DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.01.035

免疫组化和VG染色结果表明:CIR组bFGF染色呈强阳性,范围广;而SO组呈弱阳性,且范围窄。CIR组胶原纤维染色的强度和面积均大于SO组,具有极显著性差异。半定量分析结果亦显示:CIR组肝组织内bFGF平均积分光密度值和胶原纤维平均面密度值显著大于SO组。值得一提的是,我们发现,胶原纤维的表达部位、强度与bFGF的表达部位、强度呈一致性,其结果与国外学者报道一致[3]。提示bFGF与胶原纤维的产生和沉积有一定的关联性。国内学者研究亦表明bFGF与肝纤维化形成有密切关系[4]。

细胞因子与胶原沉积的关系是通过对胶原生成细胞的调节作用而实现的。实验证明bFGF刺激肌纤维母细胞转化为肌成纤维细胞即储脂细胞,而储脂细胞已被证实能产生诸多细胞外基质成分如胶原蛋白等,从而促进肝纤维化的发生,最终导致肝硬变。

综上所述,bFGF可能在肝纤维化和肝硬变的发生发展过程中起着重要作用。

关键词:碱性成纤维细胞生长因子;肝硬变;胶原
中图法分类号:R575.220.2 文献标识码:B

参考文献:

[1] Kountouras J, Billing B H, Scheuer P J. Prolonged bile duct obstruction: a new experimental model for cirrhosis in the rat[J]. Br J Exp Pathol, 1984, 65(3): 305-311.

[2] Rosenbaum J, Blazejeweski S. Regulation of Ito cell proliferation by soluble factors[J]. J Hepatol, 1995, 22(2 Suppl): 65-70.

[3] Napoli J, Prentice D, Niinami C, *et al*. Sequential increases in the intrahepatic expression of epidermal growth factor, basic fibroblast growth factor, and transforming growth factor beta in a bile duct ligated rat model of cirrhosis[J]. Hepatology, 1997, 26(3): 624-633.

[4] 陈文笔,严家春,马 勇,等. 碱性成纤维细胞生长因子与乙型肝炎致肝纤维化的相关性分析[J]. 中国临床康复,2002,6(1):145-148.

(编辑 陈聪连)

经验交流

文章编号:1000-5404(2004)01-0088-02

6种吉林抗癌中药清除羟自由基及其抗DNA损伤体外实验研究

Scavenging of hydroxyl radical and protection of DNA damage by 6 Jilin anti-tumor Chinese traditional medicines

陈 彪,焦淑萍,尹 荣,段大航 (北华大学医学院机能实验室,吉林 132001)

吉林中药东北天南星(*arisaema amurense maxim*);白屈菜(*chelidonium majusl*);甘草(*glycyrrhiza uralensis fisch*);龙葵(*solanum nigrum L*);光慈菇(*tulipa edulis bak*);苣荬菜(*sonchus arvensis L*)具有抗肿瘤等多方面的作用[1],但他们的作用机制尚未完全解释,它们清除羟自由基(·OH)及抗DNA氧化损伤的作用也少有报道。本研究采用生物化学发光分析技术研究了这6种吉林中药醇提取物清除·OH及抗DNA氧化损伤的作用,从而解释它们防治疾病的部分作用机制。

1 材料与方法

1.1 药材和试剂

天南星、白屈菜、甘草、龙葵、光慈菇、苣荬菜由北华大学附属医院提供,小牛胸腺DNA、邻菲罗啉(Phen)为美国Sigma产品,Vit C、$CuSO_4$、磷酸盐均为国产分析纯。

1.2 仪器

SHG-1型生物化学发光仪(上海上立检测仪器厂)。

1.3 样品制备

分别将以上药材适量用乙醇回流提取,浓缩成1 ml相当于1 g药材备用。临用时用蒸馏水稀释为所需浓度。

1.4 对·OH的清除作用[2]

各测量管中分别加1.7×10^{-3} mol/L Vit C 200 μl,2.8×10^{-3} mol/L $CuSO_4$ 400 μl,酵母菌200 μl,然后分别加入梯度浓度的样品液600 μl,空白对照管加600 μl磷酸钠缓冲液,分别测定各管本底10 s发光强度(CPIOS)。最后加入1% H_2O_2 600 μl,摇匀,启动发光反应,连续测定10 s发光强度,计算药材各浓度的发表抑制率,求出抑制发光强度50%的样品浓度(IC_{50})。

$$发光抑制率(\%)=\frac{空白对照发光强度(cp10\ s)-样品发光强度}{空白对照发光强度(cp10\ s)}\times100\%$$

1.5 对DNA化学发光的影响[3]

各测量管中分别加入不同浓度的样品液50 μl(空白对照管加入同等体积的蒸馏水),再加入2.0×10^{-3} mol/L Phen 50 μl,2.0×10^{-3} mol/L Vit C 20 μl,2.0×10^{-4} mol/L,$CuSO_4$ 50 μl,0.1 mol/L磷酸缓冲液(pH 5.5)730 μl,100 μg/ml小牛胸腺DNA 50 μl,测定各管本底6 s发光强度。最后加入0.5% H_2O_2 50 μl,启动反应[反应终体积为1 发光强度(cp6s),计算药材各浓度ml],检测体系6 s的发光抑制率,求出各种药材对DNA保护作用的IC_{50}。

$$发光抑制率(\%)=\frac{空白对照发光强度(cp6s)-样品发光强度(cp6s)}{空白对照发光强度(cp6s)}\times100\%$$

作者简介:陈 彪(1956-),男,吉林省吉林市人,博士,教授,主要从事中草药开发应用方面的研究,发表论文7篇。电话:(0432)2452575-2174
收稿日期:2003-03-07;修回日期:2003-09-10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2　结果

2.1　6 种吉林抗癌中药醇提取物对 $CuSO_4$-Vit C-H_2O_2-酵母菌体系产生的-OH 的清除作用

研究结果为 5 次平行实验平均值, 见图 1。它们对-OH 具有不同程度的清除作用, 且清除作用与浓度之间存在着正比关系。天南星、白屈菜、甘草、龙葵、光慈菇、苣荬菜 IC_{50}分别为 36.81、5.33、45.11、21.50、18.34、64.12(μg/mL)。

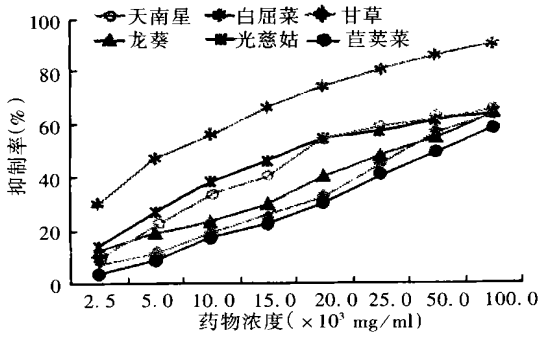


图 1　6 种吉林抗癌中药醇提物浓度与-OH 抑制率之间的关系

2.2　6 种吉林抗癌中药醇提物对 $CuSO_4$-Vit C-H_2O_2-Phen 体系产生的-OH 引发的 DNA 氧化损伤的保护作用

研究结果为 5 次平行实验平均值, 见图 2。它们对-OH 引发的 DNA 氧化损伤具有不同程度的保护作用。发光抑制率与药物浓度之间存在着良好的量效关系。天南星、白屈菜、甘草、龙葵、光慈菇、苣荬菜 IC_{50}(μg/mL)分别为 1.15、1.05、1.27、2.57、8.46、24.1。

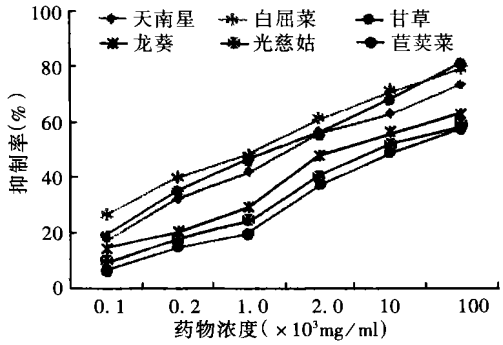


图 2　6 种吉林抗癌药醇提物浓度与 DNA 发光抑制率之间的关系

3　讨论

DNA 氧化损伤产生突变是引起衰老、癌症等疾病的重要原因之一[3,4], DNA 突变与多种因素有关, 氧化损伤尤其是-OH 引发的 DNA 氧化损伤更令人关注[5,6]。中药治疗肿瘤因毒副作用较小越来越受到人们的重视。中药的抗癌机制复杂, 大多数抗癌机制还不十分清楚。本研究显示, 吉林 6 种抗癌中药具有不同程度的保护 DNA 免受-OH 氧化损伤的作用, 防止 DNA 氧化损伤可能是某些中药防治肿瘤机制的一个重要方面。

6 种吉林抗癌中药对 DNA 化学发光产生不同程度的影响, 使 DNA 发光强度下降, 发光峰延迟, 对 DNA 发光强度的抑制率与药物浓度呈正比关系。6 种吉林抗癌中药含有皂甙类、生物碱类、黄酮类、柔质类、维生素类、不饱和脂肪酸类、萜类等化合物[1]。因此, 6 种吉林中药对 DNA 的保护作用可能通过以下 3 条途径来实现: ①是通过药材中含有的高活性抗氧化成分(如黄酮类、柔质类、不饱和脂肪酸类、维生素类等)来补充机体抗氧化物质, 以提高机体内源性抗氧化酶活性, 从而直接消除或修饰攻击性有害物质(如-OH), 使之转变成无危害或危害小的物质, 以防止自由基链式反应的形成和进一步损害; ②是可能通过清除、捕捉链延伸自由基, 使之中断; ③是通过螯合体系中 Fe、Cu 等微量元素, 阻止-OH 的产生, 从而间接发挥其保护 DNA 免受-OH 损伤的作用。

关键词: 羟自由基; DNA 损伤; 天南星; 白屈菜; 甘草; 龙葵; 光慈菇; 苣荬菜

中图法分类号: R285　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1994. 226—296.

[2] 胡天喜. 自由基生命科学进展[M]. 第 5 版. 北京: 原子能出版社, 1997. 86—91.

[3] Patrizia M, Giorgio F, Stefania F, *et al*. Age dependent increase in axidative damage to DNA, lipids and proteins in human skeletal muscle[J]. Free Radic Biol Med, 1999, 26(2): 303—317.

[4] Wiseman H, Kaur H, Halliwell B, *et al*. DNA damage and cancer: measurement and mechanism[J]. Cancer Lett, 1995, 93(4): 113—120.

[5] Dizdaroglu M. Chemistry of free radical damage to DNA and nucleoproteins. DNA and Free Radical[M]. London: Ellis Horwood, 1993. 156—168.

[6] Malins D C, Polissar N L, Gunselman S J, *et al*. Progression of human breast cancers to the metastatic state is linked to °OH radical induced damage[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1996, 93(3): 2557—2563.

(编辑　汪勤俭)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net