维普资讯 http://www.cqvip.com

151,150

苦参对K562红白血病细胞系诱导分化作用

检验系临床生化教研室 秦建平* 蒋纪恺 张 彦 王霞文 R733.7

提 要 以K562人类红白血病细胞系为实验模型，在体外观察了苦参促进细胞系的诱导分化作用。结果表明，苦参可使K562细胞产生明显的形态学上的分化，细胞增殖能力明显下降。

关键词 红白血病；苦参；分化
中图分类号 R282.07

苦参系豆科属植物，有报导其提取液对白血病细胞有抑制和诱导分化作用[1]。促使白血病细胞向正常成熟方向逆转的研究有助于了解细胞增殖、分化机理。K562细胞是分化较差且具有分化潜能的细胞，是理想的实验模型。

材料与方法

1. **苦参**(Sophora flavescens Ait)，产地四川。

2. **苦参提取液制备** 苦参干燥压粉。取1g苦参加10ml水浸泡2小时，100℃水浴加热1小时，收集上清液，共提取2次。将上清液1000r/min离心20分钟，取上清液蒸发至2ml，高压灭菌待用。浓度为0.5g/ml苦参。

3. **细胞与培养** K562细胞引自本校病理生理教研室。培养液为RPMI-1640加20%小牛血清(微生物教研室生产)，5%CO_2，37℃培养。

4. **细胞形态学观察** 每天收集细胞涂片，May-Giemsa复染，显微镜下观察细胞形态学变化。

5. **MTT法** 将含10^4—10^5细胞的培养液加入96孔培养板内，每孔200μl，并加入不同浓度的苦参提取液。培养后，1000—1500r/min离心10—15分钟，弃去上清液，再加200μl 1640培养液和20μl MTT(四甲基偶氮唑盐，5mg/ml)，培养4小时再离心弃去上清液，每孔加0.04N HCl-异丙醇200μL/孔，振摇10分钟，在酶标仪600nm下比色[2]。

6 **细胞生长数的观察** 收集细胞，在显微镜下计数。

本系临床生化硕士研究生

结 果

1. **细胞形态学** 未加诱导剂的对照组K562细胞核仁大且核浆比例大。当用8mg/ml参苦与细胞培养二天后，K562细胞则产生了明显的形态学变化，核染色质浓缩变粗，核浆比例变小，胞浆增大，显示成熟表现。提示苦参具有诱导分化K562细胞的作用。

2. **MTT法可以反应细胞增殖能力** 不同苦参浓度作用K562细胞三天，MTT法结果如下：

苦参mg/ml	0	4	8	12	16	20
$X_{A490}(n=3)$	0.313	0.214	0.211	0.141	0.091	0.053

实验结果反映苦参使K562细胞增殖能力下降，可能与分化能力增强有关。

(下转150页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

讨　论

1．从结果中我们发现在高未结合胆红素血症中，胆红素的升高以B_u为主，在高结合胆红素血症中，各个胆红素组分均升高，但在三种结合胆红素中，以B_d升高为主，这可能与它的形成机理有关。

2．Weiss等[3]发现在高结合胆红素血症血清中存在着不同浓度的B_δ，而在高未结合胆红素血症中检测不到B_δ，正常人血中也无B_δ。我们除了未做正常人血清外，从黄疸血清中得到同样结果，因此我们认为B_δ可以用来作为区别高结合胆红素血症和高未结合胆红素血症的指标。

3．通过对病例的连续观察，发现随着病情的好转，B_1/TB、B_u/TB、B_δ/TB均逐渐下降，而B_δ/TB却逐渐升高，Lauff等[2]、Weiss等[3]及Adachi等[4]均得到这样的结果，我们的实验也得到同样的结果，这可能与B_δ分子中白蛋白的半衰期长有关。另外，Weiss等[3]在他们的实验中还发现2例肝功能衰竭病人的B_δ/TB不但未升高反而进行性下降，直至病人死亡。因此B_δ/TB对判断肝胆疾病的预后有重要意义。

参　考　文　献

1　Singh J. et al. J Chromatogr,1986;380：321
2　Lauff JJ, et al. Clin Chem,1983;29：800
3　Weiss Js, et al. N Engl J Med, 1983;309,147
4　Adach, Y, et al. Gastroenterol Jpn,1987;22：633

(收稿日期1994－01－20)

(上接156页)

1　陈英佑，等．中国输血杂志1990;3(2)：88
2　余国定，等．中华血液学杂志1982;3(2)：111
3　韦延勇，等．中华医学检验杂志1991;14(5)：296
4　韦延勇，等．中国输血杂志1991;4(4)：201
5　华玲琳，等．输血与血库专业知识问答
　　辽宁科学技术出版社　1989;41

(收稿日期　1994－01－20)

(上接151页)

3．不同浓度苦参作用K562细胞二天后计数，结果如下：

苦参mg/ml	0	4	8	12	16
细胞数10^5($n=2$)	4.625	1.875	1.815	1.413	1.112

结果与MTT法一致，反映细胞增殖能力下降。

讨　论

实验结果表明，苦参可以诱导分化K562细胞，在形态学上变化明显，并有抑制细胞增殖的能力。有报告沸波酯(TPA)对K562有分化作用，维甲酸可分化HL—60细胞，而对K562无作用，说明二株细胞分化机理有差异。但已有报告苦参对HL—60有较强诱导分化作用[1,3—5]，本文又提示苦参对K562也有明显诱导分化作用，给我们今后的研究提出了新课题。另外从苦参中可分离出苦参碱，氧化苦参碱等17种生物碱，复杂的组分也给研究工作带来困难。有报告血液肿瘤中乳酸脱氢酶(LDH)活性呈上升趋势，在我们工作中，经苦参诱导K562细胞内LDH活性呈下降趋势。这是由合成减少，还是细胞增殖数量减少所致有待探讨。诱导分化肿瘤细胞，使其逆转向正常细胞分化，是新近开展起来的非杀伤性治疗肿瘤的有前途的方法之一。

参　考　文　献

1　徐建国，等．中国中药杂志　1990;15(10)：49
2　李登华，等．癌症，1991;10(3)：226
3　姜绪荣，等．大连医学院学报　1991;13(4)：22
4　陈惠黎．生命的化学，1992;12(4)：7
5　陈子兴，吴伟林．中华肿瘤杂志　1991;13(1)：26

(收稿日期　1994－01－20)