维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2003)05－0568－03

人参皂甙对 K562 细胞表面分化抗原及造血生长因子受体表达的影响

陈婷梅[1]，王亚平[2]，陈地龙[3]

(重庆医科大学 1. 检验系临床免疫学教研室，2. 基础医学院组胚教研室，3. 研究生处，重庆 400016)

【摘 要】目的：进一步探讨人参皂甙(TSPG)诱导 K562 细胞分化的作用机制及了解 K562 细胞的生物学特点，为开发 TSPG 临床应用提供理论与实验依据。方法：采用形态学观察和流式细胞术等方法，研究 TSPG 在诱导 K562 细胞向较为成熟细胞分化过程中，对其表面分化抗原及造血生长因子受体表达的影响。结果：TSPG 可诱导 K562 细胞向较成熟的红系、粒系细胞分化，作用后细胞表达 CD_{15}、HIR_2、EPO－R 和 GM－CSF－R 的阳性细胞率均有所升高。结论：K562 细胞为分化受阻滞的异常造血祖细胞，其生物学特点与正常人多向造血祖细胞(CFU－Mix)相似；TSPG 诱导 K562 细胞成熟分化的作用机理可能与 TSPG 促进 K562 细胞 EPO－R、GM－CSF－R 表达升高有关。

【关键词】人参总皂甙；K562；CD_{15}；HIR_2；EPO 受体；GM－CSF 受体

【中国图书分类法分类号】R733.7；R32.43 【文献标识码】A 【收稿日期】2002－12－19

Effect of total saponins of Panax ginseng on K562 cells in expressing clusters of differentiation antigen and hematopoietic growth factor recepters

CHEN Tingmei, et al

(*Faculty of Laboratory Medical Sciences, Chongqing Medical University*)

【Abstract】 *Objective*: To clarify further the mechanisms for total saponins of Panax ginseng(TSPG) in inducing differentiation of K562 cells, and to provide the theoretical basis and the experimental evidence of its clinical application. *Methods*: By using cell culture in vitro, morphological observation and flow cytometry, the effect of TSPG on K562 cells in expressing CD_{15}, HIR_2, EPO－R and GM－CSF－R were studied. *Results*: The results indicated that TSPG could induce the differentiation of K562 cells toward proerythroid cells and progranulocytic cells. It was also shown that after induction by TSPG, the ratio of positive K562 cells expressing CD_{15}, HIR_2, erythropoietin recepter(EPO－R) and granulocyte－macrophage colony stimulating facter recepter(GM－CSF－R) increased. *Conclusion*: K562 cells are abnormal cells whose differentiation are blocked, but its biological features are similar to the normal hematopoietic stem cells. The mechanism for TSPG inducing differentiation of K562 cells may be related to the higher expression of EPO－R and GM－CSF－R.

【Key words】 TSPG; K562; Induced differentiation; CD_{15}; HIR_2; EPO－R; GM－CSF－R

人参(Panax Ginseng C. A. Meyer)是祖国医学的“补气”要药，人参总皂甙(Total Saponins of Panax Ginseng, TSPG)是其主要药物成分之一。近 10 年来，我们采用现代实验血液学方法已经证明：TSPG 是一种适应原性药物，具有双向调节作用，它既能促进造血干/祖细胞增殖分化及其信号转导、诱导造血生长因子基因表达[1]，又能抑制白血病细胞增殖，并可诱导白血病细胞凋亡和向较成熟细胞分化[2,3]。

K562 细胞是具有多向分化潜能的人红白血病细胞株，在药物等诱导因素的作用下可向红系、粒系和巨核系细胞分化[4]，既往研究已表明 TSPG 可诱导 K562 细胞向较为成熟的红系、粒系细胞分化。为进一步探讨 TSPG 诱导 K562 细胞分化的作用机制及了解 K562 细胞的生物学特点，采用流式细胞仪检测 TSPG 对 K562 细胞表面分化抗原(CD_{15}、HIR_2)和造血生长因子受体(EPO－R、GM－CSF－

作者介绍：陈婷梅(1969－)，女，讲师，硕士，
主要研究方向：肿瘤细胞逆转、分化和凋亡及其机制的研究。

基金项目：国家自然科学基金(39670880)。

维普资讯 http://www.cqvip.com

R)表达的影响,旨在为开发人参皂甙的临床应用提供理论与实验依据。

1 材料和方法

1.1 人参总皂甙

重庆中药研究所惠赠,纯度 95% 以上,用 RPMI－1640 液配成所需浓度。

1.2 K562 细胞

由本校临床生化教研室惠赠,用含 10% 小牛血清的 RPMI－1640 液常规传代培养。

1.3 主要药品与试剂

1.3.1 RPMI－1640 培养基,美国 GIBCO 公司产品;小牛血清(批号 990402)购自杭州四季青公司。

1.3.2 小鼠抗人 CD_{15} 单克隆抗体购自北京中山生物技术有限公司,小鼠抗人 HIR_2 单克隆抗体购自天津血研所,大鼠抗人 EPO－R 单克隆抗体购自晶美生物工程公司,大鼠抗人 GM－CSF－R 单克隆抗体购自美国 Pharmingen 公司。

1.3.3 牛血清白蛋白 美国 Sigma 公司产品。

1.3.4 FITC 标记的兔抗小鼠 IgG 抗体和兔抗大鼠 IgG 抗体购自北京中山生物技术有限公司。

1.4 实验方法

1.4.1 细胞培养

K562 细胞在含 10% 小牛血清的 RPMI－1640 液中常规培养传代。

1.4.2 TSPG 对 K562 细胞的作用

收集对数生长期细胞,调整细胞浓度为 1×10^5/ml,TSPG 作用终浓度为 200μg/ml,作用 3、6 天,收集细胞,光镜、电镜观察。

1.4.3 流式细胞仪检测 TSPG 对 K562 细胞表面分化抗原(CD_{15}、HIR_2)、造血生长因子受体(EPO－R、GM－CSF－R)表达的影响

用 PBA(0.01MPBS＋0.2% 牛血清白蛋白＋0.1 叠氮钠)洗涤细胞 2 次,分别加入 CD_{15}、HIR_2、EPO－R 和 GM－CSF－R 的单克隆抗体进行间接免疫荧光染色,FCM(Becton－Dickinson 公司)检测 10000 个细胞,数据经计算机处理,计算阳性细胞百分率。

2 结 果

2.1 TSPG 作用 K562 细胞形态学改变

对照 K562 细胞体积大,多呈圆形,核园形或椭园形,核仁清楚,核浆比例大,胞浆内未内颗粒。电镜下对照细胞核电子密度低,核仁大而边移,胞质内细胞器较少。200μg/ml TSPG 作用 K562 细胞 6 天后,细胞体积缩小,核浆比例减小,有的细胞胞浆可见特殊颗粒增多,电镜下有的细胞胞浆可见血红蛋白的合成,形似中幼红细胞,有的细胞胞浆出现溶酶体,形似中幼粒细胞。

2.2 200μg/ml TSPG 作用 K562 细胞 3、6 天后,经 FCM 检测,实验组细胞表达 CD_{15}、HIR_2、EPO－R 和 GM－CSF－R 的阳性细胞率均有所升高,升高强度为 $HIR_2>CD_{15}$,EPO－R＞GM－CSF－R,其阳性细胞百分率与作用时间呈正相关(表 1)。

表 1 FCM 检测 TSPG 作用 K562 细胞 6 天细胞表达 HIR_2、CD_{15}、EPO－R 和 GM－CSF－R 的结果(%)

组别	细胞表面分化抗原		造血生长因子受体	
	HIR_2	CD_{15}	EPO－R	GM－CSF－R
对照组	19.91±2.13	3.05±0.38	21.35±4.08	5.84±7.50
实验组	56.27±10.78**	12.96±1.62*	46.31±3.03**	11.33±6.23*

*:$P<0.05$(Compared with control)

**:$P<0.01$(Compared with control)

3 讨 论

K562 细胞是具有多向分化潜能的人红白血病细胞株,在药物等诱导因素的作用下可向红系、粒系和巨核系细胞分化,是研究细胞增殖与分化的理想模型。血细胞在向成熟细胞分化过程中,不同类型和不同分化阶段的造血细胞具有不同的表面分化抗原。细胞分化抗原 CD_{15} 是从中幼粒细胞开始表达的细胞表面分化抗原,随着细胞成熟,其表达阳性率和阳性程度增强;血型糖蛋白 A_2(HIR_2)是幼红细胞和成熟红细胞的特异标志。采用 FCM 检测了 TSPG 对 K562 细胞表面分化抗原(CD_{15}、HIR_2)表达的影响,结果显示:TSPG 作用 K562 细胞后,表达 CD_{15} 和 HIR_2 的阳性细胞率均有所增强,提示 TSPG 可诱导 K562 细胞向红系、粒系分化,这也证实了我们以前的研究结果[2]。

现代血液学理论认为血细胞的增殖分化与成熟都受到造血调控因子的调节,造血调控主要在造血

维普资讯 http://www.cqvip.com

干/祖细胞阶段进行。红细胞起源于红系造血祖细胞(BFU－E、CFU－E),粒细胞和单核巨噬细胞起源于粒单系祖细胞(CFU－GM),这些造血祖细胞膜表面具有与造血调控因子(如 EPO、GM－CSF 等)相结合的受体,当 EPO 与 EPO－R 结合、GM－CSF 与 GM－CSF－R 结合,启动调控信号核内转导,引起核内某些基因转录增强或其它基因转录抑制,最终表现出蛋白质合成改变,导致细胞增殖、分化和成熟。据此,我们观察了 TSPG 对 K562 细胞表面造血生长因子受体(EPO－R、GM－CSF－R)表达影响的结果,结果显示:TSPG 作用后 K562 细胞表面表达 EPO－R 和 GM－CSF－R 的阳性细胞率均有所增强,这与以往研究人参总皂甙对正常人造血祖细胞生长因子表面受体表达的影响结果一致[5],由此推测:K562 细胞为分化受阻滞的异常造血祖细胞,其生物学特点与正常人多向造血祖细胞(CFU－Mix)相似;TSPG 诱导 K562 细胞成熟分化的作用机理可能与 TSPG 促进 K562 细胞 EPO－R、GM－CSF－R 表达升高有关。但在目前的研究条件下,尽管我们延长 TSPG 作用时间至 14 天,仍未观察到大量的更成熟的分化细胞出现。若构想将 TSPG 与一些造血生长因子(如 EPO、GM－CSF)协同作用于 K562 细胞,是否能达到诱导其向终未分化的目的,这一工作我们现在正在进行。

参 考 文 献

[1] 王 勇,王莎莉,王亚平,等.人参总皂甙对造血生长因子活性及其 mRNA 表达的影响[J].解剖学报,1999;30(4):362－364.

[2] 陈婷梅,王亚平.人参总皂甙对 K562 细胞增殖抑制与诱导分化的实验研究[J].重庆医科大学学报,1999;24(2):115－116.

[3] 陈婷梅,王亚平,陈地龙,等.人参总皂苷诱导 K562 细胞凋亡的实验研究[J].中草药,2003;34(3):235－237.

[4] Tabilio A, Pelicci P G, Vinci G, et al. Myeloid and megakaryocytic properties of K562 cell lines[J]. Cancer Res, 1983;43:4569－4573.

[5] 王 勇,王莎莉,王亚平,等.人参总皂甙对造血生长因子产生的影响[J].免疫学杂志,1996;12(1):25－27.

(上接第 563 页)

行了研究,发现 HIFU 线扫造成离体子宫肌瘤损伤的阈扫描时间随焦点声强的增加而减少;在阈扫描时间以上,随着扫描时间的延长,损伤体积不断增大;在离体实验中,HIFU 的损伤范围主要与声功率及脉冲时间有关[3,4],而 HIFU 能效关系是指损伤范围与治疗剂量的关系,所以能效关系亦与声功率及持续时间有关,在不同声功率下 HIFU 切除子宫肌瘤的能效关系的研究中发现,能效关系随声强及扫描时间不同而发生变化,随着声强的增大,其能效因子最佳时间点出现滞后,既在阈扫描时间之后出现,提示在 HIFU 治疗中确定一定声强下造成不同组织损伤的阈辐照时间及最佳能效因子出现的辐照时间具有重要意义,在阈辐照时间及最佳能效关系状态下进行治疗,可保证对肿瘤进行有效治疗的同时避免能量浪费及组织过度损伤的发生。本实验发现,线长 15mm,焦点声强 5762.7W/cm^2 扫描损伤,造成子宫组织出现阈损伤的扫描时间正好是其最佳能效因子出现所需的辐照时间,提示在用 15mm 线长的扫描损伤方式切除子宫肌瘤时,焦点声强 5765.7W/cm^2,辐照 45s 是较适宜的治疗参数。但由于扫描线的长短亦与损伤范围相关,故不同线长下的最佳扫描参数尚需进一步研究。

参 考 文 献

[1] 常淑芳,顾美礼,伍 烽,等.氯化苯基四氮唑染色在高强度超声生物学焦域观测中的应用[J].中国超声医学杂志,2000;16(9):641－644.

[2] Wang Zhibiao, Wu Feng, Wang Zhilong, et al. Concept of biological focal field and its importance in tissue resection with high intensity focused ultrasound[J]. J Acoust Soc Am, 1998;103:2869.

[3] 王智彪,伍 烽,王芷龙,等.高强度聚焦超声治疗 H_{22} 肝肿瘤的效果:不同治疗方案的评价[J].临床超声医学杂志,1998;9(4):221－223.

[4] Damianou C, Hynynen K. The effect of various physical parameters on the size and shape of necrosis tissue volume during ultrasound surgery[J]. J Acoust Soc Am, 1994;95(3):1641－1649.