸润过程中发挥一定作用。

**第二部分**

**目的：**察熊果酸(ursolic acid, UA)对人宫颈鳞癌 SiHa 细胞的抑制作用并探讨其作用机制。

**方法：**氮唑蓝(methyl thiazolyl tetrazolium,MTT)法观察 UA 对 SiHa 细胞增殖的影响；Wright-Giemasa 染色、Hoechst33258 荧光染色和透射电镜观察凋亡细胞形态变化；流式细胞仪检测 SiHa 细胞周期和细胞凋亡率的变化；RT-PCR 检测 SiHa 细胞 TGF-β1 mRNA 和 Smad4 mRNA 表达的变化。

**结果：**显抑制宫颈鳞癌 SiHa 细胞的生长，并呈时间和浓度依赖趋势；Hoechst33258 荧光染色可见胞核染色质不均，呈颗粒状荧光，透射电镜可见胞质浓缩，核染色质凝聚致密，附着在核膜下等典型的凋亡细胞核形态变化；流式细胞仪检测显示 UA 作用后细胞周期阻滞在 G0/G1 期，并见到细胞凋亡峰；RT-PCR 检测显示 TGF-β1mRNA 的表达减少，并呈时间依赖趋势，Smad4 mRNA 表达随时间延长而增加。

**结论：**A 对人宫颈鳞癌 SiHa 细胞具有抑制增殖和诱导细胞凋亡的作用，并使 SiHa 细胞周期阻滞于 G0/G1 期。其机制可能与 UA 上调 Smad4 基因表达，恢复 TGF-β/Smads 信号传导通路有关。

**关键词：**颈鳞状细胞癌；转化生长因子-β1；Smad4；UA；SiHa 细胞；凋亡

# hTERT、Bcl-2 在宫颈鳞癌中的表达及冬凌草甲素抑制人宫颈癌 SiHa 细胞增殖作用研究

任亚敏[1] 王修珍[1] 蒋小岗[2,3] 顾振纶[2,3]
（1. 苏州大学医学部病理学系 江苏苏州 215123 2. 苏州大学医学部药理学系 江苏苏州 215123
3. 苏州中药研究所 江苏苏州 215007）

**目的：**探讨 hTERT 及 Bcl-2 在宫颈鳞癌中的表达及其临床意义；研究冬凌草甲素（Oridonin，Ori）对人宫颈癌 SiHa 细胞增殖的抑制作用及其机制。

**方法：**应用免疫组化 SABC 法检测 hTERT 及 Bcl-2 在 89 例宫颈鳞癌及 20 例正常宫颈组织中的表达。采用 MTT 法测定 Ori 对 Siha 细胞增殖的抑制作用；Wright- Giemasa 染色、Hoechst 33258 荧光染色、透射电镜观察 Ori 处理 SiHa 细胞后的细胞形态学改变；采用流式细胞仪检测 Ori 对 SiHa 细胞凋亡的影响；应用 RT-PCR 检测 Ori 处理后 SiHa 细胞中 hTERT、Bcl-2 及 c-myc mRNA 的表达。

**结果：**在正常宫颈组织和宫颈鳞癌组织中，hTERT 表达的阳性率分别为 20.0%、76.4%，差异显著（P<0.01）；Bcl-2 的表达阳性率分别为 35.0%、79.8%，有显著性差异（P<0.01）；且在宫颈鳞癌组织中 hTERT 的阳性表达与 Bcl-2 的阳性表达呈正相关性（P<0.01，r=0.332）。MTT 法检测显示 Ori 能显著抑制 SiHa 细胞的生长，且具有浓度和时间依赖趋势。流式细胞仪检测显示，15 μM Ori 作用 SiHa 细胞 48 h 后，其凋亡率为 14.0%，并使细胞周期阻滞在 S 期， 30 μM Ori 组凋亡率较 15 μM 组下降。Wright-Giemasa 和 Hoechst 染色可见 SiHa 细胞变圆，胞浆减少，核染色质边集。电镜可见 SiHa 细胞线粒体肿胀，内质网囊泡状扩张，核染色质边集、浓缩，细胞膜完整且边界清楚，部分细胞坏死成碎片状。RT-PCR 分析显示随着 Ori 浓度的增加，hTERT、Bcl-2 及 c-myc mRNA 的表达均呈下降趋势。

**结论：**hTERT、Bcl-2 蛋白在宫颈鳞癌组织中阳性表达率显著高于正常宫颈组织，二者共同参与并协同促进宫颈鳞癌的发生与发展。hTERT 随着宫颈鳞癌恶性级别增加呈升高表达的特性，使其有望成为判断宫颈鳞癌恶性程度的参考指标之一。Ori 能显著抑制 SiHa 细胞增殖，低剂量可诱导 SiHa 细胞凋亡，高剂量可诱导 SiHa 细胞凋亡并致细胞坏死。冬凌草甲素诱导 SiHa 细胞凋亡可能与其抑制 hTERT、Bcl-2 和 c-myc mRNA 表达有关。

**关键词：**宫颈鳞癌，免疫组化，冬凌草甲素，凋亡，SiHa 细胞.

# 熊果酸对乳腺癌 SK-BR-3 细胞增殖、凋亡的影响及其机制研究

徐新伟[1] 郭玲玲[1] 蒋小岗[2,3] 顾振纶[2,3]
（1. 苏州大学医学部病理学系 江苏苏州 215123 2. 苏州大学医学部药理学系 江苏苏州 215123
3. 苏州中药研究所 江苏苏州 215007）

**目的：**研究熊果酸(Ursolic Acid ,UA) 对人乳腺癌 SK-BR-3 细胞增殖和凋亡的影响，结合人体乳腺癌组织凋亡相关蛋白表达检测，探讨其作用机制，为 UA 的临床应用提供实验依据。

**方法：**采用四氮唑蓝(methyl thiazolyl tetrazolium ,MTT) 比色法观察 UA 对 SK-BR-3 细胞

增殖的影响；光镜、Hoechst 33258 荧光染色及电子显微镜观察经 UA 处理后 SK-BR-3 细胞的形态变化； DNA 琼脂糖凝胶电泳观察 UA 作用后 SK-BR-3 细胞凋亡的生化特征；流式细胞仪检测 UA 对 SK-BR-3 细胞周期和凋亡率的影响。应用免疫组织化学技术检测 ER（-）、HER2（+）的人体乳腺癌组织中凋亡相关蛋白 COX-2、Bax、Bcl-2 蛋白的表达情况。RT-PCR 技术进一步检测 UA 作用下 SK-BR-3 细胞中 COX-2、Bax、Bcl-2 mRNA 的表达变化。

**结果：**UA 对 SK-BR-3 细胞的增殖具有显著抑制作用( P<0.05) ,并呈时间和剂量依赖趋势，UA 作用于 SK-BR-3 细胞 24 h、48 h、72 h 的 IC50（50% inhibitory concentration，半数抑制浓度）分别为 〉60 μmol/l、 31.54 μmol/l、24.16 μmol/l；经 UA 处理后的 SK-BR-3 细胞可呈现典型的细胞凋亡形态学改变：胞核皱缩，染色质浓集；DNA 琼脂糖凝胶电泳显示凋亡特征性梯状条带;流式细胞仪检测结果显示 10-30 μmol/L 的 UA 作用 48 h 使 SK-BR-3 细胞阻滞在 G0 / G1 期( P<0.05);UA 作用 48 h 后能使乳腺癌 SK-BR-3 细胞中 COX-2 、Bcl-2 mRNA 表达明显减少( P<0.05)，使 Bcl-2 / Bax 比值减小(P <0.05)，而对 Bax mRNA 的表达未见明显影响；COX-2、Bcl-2、Bax 蛋白在 ER（-）， HER2（+）的乳腺癌组织中的表达阳性率分别为 86.67% (26/30), 63.33% (19/30),56.67%(17/30), COX-2 与 Bax 表达呈明显负相关（r=-0.37864 ，P<0.05），与 Bcl-2 未见明显相关性。

**结论：**UA 可抑制 SK-BR-3 细胞增殖和诱导细胞凋亡，并呈时间和剂量依赖趋势；该作用可能与 UA 抑制 COX-2 、Bcl-2 mRNA 表达，使 Bcl-2 / Bax 减小以及阻滞细胞周期有关；ER（-）， HER2（+）的人乳腺癌组织中 COX-2 中阳性表达率较高，COX-2 与 Bax 表达呈明显负相关，与 Bcl-2 表达未见明显相关性。

**关键词:**熊果酸；凋亡；HER2；COX-2；Bax；Bcl-2；SK-BR-3 细胞

# 熊果酸对人胰腺癌细胞株 SW1990 的作用及其机制研究

徐龙江[1] 冯一中[1] 蒋小岗[2,3] 顾振纶[2,3]

（1. 苏州大学医学部病理学系 江苏苏州 215123 2. 苏州大学医学部药理学系 江苏苏州 215123 3. 苏州中药研究所 江苏苏州 215123）

**目的：**研究熊果酸(ursolic acid,UA)对人胰腺癌细胞 SW1990 的生长抑制作用，并探讨其作用机制。

**方法：**用不同浓度的 UA 处理人胰腺癌细胞 SW1990，采用 MTT 法测定 UA 对 SW1990 细胞的生长抑制作用、流式细胞术分析细胞周期改变和细胞凋亡；Hoechst 33258 荧光染色、透射电镜等方法观察给药前后细胞的形态变化；RT-PCR 检测 UA 处理 SW1990 细胞前后的基因表达水平变化；同时引入 p53 的抑制剂 PFT-α (pifithrin alpha,PFT-α)做对照研究。应用免疫组织化学染色方法检测胰腺癌中 P53 和 Bcl-2 的表达情况。

**结果：**UA 对 SW1990 细胞生长具有显著的抑制作用，且此作用呈明显的时间、剂量依赖趋势。流式细胞术分析显示，UA 可以诱导人胰腺癌 SW1990 细胞凋亡，引起细胞发生 S 期阻滞；Hoechst 33258 荧光染色、透射电镜观察证实 UA 可以诱导 SW1990 细胞发生凋亡。RT-PCR 分析结果显示 UA（40 μmol/L）作用于胰腺癌 SW1990 细胞，可以调节细胞凋亡相关基因的表达，上调 p53、cytochrome C、caspase-3 的表达，下调 Bcl-2 表达。用 p53 的抑

制剂 PFT-α 预处理 SW1990 细胞后再给予 UA 处理，细胞凋亡现象受到抑制，RT-PCR 结果显示下调 p53、cytochrome C、caspase-3 的表达，上调 Bcl-2 表达。免疫组织化学染色检测结果显示胰腺癌中存在着高频率的 p53 突变。

**结论：**UA 能明显抑制人胰腺癌 SW1990 细胞的生长，并诱导其凋亡，这种作用可能与 p53、cytochrome C、caspase-3、Bcl-2 基因的表达变化相关。

**关键词：**人胰腺癌细胞 SW1990；熊果酸；凋亡；p53；PFT-α

# 运脾温阳方及其拆方对脾虚大鼠胃肠激素干预的研究

朱萱萱 于 莉 王 清 倪文澎 吴旭彤 丁 扬
（南京中医药大学附属医院药理室 江苏南京 210029）

小儿腹泻是儿科的常见病、多发病，严重影响小儿的生长发育和生命质量。尤其是对于迁延性、慢性腹泻。运脾温阳方是治疗小儿迁延性、慢性腹泻疗效可靠的中药制剂。本研究旨在通过对大鼠血清粉酶、分泌型 IgA，小肠二糖酶、前列腺素 E2 含量影响的实验观察，讨论其作用机制，为临床应用提供实验依据。

**目的：**讨论运脾温阳颗粒及其拆方对大黄致脾虚大鼠胃肠激素干预的研究。

**方法：**采用大黄苦寒泄下结合饮食时节法制作脾虚大鼠模型。除正常对照组外，各组大鼠按 2ml/100g 灌胃 100%大黄水煎液，正常对照组给予等体积生理盐水，连续 15 天。灌胃前禁食 8 小时。同时，各给药组按 1ml/100g 体重灌胃给药，正常对照组与模型对照组给予等体积生理盐水，共 15 天。末次给药后禁食 24h。测定脾虚泄泻大鼠血清淀粉酶、分泌型 IgA，小肠二糖酶、前列腺素 E2 的含量。

**结果：**与正常组比较，模型组大鼠血清淀粉酶、分泌型 IgA，小肠二糖酶明显减少，前列腺素 E2 明显增加；运脾温阳方及其拆方能提高大黄致脾虚大鼠血清淀粉酶、分泌型 IgA 含量，增加小肠二糖酶，降低前列腺素 E2。

**结论：**运脾温阳方及其拆方对脾虚大鼠胃肠激素有明显的调节作用，且全方组均优于各拆方组。

**关键词：**运脾温阳方；脾虚；大鼠；胃肠激素

# 化瘀通络法对脑缺血再灌损伤大鼠的实验研究

于 莉 朱萱萱 吴旭彤 张忠华
（南京中医药大学附院 江苏南京 210029）

化瘀通络法是我院神经科用以治疗急性出血性脑中风的有效组方。由郁金，制大黄，水蛭等组成。前期实验表明化瘀通络法组方对急性血瘀大鼠全血低切粘度值，血浆粘度值，细胞压积和红细胞最大聚集指数明显降低，同时缩短 PT 和延长 FIB 时间，具有较好的活血化瘀作用。

**目的：**探讨化瘀通络法组方对急性出血性脑中风治疗作用。

**方法：**采用结扎大鼠双侧颈总动脉，造成脑缺血再灌损伤模型。检测脑含水量，血清及

脑组织中 SOD，MDA 和 NO 含量。

**结果：** 模型大鼠脑组织和血中的 SOD 活力和 NO 含量明显降低，而 MDA 含量显著增高，脑含水量增加，反映了急性脑缺血时，自由基损伤明显，抗自由基损伤能力下降，细胞内钙超载致自由基生成过多，消耗大量抗氧化剂，加之脑组织缺血、缺氧，能量耗竭，神经元代谢障碍，三磷酸腺苷生成减少等因素。

**结论：**化瘀通络颗粒可明显抑制急性脑出血早期过氧化脂质降解产物 MDA 的作用。同时，增强抗氧化剂 SOD 活力，激活 NOS 活性，使 NO 生成和释放增多。该作用为化瘀通络法组方治疗急性出血性脑中风的重要机制之一。

**关键词：**化瘀通络法；大鼠；脑缺血；再灌注

# 津血源颗粒对干燥综合症模型鼠的干预研究*

朱萱萱 钱先 倪文澎 吴旭彤 丁 杨 苏 梦
（南京中医药大学附属医院药理室 江苏南京 210029）

津血源颗粒是江苏省中医院的院内制剂，钱先教授等在对 72 例干燥综合症患者的临床研究发现津血源颗粒对发热、乏力、纳差、眼干涩、眼异物感、口干、口角溃烂、鼻干、皮肤瘙痒等主要症状，增加患者唾液流率，降低血沉等方面显示出了满意的疗效。为探讨津血源颗粒治疗干燥综合症的相关机理，本文参照文献建立 SS 鼠模型，观察津血源颗粒对 SS 鼠 CD4+/CD8+比值和颌下腺病理学改变的影响。

**目的：**探讨津血源颗粒对 SS 模型鼠的治疗作用。

**方法：**采用弗氏完全佐剂和百日咳、白喉、破伤风联合疫苗+同种鼠颌下腺抗原诱导，同时每天以 0.6mg/kg 利血平与 50mg/kg 甲状腺素灌胃，连续 4 周，建立类似临床 SS 动物模型。以津血源颗粒对 SS 模型鼠进行干预，观察津血源颗粒对 SS 模型鼠 CD4+T 细胞、CD4+/CD8+比值和颌下腺病理学改变的影响。

**结果：**SS 模型鼠 CD4+T 细胞增多，CD4+/CD8+比值增高，颌下腺腺泡萎缩及导管狭窄，腺泡及导管周围见明显淋巴细胞浸润。 津血源颗粒可减少 CD4+T 细胞；CD4+/CD8+比值降低；缓解颌下腺损伤并减轻病理改变。

**结论:**津血源颗粒可明显改善 SS 模型鼠的症状，对 SS 具有一定的治疗作用。

**关键词：**津血源颗粒；干燥综合症（SS）；小鼠

# 三拗汤类方对卵蛋白致敏哮喘模型作用的物质基础与作用机理研究

纪蕾蕾 时 乐 徐 立 冯 里 范欣生
（南京中医药大学药理教研室 江苏南京 210029）

临床常用由麻黄、杏仁和甘草 3 味中药组成经典方三拗汤及加减而得的各类方辨治哮喘,

本课题拟通过致敏原–卵蛋白(OVA)诱发的哮喘模型及多环节效应评价指标，探讨三拗汤及其类方作用的共性及差异性。结合中医整体观和辨证施治的原则，从整体、器官、细胞、分子水平探讨类方的组方原理及物质基础，为进一步阐明三拗汤类方的作用机理提供实验依据。

**目的：**通过三拗汤及其类方、三种部位群，四种提取工艺三个层次提取液对 OVA 致敏哮喘模型的抗过敏性哮喘实验，探寻三拗汤及其类方抗哮喘的物质基础和作用机理。

**方法：**复制稳定、可靠的 OVA 致敏哮喘豚鼠和小鼠模型，考察受试动物引喘潜伏期、行为学评分、气道反应性、血嗜酸性粒细胞(EOS)含量、支气管肺泡灌洗液(BALF)中白细胞总数及分类、细胞因子如白介素–4、5(IL–4、5)，干扰素γ(IFN–γ)水平及病理组织学等指标变化，比较三拗汤及其类方及不同层次提取液对过敏性哮喘模型的影响。

**结果：**水煎液中三拗汤大剂量组，三拗汤类方Ⅱ中、小剂量组，类方Ⅰ中剂量组；三种部位群中三拗汤类方Ⅰ和Ⅲ挥发油、三拗汤类方Ⅰ和Ⅱ水提醇沉溶液部位；四种提取工艺中三拗汤类方Ⅰ、Ⅲ的乙酸乙酯部位和三拗汤、三拗汤类方Ⅱ的正丁醇部位。特别是各层次中相应的三拗汤类方Ⅱ水煎液；挥发油和水提醇沉溶液部位群；乙酸乙酯提取物组分群，可明显延长引喘潜伏期，降低行为学评分、气道阻力和 BALF 中 EOS 百分率、改善 BALF 中 IL–4、IL–5、IFN–γ水平和肺组织病理学评分。与模型组相比有显著差异($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

**结论：** 三拗汤及其类方水煎液，三种部位群及四种工艺提取物各剂量组干预 OVA 致敏哮喘模型豚鼠、小鼠的作用，提示三拗汤作为基础方与加桔梗而得类方Ⅰ、加制半夏而得Ⅱ抗过敏性哮喘效果明显，特别是三拗汤大剂量，三拗汤类方Ⅰ中剂量，三拗汤类方Ⅱ中、小剂量组。挥发油和水提醇沉溶液部位是各方中的两大主要有效部位群，加细辛而得三拗汤类方Ⅲ挥发油对于抑制呼吸道 EOS 的产生和聚集效果最为显著。水提醇沉溶液中乙酸乙酯、正丁醇提取物具有明显调节免疫，改善症状作用，是有效成分集中部位，其中三拗汤类方Ⅰ水提醇沉溶液乙酸乙酯部位大、中剂量组作用尤为显著，值得继续深入研究。

**关键词：**三拗汤及类方，过敏性哮喘，引喘潜伏期，气道阻力，嗜酸性粒细胞，细胞因子

# 三拗汤及类方对 TMA 致哮喘模型大鼠作用、作用机理及物质基础研究

冯 里 时 乐 范欣生 纪蕾蕾 徐 立
（南京中医药大学药理教研室 江苏南京 210029）

**目的：**建立职业性哮喘大鼠模型并借助该模型对三拗汤及类方的作用和作用的物质基础进行探讨。

**方法：**以低分子量化工原料 TMA 作为致敏剂，复制职业性哮喘大鼠模型，以行为学体征、血及支气管肺泡灌洗液细胞学检查、肺组织病理学检查和离体气管条乙酰胆碱激发实验为评判指标，对三拗汤及类方水煎液、乙酸乙脂部位及其量效关系进行评价。

**结果：**TMA 致哮喘大鼠造模成功,模型大鼠明显出现呼吸短促、缩胸收腹，血及支气管肺泡灌洗液中 EOS 细胞百分比及浓度均有不同程度的升高；肺组织病理检查可见肺支气管上皮细胞变性坏死脱落，支气管腔内可见大量嗜酸性粒细胞、单核细胞、淋巴细胞等炎性渗出物，以及管壁增厚，管腔狭窄等炎症表现。

三拗汤及类方对 TMA 致哮喘模型大鼠均有不同程度的改善作用，其中以类方Ⅲ对各指标的改善最为明显。

类方Ⅲ对 TMA 致哮喘模型大鼠影响的量效关系呈明显的正性相关，大剂量作用最为明显，中剂量次之，小剂量作用最弱。

类方Ⅲ乙酸乙脂部位对 TMA 致哮喘模型大鼠影响的量效关系也呈明显的正性相关，大剂量作用最为明显，中剂量次之，小剂量作用最弱。

**结论：**通过大鼠行为学体征、血和 BALF 中血液学检查和肺组织病理检查可见 TMA 致大鼠哮喘模型具有职业性哮喘的主要特征，表明模型建立成功。

在各类方中，类方Ⅲ对 TMA 致哮喘模型大鼠各指标的改善最为明显，并具有明显的量效关系。

类方Ⅲ乙酸乙脂部位对 TMA 致哮喘模型具有明显对抗作用，且呈明显的量效关系。

**关键词：**三拗汤；职业性哮喘；动物模型；物质基础

# 通塞脉片对动脉粥样硬化大鼠 MMP-9/TIMP-1 的影响

修媛娟 胡 晨 蒋凤荣 殷书梅 卞慧敏*

（1.南京中医药大学中医药研究院 江苏 南京 210029 2.江苏省中药药效与安全性评价重点实验室 江苏 南京 210029）

**目的：**复制大鼠动脉粥样硬化模型的同时用通塞脉片（TSM）干预，观察 TSM 抑制大鼠动脉粥样硬化形成的作用。

**方法：**雄性 Wistar 大鼠，随机分为 5 组，每组 10 只，为正常组、模型组、辛伐他汀组、TSM 高剂量组和 TSM 低剂量组。除空白对照组给以普通饲料喂养外，其他组饲以高脂饲料及维生素 D3，建立食饵性动脉粥样硬化模型。14 周后检测血脂、超氧化物歧化酶（SOD）、丙二醛（MDA）及基质金属蛋白酶-9（MMP-9）、组织金属蛋白酶抑制因子-1（TIMP-1）。

**结果：**模型组总胆固醇（TC）、低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）、动脉硬化指数（AI）、MDA 含量均明显升高，SOD 活性降低，MMP-9 和 TIMP-1 表达均增强，TSM 可降低 TC、LDL-C、MDA 含量和 AI，升高 SOD 活性， 抑制 MMP-9、TIMP-1 表达（$P<0.05$~$0.01$）。

**结论：**TSM 可以通过调节血脂代谢，抑制 MMP-9 的表达，阻止动脉粥样硬化的形成。

**关键词：**通塞；动脉粥样硬化；SOD/MDA；MMP-9/ TIMP-1；大鼠

# 生津润燥颗粒对干燥综合征大鼠模型的影响

卞慧敏* 修媛娟 俞晶华 姜 森

（南京中医药大学江苏省中药药效与安全性评价重点实验室 江苏南京 210029）

**目的：**观察生津润燥颗粒对干燥综合征模型大鼠的治疗作用。

**方法：**利用免疫诱导法建立干燥综合征大鼠模型，并以 ELISA 法检测模型大鼠血清 IgG、TNF-α、Fas、Fas-L、IL-2R 含量。

**结果：**生津润燥颗粒能降低模型大鼠血清 IgG、TNF-α、Fas、Fas-L、IL-2R 含量。

**结论：**生津润燥颗粒可以通过降低 IgG、TNF-α、Fas、Fas-L、IL-2R 水平，而减轻模型大鼠的病变。

**关键词：**干燥综合征；生津润燥颗粒；颌下腺；大鼠

# 黄芩苷的解热作用与内生致热原的关系研究

李倩楠 葛晓群

（扬州大学医学院药理教研室 江苏扬州 225001）

**目的：**观察黄芩苷对酵母性发热大鼠的解热作用及对致热性细胞因子的影响，探讨黄芩苷的解热效应与内生致热原（EP）的关系。

**方法：**复制酵母性发热大鼠模型，观察灌胃给予黄芩苷（160mg·$kg^{-1}$、80mg·$kg^{-1}$、40mg·$kg^{-1}$）对大鼠的解热效应，采用双抗体夹心 ELISA 法测定发热高峰大鼠下丘脑、脑脊液及血清中 IL-1β、TNF-α和 IL-6 含量，并对其解热作用与 EP 的关系进行回归分析。

**结果：**1.黄芩苷解热效应：模型组大鼠皮下注射酵母混悬液后 6h 开始发热，8h 肛温达高峰，发热持续 14h 以上，△T 最高为（1.45±0.62）℃，与对照组相比有显著性差异（$P<0.01$）。给予黄芩苷高、中、低剂量后，发热高峰时的△T 分别为（0.57±0.34）℃、（0.89±0.26）℃、（1.17±0.57）℃，与模型组相比，高、中剂量黄芩苷能明显降低发热大鼠的体温（$P<0.01$）。2.黄芩苷对 EP 的影响：（1）IL-6：黄芩苷高剂量组大鼠血清、脑脊液和下丘脑中 IL-6 含量均明显降低（$P<0.01$，$P<0.05$），中、低剂量组血清与脑脊液中含量也呈现显著降低（$P<0.01$），但下丘脑中含量下降无统计学意义（$P>0.05$）；（2）TNF-α：黄芩苷高、中剂量组血清、下丘脑和脑脊液中 TNF-α含量均明显降低（$P<0.01$），低剂量组脑脊液中含量也有所降低（$P<0.05$），但血清与下丘脑中其含量变化无统计学意义（$P>0.05$）；（3）IL-1β：黄芩苷高、中剂量组血清、下丘脑中 IL-1β含量明显降低（$P<0.01$，$P<0.05$），但小剂量组无统计学意义（$P>0.05$）。3. 相关性分析：黄芩苷对体温变化的抑制率与血清、下丘脑、脑脊液中 TNF-α含量变化率呈正相关（$r=0.862$，$P<0.01$），与 IL-1β含量变化率也呈正相关（$r=0.873$，$P<0.05$），但与 IL-6 的变化率之间无相关性（$r=0.379$，$P>0.05$）。

**结论：**黄芩苷的解热作用可能与直接减少外周和中枢 TNF-α和 IL-1β的含量有关。

**关键词：**黄芩苷；解热作用；内生致热原

# 赤芍治疗黄疸型肝炎有效部位筛选及提取工艺研究

罗琳[1] 窦志华[2] 徐济良[1] 张伟[1] 吴锋[1]

（1、南通大学医学院 江苏南通 226001 2、南通市第三人民医院 江苏南通 226001）

**目的：**赤芍为毛茛科植物芍药 Paeonia lactiflom Pall 或川赤芍 Paeonia veitchii Lynch 干燥根，主要含有芍药苷，芍药内酯苷，羟基芍药苷等单萜类化合物。有研究表明，以赤芍为主药用于长期重度胆汁淤积症疗效显著且大剂量使用未见明显毒副反应。但赤芍治疗黄疸型肝

炎的研究目前仍停留在单味药或复方层次，其药效物质并不十分清楚。本研究以赤芍总苷为主要目标，采用药效跟踪的方法，对赤芍治疗黄疸型肝炎的有效部位进行分离、纯化研究。

**方法：**本研究首先建立了 HPLC 同时测定芍药中芍药苷和芍药内酯苷含量的方法，并使用该法对市场上 5 种来源的赤芍饮片进行测定，优选了本试验用药。然后对通常采用的醇提水沉和水提醇沉的赤芍提取工艺进行比较，确定了醇提水沉的提取工艺。接着采用α萘异硫氰酸酯诱导小鼠胆汁淤积模型对赤芍的乙醇提取浸膏和剩余药渣的水提取部位进行药效跟踪筛选，

**结果：**赤芍浸膏的降酶作用优于阳性药赤丹退黄颗粒，退黄作用与其相似，而赤芍水提液没有明显的降酶退黄作用。对于乙醇提取浸膏进一步经 D101 型大孔树脂分离纯化处理，所得的赤芍总苷中芍药内酯苷和芍药苷的纯度分别由 0.60％和 11.53％提高到 2.25％和 62.01％。而且该工艺放大 30 多倍后的 3 次试验结果基本与小试一致。最后对纯化赤芍总苷与醇提浸膏加水后的沉淀及水沉上清液过大孔树脂柱后的流出液、水洗液及 95％乙醇洗柱液的合并浓缩液即其余部分进行了药效比较。结果表明，赤芍总苷各剂量组能明显降低胆汁淤积模型小鼠血清学的各项指标，且具有一定的剂量依赖关系，提示其具有较好的降酶退黄作用。沉淀各给药组也显示了较好的降酶退黄作用，但剂量依赖性不显著，而其余部分给药组没有显示出退黄或降酶的护肝作用。

**结论：**赤芍治疗胆汁淤积型肝炎的有效药物成分主要在赤芍总苷和沉淀中。采用 D101 型大孔吸附树脂分离纯化赤芍提取物中赤芍总苷是可行的，预计该工艺可以用于规模生产。

**关键词：**赤芍；有效部位；赤芍总苷；黄疸型肝炎；提取工艺

# 关于召开“江苏省药理学会中药药理第三届学术会议”第三轮通知

各有关单位：

中药药理作为一门年轻的，朝气蓬勃的学科，在中医药现代化进程中发挥越来越重要的作用，中药药理已成为中医药与现代科学最富活力的结合点，日益展现出巨大的开发潜力和产业前景。为了进一步提高我省中药药理研究水平，加强学术交流促进我省中药药理的快速发展。经过研究，江苏省药理学会中药药理专业委员会于 2009 年 9 月下旬在南京主办“江苏省中药药理与中医药现代化学术研讨会”。现将有关事项通知如下：

**一、参会对象**

各医药院校、制药企业、科研院所、医疗机构相关专业人员。

**二、会议征文内容**

1. 传统中药药理和现代生物化学技术相结合；
2. 中医证病模型的建立与应用。
3. 中药制剂新进展的研究与开发
4. 中药新药的药效研究的关键技术与问题

**三、会议形式与主讲专家**

本会将邀请中国药科大学、南京大学、南京中医药大学、苏州大学等专家作大会报告

**四、会议时间**：2009 年 9 月下旬，会期二天。

**五、会议地点**：南京中医药大学海洋中心会议厅。

**六、征文要求**： 参会代表需提交尚未公开发表的论文中英文摘要。要求按结构式摘要要求撰写，即包括“目的、方法、结果、结论”组成，字数不超过 500 字或全文。截稿日期 2009 年 8 月 30 日。请参会代表在论文截稿日前发 E-mail:zhuxuanxuan@sina.com 或 qzj804@hotmail.com

**七、授予学分**：参会代表可获得江苏省继续教育学分 5 分。

**八、会务费**：参会代表收取会议注册费 300 元（包括资料费），研究生减半。

**九、联系方式**

联系人及电话：朱萱萱：86555797 E-mail:zhuxuanxuan@sina.com

邱召娟：13951982707 E-mail:qzj804@hotmail.com

江苏省药理学会中药药理专业委员会

2009 年 7 月