维普资讯 http://www.cqvip.com

尽管非心肌组织缺血对心肌的保护作用确切机制到目前为止尚不完全清楚，但作者认为本实验具有非常重要的临床意义。因为当冠状动脉血栓事件发生前，有短暂的非心肌组织如股动脉缺血则可明显减小心肌坏死面积，像间歇性肠绞痛患者，甚至间歇性跛行患者可能有较长的时间窗行溶栓或PTCA治疗，以挽救缺血濒死的心肌。本实验同样支持像张力预处理，心室起搏等保护心肌的报道。相信最终非心肌组织缺血将替代临床上不适用的心肌缺血预处理，在需长时间心肌缺血前应用，以发挥对心肌的保护作用，为人类自身应用预处理对心肌的保护作用提供了广阔的前景[9,10]。

参考文献

1.Gho BCG, et al. Circulation 1996;94:2193
2.Jassen BJ, et al. Am J Physiol 1989;257:R29
3.Chien Gl, et al. Cardiolvaso Res 1994;28:1014
4.Duncker DJ, et al. Am J Physiol 1996;270:H1189
5.Downey JM, et al Ann N Y Acad Sci 1994;723:82
6.Mitchell MB, et al. Circ Res 1995;76:73
7.Li YW, et al. Am J Physiol 1995;268:H426
8.Lawson CS. Cardiovasc Res 1994;28:1461
9.Kloner RA. J Am Coll Cardiol 1994;24:1133
10.Verdouw PD. Eur Heart J 1995;16:1169

(收稿日期 1998－05－10)

Myocardial protection by brief ischemia in noncardiac tissue

Wang Yuexi, et al
Department of cardiology, college of clinical medicine

Brief coronary artery occlusion (CAO) pretect myocardium. Whether ischemia in remote organs protects myocardium is unknown. 15 minutes (brief) occlusion of the mesensteric artery (MAO) and formal artery (FAO) can also protect against myocardial infarction as effectivelly as CAO. The present study may have important clinical implication, because it suggest that ischemia in remote organs could result in cardioprotection when it procedes a coronary thrombotic event

KEY WORDS Ischemia; Myocardium infarction

115-119 (2)

人参总皂甙对K_{562}细胞增殖抑制与诱导分化的实验研究

R733.705

医学检验系 临床微生物教研室 陈婷梅*
基础医学院 组胚教研室 王亚平

提 要 采用细胞体外培养，流式细胞术、形态学观察、组化与免疫细胞化学等方法，研究人参总皂甙(TSPG)对K_{562}细胞增殖与分化的影响。结果表明：TSPG对K_{562}细胞增殖具有明显的抑制作用，并能阻止K_{562}细胞由G0/G1期向G2/M+S期过渡；经200μg/ml的TSPG诱导后，K_{562}细胞形态趋向成熟分化；联苯胺染色、糖原染色和HIR_2，CD_{w11}阳性表达细胞数显著提高，且阳性强度增加。推测TSPG是能抑制白血病细胞增殖并诱导其分化的天然诱导剂，但对其机理有待进一步探讨。

白血病 细胞增殖

关键词 人参总皂甙；K_{562}细胞；增殖；诱导分化
中图分类号 R733.7

* 女，1969－12月出生，讲师

维普资讯 http://www.cqvip.com

近年来，肿瘤诱导分化剂的研究日渐增多，尤其是从中药和天然药物中寻找和提取诱导分化剂已成为治疗白血病等肿瘤的新途径[1]。人参是中药临床"补气"要药，具有"补气生血"之功效，人参皂甙是其主要药物成份。我们既往的研究证明：人参皂甙是促进造血的有效成分，它能通过诱导造血调控因子生成等途径促进造血细胞的增殖与分化[2]。本文采用实验血液学手段，研究人参总皂甙对K_{562}白血病细胞增殖、分化的影响，旨在为寻找抗白血病等肿瘤细胞的中药诱导剂提供理论与实验依据。

1 材料和方法

1.1 人参总皂甙(Total Saponins of Panax Ginseng，TSPG) 四川省中药研究所提供，纯度85%以上，用RPMI—1640培养液稀释成所需浓度。

1.2 K_{562}细胞 华西医科大学钩端螺旋体病研究室提供，用含10%小牛血清的1640液常规传代培养。

1.3 主要药品与试剂 RPMI—1640培养基，Scotland Flow Laboratories产品；MTT(噻唑蓝)，美国Sigma公司产品；小牛血清，成都华西生化制品厂购买；PAS，POX组化试剂盒，HIR_2及CD_{15}单抗，购自中科院血研所；CD_{w41}单抗购自北京邦定生物医学公司。

1.4 TSPG对K_{562}细胞增殖抑制实验

1.4.1 MTT法 参照文献[3]进行，取对数生长期的K_{562}细胞，调整细胞浓度为1×10^5/ml，实验组：在培养体系中加入不同浓度的TSPG；对照组：加等量1640培养液，置37℃含5%CO_2的培养箱中分别培养1～5天，测定OD值，计算增殖抑制率：

$$\text{抑制率}=\frac{\text{对照组OD}-\text{实验组OD}}{\text{对照组OD}}\times100\%$$

1.4.2 细胞周期测定 取对数生长期的K_{562}细胞，实验组：在培养体系中加入终浓度为200μg/ml的TSPG；对照组：加入等量的1640液，培养3天，碘化丙啶染色，经流式细胞仪(Becton—Dickinson Fac Star Plus)检测1×10^4个细胞/样本，经计算机处理分析细胞周期各时相的比例。

1.5 TSPG对K_{562}细胞诱导分化影响的形态学观察

取对数生长期的K_{562}细胞，TSPG的诱导分化终浓度为100μg/ml、200μg/ml、300μg/ml、400μg/ml、500μg/ml，分别诱导1～9天，经形态学观察发现200μg/ml的TSPG诱导3天时分化作用最强。因此，取经200μg/mlTSPG诱导3天的K_{562}细胞和对照组K_{562}细胞离心涂片，瑞氏染色，光镜观察形态学，每张涂片用测微尺随机测量50个细胞胞体、胞核直径，计算核/浆比例。同时取TSPG诱导组和对照组K_{562}细胞，分别经3%戊二醛预固定，1%四氧化锇后固定，环氧树脂包埋，作超薄切片，经电子染色后，H—600型电镜观察摄片。

1.6 TSPG诱导K_{562}细胞分化的组化与表面膜抗原检测

经200μg/ml的TSPG诱导K_{562}细胞3天后，细胞经离心

表1 TSPG对K_{562}细胞的增殖抑制作用

浓度	作用时间(d)				
(μg/ml)	1	2	3	4	5
对照组	0.943±0.046[Δ]	0.902±0.044	0.912±0.065	0.897±0.017	90833±0.037
100	0.922±0.022	0.843±0.023 *	0.833±0.036 * *	0.800±0.018 * *	0.727±0.041 * *
	2.222[ΔΔ]	6.541	8.652	10.81	12.72
200	0.833±0.016	0.599±0.012 * *	0.448±0.037 * *	0.573±0.031 * *	0 550±0.042 * *
	6.360	33.59	50.88	36.12	33.97
300	0.854±0.024 * *	0.479±0.024 * *	0.370±0.008 * *	0.234±0.017 * *	0.162±0.010 * *
	10.39	46.89	59.42	73.91	80.55
400	0.610±0.020 * *	0.177±0.011 * *	0.170±0.036 * *	0.130±.014 * *	0.153±0.008 * *
	35.31	80.38	81.35	88.51	81.63
500	0.590±0.013 * *	0.150±0.018 * *	0.126±0.010 * *	0.079±0.007 * *	0.116±0.024 * *
	37.43	83.37	86.18	91.19	86.07

Δ OD值 ΔΔ 抑制率(%)
* $P<0.05$ * * $P<0.01$

维普资讯 http://www.cqvip.com

涂片，分别进行PAS、POX、联苯胺染色。PAS，POX细胞化学染色按试剂盒说明书进行，联苯胺染色参照文献;CD_{15}、HIR_2、CD_{w41}检测用间接免疫荧光染色法，并设立阴性对照组去除非特异荧光，结果经流式细胞仪检测1×10^4细胞/样品，分析得出阳性细胞百分率。

2 结果

2.1 TSPG对K_{562}细胞增殖抑制作用

2.1.1 MTT法结果显示TSPG对K_{562}细胞的增殖抑制作用与药物的浓度和作用时间有关(表1)。

2.1.2 TSPG对K_{562}细胞增殖周期的影响

流式细胞术分析表明：对照组中处于G2/M+S期的K_{562}细胞占90.4%，经200μg/mlTSPG作用3天后，G2/M+S期的K_{562}细胞比例减少至71.0%，G0/G1期细胞增多，提示TSPG能阻止K_{562}细胞由G0/G1期向G2/M+S期过渡，从而抑制K_{562}细胞的增殖。

2.2 TSPG对K_{562}细胞诱导分化作用

2.2.1 光镜

对照组K_{562}细胞，细胞体积较大，多呈圆形，核圆形或椭圆形，染色浅淡，核仁清楚、核/浆比例大，胞浆可见疱状，胞浆内未见颗粒(图1)；经200μg/mlTSPG诱导3天的K_{562}细胞，胞体及核/浆比例减小(图2，表2)，核染色质粗糙，但核仁仍较清楚。

表2 TSPG对K_{562}细胞核/浆比例的影响

分 组	细胞直径(μm)	核/浆比例(%)
对照组	20.84±5.20	74.90±7.23
TSPG	15.33±4.17*	60.12±7.76*

* $P<0.01$

2.2.2 电镜

对照组K_{562}细胞体积大，核电子密度低，核仁大而明显，边移，核膜内凹，胞质内细胞器较少，有较多的核糖体(图3)，200μg/mlTSPG诱导3天后，K_{562}细胞异染色质增多，核仁变小，电子密度增加，可见粗面内质网，部分细胞胞浆内可见高尔基体并出现中等电子密度的膜被颗粒(图4)。

2.2.3 组化染色和联苯胺染色结果

经200μg/mlTSPG诱导后的K_{562}细胞，PAS反应阳性细胞增加。对照组与实验组的K_{562}细胞POX染色均为阴性，实验组K_{562}细胞联苯胺染色阳性细胞数增加，提示TSPG可诱导K_{562}细胞合成血红蛋白(表3)。

2.2.4 表面膜抗原检测结果

与对照组比较，实验组K_{562}细胞HIR_2、CD_{w41}表达阳性细胞数有显著提高，而CD_{15}升高不明显(表3)。

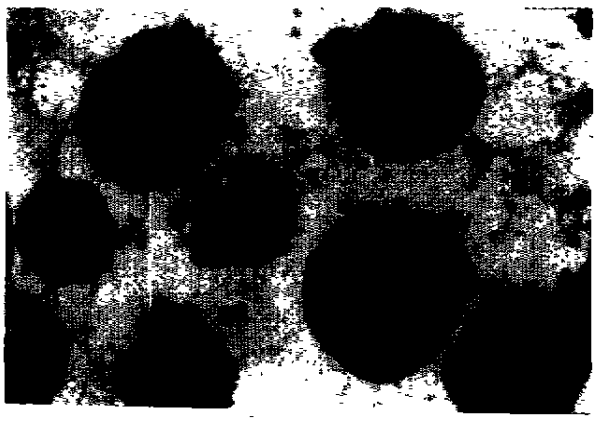


图1 对照组K_{562}细胞，细胞体积较大，多呈圆形或椭圆形，染色浅淡，核仁清楚，核/浆比例大，胞浆可见疱状，胞浆内未见颗粒。(瑞氏染色， ×330)

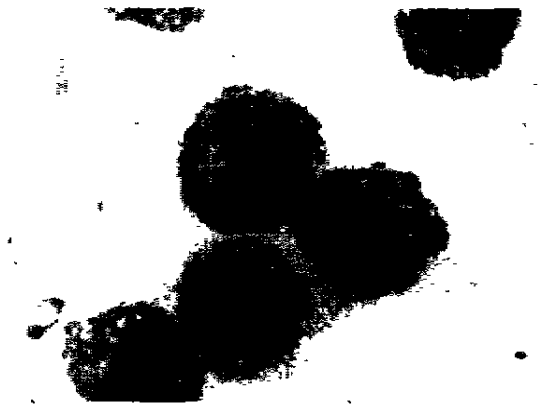


图2 TSPG诱导3天的K_{562}细胞，胞体减小，核/浆比例减小。(瑞氏染色， ×330)

维普资讯 http://www.cqvip.com



图3 对照组K_{562}细胞，细胞体积大，核电子密度低，核仁大而明显，边移，核膜内凹。(电镜，×4000)



图4 TSPG诱导3天的K_{562}细胞，细胞异染色质增多，核仁变小，电子密度增加。(电镜，×6000)

表3 TSPG对K_{562}细胞诱导分化作用的影响

阳性细胞百分率(%)	对照组	实验组	P
PAS	63	78	<0.05
联苯胺染色	1.0	8.0	<0.01
HIR_2	12.56	36.56	<0.01
CD_{15}	49.44	51.17	>0.05
CD_{W41}	34.60	41.59	<0.01

3 讨论

白血病的生物学特征是造血干细胞增殖失控，分化成熟受阻及正常凋亡机制被抑制。我们用MTT法检测了TSPG体外作用对K_{562}细胞增殖的影响，结果表明:100μg/mlTSPG已对K_{562}细胞增殖显示明确的抑制作用，且随加入药物浓度提高和作用时间的延长，其增殖抑制率也增加。细胞周期中G2/M+S期细胞比例代表了细胞群体中处于活跃增殖状态的细胞数，它从一个侧面反映了细胞增殖状况。本文采用流式细胞术(FCM)进一步探讨了TSPG对K_{562}细胞增殖抑制的机理。结果显示:经200μg/mlTSPG作用后，G2/M+S期的K_{562}细胞显著减少，而G0/G1期细胞增多。由此推测TSPG可通过抑制细胞DNA合成而对K_{562}细胞增殖起抑制作用。我室既往工作证实:TSPG在体内、外能促进正常造血干/祖细胞增殖分化，促进细胞进入增殖活跃的G_2/M+S期[2]。TSPG对正常造血细胞和白血病细胞的增殖为何表现为两种完全相反的结果？这是否与某些中药如人参等的"双向调节"作用有关，有待进一步深入探讨。

目前认为细胞的分化应表现在形态、功能及生化三个方面。本文采用形态学、组化与免疫细胞化学等方法，观察了经TSPG诱导后的K_{562}细胞光镜、电镜形态、酶学和膜分化抗原表达。结果显示:经TSPG诱导后，K_{562}细胞体积、核/浆比例变小，核仁减少或消失，且密度增大，核膜下异染色质增多，胞浆中可见中等电子密度的膜被颗粒或染色呈明显的嗜多色性，其形态趋于成熟方向分化。经TSPG诱导后，表达HIR_2、CD_{W41}的K_{562}细胞数显著增加，且联苯胺阳性细胞数也明显提高，推测TSPG能诱导K_{562}细胞向红系与巨核系细胞分化。尽管形态学观察表明TSPG能诱导K_{562}细胞向粒系分化，但CD_{15}和POX表达与对照组相比无明显差异，需有待进一步研究。

综上所述，我们既往研究证明TSPG可促进造血干/祖细胞增殖，本文研究结果表明TSPG能抑制K_{562}白血病细胞增殖，并诱导其向红系、巨核系细胞分化，提示TSPG有可能成为既能促进正常造血，又能抑制白血病等肿瘤细胞增殖，并诱导其分化的天然诱导剂。TSPG对正常造血和白血病细胞作用为何表现为两种相反的结果、具有深入研究的价值。

维普资讯 http://www.cqvip.com

参 考 文 献

1.陈婷梅,等.中国中西结合杂志 1993,15(5):317
2.王亚平,等.解剖学报 1997;28(3):304
3.王瑞雪,等.重庆医科大学学报 1991;16(4):330

(收稿日期 1998－07－02)

Experimental study on the effect of proliferation and differentiation of K_{562} cell treated with TSPG

Chen Tingmei, et al

Department of microbiology, faculty of medical laboratory sciences

By using cell culture ex.vivo, flow cytometry (FCM), morphological observation, cytochemistry and immunocytochemistry, the effects of Total Saponins of Panax Ginseng (TSPG) on proliferation and differentiation of K_{562} cells were studied. The results indicated that TSPG could markedly inhibit the proliferation of K_{562} cells, block K_{562} cells entering the active proliferative phase ($G_2/M+S$), and promote K_{562} cells to differentiate toward the mature blood cell. Our experiment also showed that after induced by TSPG, the ratio of positive K_{562} cells of expressing HIR_2 CD_{w41}, glycogen, benzidine stain is obviously higher than that of control. Combining with our previous ressearch works, we infer that TSPG may be one of the natural inducers which can not only enhance normal hematopoiesis, but also inhibit proliferation of such cancer cells as leukemia cells, and induce differentiation of these cells. The mechanism should be continually studied.

KEY WORDS TSPG; K_{562} cells; Proliferation; Differentiation

119-123 (3)

苦参提取液诱导K_{562}细胞分化的研究

成都军区总医院放射介入病房 秦建平* 顾 明 赵 碧
检验系 蒋纪恺 张 彦 王霞文

R733.705

提 要 利用体外培养技术，以K_{562}细胞为实验模型，通过K_{562}细胞的生长曲线，细胞形态，乳酸脱氢酶活性，血红蛋白测定等，观察了苦参提取液对K_{562}细胞的诱导分化作用。以MTT法结合细胞形态探讨苦参提取液作用K_{562}细胞的有效分化浓度及有效作用时间。研究结果表明:12mg/ml浓度的苦参提取液作用K_{562}细胞二天，从形态到代谢都发生了变化。LDH活性明显降低;血红蛋白生成;细胞增殖明显受到抑制。电镜形态提示，细胞向似红细胞系、粒细胞系及单核细胞系分化。

关键词 苦参; K_{562}细胞株; 诱导分化 白血病 苦参提取液.
中图分类号 R285.5

白血病是血液系统早期细胞分化受阻、反分化导致不能形成有正常功能细胞而引起的疾病，其治疗主要有化疗、骨髓移植等。但疗效尚不能令人满意。因此探讨新的治疗途径显得十分必要而迫切。1978年Leo Sachs报告恶性肿瘤细胞可以分化为较成熟或较良性的细胞以来，有关诱导分化剂的研究及应用已有不少文献报道[1]。目前已知一些化

*男，1965－11出生，主治医师