

# 目 录

## 全国第十一届生化与分子药理学学术会议

### 大会报告

- 生化与分子药理学的将来 ..... 陈介甫(1)
- 靶向性诱导肿瘤细胞凋亡药物研发 ..... 华子春(2)
- Protein Crystallography and Structure – Based Drug Design ..... Min Yao (2)
- Ion Channel Modulators for Treatment of Neuropsychiatric Disorders ..... 王克威(3)
- 免疫应答的选择性调控 ..... 徐 强(3)
- 基于网络药理学的药物研发新模式 ..... 潘家祜(4)
- All in the timing: comparison of cardioprotection induced by H2S preconditioning  
and post – infarction treatment ..... Jinsong Bian (5)
- CD8 $\alpha$  + DC 新基因的克隆, 功能鉴定与药物研发 ..... Xinying Ji (5)
- The Mystery of Sleep: Molecular Mechanisms of Histaminergic Roles in Sleep – wake  
Regulation ..... 黄志力 曲卫敏 姚明辉(6)
- NEW PROGRESS IN TRANSPORTER AND CHANNEL RESEARCH ..... Sei Sasaki (7)
- 荧光磁性纳米粒子桥联前列腺癌单链抗体在鼠肿瘤模型中分布及靶向治疗研究  
..... 崔大祥 韩月东等(7)
- 代谢组学技术与药物作用机制研究 ..... 司端运(8)
- 多靶点药物治疗进展 ..... 李学军(8)
- 白藜芦醇衍生物 TMS (trans – 3,5,4 – trimethoxystilbene) 在斑马鱼中通过下调  
VEGFR2 和改变细胞周期发挥抗血管新生和血管破坏效应  
..... Deepa Alex, Emilia Conceio Leong, ZaiJun Zhang 等(9)
- 白藜芦醇及其衍生物在 TNF –  $\alpha$  诱导的人脐静脉内皮细胞中的抗炎作用  
..... YanHui Deng, Zaijun Zhang, Deepa Alex 等(10)
- K – ATP 通道与神经 – 胶质网络功能调节 ..... 胡 刚(10)

### 青年优秀论文评比

- 青蒿琥酯对非小细胞肺癌 A549 放射增敏的初步研究 ..... 赵妍妍 周红(11)
- 钙调蛋白激酶在 L 型钙通道 “run – down” 现象发生及恢复过程中的作用

.....	赵美昧 郝丽英(11)
Effect and mechanisms of glycogen synthase kinase -3 $\beta$ (GSK -3 $\beta$ ) on differentiation of malignant glioma cells .....	李 琰(12)
双环醇对酒精中毒小鼠肝脏细胞凋亡的保护作用及机制研究 .....	赵菁 李燕(12)
钠泵在增强肿瘤对化疗药物敏感性中新功能研究 .....	殷武 华子春(13)
隐丹参酮对宫颈癌细胞系 Hela 细胞放射增敏作用及其机制的研究.....	叶因涛 徐文清(13)
Amplification and overexpression of Cks1 inhibits apoptosis of breast cancer cell through MEK - Erk pathway .....	Xiao - Chun Wang Ai - min Meng (14)
PPAR - $\alpha$ 信号通路参与高糖高胰岛素诱导的心肌细胞肥大 .....	王明丰 蒋青松(14)
壬基苯酚对豚鼠心室肌细胞 L - 型钙电流和动作电位的影响 .....	高青华 朱彤(15)
Effect of Topiramate on Serum Proteome of Mice Bearing Lewis Lung Carcinoma .....	Yan Pan Xue - Jun Li (15)
咖啡因所致 IUGR 胎儿 HPA 轴发育异常: 基于海马 GR 的表达调控改变 .....	徐 丹 汪 晖(16)
大黄拮抗 CpG DNA 有效成分的分离制备及活性研究 .....	刘 鑫 郑 江(16)
The physiological roles and molecular mechanisms of GABAB receptor - mediated ERK/CREB and Akt/PKB signaling .....	Haijun Tu Jianfeng Liu (17)
氧化低密度脂蛋白促进脂蛋白相关磷脂酶 A2 在单核细胞中的表达 .....	王文义 王逸平(18)
低氧诱导因子 - 1 $\alpha$ 对恶性胶质瘤细胞分化的影响及机制.....	卢慧敏(18)
谷氨酸引起星形胶质细胞核形态改变 .....	杨春章 于常海(19)

## 抗肿瘤药理

ER $\alpha$ / $\beta$ 蛋白表达与基因启动子甲基化在中国女性散发性乳腺癌中的相关性研究 .....	魏敏杰 赵 琳(19)
小分子 Pin1 抑制剂 XP08075 的抗肿瘤作用研究 .....	金晶 陈晓光(20)
新型 Bcr/Abl 和 Src 双靶点抑制剂 FB2 治疗伊马替尼耐药的慢性髓系白血病的 作用及机理研究 .....	袁霞 陈晓光(20)
吉非替尼与紫杉醇合用于 HERs 高表达胃癌细胞的实验研究 .....	刘振佳 陈晓光(20)
黄酮类抗肿瘤先导化合物的研究 .....	刘巍 李祎亮 徐为人等(21)
PTEN 缺失的前列腺癌细胞中 PI3K 的激活机理 .....	蒋新农 Steve P. Balk (21)
格列苯脲通过激活 ROS - JNK 通路发挥抗肿瘤作用 .....	钱霞 李菁 胡刚等(22)
CpG ODN107 对人脑胶质瘤放射增敏作用及其机制研究 .....	蒋为薇 颜伟 周红(22)
肿瘤血管生成及其供血模式研究进展 .....	季宇彬 周婷婷 邹翔(23)
藻胆蛋白主要生物活性研究进展 .....	季宇彬 徐博慧 高世勇(23)

MAPK 信号转导通路与肿瘤细胞凋亡 .....	季宇彬 孙胜男 邹翔 高鹏(24)
GHGKHKNK 八肽抑制小鼠恶性黑色素瘤 B16 - F10 转移及其机制的实验研究 .....	杜培革 吕刚 高莉因等(24)
蛇葡萄素与苯并芘合用对大鼠肝组织内 CYP 和 GST 基因表达的影响 .....	杨秀芬 钟正贤 高倩倩等(25)
半边旗二萜类化合物 5F 下调 BEL - 7402 细胞中 PIK3CA 和 AKT 的表达 .....	吴科锋 吕应年 梁念慈等(26)
绿茶提取物 EGCG 对肺癌细胞 HIF - 1 $\alpha$ 和 VEGF 表达的影响 .....	唐旭东 周新 周克元等(26)
细胞凋亡的线粒体途径机制研究 .....	孙桂超 邹翔 季宇彬(26)
4 - 氨基 - 2 - 三氟甲基苯基维甲酸酯诱导 K562 细胞分化的作用及细胞周期阻滞的作用机制 .....	阮晶晶 陈飞虎 汪渊等(27)
类胰岛素结合蛋白 - 6 和甲状腺素受体 $\alpha$ 1 相互作用并干扰 TR: RXR 异二聚体的形成 .....	裘佳 王岚 陈虹 黄秉仁(27)
柚皮素硫酸酯对兔全血血小板聚集的影响 .....	刘文 段宁 梁念慈等(28)
黄酮类抗肿瘤先导化合物的研究 .....	刘巍 李祎亮 徐为人等(28)
粟米草中抗肿瘤化学成分的研究 .....	刘可越(29)
半边旗提取物 5F 诱导肝癌细胞株 HepG2 发生凋亡的机制 .....	李立 吕应年 GG Chen 等(29)
康艾注射液体外对肿瘤细胞增殖抑制作用的对比研究 .....	黄素培 海灵 郗娜(29)
桦树皮有效部位抑制肿瘤血管生成研究 .....	陈平华 李岩(30)
半边旗提取物 5F 对人高转移肺癌细胞 PGC13 侵袭转移的影响 .....	陈杰 覃燕梅 梁念慈等(30)
螺旋藻多糖的生物活性研究 .....	季宇彬 侯洪宝 高世勇(31)

## 神经药理

PTD - BDNF 跨血脑屏障作用及神经营养活性研究 .....	周建平 李前 孙曼霖(31)
谷氨酸引起星形胶质细胞核形态改变 .....	杨春章 于常海(32)
强啡肽原及其转录调节因子 DREAM 在星形胶质细胞的表达和功能 .....	孙峰波 于常海(32)
左旋丁基苯酞改善 AD 转基因小鼠学习记忆缺失 .....	彭英 冯亦璞 王晓良等(32)
胍丁胺调节阿片功能的分子和神经生物学机制 .....	李锦 苏瑞斌 吴宁 李斐(33)
肾上腺素诱导分化的 PC12 细胞中微管相关蛋白 - 2C 磷酸化的机制研究 .....	铁璐 李学军(33)
激活星形胶质细胞 KATP 通道对抗 MPP <sup>+</sup> 所致神经元的损伤作用 .....	孙秀兰 范益 胡刚等(34)

N-乙酰氨基葡萄糖激活  $Ca^{2+}$  信号通路体外诱导小鼠 T 淋巴细胞增殖

.....	曹秀明	马娇	万晓峰(34)	
新化合物 B2 镇静催眠作用机制的初探 .....	张莹	张建军	(35)	
原花青素对 $A\beta_{25-35}$ 诱导去血清培养 PC12 细胞 Cyclin D1、CDK4、 E2F1 基因表达的影响.....	谢朝阳	吴斌华	祝其锋(35)	
Snarin 与 TrkA 相互作用对神经递质释放影响的研究 .....	王岚	裘佳	陈虹	黄秉仁(36)
影响骨骼肌生长发育的 microRNA 分子的系统鉴定 .....	陈莹		(36)	
Protective effect of stilbenes containing extract - fraction from <i>Cajanus cajan</i> L. on amyloid beta - peptide <sub>25-35</sub> induced cognitive deficits in mice .....	Can - Jun Ruana,	Lan Suna ,	Guan - Hua Duc 等	(37)
Activation of GABAB receptors protects cerebellar granule neurons from apoptosis via IGF - I receptor transactivation .....	Haijun Tu,	Chanjuan Xu,	Jianfeng Liu	(37)

## 心血管药理

前列腺素 $E_1$ 药理性预适应对缺血 - 再灌注豚鼠心室肌细胞 ATP 敏感性钾 通道的影响 .....	角灿武	付润芳	(38)	
WNK4 激酶通过激酶依赖途径抑制大电导钙激活钾通道的活性 ...	张雪梅	庄捷秋	李娟等(38)	
亚急性缺氧通过内源性 15 - HETE 抑制大鼠肺动脉 Kv1. 5 通道的表达 ...	唐晓波	朱大岭	(39)	
巴戟天寡糖对转化生长因子 $\beta$ 信号传导的影响 .....	焦平利	冯国清	胡香杰(39)	
Apelin 促大鼠血管平滑肌细胞增殖的 PI3K/Akt 信号通路研究 .....	陈临溪	李芳	廖端芳等(40)	
罗勒水提取物对大鼠血栓闭塞性脉管炎的治疗作用 .....	依巴代提. 吐乎提	阿迪力. 阿不都热合曼	艾尼瓦尔. 吾买尔	王晓雯(40)
雷米普利对实验性糖尿病大鼠缺血/再灌注损伤心肌的保护作用 .....	吴艳娜	张喆	刘艳霞等(40)	
钙调蛋白在钙通道钙依赖性易化与失活机制中的作用 .....	郝丽英		(41)	
6 - 溴基丁基苯酞对大鼠局灶性脑缺血再灌注的保护作用 .....	高远	陈华艳	乔海灵等(41)	
6 - 氟基丁基苯酞对大鼠局灶性脑缺血再灌注的保护作用 .....	蔡雪湘	陈华艳	乔海灵等(42)	
巴戟天寡糖对成肌细胞增殖及向心肌样细胞分化的影响 .....	吴瑶	冯国清	胡香杰(42)	
巴戟天寡糖对成肌细胞增殖及分化的影响 .....	王奎鹏	冯国清	胡香杰(43)	
巴戟天寡糖促治疗性血管新生机制的探讨 .....	孟祥光	冯国清	胡香杰(43)	
巴戟天寡糖促治疗性血管生成作用的实验研究 .....	杨景柯	冯国清	胡香杰(44)	

原花青素对大鼠脑缺血再灌注损伤能量代谢的影响 .....	陈香红 张艳 胡香杰等(44)
实验性大脑皮质梗死继发丘脑损伤后 DNA 修复酶的变化 .....	何美霞 张明明 华海婴(45)
白细胞介素 -6 基因多态性与高脂血症的关联性研究 .....	何美霞 张莉蓉 张明明 华海婴(45)
柚皮素硫酸酯对兔全血血小板聚集的影响 .....	刘文 段宁 梁念慈等(46)
次乌头碱对心肌细胞内 $Ca^{2+}$ 及 L - Ca 通道 mRNA 表达的影响 .....	李志勇 孙建宁(46)
人参皂苷 Rg1 保护心肌细胞免于缺氧 - 复养损伤涉及 PKC $\epsilon$ - activated ERK1/2 通路 .....	朱丹 黄秀兰(46)

## 抗炎免疫及抗病毒药理

Toll 样受体 9 (TLR9) 结合 CpG DNA 功能片段的确认 .....	周红 丁国富 潘夕春 李斌(47)
A $\beta$ 1 - 42 诱导 U251 细胞趋化因子 RANTES 表达的研究 .....	杨云霞 郝杰 王沼丹(47)
羧胺三唑对脂多糖诱导大鼠腹腔巨噬细胞 iNOS 蛋白的表达和 NF - $\kappa$ B 活化的影响 .....	郝晓健 郑茹 张德昌等(48)
双环醇对免疫性肝纤维化大鼠的保护作用及机制研究 .....	谷雨 李燕(48)
双环醇对四环素引起小鼠脂肪肝的保护作用及机制研究 .....	于红燕 李燕(49)
应用假病毒模型寻找 H5N1 高致病流感病毒侵入抑制剂 .....	曹颖莉 杨森 郭颖等(49)
氟康唑对 HERG 钾通道电生理功能的影响 .....	韩圣娜 张莉蓉 范天黎等(49)
青霉素过敏病人血清特异性 IgE 与 IgG、IgG3、IgG4 .....	杨静 乔海灵 郭玉忠等(50)
青霉素过敏病人血清食入性、气源性致敏原特异性 IgE 抗体 .....	王秀丽 田鑫 乔海灵(50)
MAPK 通路对慢支大鼠肺泡巨噬细胞 TNF - $\alpha$ 表达的影响及枇杷叶三萜酸的 作用环节研究 .....	江国林 李俊 黄艳(51)
甘草多糖抗骨关节炎作用及其机制研究 .....	李小军 汪巍 汪晖等(51)
阿魏酸钠治疗实验性骨关节炎的疗效及其机制研究 .....	商亮 汪晖 Jacques Magdalou 等(52)
去卵巢小鼠造血系统的改变对骨细胞的影响实验研究 .....	孙元明 杨福军 晁爱军 李雨民(52)
Vam3 抗磷酸组胺致豚鼠哮喘作用的研究 .....	杨莉 温明春 程桂芳 侯琦等(53)
替泊沙林对冰醋酸所致小鼠扭体的镇痛作用 .....	张宏伟 聂雅莉 常俊标等(53)
LA 镇痛抗炎作用的研究 .....	丁晓瑜 李斌(54)
当归补血汤总苷抗大鼠肺纤维化的实验研究 .....	刘勇 李俊 王胜霞 高建(54)
豹皮樟总黄酮抗肝纤维化作用及对肝组织中 TGF - $\beta$ 1、CTGF 表达的影响 .....	朱鹏里 李俊 刘娟等(54)
玉屏风散活性多糖对实验性肝纤维化的防治作用及机制研究 .....	王佳佳 施磊 李俊(55)
豹皮樟总黄酮对酒精性脂肪肝大鼠脂质过氧化及 TNF - $\alpha$ 生成的影响	

.....	刘洪峰 李俊 朱鹏里等(55)
银杏酸对大鼠肝脏线粒体的损伤作用 .....	孙锴 潘小海 潘家祜等(56)
小檗碱对免疫性肝损伤的治疗作用研究 .....	李瑞雯 高爱梅 汪晖(56)
双环醇对组成型雄甾烷受体和孕烷 X 受体介导的 CYP3A4 和 CYP2B6 转录的调控 .....	李越 李燕(57)
天然产物白藜芦醇的类似物合成及其对 HIV - 1 的抑制作用 .....	王琳 朴志松 张兴权(57)
猪戊型肝炎病毒重组蛋白 ORF2 - V1 单克隆体的制备及抗原表位差异分析 .....	李丹丹 张小莺(58)
栀子拮抗细菌脓毒症有效成分京尼平苷的研究 .....	郑新川 杨东 郑江等(59)
氟喹诺酮类药物体外诱导大肠埃希菌交叉耐药性研究 .....	毛理纳 罗予 荆鹏伟 陈妍(59)
多重过敏病人血清特异性 IgG 抗体 .....	刘晓艳 乔海灵(60)
IgG 抗体与食物过敏 .....	刘晓艳 乔海灵(60)
青霉素与头孢菌素交叉过敏反应及特异性抗体 .....	刘相端 乔海灵(60)
青霉素过敏病人与头孢菌素的交叉过敏反应 .....	刘相端 乔海灵(61)
青霉素过敏反应与 STAT6 基因多态性 .....	黄晨征 乔海灵(61)
青霉素过敏反应与 IL - 4R $\alpha$ 基因多态性 .....	黄晨征 乔海灵(62)
头孢菌素过敏病人与青霉素的交叉过敏反应 .....	乔海灵 刘相端(62)
黄芩苷的致过敏作用机制 .....	田锋齐 乔海灵 郜娜(63)
鱼腥草注射剂过敏反应机制的实验研究 .....	张彬彬 田鑫 乔海灵(63)

## 糖尿病药理研究

PTP1B 抑制剂改善胰岛素抵抗作用的实验研究 .....	张晓琳 田金英 肖志艳等(64)
穿心莲内酯对 STZ 糖尿病大鼠降血糖作用及可能机制的研究 .....	杨苹 陈森洲 李莉等(64)
ABCC2 基因多态性与阿托伐他汀调脂疗效的关系 .....	李彦鹏 张莉蓉 胡香杰(65)
高脂血症患者 CYP3A1 基因多态性与阿托伐他汀调脂疗效的相关性研究 .....	李彦鹏 张莉蓉(65)
氟康唑对 HERG 钾通道电生理功能的影响 .....	韩圣娜 张莉蓉 胡香杰 范天黎(66)
鹰嘴豆提取物对 2 型糖尿病大鼠糖、脂代谢的影响 .....	何雯 帕尔哈提·克热木(66)
HPLC - MS/MS 法定量测定人血清中 CLD 浓度 .....	王博雅 赵芊 江骥 胡蓓(66)
高效液相色谱 - 串联质谱法测定人血浆中 8601、8602、8603 的含量 .....	张澜 胡蓓 江骥(67)
康艾注射液和苦参素注射液在大鼠体内的药代动力学 .....	郜娜 乔海灵(67)
康艾注射液的药动学和药效学结合研究 .....	黄素培 乔海灵 郜娜(68)

蜂房提取物治疗大鼠糖尿病胃肠神经功能紊乱的实验研究 ..... 刘庆山 崔 箭(68)

## 药物代谢动力学

布格味喃与大鼠肝脏药物代谢酶的相互作用 ..... 李恩 李燕(69)

A771726 在大鼠尿中代谢产物 ..... 李淑娟 李俊 程娟等(69)

基于代谢组学的中药代谢动力学研究思路探讨 ..... 李文兰 孙志 杜娟 孙向明(69)

以 NONMEM 法建立老年患者口服地高辛的群体药物动力学模型 ... 周晓丹 李忠东 李俊(70)

内皮素受体拮抗剂的活性筛选 ..... 池木根 李昕 刘克良等(70)

以受体为靶点的药物筛选模型的建立和应用 ..... 池木根 郑建全(71)

体外神经干细胞三维药物筛选模型的构建 ..... 关水 陆瑞欣 崔占峰等(71)

纳米金作为药物载体的初步研究 ..... 梁菊 刘秋伟 尹卫平(72)

## 新技术新方法

用 CD40 高表达细胞膜色谱模型筛选抗动脉粥样硬化中药的活性成分

..... 林蓉 杨广德 王维蓉 贺浪冲(72)

西洋参皂甙的生物合成研究进展 ..... 孙超 陈士林(73)

Preparation and Cytotoxic activity of Hydroxycamptothecin Nanosuspensions

..... Wei - Jing Liu Yong - Xing Zhao Hai - Ying Hua (73)

利用 ForteBio Octet Red 多通道生物分子相互作用系统非标记实时检测小分子

和蛋白质结合的动力学常数 ..... 杨淑静(74)

小动物体内可见光成像技术及其在药物研发领域的应用 ..... 赵春林(74)

微管道内溶液的等效电阻与外加电压相关性的研究 ..... 曹罚君 高 飞(75)

黏质沙雷氏菌产几丁质酶二步发酵工艺的优化 ..... 贺淹才 施腾鑫 周娟等(75)

常压氩等离子体喷枪对大肠杆菌灭菌效应及机理的研究

..... 贾向红 杨景花 王守国等(75)

分子模拟与新药虚拟评价 ..... 徐为人 汤立达 刘鹏等(76)

大鼠心肌细胞培养方法的改良及 PE 诱导心肌肥大 ..... 许家林(76)

## 毒理及其他

线粒体对生精细胞凋亡的调控 ..... 季宇彬 吴盼 郎朗(77)

放射增效剂 II 号致突变性研究 ..... 韩英 刘晓秋 赵阿津(78)

放射增效剂 9402 号对小鼠小肠隐窝上皮细胞增敏作用的研究 ... 刘晓秋 韩 英 赵阿津(78)

9401 号药对小鼠皮肤放射反应试验 ..... 赵阿津 刘晓秋 韩 英(79)

9401 号对 ICR 小鼠肝癌 (H22) 放射增敏效应的研究 ..... 刘晓秋 韩 英 赵阿津(80)

孕中晚期咖啡因暴露对胎鼠宫内发育的影响及其胎盘损伤机制 .....	周书 鲍冲 汪晖等(80)
乌头类有毒中药的毒性基因研究 .....	张仲林 彭成(81)
龙葵碱毒理学研究 .....	季宇彬 王秋平 郎 朗(82)
全氟辛酸对于生物体肝脏毒性的研究进展 .....	季宇彬 宋大禹 郎 朗(82)
细胞凋亡的线粒体途径机制研究 .....	孙桂超 邹翔 季宇彬(83)

## 会议赞助单位

海康生命科技有限公司 .....	(84)
冷泉港生物科技股份有限公司 .....	(85)

## 教学和科研实验仪器介绍

生理药理实验用血压、呼吸、张力换能器 .....	(86)
生物机能实验及医学图像分析实验仪器 .....	封二
药理学实验应用技术——生物信号采集与处理系统 .....	封三

### 《中国药理通讯》编委会

- 主 编：**李学军
- 副主编：**李长龄 李卫东 薛 明
- 顾 问：**张均田 林志彬 包定元 曾繁典 王永铭 库宝善 蔡志基 楼雅卿
- 编 委：**(以下按姓氏笔划为序)
- |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 丁 健 | 王广基 | 王庆瑞 | 王昌恩 | 王晓良 | 王怀良 | 李卫东 | 李元建 | 李长龄 |
| 李 林 | 李学军 | 李晓玉 | 李晓辉 | 李 锦 | 邓文龙 | 任雷鸣 | 刘克辛 | 刘昌孝 |
| 刘俊田 | 杜冠华 | 陈乃宏 | 陈汝筑 | 陈 奇 | 陈建国 | 苏定冯 | 吴春福 | 吴曙光 |
| 吴 镭 | 岳旺  | 周文霞 | 周宏灏 | 金满文 | 杨宝峰 | 杨世杰 | 张永祥 | 张述禹 |
| 张岫美 | 张永鹤 | 胡 刚 | 姚明辉 | 卿 晨 | 姜建石 | 耿美玉 | 莫 宁 | 梁建辉 |
| 梅其柄 | 斯拉甫 | 谭焕然 | 缪朝玉 | 廖明扬 | 薛明  | 魏尔清 | 魏伟  |     |
- 本期责任编辑：**程桂芳 潘燕 李学军

全国第十一届生化与分子药理学学术会议

## 大会报告

### 生化与分子药理学的将来

陈介甫

毒药物防治基金会 阳明大学药理研究所 台北

药理学与分子生物学的结合：自 1953 年克拉克 (Crick)、华生 (Watson) 及怀京 (Wilkins) 共同发现 DNA 之双联结构。1983 年默理斯 (Mullis) 开发之聚合胺连锁反应。2003 年，人类基因组解码。现在则进入“系统生物学”时代。药理学，从药物动力学、药效学、药效或毒性的差异都用基因变异之分子层次去解释。

新药之要求：药理学的最后目的是找出毒性更低，疗效更好的新药。已知大部份药物因与存在身体或细胞的大分子药物作用接受器接合才发生药效。在研究毒性更低，疗效更好的新药研发过程中，如果预先知道代谢此药物之酶，药物对哪些人有太高或过低的反应，甚至对不同药物动力学参数有什么影响，及可能引起的药物间相互作用，是非常重要的。

不同的药物作用接受器：G-蛋白质是重要的药物作用接受器。膜运载蛋白 (Membrane transporter) 是可以携带来不能穿透生物膜的特殊物质的蛋白质，它分为两大类，即与腺苷三磷酸结合的匣式运载体 (ATP binding cassette, ABC) 及溶质转送体 (Solute carrier, SLC)。自 1976 年发现第一个膜糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp) 与抗药性的关系以来，已知 P-gp 抑制药物的吸收，使抗癌药物药效降低，也就是产生抗药性。目前已知有七大类 ABC，共 49 种。很多疾病与 ABC 基因突变有关。目前已知之 SLC 有 46 族共 360 种。从名称即可知道其功能。在不同器官另有药物代谢酶以代谢内生性物质及外来物质，以限制或终止内生物及外来物质的作用，降低外来物之毒性，使之易于排出体外。这些药物代谢酶易受其它化学物之诱导或抑制。所以长期处在某一环境或饮食习惯的人群，其代谢能力与不同的人群有差异。

基因解读之进展：2007 年，454 Life Sciences 公司用一百万美金，耗时 2 个月解读一个人 95% 的基因，目前约 60 小时就可以解读一个人的基因 (30 亿 pair bases)。美国国家卫生院希望在 2014 年进步到用一千美金解读个人基因组之目标。「X Prize 基金会」则宣布，在 2014 年 10 月 4 日以前，能在 10 天内读取 100 个人基因组 98%，准确度 99.999% 以上，而且每个人花费在美金 1 万元以下，将给予一千万美金之奖金。

新药研发之将来：目前 DNA 已易于复制、解读，蛋白质之纯化、结构鉴定也趋于容易。一个芯片上可置入之 DNA 或蛋白质点，数目可达十万以上。所以疾病之诊治，将进入个人化的时代。

如果再配合利用代谢体学 (Metabolomics)，也就是应用高能核磁共振仪，液相层析仪 / 质谱仪串联，来动态的分析细胞组织所产生不同的代谢物，对疾病在不同阶段所产生的指标，疾病产生之原因，及药物之毒性及疗效之了解均有帮助。

最重要的，利用中医应用已久且有确实临床疗效证据的中药及其方剂，当作新药研发的引导物将会比西方新药研发随意筛选更有效率。

## 靶向性诱导肿瘤细胞凋亡药物研发

华子春

南京大学医药生物技术国家重点实验室 210093

如何选择性地实现肿瘤细胞的细胞凋亡，而同时不影响其它组织或器官，这是肿瘤治疗药物研发中的一个难题。我们对此进行了研究和探索。

肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体TRAIL是一个非常具有前景的抗肿瘤药，可以选择性地诱导多种恶性肿瘤细胞凋亡，但是对大部分正常细胞的影响很小。TRAIL与临床上使用的多种化疗药物或放射疗法的联用具有显著的协同效应，提高抗肿瘤效果。为此，2006年底TRAIL在美国和中国同时进入临床II期研究。但是，随着研究的深入，研究报道TRAIL参与胸腺细胞凋亡或负向调节并在自身免疫性疾病中扮演重要角色；大剂量的TRAIL可以诱发肝细胞的凋亡和肝炎，诱导淋巴细胞、星状角质细胞以及脑细胞凋亡。由此人们对于TRAIL抗肿瘤治疗的安全性产生了疑虑，认为其有潜在的毒性。此外TRAIL是蛋白类生物药，在体内的半衰期很短，只有几十分钟。在临床应用时，病人一个疗程需要大量的药物蛋白用量，这对TRAIL的生产、纯度、质量控制和生产成本都带来了巨大的挑战，同时也势必加重病人的医疗费用和负担，而且如此大的药物剂量也增加了副作用的可能性和程度。通过改造TRAIL，改善TRAIL在肿瘤组织的分布减少体液循环中的损失有望提高TRAIL的治疗效果，缓解TRAIL的副作用。

面对这一难题，我们进行两方面的研究。一方面对TRAIL进行基因工程改造，开发具有肿瘤靶向性的高效的TRAIL变体分子；一方面筛选与TRAIL联用中具有抗肿瘤协同效应的化合物。目标是希望提高TRAIL的抗肿瘤活性，减少临床使用剂量，降低成本，降低潜在的毒副作用。

在设计肿瘤靶向性的TRAIL变体分子时，我们选择增强TRAIL与肿瘤新生血管的结合来实现肿瘤靶向性。体外实验表明：TRAIL变体蛋白既具有TRAIL的诱导肿瘤细胞凋亡的活性，又具有跟肿瘤组织特异性结合的特性。进一步研究表明，与TRAIL相比，TRAIL变体诱导肿瘤细胞凋亡的能力显著提高。体内动物实验表明，TRAIL变体比TRAIL具有更好的抗肿瘤活性。在相同剂量下，TRAIL变体抑制肿瘤生长的效果显著优于TRAIL。在达到相同的抑制肿瘤生长程度时，TRAIL变体所需的剂量是TRAIL剂量的1/5。在与化疗药物CPT-11联合使用下，TRAIL变体疗效更加显著。在多种肿瘤模型的联合治疗方案中发现，要达到相同的治疗效果，变体需要的剂量均低于TRAIL的剂量。具有肿瘤靶向性的变体蛋白具有非常好的应用前景。

同时，我们从传统中药中筛选获得具有抗肿瘤活性的单体，在多种肿瘤细胞中，该化合物在低毒性剂量下能增强TRAIL诱导肿瘤细胞凋亡的效果。该化合物与TRAIL联用可以提高TRAIL的抗肿瘤效果，扩大TRAIL的应用范围，降低使用剂量。

## Protein Crystallography and Structure-Based Drug Design

Min Yao

*Faculty of Advanced Life Science, Hokkaido University, Sapporo, 060-8589, Japan*

The knowledge of three-dimensional structure of proteins is an important key to address the reaction mechanism of biological functions and life phenomena. Since drugs are usually designed for regulating some special biological functions of proteins, the knowledge derived from the structure of the target protein can improve the efficiency for designing a drug. Nevertheless, practically there are still a lot of difficulties lying in this way, such as the time consumption on solving the structure of target protein, solving large amount structures of protein-ligand complexes even the protein structure has been known, and so on. As an approach of solving protein structures in an atomic scale, X-ray

crystallography has been widely applied in elucidating molecular basis of protein function and ligand-binding sites with more certainty. Recently, advances of high-throughput crystallography led by the structural genomics, make crystallography become a powerful technique in leading drug design, such as identification of initial hits, development of hits with weak binding affinity. Indeed, there are now several drugs on the market developed by structure-based drug design (SBDD) approach using crystallography technique.

We have developed a high-throughput system covering all phases of crystal structure analysis process including protein expression, purification, crystallization, and an automatic system for tackling the structure from the diffraction data. The employment of this system has made the efficiency of solving the protein structure improved significantly. In this presentation, I will introduce the system and its application on analyzing the structures of target proteins, UafA (Uro-adherence factor A) and GatCAB (Glutamine amidotransferase complex), where UafA is only a specific cell-adherence factor of *Staphylococcus saprophyticus* which is isolated from young female outpatients presenting uncomplicated urinary tract infections and GatCAB is a necessary protein for all kinds of pathogenic bacteria. Moreover, the further implementation of these structures for drug design will be discussed.

## **Ion Channel Modulators for Treatment of Neuropsychiatric Disorders**

王克威

北京大学医学部神经生物学系/神经科学研究所 北京 100191

离子通道是神经细胞产生电信号的物质基础。神经电信号亦是调节递质释放、突触信号传递、动作电位传播等神经元功能活动的基础。本报告以电压门控钾离子通道为例，重点阐述 Kv7 (KCNQ/M-通道) 钾通道作为靶点及其调节剂在神经精神疾病中治疗作用。

KCNQ/M-通道(主要是 KCNQ2/3)在中枢神经系统广泛分布。KCNQ/M-通道通过影响后超极化电位调节神经元兴奋性，与癫痫、精神分裂症、耳聋等许多疾病发病相关。研究发现，腹腔注射 KCNQ/M-通道开放剂 Maxipost (BMS-204352)可以缓解小鼠焦虑[45]。最近，Isbrandt 实验室通过人为控制 *KCNQ2* 基因“开启”或“关闭”的时间对可调控 *KCNQ2* 基因表达的转基因小鼠研究发现，KCNQ/M-通道还参与神经系统的发育[24]。在哺乳动物大脑，D2 受体与 KCNQ 蛋白共表达于多个脑区的突触后膜。多巴胺与 KCNQ/M-通道相互作用，前者主要经 D2 受体通过 G 蛋白增大 M-电流；而后者则通过调节神经元的兴奋性调节多巴胺的释放。KCNQ/M-通道影响神经元后超极化电位，调节神经元的兴奋性。KCNQ/M-通道亦可能通过调节多巴胺的释放调节神经兴奋性，因而有望成为治疗多巴胺功能异常疾病的药物靶点。

近年来，随着对多巴胺递质在神经精神疾病中作用的认识，人们亦开始对调节多巴胺递质释放与神经精神疾病的发病机理和潜在的临床治疗产生兴趣。帕金森病人的脑内特异核团多巴胺递质含量减少，而精神分裂症与多巴胺活动亢进有关，如果我们能够从整体或者特异脑区影响多巴胺系统，调节递质释放、影响动作电位发放，将有可能开启一个治疗神经精神疾病的新途径。

## **免疫应答的选择性调控**

徐 强

南京大学生命科学学院医药生物技术国家重点实验室 南京 210093

免疫性疾病种类繁多且患者数量庞大，然而治疗时常需借用本身并不属于免疫系统的药物，如激素和抗癌药

物等。环孢素 A 是属于免疫系统的极少数药物之一，但长期使用仍会造成抗感染能力下降、肾毒性、肿瘤发生率增加等毒副作用。

与免疫性疾病用药的捉襟见肘相比，其上游基础免疫学科的发展则日新月异，新功能蛋白、新信号转导通路以及分子间相互作用机制不断被发现和阐明。但是，免疫应答过程中的许多重要分子事件，并不能用作药物作用靶点，对这些分子事件的抑制或调控，虽可阻抑免疫应答的发生，同时亦会降低正常的免疫功能，引起严重的毒副作用。在这个意义上，基础免疫学的进展并没有如人们所期待的那样，对免疫药物的发展起到加速器样作用。

多年来，我们期望借助小分子化合物/药物，实现选择性调控免疫应答的目的，最终为免疫药物研制所用。在国家自然科学基金等的资助下，我们进行了不同于现有免疫药物发现方式的探索研究，发现了能选择性作用于免疫应答不同阶段的系列中药、成分及其它天然产物，并完成了选择性调控 T 细胞免疫应答的系列工作。在确证小分子化合物对活化 T 细胞选择性抑制作用的基础上，从分子药理学角度探讨其选择性作用的分子机理，进一步通过小分子化合物作用的靶蛋白发现了 T 细胞免疫应答过程中的新分子事件——T 细胞生和死转换的新调控机制。这种新调控机制对于免疫应答机理的阐明以及新型免疫药物的研制均具有重要意义。

## 基于网络药理学的药物研发新模式

潘家祜

复旦大学 药学院 药理室 上海 200032

多向药理学 (polypharmacology) 与网络药理学 (network pharmacology) 的兴起，为困境中的新药研发带来新的光明。

### 1. 造成新药研发困境的原因:

- (1) 单靶点-单基因-单药物的研究模式;
- (2) 受制于科学的发展与研究的哲学理念与指导思想——近代医药研究的“单因素观察”原则。

### 2. 药物-靶点-疾病生物学网络:

- (1) 药物-靶点网络

药物作用就如网络中心与各节点的关系，不仅有多种药物可作用于某一节点上，而且，单一药物也可作用于多个靶点。网络药理学即是将药-靶网络与生物网络整合在一起。分析药物在此网络“中心”与特定“节点”上的作用，就可理解药物的有效性和毒性。

- (2) 基因组广泛关联性研究 (genetic-wide associations, GWA)

基因关联的网络分析显示，绝大多数疾病与其他疾病分享相关基因。许多单基因敲除，对原型生物的影响很小。生物体系有适应环境变化的多样功能和可变通的补偿信号通路。

网络生物学认为，新药研发的策略应是发现如何干扰致病的网络，而非引起疾病的某些基因，需要对多种基因及其调节蛋白的干扰才能影响疾病网络。

### 3. 基于网络药理学的药物研发新模式

发展网络药理学的关键在于：① 通过网络拓扑学分析，鉴定那些可产生理想治疗结果的关键节点或节点组合；② 发现那些可干扰这些节点、产生多向药理学效应的化合物。

- (1) 对疾病网络进行分析有三种互补方法：①系统筛选；②知识与经验的结合；③网络分析。

(2) 采用多靶点新药设计的一些策略：①将多种单一药物进行鸡尾酒式组合。②在同一药物载体中含多组分配伍药物。③设计可选择性作用于多靶点的单一药物。

- (3) 借助中医中药的思维。

### 4. 问题与挑战

(1) 数据的完整性 采用网络分析来处理各类生物相关性数据已成为一个重要手段, 问题在于供作网络分析的相关数据库数据的完整性, 这对分析结果的可靠性产生重要影响。

(2) 药物与靶点分子的相互作用 药物分子均是以特定的立体结构在体内与立体的靶点蛋白产生亲和作用。这需要发展计算机化学、X 光衍射晶体结构测定、蛋白质组学等技术进行分析。

## **All in the timing: comparison of cardioprotection induced by H<sub>2</sub>S preconditioning and post-infarction treatment**

Jinsong Bian

Department of Pharmacology, Yong Loo Lin School of Medicine, National University of Singapore

Hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) is a novel gasotransmitter alongside nitric oxide and carbon monoxide. We recently found that hydrogen sulfide regulates heart contractile function via changing intracellular calcium, pH and cAMP level. Both pre- and post-conditioning with H<sub>2</sub>S produce significant cardioprotection against ischemia insults via activation of ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels, protein kinase C, mitogen-activated protein kinases, PI3K/Akt and cyclooxygenase-2/prostaglandin E2 pathways. These findings provide evidence that H<sub>2</sub>S may protect heart in both physiological and pathological situations.

Since both prevention and treatment of ischemic heart attack are important, we compared the therapeutic efficacies of H<sub>2</sub>S preconditioning versus post-MI H<sub>2</sub>S treatment. Assessment of infarct size revealed that a single bolus of NaHS administered 1 day before MI produced a strong infarct-limiting effect. A time course study demonstrated that the protection lasted at least 3 days after the preconditioning stimulus. We further compared the effect of H<sub>2</sub>S preconditioning with post-MI treatment. Although injection of NaHS for 3 days after MI also significantly decreased infarct size, the protective effect was significantly lower than that afforded by H<sub>2</sub>S preconditioning. A combination of both preconditioning and post-MI treatment did not produce a stronger protection compared with H<sub>2</sub>S preconditioning alone. Pretreatment with chelerythrine chloride, a PKC inhibitor, 15 min before NaHS administration blocked the infarct-sparing effect of H<sub>2</sub>S preconditioning.

In conclusion, we provide evidence for the first time that 1) preconditioning with low concentration of H<sub>2</sub>S produces delayed cardioprotection against myocardial infarction via activation of K<sub>ATP</sub>/PKC/MAPK, PI3K/Akt, cAMP/PKA and COX-2 signaling pathways and 2) H<sub>2</sub>S preconditioning is far more effective than post-treatment in limiting infarct size.

## **CD8 $\alpha$ +DC 新基因的克隆, 功能鉴定与药物研发**

Xinying Ji

University of Kentucky, 183 Transcript Ave, Lexington, KY 40508, USA.

目的: 分离小鼠脾脏 CD8 $\alpha$ +树突状免疫细胞 (LDC) 的特异基因, 了解这些基因与抗原递呈功能的关系。找到 LDC 的特异表面标志和特异功能基因。利用 LDC 特异基因产物作为自身免疫疾病、病毒性疾病和肿瘤的免疫治疗手段, 从中筛选出有效的候选药物。方法: 从 60 只小鼠脾脏 LDC 中纯化出 10ug 左右的总 RNA, 以对应的 MDC 细胞 RNA 为对照, 采用减数抑制杂交法 (Suppression Subtractive Hybridization, SSH) 建立了特异性针对 LDC 的减数 cDNA 文库。从该文库中克隆了 100 多个序列, 从中筛选出 LDC 特异的 14 个基因, 用半定量 PCR 证实这些基因在 LDC 中高表达, 而在 MDC 中则表达较低。体外实验采用 DC 细胞系 DC2.4 来验证从 LDC 文库

中分离的基因能够在该细胞系表达。21 个序列的 RT-PCR 结果阳性。为了解基因在 DC 中的作用, 选择了 12 个基因进行 RNA 干扰实验。设计出特异的 siRNA, 插入到载体 pSilencer1.0 内, 转化后酶切鉴定并测序, 然后将 siRNA 质粒分别电转化到 DC2.4 细胞, 经 G418 持续筛选, 再用稀释法挑单克隆培养, 每个基因最少挑 6 个以上的单克隆细胞扩大培养。最后用 RT-PCR 和实时 PCR 鉴定 6 个克隆的基因抑制率。挑选抑制率在 80—90% 以上的 siRNA 亚克隆细胞系进行基因功能鉴定。功能鉴定采用的是抗原递送实验, 将 siRNA 亚克隆细胞, DC2.4 细胞和空质粒转化的 DC2.4 细胞分别与 OVA 可溶性抗原, 吸附在乳胶颗粒表面的 OVA 抗原, 乳胶颗粒和空白对照等培养过夜, 用针对 OVA 抗原的 25D1.16 等单抗标记细胞, 用流式细胞仪检测 DC 细胞表面的 OVA 抗原等。体内功能实验方法是, 将这些克隆与病毒培养后, 输入小鼠体内, 用流式细胞仪检测受 DC 递送的病毒抗原刺激后小鼠 T 细胞产生  $\gamma$  干扰素的能力。结果: 基因 14、79、94 等的 siRNA 亚克隆细胞的 25D1.16 的表达明显低于对照细胞 ( $P < 0.01$ )。基因 14 等的 siRNA 亚细胞克隆刺激小鼠 T 细胞产生干扰素的能力显著降低 ( $P < 0.01$ )。结论: 基因 14、79、94 等和 LDC 的抗原递送功能密切相关, 使用这些基因的 siRNA 可以降低 LDC 的免疫功能, 具有免疫治疗功效, 是良好的治疗自身免疫耐受, 减少移植免疫排斥的候选药物。相反, 运用这些基因和其产物可以提高细胞免疫功能, 对肿瘤治疗具有价值。

## **The Mystery of Sleep: Molecular Mechanisms of Histaminergic Roles in Sleep-wake Regulation**

Zhi-Li Huang<sup>1,2</sup> (黄志力), Wei-Min Qu<sup>2</sup> (曲卫敏), Ming-Hui Yao<sup>2</sup> (姚明辉)

<sup>1</sup> Department of Pharmacology, <sup>2</sup> State Key Laboratory of Medical Neurobiology, Shanghai Medical College of Fudan University, Shanghai 200032, China.

The histaminergic neurons are confined to the tuberomammillary nucleus (TMN) of the posterior hypothalamus, and send their fibers to almost all regions of the brain. A growing body of evidence has implicated histamine as a crucial player in mediating wakefulness in mammals. Presumed histaminergic neurons discharge tonically and specifically during wakefulness, and the central release of histamine exhibits circadian variation associated with wakefulness. Based on the findings from gene-manipulated mice, we provide several lines of evidence showing roles of histaminergic system in the somnogenic effects of prostaglandin (PG) D<sub>2</sub> and adenosine, and in the arousal effects of PGE<sub>2</sub> and orexin.

PGD<sub>2</sub> and adenosine are potent endogenous somnogenic substances. PGD<sub>2</sub> is produced by the action of PGD synthase dominantly localized in the leptomeninges and choroid plexus, and circulates in the CSF. It activates DP<sub>1</sub> receptors (R) to promote sleep by stimulating them to release adenosine. The released adenosine activates adenosine A<sub>2A</sub>R and subsequently excites the ventrolateral preoptic area (VLPO), one of sleep centers, in the anterior hypothalamus. VLPO neurons then send inhibitory signals to downregulate the histaminergic TMN, which contributes to arousal. Conversely, both endogenous PGE<sub>2</sub> and orexin activate the histaminergic system through EP<sub>4</sub>R and OX-2R, respectively, to promote the wakefulness via histamine H<sub>1</sub>R. Furthermore, arousal effect of ciproxifan, H<sub>3</sub>R antagonist, depends on the activation of histaminergic systems, which may provide a potential approach for the treatment of narcolepsy.

These findings indicate that VLPO and TMN regulate sleep and wakefulness, by means of a 'flip-flop' mechanism, operating in an anti-coincident manner during sleep-wake state transitions.

## **NEW PROGRESS IN TRANSPORTER AND CHANNEL RESEARCH**

Sei Sasaki

1-5-45 Yushima, Bunkyo-Ku, Tokyo 113-8519, Japan

To date, almost all channels and transporters that were expected to be physiologically important and to be related to pathological states and/or hereditary diseases have been molecularly identified. Now, in “post-genome” era, what are the new progress in the research of membrane transport proteins such as channels and transporters? I am not in a position to overview whole area, but I would like to show three such progresses that are under way in our laboratory.

1. Multiple protein complex. Progress in proteomics technology such as MALDI-TOF allows determining multiple proteins that directly bind to transport proteins and interact with them. As AQP2-binding proteins we isolated at least 13 proteins including SPA-1 (GTPase-activating protein for RAP1), actin and tropomyosin 5B. AQP-2 is directly phosphorylated by A-kinase and this phosphorylation is indeed shown to regulate the binding between actin and AQP2. It is speculated that multiple transporter protein-binding proteins constitute a protein complex and special and temporal interactions of the component proteins determine the trafficking of AQP2 bearing vesicles (Figure 1).

2. Imaging technology. There are significant advances in imaging technology and interactions of proteins can be observed in living cells. Using fluorescence cross-correlation spectroscopy (FCCS) we could show the effect of AQP2 phosphorylation on binding of AQP2 and actin. The phosphorylation induces dissociation of actin, which in turn increases the reciprocal binding of tropomyosin 5B (ref 1).

3. Knockin mouse disease model. To understand the pathogenesis of hereditary diseases caused by gene mutations of transport proteins, we have generated knockin mouse which harbor disease-causing human mutations. Analyses of the generated mouse models provide new information regarding functions of normal and mutated transport proteins. For example, we showed the mutated AQP2 is misrouted to basolateral membrane instead of proper apical membrane, and the hypertension-causing WNK4 mutation phosphorylates another kinase instead of the final membrane transport protein, thiazide sensitive NCC, (ref 2).

## 荧光磁性纳米粒子桥联前列腺癌单链抗体在鼠肿瘤模型中分布及靶向治疗研究

崔大祥<sup>1</sup> 韩月东<sup>2</sup> 李智铭<sup>1</sup> 刘贺亮<sup>3</sup> 宋华<sup>1</sup> 高峰<sup>1</sup> 贺蓉<sup>1</sup>

<sup>1</sup>上海交通大学微纳科技研究院生物纳米工程研究室 微纳制造技术国家重点实验室  
薄膜微细教育部重点实验室 上海 200240

<sup>2</sup>第四军医大学西京医院影像科 <sup>3</sup>西京医院泌尿外科 西安 710032

目的:调查荧光磁性纳米粒子桥联前列腺癌特异性抗原单链抗体片段作为前列腺癌核磁共振靶显像剂与治疗剂的可行性。方法:荧光磁性纳米粒子(FMCNPs)与前列腺癌特异性单链抗体片段(ScFv)制备成纳米复合探针(FMCNPs-ScFv),并用高分辨电镜、荧光光谱仪进行表征;然后与前列腺癌细胞共培养,观察进入癌细胞的靶向性;采用MTT法评价纳米探针细胞毒性;建立裸鼠前列腺癌模型并采用免疫组化方法鉴定;通过尾静脉注射纳米探针,采用荧光成像系统观察纳米探针在裸鼠体内分布消除过程;利用核磁共振观察肿瘤靶显像效果,给予体外磁场照射1次,然后继续饲养16天,每天测量肿瘤大小。结果:荧光磁性纳米粒子与前列腺癌特异性单链抗体片段纳米探针被成功制备;细胞培养实验显示纳米探针能够与前列腺癌细胞表面结合并进入细胞浆;纳米探针细胞毒性很低;裸鼠前列腺癌模型被成功制备;荧光成像系统显示纳米探针快速在各重要脏器分布,并于逐渐集中在肿瘤部位;核磁共振显示纳米探针在24小时内能够清晰显示前列腺癌图像。体外磁场照射后,肿瘤组织变小。

结论：制备的荧光磁性纳米粒子与前列腺癌特异性单链抗体片段复合探针，能够集中于肿瘤靶部位；可用于前列腺癌的核磁共振成像，也能用于体外磁场作用下的肿瘤治疗。

## 代谢组学技术与药物作用机制研究

司端运

天津药代动力学与药效动力学省部共建国家重点实验室 天津 300193

代谢组学可以定量描述生物内源性代谢物质的整体及其对内因和外因变化应答规律，在药物作用机制研究方面具有广泛用途。代谢组学是上世纪90年代后期发展起来的一门新兴技术，仍然处于发展阶段，面临着方法学和应用两方面的挑战。

代谢是生命活动中所有化学变化的总称，代谢活动是生命活动的本质特征和物质基础。代谢组是指生物体内源性代谢物质的动态整体，包括生物合成也包括生物分解，目前主要研究的是分子量在 1000 以下的小分子代谢物质。

体液中的代谢物质与细胞、组织和整体水平的生物化学状态密切相关。正常状态下机体中的代谢组处在一个动态的平衡当中。当机体受到毒性物质、代谢障碍或者生理因素的影响时，在细胞、组织，甚至整体水平会发生代谢的变化应答，导致代谢物种类和浓度的变化。出现异常时，生物体液的组成就会产生变化。代谢组学就是通过检测代谢物水平的整体和动态变化，提取相关的生物代谢标志物群体，在此基础上寻找所受影响的相关代谢途径或环节，从中上推寻找相关蛋白质组的对应变化，确立代谢网络调控机制，进而联系和认识转录组与相关的调控基因功能。

代谢组学作为一种系统方法，能在研究药物作用机制上发挥作用。成功的疾病治疗必须使代谢网络中的缺陷部分正常化，同时又不得干扰其他维持健康所必须代谢途径的调控。药物作用机制的研究就是研究药物在这种调控作用中所起的作用和如何起作用。代谢组学研究“代谢指纹图谱”，可以揭示药物引起的内源性代谢物的变化，直接反映体内生物化学过程和状态的变化。人体这样复杂的多细胞系统，有赖于遗传信息和神经及体液因素的正常传递，而这种信息传递在相当程度上依赖于各种受体。通过认识体液“代谢指纹图谱”变化的原因，可以帮助阐明药物作用靶点或受体。从药理学角度看，则依据药物分子与受体分子之间的反应规律，在药物分子结构和效应的关系基础上，发现新药并最终使新药具有更好的疗效和更少的毒性和副作用。

## 多靶点药物治疗进展

李学军

北京大学基础医学院药理学系 北京 100191

近几十年的药物发现研究几乎均集中于寻找或设计作用于单个靶点的高选择性配体药物分子，但是针对单个分子靶点的药物在治疗疾病时通常很难达到预期效果或者毒性很大，很难治愈多基因疾病如肿瘤，以及影响多个组织或细胞的疾病如糖尿病等。多角度攻击疾病系统可以克服许多单靶点药物的局限性，由此产生的多靶点药物治疗 (multi-target therapeutics) 可以同时调节疾病网络系统中的多个环节，不易产生抗药性，现已在很多重大疾病的治疗中开始应用。

药物发现的基础是寻找分子靶点并证明其与疾病的相关性，靶点的确认标准是发现特异作用于该靶点的化学分子或抗体分子。与发现和优化新型的靶点抑制剂相比，疾病相关分子靶点的确认仍然是十分困难的工作，常常需要数十年才能完成。

近年来系统生物学的出现和不断发展为药物发现提供了一种全新的思路——多靶点药物治疗。同时,对疾病网络系统的进一步研究和认识也揭示了单独对某一靶点进行调节,在复杂疾病治疗中有局限性。多靶点药物治疗,简而言之,可以同时作用于疾病网络中的多个靶点,对各靶点的作用可以产生协同效应,使总效应大于各单效应之和,达到最佳的治疗效果。多靶点药物的研究尤其适用于肿瘤治疗。肿瘤的发生发展是由多基因参与的多步骤、多阶段、体内外因素相互作用的复杂过程,且多数肿瘤有 4 至 7 个独立的突变位点,因此需要多靶点治疗来确保药物抗肿瘤作用的有效性和持久性。

最近我们实验室建立了一种缺血和肿瘤同体动物模型,并实施了蛋白质组学和基因芯片的研究,希望能够找到某些药物以及天然产物治疗肿瘤和缺血性疾病的分子机制及多靶点机制。

多靶点药物治疗在癌症、抑郁症、糖尿病以及感染性疾病上的成功应用证明了系统性治疗应用于复杂性疾病上的优越性。基于细胞的表型分析进行剂量-效应矩阵筛选提供了多靶点药物发现的基本途径。多靶点药物治疗产生协同效应,使总效应大于各单效应之和,将代表着系统生物学从理论研究过渡到治疗应用的重要的一步。

## 白藜芦醇衍生物 TMS (trans-3,5,4-trimethoxystilbene) 在斑马鱼中通过下调 VEGFR2 和改变细胞周期发挥抗血管 新生和血管破坏效应

Deepa Alex, Emilia Conceição Leong, Zai-Jun Zhang,

Zhen-Hua Li, Kai-Heng Lam, Simon Ming-Yuen Lee

澳门大学中华医药研究院 澳门 中国

血管新生在肿瘤性疾病发生过程中发挥重要的作用。以血管新生为靶向的癌肿治疗策略成为近年来的研究热点。我们最近的研究表明,白藜芦醇可调节心肌纤维细胞的分化,阐明了一种新的心脏保护作用机制。白藜芦醇衍生物 TMS 在多种肿瘤细胞中比白藜芦醇具有更强的抗肿瘤活性,在体内、外对新生血管和已形成血管都有很强的作用。近年来,本研究小组利用斑马鱼模型进行了血管新生、神经保护和抗骨质疏松中药活性成分筛选及其作用机理研究。Fli1 是一个与血管形成有着密切关系的基因,血管的内皮细胞中都有表达。而 Tg (Fli1-GFP) 转基因斑马鱼的基因组中插入了 Fli1-GFP 重组基因序列,在 Fli1 启动子的调控下,这段基因中的绿色荧光蛋白 GFP 就会表达,使得所有血管的内皮细胞在荧光显微镜下都可发生荧光,可直接观察到斑马鱼血管的生长和变化情况。这些特点使 Tg (Fli1-GFP) 转基因斑马鱼成为一种非常便捷的促/抗血管新生的体内研究模型。

白藜芦醇及其衍生物具有抗血管新生活活性,但其作用机制尚不明确。本研究的目的是用体内和体外模型评价白藜芦醇及其衍生物的抗血管新生活活性及其作用机制。用人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 体外模型和转基因斑马鱼体内模型评价白藜芦醇及其衍生物 TMS (trans-3, 5, 4-trimethoxystilbene) 的抗血管新生活活性,通过斑马鱼中血管内皮细胞生长因子 (VEGF) 受体 (VEGFR2/KDR) 基因表达和细胞周期分析阐明其抗血管新生作用机理。在体内和体外模型中,白藜芦醇衍生物 TMS 都比其前体化合物白藜芦醇具有更强的抗血管新生活活性。在斑马鱼中,TMS 导致节间血管 (ISV) 退化和下调 VEGFR2 mRNA 表达,同时 TMS 特异性引起斑马鱼胚胎内皮细胞细胞周期阻滞于 G<sub>2</sub>/M 期。【结论】TMS 抗血管新生活活性与下调 VEGFR2 mRNA 表达和对内皮细胞细胞周期阻滞有关。

## 白藜芦醇及其衍生物在 TNF- $\alpha$ 诱导的人脐静脉内皮细胞中的抗炎作用

Yan-Hui Deng<sup>1, 2</sup>, Zaijun Zhang<sup>1</sup>, Deepa Alex<sup>1</sup>, He-Qing Huang<sup>2\*</sup>,

Yi-Tao Wang<sup>1</sup>, Simon Ming-Yuen Lee<sup>1\*</sup><sup>1</sup>澳门大学中华医药研究院 澳门 中国<sup>2</sup>中山大学药学院 广州 中国

二苯乙烯类化合物，自 1940 年首次从毛藜芦根中分离出白藜芦醇以来就对此进行了广泛研究。这类化合物存在于许多植物中并具有广泛的生理活性，主要有抗氧化、抗肿瘤、抗淤血综合征（如脑炎、动脉粥样硬化、慢性炎症）等。白藜芦醇（trans-3,5,4'-trihydroxystilbene），是从中药虎杖中提取出来的一种二苯乙烯类化合物，同时也是一种非常重要的植物内毒素，在近年来的实验研究中已充分证明其具有很多有益的药理作用，如抗癌、心血管保护、神经保护、抗衰老和抗炎等等。大量研究证实其在抗动脉粥样硬化中起着非常重要的作用。近年来随着白藜芦醇的类似物的不断出现，研究者们发现其中一些二苯乙烯类化合物同样具有许多与白藜芦醇相似的药理活性且某些化合物的活性、选择性及稳定性均要强于白藜芦醇，故成为目前研究的热点。为了探讨白藜芦醇类似物中甲基化白藜芦醇和白藜芦醇苷的抗炎效应并阐明其作用机制，同时与白藜芦醇进行比较，我们首先用细胞黏附实验测定其是否具有抗细胞黏附的能力，然后对其相关的黏附分子的表达及 NF- $\kappa$ B 进行考察。黏附分子的表达用酶联免疫吸附试验、实时定量 PCR 和 Western blot 方法进行测定，NF- $\kappa$ B 核转位用免疫荧光染色技术进行测定。本实验用 TNF- $\alpha$  诱导 HUVEC 造成细胞炎症损伤，观察这 3 种结构相似的二苯乙烯类化合物的抗炎效应。我们的实验结果表明白藜芦醇及其类似物均具有抗炎效应，并且 TMS 作用效果与白藜芦醇相近，而且该作用与 NF- $\kappa$ B 是否被活化相关；白藜芦醇苷相对前二者作用要弱。这些结果提示 TMS 可能成为治疗动脉粥样硬化等慢性炎症性疾病的另一个有效的替代药物。

## K-ATP 通道与神经-胶质网络功能调节

南京医科大学药理学系 胡 刚

目前对胶质细胞的认识已经远远超越对神经元起支持和营养作用的被动角色，已经阐明神经胶质细胞功能状态对于神经元的存活至关重要，决定着几乎所有脑疾病的发生、发展和转归，脑病理学的本质就是胶质细胞病理学。特别引人瞩目的是确认胶质细胞尤其是星形胶质细胞能够释放谷氨酸、ATP 和 D-丝氨酸(D-serine)等胶质递质(gliotransmitters)，通过胶质传递(gliotransmission)，对脑内突触信息的传递与整合、突触可塑性的调控和神经再生等功能发挥十分活跃和关键的作用。包括本实验室在内的许多研究表明表达于神经元、由 Kir6.2 和 SUR1 构成的 ATP 敏感性钾通道(K-ATP 通道)是神经保护的重要靶标；本实验室新近发现，表达于星形胶质细胞的 K-ATP 通道(Kir6.1/SURx)参与 D-serine 等胶质递质的释放及其传递功能的调节，与抑郁症和帕金森病等神经精神疾病的发生、发展相关；发现小胶质细胞表达 Kir6.1/SUR2 构成的 K-ATP 通道，参与多种病理因素导致的小胶质细胞活化、致炎因子生成与释放及其介导的神经炎症，保护神经元；发现神经干细胞表达 Kir6.1/SUR1 构成的 K-ATP 通道，调节成年鼠脑内神经再生。系列研究结果表明：神经元表达的 Kir6.2 构成的 K-ATP 通道与胶质细胞（星形胶质细胞和小胶质细胞）、神经干细胞表达的 Kir6.1 构成的 K-ATP 通道共同调节神经-胶质网络的功能，是研发理想神经保护剂的新靶标。

## 青年优秀论文评比

## 青蒿琥酯对非小细胞肺癌 A549 放射增敏的初步研究

赵妍妍 周红

第三军医大学药学院药理教研室 重庆 400038

目的 初筛青蒿素及其衍生物联合放射线对非小细胞肺癌 A549 细胞的放射增敏效应, 并以青蒿琥酯为主要研究对象, 研究其对 A549 细胞的体内、外放射增敏效应, 初步探讨其对 A549 细胞的放射增敏作用机制。方法 通过 MTT 法初筛低毒剂量的青蒿素及其衍生物对非小细胞肺癌细胞株 A549 的放射增敏作用, 发现青蒿琥酯具有较强放射增敏效应; 采用裸鼠移植瘤模型, 观察青蒿琥酯联合 $\beta$ 电子线对荷瘤裸鼠移植瘤生长抑制作用。同时采用 Giemsa 染色、流式细胞术, 观察青蒿琥酯联合电子线对 A549 细胞的形态学变化以及细胞周期、凋亡的影响, 初步探讨青蒿琥酯联合电子线对肿瘤细胞 A549 的放射增敏作用机制。结果 MTT 法得到青蒿素及其衍生物对非小细胞肺癌 A549 细胞生长抑制的  $IC_{10}$ , 以  $IC_{10}$  为剂量参考, 发现青蒿琥酯、双氢青蒿素具有放射增敏效应: 联合射线后 20  $\mu$ M 和 40  $\mu$ M 的青蒿琥酯对 A549 细胞有生长抑制作用 ( $p < 0.05$ ) 并呈一定量效关系, 10 $\mu$ M、20 $\mu$ M 和 40 $\mu$ M 的双氢青蒿素也有一定放射增敏作用 ( $p < 0.05$ )。体内移植瘤实验结果表明青蒿琥酯 (30 mg/kg) 可显著增加荷瘤裸鼠肿瘤组织  $\beta$  放射线的敏感性, 肿瘤生长抑制率达 50.90%。体外 Giemsa 染色结果表明, 80  $\mu$ M 的青蒿琥酯可以引起 A549 细胞出现显著的凋亡形态学变化; 流式细胞术结果提示, 20  $\mu$ M 青蒿琥酯可将 A549 细胞周期阻滞于  $G_2/M$  期; 凋亡结果分析, 20  $\mu$ M 青蒿琥酯联合放射线不引起 A549 细胞凋亡。结论 青蒿素衍生物中双氢青蒿素、青蒿琥酯对 A549 细胞有一定的放射增敏作用。青蒿琥酯联合放射线在体内、外实验中均表现出较强的放射增敏效应, 其放射增敏作用机制可能与青蒿琥酯的过氧桥断裂, 产生自由基导致细胞周期的延迟以及诱导细胞凋亡相关, 其具体机制与青蒿琥酯剂量之间的联系有待进一步研究。

## 钙调蛋白激酶在 L 型钙通道 “run-down” 现象发生及恢复过程中的作用

赵美咪 郝丽英

中国医科大学药学院药物毒理学教研室 110001

目的: 研究钙调蛋白激酶 (CaMKII) 在钙通道 “run-down” 现象发生及恢复过程中的作用机制。方法: 用酶分离单个豚鼠心室肌细胞, 利用膜片钳单通道技术, 在细胞膜面向外的模式下, 诱发 L 型钙通道 “run-down” 现象。制备活性钙调蛋白激酶 (CaMKII  $\alpha$ T286D), 记录并分析它在 L 型钙通道 “run-down” 现象中的影响。结果: 在细胞膜面向外的钳制模式下 1 分钟后, 细胞内液中加入 CaMKII  $\alpha$ T286D (1-30  $\mu$ M), 仅使钙通道活性恢复 2-10%。但发现 CaMKII  $\alpha$ T286D 可消除 CaM 对钙通道 “run-down” 现象恢复作用的时间依存性。在 CaMKII  $\alpha$ T286D 和 CaM 共同存在条件下, 记录到第 5 分钟的钙通道活性 ( $158.1 \pm 62.2\%$ ) 几乎等同于第 1 分钟的 ( $148.4 \pm 55.5\%$ )。制备 CT-1, 即含豚鼠  $Ca_v1.2$  通道蛋白 C 末端 1509-1789 氨基酸的一个 GST 融合蛋白。Pull-down 实验结果显示, CT-1 经 CaMKII  $\alpha$ T286D 处理后, CaM 的亲合力高于未经磷酸化或去磷酸化处理的亲合力。结论: CaMKII 介导的 L 型钙通道磷酸化调节了 CaM 对钙通道的亲合力, 延长了 CaM 对钙通道 “run-down” 现象恢复作用时间, 是 “run-down” 现象的一个重要调节因子。

## Effect and mechanisms of glycogen synthase kinase-3 $\beta$ (GSK-3 $\beta$ )

## on differentiation of malignant glioma cells

李 琰

中山大学

Malignant gliomas persist as a major disease of morbidity and mortality in adult. Differentiation therapy has emerged as a promising candidate modality. However, the mechanism related is unknown. Here we show that glycogen synthase kinase-3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ) is highly expressed and activated during the cholera toxin-induced differentiation in sensitive C6 and U87-MG malignant glioma cells. GSK-3 $\beta$  inhibitors or small interfering RNA suppress the induced-differentiation in sensitive C6 cells. Conversely, overexpression of a constitutively active form of human GSK-3 $\beta$  (pcDNA3-GSK-3 $\beta$ -S9A) mutant in resistant U251 glioma cells restores their differentiation capabilities. In addition, GSK-3 $\beta$  triggers cyclin D1 nuclear export and subsequent degradation, which is necessary for differentiation in C6 and U251 glioma cells. Analysis of human glioma tissues further revealed GSK-3 $\beta$  as a hallmark of cancer cell's differentiation potential. These findings suggest that GSK-3 $\beta$  is a differentiation fate determinant, and shed new lights on the mechanism by which GSK-3 $\beta$  regulates cyclin D1 degradation and cellular differentiation in gliomas.

## 双环醇对酒精中毒小鼠肝脏细胞凋亡的保护作用及机制研究

赵菁 李燕

中国医学科学院 北京协和医学院药物研究所 北京 100050

目的：研究双环醇对酒精中毒小鼠肝脏细胞凋亡的保护作用，并从酒精代谢、氧化应激、硝化应激、线粒体损伤、内源性 与 外源 凋亡 信号 传导 通路 探讨 相关 作用 的 分子 机制。方法：ICR 小鼠灌胃给予双环醇 200, 300mg/kg，连续三次。末次给药 1h 后给予酒精 6g/kg，每 12h 一次，共三次，末次给予酒精 10h 后处死动物。采用生化法测定血清丙氨酸氨基转移酶（ALT）、天冬氨酸氨基转移酶（AST）活性；肝脏线粒体和胞浆乙醇脱氢酶（ADH）、乙醛脱氢酶活性（ALDH）、微粒体 CYP2E1 活性；肝脏胞浆 NAD<sup>+</sup>/NADH、线粒体谷胱甘肽（GSH）含量、膜电位、肿胀度、呼吸链复合酶 I 和 IV（MRC1、MRCIV）活性；肝脏诱导型一氧化氮合酶（iNOS）活性、一氧化氮（NO）含量。应用 Western Blot 法检测肝脏环氧化酶-2（COX-2）、iNOS、CYP2E1、Bax、Bcl-X<sub>S/L</sub>、Fas、Fas-L、细胞色素 C 表达，TUNEL 法检测细胞凋亡，HE 染色检测病理形态学变化。结果：双环醇 200, 300mg/kg 对酒精中毒小鼠肝脏损伤和细胞凋亡具有明显保护作用，表现为降低升高的 ALT、AST 水平，减轻肝细胞髓样变性和小空泡变性等病理学改变，抑制 COX-2 过表达，减少 TUNEL 阳性细胞数目。双环醇还可抑制乙醇诱导的 ADH、ALDH 和 CYP2E1 活性升高，提高线粒体 GSH 含量，降低胞浆 NAD<sup>+</sup>/NADH 比例，降低肝脏 NO 含量，抑制 iNOS 活性和表达，恢复线粒体膜电位，减轻线粒体肿胀度，维持 MRC 活性，抑制 Bax、Fas、Fas-L 表达，提高 Bcl-X<sub>S/L</sub> 表达，减少线粒体细胞色素 C 释放。结论：双环醇对酒精中毒小鼠肝脏损伤和细胞凋亡具有明显的保护作用，其作用机制与调节酒精代谢，抑制氧化和硝化应激，减轻线粒体损伤，抑制凋亡相关蛋白表达、增加抗凋亡蛋白表达，从而调控内源性 与 外源 性 细胞 凋亡 信号 传导 通路 相关。

## 钠泵在增强肿瘤对化疗药物敏感性中新功能研究

殷武 华子春

钠泵是分布于机体组织中的一种重要的离子转运泵,机体产生的 1/3ATP 能量通过维持该泵的正常运转,钠泵功能异常与多种疾病如高血压、肿瘤、偏头痛、电解质紊乱等多种疾病密切相关。强心苷物质是可以与钠钾 ATP 酶结合并抑制其活性的一类化合物。在临床上,利用其促进心肌和动脉血管收缩的作用,强心苷用来治疗心衰和房性心律失常。最近的研究发现,动物体内存在内源的强心甙类物质,通过与钠钾 ATP 酶结合,刺激细胞产生复杂的信号传导网络,有可能作为激素样类物质,广泛参与机体的许多生理病理过程。在体内外的很多实验中都发现,强心苷类药物能抑制肿瘤生长,诱导肿瘤细胞凋亡,显示其在抗肿瘤治疗中广阔的应用前景,但是强心苷类药物较强的毒副作用限制了其抗肿瘤药用价值。我们在前期的研究工作中发现强心药物能通过显著上调 T 细胞白血病细胞与非小细胞肺癌细胞表面死亡受体,从而增强白血病细胞与肺癌细胞对细胞凋亡敏感性,提示钠钾 ATP 酶在增强肿瘤细胞敏感性方面发挥重要作用,进一步研究发现 CD95 (APO-1) 能引起细胞膜钠钾 ATP 酶“内吞失活”,该失活过程与细胞内 GSH 外流相耦联、钠钾 ATP 酶  $\alpha$  亚基磷酸化相关、并受 FADD 与 caspase 8 调控<sup>[1]</sup>。钠钾 ATP 酶不仅在死亡受体介导的肿瘤细胞凋亡过程中发挥重要作用,在线粒体凋亡通路中也发挥重要的增强敏感性作用<sup>[2]</sup>,因此我们认为钠钾 ATP 酶是增强肿瘤细胞对化疗药物敏感性的一个值得研究重要靶蛋白,对钠钾 ATP 酶在肿瘤细胞中的信号传导研究有助于发现新的药物作用靶点。

## 隐丹参酮对宫颈癌细胞系 HeLa 细胞放射增敏作用及其机制的研究

叶因涛 徐文清

中国医学科学院放射医学研究所药物室 天津 300192

丹参的主要抗肿瘤活性成分-丹参酮(tanshinone),是一组脂溶性萘醌类成分。隐丹参酮是丹参中提取的脂溶性成分之一,主要通过抑制细胞增殖、促进凋亡、影响细胞周期分布以及促进分化等机制发挥抗肿瘤作用。通过化学药物有目的地改变细胞周期,进而增强放疗敏感性,对肿瘤的治疗可能有重要意义。本实验主要研究隐丹参酮对宫颈癌细胞系HeLa的细胞毒性、放射增敏作用及其对细胞周期的影响,进一步了解其作用机制,为隐丹参酮应用于宫颈癌放射增敏治疗提供临床依据。

结果:

1. 隐丹参酮对HeLa细胞增殖的抑制作用: MTT法检测,不同浓度的隐丹参酮(0.5、1、2、4、8、10、16 $\mu$ g/ml)分别给药24h、48h和72h后,对HeLa细胞的生长呈明显抑制作用。药物作用24h、48h和72 h的IC<sub>50</sub>值分别为: 17.8 $\mu$ g/ml、8.17 $\mu$ g/ml、6.55 $\mu$ g/ml, IC<sub>20</sub>值分别为: 4.0 $\mu$ g/ml、1.17 $\mu$ g/ml、0.96 $\mu$ g/ml。

2. 隐丹参酮对HeLa细胞的放射增敏作用: 克隆形成分析应用于隐丹参酮对宫颈癌细胞系HeLa放射增敏作用的研究,放射增敏比(SER)=SF<sub>2</sub>(对照组)/SF<sub>2</sub>(照射+加药组)=0.49/0.35=1.4。与单纯放疗组相比,隐丹参酮(IC<sub>20</sub>)的放射增敏比为: 1.4,说明隐丹参酮增加了HeLa细胞的放射敏感性。

3. 隐丹参酮对HeLa细胞周期的影响: PI染色后使用流式细胞仪进行监测分析,结果表明:与空白对照组相比较,照射组和给药组均使HeLa细胞周期阻滞于G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期,其作用24h、48h细胞周期比例分别为: 69.9 $\pm$ 3.19和77.2 $\pm$ 1.70。S期所占比例随给药时间的延长不断减少,且照射(2Gy)+给药组效果更加显著。其S期所占比例,由空白组的23.9 $\pm$ 1.48,分别变为作用24h和48h组的15.8 $\pm$ 1.52和10.4 $\pm$ 2.12。

结论:

本实验通过MTT法检测显示,不同浓度(0.5-16 $\mu$ g/ml)的隐丹参酮对HeLa细胞毒性均有明显剂量和时间依赖性。克隆形成实验显示,照射联合隐丹参酮给药组对HeLa细胞生长抑制作用明显强于单纯射线照射组。对照组的SF<sub>2</sub>较高,表明HeLa细胞对射线的敏感性较低,隐丹参酮组的SF<sub>2</sub>低于对照组,表明其对HeLa细

胞有放射增敏作用。流式细胞术监测显示, 照射+隐丹参酮组使HeLa细胞发生G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期阻滞, S期细胞比例下降, G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期细胞增多, 表明隐丹参酮干预后HeLa细胞倍增时间明显延长, 处于静止期的细胞明显增多, 从而使细胞增殖速度减慢。

由上可见, 隐丹参酮能通过放射增敏作用与射线协同杀伤宫颈癌细胞, 其放射增敏机制可能是使Hela细胞生长停滞在射线相对敏感的G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期, S期细胞比例降低, 使肿瘤细胞的增值速度减慢。在治疗宫颈癌时可以考虑隐丹参酮与射线联合治疗, 其确切的增敏机制还需进一步的研究证实。

## **Amplification and overexpression of Cks1 inhibits apoptosis of breast cancer cell through MEK-Erk pathway**

Xiao-Chun Wang Ai-min Meng

Institute of Radiation Medicine, Peking Union Medical College and  
Chinese Academy of Medical Science, Tianjin 300192, China

Gain of chromosome 1q is a common event in many kinds of carcinomas. The *Cks1* gene, located at 1q21, is required for p27 ubiquitination by the SCF<sup>skp2</sup> ubiquitinating machinery. In the present study, we found that *Cks1* gene amplification was highly correlated with protein overexpression. Statistical analysis showed that amplification and overexpression of Cks1 were strongly associated with lymph node metastasis and poor prognosis. At the molecular level, knockdown of Cks1 expression by RNA interference inhibited the growth of MDA-MB-231 cells, damaged cell migration and invasion ability. Knockdown of Cks1 expression promoted apoptosis of breast cancer cells and a wobble mutant of Cks1 that was resistant to Cks1 siRNA can rescue this effect. Overexpression of Cks1 inhibited the apoptosis of breast cancer cells through the MEK-Erk pathway. These data suggest that *Cks1* is an oncogene in the 1q21 amplicon and plays an important role for breast cancer development.

## **PPAR- $\alpha$ 信号通路参与高糖高胰岛素诱导的心肌细胞肥大**

王明丰 蒋青松

重庆医科大学药理教研室 重庆 400016

目的: 研究过氧化物酶体增殖物激活受体- $\alpha$  (Peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR- $\alpha$ ) 信号转导通路在高糖高胰岛素诱导心肌细胞肥大中的作用。方法: 利用小鼠心肌细胞培养, 以细胞表面积、蛋白含量和心房利钠因子 (atrial natriuretic factor, ANF) mRNA表达为心肌肥大反应指标, 观察PPAR- $\alpha$  激动剂非诺贝特及其相应阻断剂MK886对高糖高胰岛素致心肌肥大作用的影响。利用Real time-PCR方法和Western blot方法分别检测PPAR- $\alpha$  及其下游因子环氧化酶-2 (Cyclooxygenase 2, Cox-2) mRNA及蛋白的表达。结果: 在高糖高胰岛素模型组 (25.5mmol/L葡萄糖与0.1  $\mu$ mol/L胰岛素), 心肌细胞表面积、总蛋白含量和ANF mRNA表达明显增加 ( $P < 0.01$ ); 但PPAR- $\alpha$  mRNA和蛋白的表达明显降低 ( $P < 0.05$ ); 同时, Cox-2 mRNA和蛋白的表达增加, 明显高于对照组 ( $P < 0.05$ )。然而PPAR- $\alpha$  的选择性激动剂非诺贝特 ( $10^{-6}$ 、 $3 \times 10^{-6}$  和  $10^{-5}$  mol/L) 呈浓度依赖性地抑制高糖高胰岛素诱导的心肌细胞肥大 ( $P < 0.01$ )。非诺贝特  $3 \times 10^{-6}$

mol/L 明显上调高糖高胰岛素模型组 PPAR- $\alpha$  mRNA 和蛋白的表达 ( $P < 0.05$ ), 并阻遏其下游损伤性炎症因子 Cox-2 mRNA 和蛋白的表达 ( $P < 0.05$ )。同时, MK886 可完全阻断非诺贝特对高糖高胰岛素诱导心肌细胞肥大模型组的上述改善作用 ( $P < 0.05$ )。结论: PPAR- $\alpha$  及其下游炎症因子 Cox-2 参与了高糖高胰岛素诱导的心肌细胞肥大。

## 壬基苯酚对豚鼠心室肌细胞 L-型钙电流和动作电位的影响

高青华<sup>1</sup> 朱彤<sup>2</sup>

1 中国医科大学生理学教研室 药物毒理学教研室 沈阳 110001

2 东北大学环境工程研究室 沈阳 110004

目的: 观察环境内分泌干扰物质——壬基苯酚 (Nonylphenol, NP) 对豚鼠心室肌细胞 L-型钙电流和动作电位的影响。方法: 应用酶机械法分离豚鼠单个心室肌细胞, 用全细胞膜片钳方法记录不同浓度 NP 作用下单个心室肌细胞 L-型钙电流 ( $I_{Ca-L}$ ) 和动作电位 (AP) 的变化。结果: 1) NP ( $10^{-8}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$  mol·L<sup>-1</sup>) 使  $I_{Ca-L}$  峰值电流密度分别从  $-3.72 \pm 1.5$  pA/pF 减少到  $-2.44 \pm 0.4$  pA/pF ( $P < 0.05$ ),  $-2.34 \pm 0.6$  pA/pF ( $P < 0.05$ ),  $-1.79 \pm 0.8$  pA/pF ( $P < 0.01$ ), 以及  $-1.66 \pm 0.7$  pA/pF ( $P < 0.01$ ); 2) NP 使  $I_{Ca-L}$  的 I - V 曲线上移, 但其形状和峰值电压无明显变化; 3) NP 对  $I_{Ca-L}$  稳态激活曲线无明显影响; 4) NP 可缩短动作电位复极 50% 和 90% 的时程 (APD<sub>50</sub>, APD<sub>90</sub>), 但对静息电位 (RP) 和动作电位幅值 (APA) 无明显影响。结论: NP 能剂量依赖性地抑制豚鼠心室肌细胞  $I_{Ca-L}$ , 并能够缩短动作电位时程。

## Effect of Topiramate on Serum Proteome of Mice Bearing Lewis Lung Carcinoma

Yan Pan Xue-Jun Li

Department of Pharmacology, School of Basic Medical Sciences and State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, Peking University, Beijing, 100191, China;

Topiramate has been used in epilepsy patients with brain tumor recently. In our present research we used the animal model of Lewis lung carcinoma metastasis in C57BL/6 mice to confirm the anti-tumor and anti-metastasis activity of topiramate. Then by using two-dimensional electrophoresis (2-DE) combined with matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS), we analyzed and compared the protein profile of neoplasm serum before and after treated with topiramate (25, 50, 100 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, for 21 days, p.o.), trying to discover its possible targets. The results showed that topiramate could dramatically reduce the primary tumor growth ( $P < 0.05$ ) and damage of lung alveolar which caused by metastatic tumor deposits. The 2-DE and software analysis results revealed 401 protein spots in control gel and 396 protein spots in topiramate treated (50 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 21 d) gel, and 228 matched protein spots between the two groups, indicating that intensive changes had occurred during the process of treatment. Four of those obviously down regulated protein spots after topiramate treatment were processed to the peptide mass fingerprinting. Data search results showed that the protein peptides might be Splice isoform 2 of Tropomyosin or Chain 1 of Osteopontin, Chain 1 of Transthyretin, Chain 1 of Serum amyloid A-1 protein and Chain 1 of Serum amyloid A-2 protein respectively. The results suggest that topiramate has a strong anti-tumor and anti-metastasis effect on Lewis-lung-carcinoma. The mechanism may be related to its regulation on plenty of proteins; in particular, on down-regulation of osteopontin and

serum amyloid A protein expression in serum.

## 咖啡因所致 IUGR 胎儿 HPA 轴发育异常： 基于海马 GR 的表达调控改变

徐丹 汪晖

武汉大学基础医学院药理学系 武汉 430071

目的：已知不良宫内环境（如缺血、应激）可引起胎儿下丘脑-垂体-肾上腺（HPA）轴发育异常，导致宫内发育迟缓（IUGR）；胎海马作为 HPA 轴的重要调节中枢，其糖皮质激素受体（GR）的发生与 HPA 轴功能发育相关。本研究旨在观察孕期咖啡因暴露所致 IUGR 大鼠的 HPA 轴功能变化，并探讨其发生机制。方法：建立孕中晚期咖啡因（20、60、180 mg/kg·d, ig）暴露所致大鼠 IUGR 模型，孕 20 d 取胎鼠，real-time PCR 技术检测胎海马 GR、胎肾上腺甾体激素合成急性调节蛋白（StAR）和 P450 胆固醇侧链裂解酶（P450scc）、胎盘 2 型 11 $\beta$ -羟类固醇脱氢酶（11 $\beta$ -HSD-2）的 mRNA 表达；ELISA 试剂盒检测胎血促肾上腺皮质激素（ACTH）及皮质酮（CORT）浓度；进一步建立胎海马神经元培养系统，以咖啡因（0~300  $\mu$ M, 24 h 或 300  $\mu$ M, 0~72 h）处理神经元，real-time PCR 技术检测 GR、DNA 甲基转移酶（Dnmt1、Dnmt3a 和 Dnmt3b）的 mRNA 表达。结果及结论：孕期咖啡因暴露可显著抑制胎肾上腺 StAR/P450scc 的表达，同时胎盘 11 $\beta$ -HSD-2 表达降低，胎鼠外周血 ACTH 及 CORT 水平增加，胎海马 GR 表达增高，证实孕期咖啡因暴露存在“母源性糖皮质激素过暴露”现象，进而影响胎海马 GR 功能并导致 HPA 轴发育异常；结合体外研究发现，咖啡因能直接引起海马 GR 表达增加，同时 Dnmt3a 和 Dnmt3b 表达降低，进一步提示胎海马 GR 的表达调控改变参与了咖啡因所致 HPA 轴发育异常，这可能与咖啡因引起胎海马 GR 的甲基化改变有关。

## 大黄拮抗 CpG DNA 有效成分的分离制备及活性研究

刘鑫 郑江

第三军医大学药学院药理教研室 重庆 400038

目的：脓毒症是感染因素介导的全身炎症反应综合征，至今无有效的治疗手段。细菌 CpG DNA 是引起脓毒症的主要病原分子。CpG DNA 通过与 TLR9 结合，介导单核/巨噬细胞的活化，是介导脓毒症发生的重要途径。本研究以 CpG DNA 为靶点，从中药中定向分离具有拮抗 CpG DNA 和治疗脓毒症作用的活性物质。方法：（1）应用生物传感器技术、建立以 CpG DNA 为靶点的筛选抗炎中药的技术平台并对 78 种中药进行筛选；（2）利用生物传感器技术、硅胶柱层析、离子交换柱层析技术，从大黄中定向分离与 CpG DNA 具有较高结合活性的组分，并对得到的组分进行初步的活性评价，确定活性组分；（3）在体外实验中，测定活性组分与 CpG DNA、lipid A 的结合能力，观察活性组分对 LPS、CpG DNA 刺激小鼠 RAW264.7 细胞分泌炎症介质的抑制作用，在体内实验中，观察活性组分对致死剂量热灭活大肠杆菌攻击小鼠的保护作用。（4）利用反相 HPLC 技术对活性组分进行制备分离，获得活性单体化合物；（5）在体外实验中，检测单体化合物与 CpG DNA 和 lipid A 的结合能力，观察化合物对 LPS、CpG DNA 刺激小鼠 RAW264.7 细胞分泌炎症介质的抑制作用。结果：（1）建立了以 CpG DNA 为靶点应用生物传感器筛选抗炎中药的技术平台；从 78 种中药中筛选出大黄等 14 种中药与 CpG DNA 具有较高结合能力；（2）利用生物传感器技术、硅胶柱层析、离子交换柱层析等技术从大黄水提物中定向分离得到与 CpG DNA 有较高结合活性大黄 D 组分；（3）在体外，大黄 D 组分与 CpG DNA、Lipid A 均具有较高的结合活性，对 CpG DNA 及 LPS 刺激小鼠 RAW264.7 细胞分泌 TNF- $\alpha$  有显著的抑制活性，并呈现良好的量-效关系。在体内，大黄 D 组分对致死剂量的热灭活大肠杆菌攻击小鼠有显著的保护作用。

并呈现良好的量-效关系；(4) 通过反相 HPLC 从 D 组分中分离得到单体化合物大黄酸和大黄素；(5) 在体外，大黄酸和大黄素与 CpG DNA 均具有较高结合能力，均能单独或协同对 CpG DNA 及 LPS 刺激 RAW264.7 细胞分泌 TNF- $\alpha$  产生显著抑制作用。结论：(1) 应用生物传感器、以病原分子 CpG DNA 为靶点，成功地建立了筛选抗炎中药的技术平台；(2) 从大黄中分离得到与 CpG DNA 有较高结合活性的大黄 D 组分，体内、外生物学活性评价结果显示：大黄 D 组分对 CpG DNA 及 LPS 刺激小鼠 RAW 264.7 细胞分泌 TNF- $\alpha$  具有显著的抑制活性，并对致死剂量的热灭活大肠杆菌攻击小鼠有显著的保护作用；(3) 从大黄 D 组分中分离得到单体化合物大黄酸和大黄素，生物学活性评价结果显示，大黄酸和大黄素对 CpG DNA 及 LPS 刺激小鼠 RAW 264.7 细胞分泌 TNF- $\alpha$  具有显著的抑制活性，提示大黄酸和大黄素可能是 D 组分以及大黄提取物拮抗 CpG DNA 和脓毒症的主要物质基础。

## **The physiological roles and molecular mechanisms of GABA<sub>B</sub> receptor-mediated ERK/CREB and Akt/PKB signaling**

Haijun Tu Jianfeng Liu

Sino-France Laboratory for Drug Screening, Key Laboratory of Molecular Biophysics, Ministry of Education, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei, China.

$\gamma$ -aminobutyric acid type B (GABA<sub>B</sub>) receptor is an allosteric complex made of two subunits, GABA<sub>B1</sub> and GABA<sub>B2</sub>. GABA<sub>B2</sub> plays a major role in the coupling to G protein whereas GABA<sub>B1</sub> binds GABA. It has been shown that GABA<sub>B</sub> receptor activates ERK<sub>1/2</sub> in neurons of the central nervous system, but the molecular mechanisms underlying this event are poorly characterized. Here, we demonstrate that activation of GABA<sub>B</sub> receptor by either GABA or the selective agonist baclofen induces ERK<sub>1/2</sub> phosphorylation in cultured cerebellar granule neurons. We also show that CGP7930, a positive allosteric regulator specific of GABA<sub>B2</sub>, alone can induce the phosphorylation of ERK<sub>1/2</sub>. PTX, a G<sub>i/o</sub> inhibitor, abolishes both baclofen and CGP7930-mediated-ERK<sub>1/2</sub> phosphorylation. Moreover, both baclofen and CGP7930 induce ERK-dependent CREB phosphorylation. Furthermore, by using LY294002, a PI-3 kinase inhibitor, and a C-term of GRK-2 that has been reported to sequester G $\beta\gamma$  subunits, we demonstrate the role of G $\beta\gamma$  in GABA<sub>B</sub> receptor-mediated-ERK<sub>1/2</sub> phosphorylation. In conclusion, the activation of GABA<sub>B</sub> receptor leads to ERK<sub>1/2</sub> phosphorylation via the coupling of GABA<sub>B2</sub> to G<sub>i/o</sub> and by releasing G $\beta\gamma$  subunits which in turn induce the activation of CREB. These findings suggest a role of GABA<sub>B</sub> receptor in long-term change in the central nervous system.

Furthermore, we identify a functional role for GABAB receptors in the regulation of life and death decision in cerebellar granular neurons. We show that specific activation of GABAB receptors by either agonists or positive allosteric modulators protects cerebellar granule neurons from apoptosis. Surprisingly, the neuroprotective effect of GABA is mediated by transactivation of IGF-I receptors independently of its ligand IGF-1. Further evidence demonstrates that this neuroprotection depends on the activation of Akt, which is triggered by a cross-talk between the GABA and IGF-1 signaling, involving GABAB2, G<sub>i/o</sub>, PLC $\beta$ , IGF-1 receptor, Src kinase, and PI3 kinase. These results reveal the GABAB receptor as a potential target for the treatment of neurodegenerative disorders.

## **氧化低密度脂蛋白促进脂蛋白相关磷脂酶 A2 在单核细胞中的表达**

王文义 王逸平

中国科学院上海药物研究所新药研究国家重点实验室 上海 201203

目的：研究氧化低密度脂蛋白（oxLDL）对脂蛋白相关磷脂酶 A2（Lp-PLA<sub>2</sub>）表达调控的影响和 Lp-PLA<sub>2</sub> 介导的 oxLDL 促动脉粥样硬化作用。结果：实验采用培养的人单核细胞系 THP-1 细胞为模型，观察 oxLDL 和低密度脂蛋白（LDL）对 Lp-PLA<sub>2</sub> 在 THP-1 细胞表达的影响。应用 Lp-PLA<sub>2</sub> 抑制剂 SB435495 研究了 Lp-PLA<sub>2</sub> 介导的 oxLDL 对炎症因子表达、细胞黏附及细胞毒性的影响。结果显示，OxLDL 能够明显上调 THP-1 细胞中 Lp-PLA<sub>2</sub> mRNA 表达水平，以及 Lp-PLA<sub>2</sub> 蛋白的表达，而 LDL 却无此作用。OxLDL 的这一作用是通过其所含的氧化磷脂（oxPCs）介导的，而 OxLDL 水解后的产物溶血卵磷脂（lysoPCs）没有此作用。OxLDL/oxPCs 能够激活 p38 MAPK 及 PPAR $\gamma$  通路。而 p38 MAPK 的抑制剂 SB203580 及 SB202190 均能够阻断 oxLDL 对 Lp-PLA<sub>2</sub> 表达的影响。PPAR $\gamma$  的拮抗剂 GW9662 能够减弱，但不能完全抑制 oxLDL 促进 Lp-PLA<sub>2</sub> 表达的作用。另外，Lp-PLA<sub>2</sub> 抑制剂 SB435495 不能够阻止 LDL 的氧化，但能抑制 LDL 在氧化过程中 lysoPCs 的生成。抑制 Lp-PLA<sub>2</sub> 的活性能够减弱 oxLDL 的促炎症因子表达、促细胞黏附及细胞毒性作用，表明 Lp-PLA<sub>2</sub> 通过水解 oxLDL 生成 lysoPCs 产生致炎作用。结论：OxLDL/oxPCs 能够促进 Lp-PLA<sub>2</sub> 在单核细胞中的表达，该作用是通过 p38 MAPK 介导的。PPAR $\gamma$  部分参与了 OxLDL/oxPCs 的这一作用。另外，抑制 Lp-PLA<sub>2</sub> 的活性能够减弱 oxLDL 的促炎症因子表达、促细胞黏附及细胞毒性作用，说明 Lp-PLA<sub>2</sub> 具有促动脉粥样硬化的作用。

## 低氧诱导因子-1 $\alpha$ 对恶性胶质瘤细胞分化的影响及机制

卢慧敏

中山大学 中山医学院药理教研室 510080

Aberrant differentiation is a characteristic feature of neoplastic transformation, while hypoxia in solid tumors is believed linking to aggressive behavior and poor prognosis. However, the possible relation of hypoxia and differentiation in malignancies remains poorly defined. Here we show that rat C6 and primary human malignant glioma cells can be induced to differentiate into astrocytes by the well known adenylate cyclase activator forskolin. However, hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) expression stimulated by hypoxia mimetics cobalt chloride or deferoxamine blocks this differentiation and this effectiveness is reversible by withdrawal of hypoxia mimetics. Importantly, knockdown of HIF-1 $\alpha$  by RNA interference restores their differentiation capabilities even in the presence of cobalt chloride, whereas stabilization of HIF-1 $\alpha$  through retarded ubiquitination by von Hippel-Lindau (VHL) tumor suppressor gene silence abrogates the induced differentiation. Moreover, targeting of HIF-1 using chetomin, a disrupter of HIF-1 binding to its transcriptional coactivator CREB-binding protein (CBP)/p300, abolishes the differentiation-inhibitory effect of HIF-1 $\alpha$ . Administration of chetomin in combination with forskolin also significantly suppresses malignant glioma growth in an *in vivo* xenograft model. Analysis of 95 human glioma tissues revealed an increase of HIF-1 $\alpha$  protein expression with progressing tumor grade. These findings suggest a key signal transduction pathway involving HIF-1 that contributes to a differentiation defect in malignant gliomas and shed new light on the differentiation therapy of solid tumors by targeting HIF-1.

## 谷氨酸引起星形胶质细胞核形态改变

杨春章 于常海

北京大学神经科学研究所, 教育部神经科学重点实验室, 卫生部神经科学重点实验室,  
北京大学神经生物学系 北京大学 100191

谷氨酸是中枢神经系统中最主要的兴奋性神经递质, 参与脑细胞间兴奋性信息的传递。星形胶质细胞表面丰富的谷氨酸转运蛋白可以有效清除细胞外谷氨酸, 以终结谷氨酸的信号传递作用, 但谷氨酸摄取的潜在生物学功能尚不明确。本研究首次证明谷氨酸进入星形胶质细胞后, 直接引起细胞核发生形态改变。细胞核形态改变是谷氨酸的特异反应, 与细胞外谷氨酸浓度密切相关。细胞膜表面的谷氨酸转运蛋白直接参与细胞核形态调节, 而与离子型、代谢型谷氨酸受体, 细胞内钙离子浓度改变无关。我们进一步证实水通道蛋白-1 (AQP1) 分布于星形胶质细胞核膜表面, 并直接参与了谷氨酸引起的核形态调节。本项目证明细胞外谷氨酸通过转运蛋白和 AQP1 直接调节星形胶质细胞核形态, 提示神经元兴奋性调节细胞核形态功能的潜在机制。

## 抗肿瘤药理

### ER $\alpha$ / $\beta$ 蛋白表达与基因启动子甲基化 在中国女性散发性乳腺癌中的相关性研究

魏敏杰 赵琳

中国医科大学药理教研室 沈阳 110001

目的: 探讨雌激素受体 $\alpha$  (Estrogen Receptor  $\alpha$ , ER $\alpha$ )、雌激素受体 $\beta$  (Estrogen Receptor  $\beta$ , ER $\beta$ ) 基因启动子区甲基化与 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  蛋白失表达关系。方法: 甲基化特异性 PCR (Methylation specific PCR, MSP) 法检测 138 例散发性乳腺癌和 14 例乳腺纤维腺瘤组织中 ER $\alpha$  基因启动子区四个 CpG 岛密集区域甲基化及 ER $\beta$  启动子区甲基化状态, 免疫组织化学方法检测 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  蛋白的表达。结果: 纤维腺瘤组织中, ER $\alpha$ 、ER $\beta$  甲基化发生率分别为 28.6% (3/14)、14.3% (2/14); 乳腺癌组织 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  总甲基化发生率分别为 60.1% (83/138)、53.6% (74/138), ER $\alpha$  启动子区 ER1、ER2、ER3、ER4 四个检测区域的甲基化发生率分别为 34.8%、35.5%、39.1%、36.9%, ER1~ER4 各检测区域间甲基化率未见显著性差别; 乳腺癌组织 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  甲基化发生率均显著高于纤维腺瘤组织 (60.1% vs. 28.6%,  $X^2=5.117$ ,  $P=0.023$ ; 53.6% vs. 14.3%,  $X^2=11.418$ ,  $P=0.004$ ); 分析乳腺癌中 ER $\alpha$  基因启动子甲基化与 ER $\alpha$  表达相关性发现 ER $\alpha$  阳性的乳腺癌组织中 ER $\alpha$  基因启动子甲基化发生率为 37.7% (26/69), 而在 ER $\alpha$  阴性组织总甲基化发生率 82.6% (57/69)。进一步针对四个 CpG 岛密集区域异常甲基化检测发生率, 发现在 ER $\alpha$  阳性的乳腺癌组织中 ER $\alpha$  基因启动子甲基化发生率分别为 14.5%、18.8%、7.2%、17.4%, 在 ER $\alpha$  阴性的乳腺癌组织中 ER $\alpha$  基因启动子甲基化发生率明显升高, 分别为 55.1%、52.2%、58%、56.5%。以 ER $\alpha$  表达水平与甲基化检出率做 Spearman 相关性分析, 二者呈显著负相关 ( $r=-0.469$ ,  $P<0.0001$ ); 分析乳腺癌中 ER $\beta$  基因启动子甲基化与 ER $\beta$  蛋白表达的相关性发现 ER $\beta$  阳性的乳腺癌组织中 ER $\beta$  基因启动子甲基化发生率为 35.4% (29/82), 而在 ER $\beta$  阴性组织总甲基化发生率 80.4% (45/56)。以 ER $\beta$  表达水平与甲基化检出率做 Spearman 相关性分析, 二者呈显著负相关 ( $r=-0.743$ ,  $P<0.0001$ )。结论: 中国女性散发性乳腺癌存在较高频率的 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  基因启动子异常甲基化; 乳腺癌组织中 ER $\alpha$ 、ER $\beta$  失表达与其基因启动子异常甲基化有关。

### 小分子 Pin1 抑制剂 XP08075 的抗肿瘤作用研究

金晶 陈晓光

中国医学科学院北京协和医学院药物研究所 北京 100050

目的:本研究旨在观察小分子肽脯氨酸反异构酶Pin1抑制剂XP08075的体外抗肿瘤作用及其对细胞周期及Pin1相关信号通路的影响。方法:Western Blot法检测多种肿瘤细胞株的Pin1蛋白表达水平,选定相对低表达Pin1的HepG2细胞,脂质体法稳定转染pCMV-Pin1质粒构建高表达Pin1的肝癌细胞模型,MTT检测XP08075对不同肿瘤细胞、亲本HepG2细胞以及高表达Pin1HepG2细胞的生长抑制作用;生长曲线及流式细胞术检测XP08075对肿瘤细胞倍增时间及细胞周期的影响;Western Blot分析XP08075对Pin1蛋白水平以及Pin1相关信号通路的影响。结果:MTT实验显示XP08075能显著抑制各种肿瘤细胞的增殖,IC<sub>50</sub>在微摩尔水平,且抑制水平与肿瘤细胞Pin1表达水平有一定相关性;成功构建并鉴定Pin1高表达的HepG2肝癌细胞模型,MTT实验显示,高表达Pin1的HepG2细胞较亲本株更敏感;生长曲线结果显示,XP08075能明显降低HepG2及MCF-7细胞的倍增时间;流式细胞术结果显示,XP08075对MCF-7细胞的周期无显著影响;Western blot结果显示,XP08075可以呈时间依赖的抑制Pin1的蛋白水平,抑制Pin1下游相关蛋白CyclinB1,  $\beta$ -catenin的表达。结论:小分子Pin1抑制剂XP08075可以通过抑制Pin1表达从而抑制肿瘤细胞的增殖,Pin1抑制剂有望成为新型的抗肿瘤治疗靶点。

## 新型 Bcr/Abl 和 Src 双靶点抑制剂 FB2 治疗伊马替尼耐药的慢性髓系白血病的的作用及机理研究

袁霞 陈晓光

中国医学科学院药物研究所 北京 10050

目的: Bcr / Abl 酪氨酸激酶抑制剂伊马替尼 (imatinib) 可有效治疗 Ph 染色体阳性的慢性髓系白血病 (chronic myelogenous leukemia, CML), 但许多进展期病人逐渐出现 imatinib 耐药。FB2 属噻唑啉胺化合物, 是一种新型 Bcr / Abl 和 Src 双靶点抑制剂, 本研究旨在探讨体外 FB2 对人慢性髓系白血病细胞 K562 的 imatinib 不同耐药倍数细胞的作用, 并观察 FB2 对野生型及具有突变位点的 Bcr/Abl 激酶区活性的影响。方法: 建立 K562 的 imatinib 不同耐药倍数的细胞株 K562R, 观察 FB2 在体外对 K562R 细胞增殖的抑制作用; western blot 分析方法检测 FB2 对 K562R 细胞的 Bcr / Abl、c-Src 和 Lyn 的蛋白表达及其磷酸化水平的影响; 纯化野生型及具有位点突变的蛋白激酶区域, 观察 FB2 对 Abl 激酶区的影响。结果: FB2 在体外对不同耐药倍数 K562R 细胞增殖具有一定的抑制作用。作用机理研究表明, FB2 明显降低 Bcr / Abl、c-Src 和 Lyn 的磷酸化水平; FB2 可抑制野生型及 Y253F 位点突变的 Bcr/Abl 激酶区活性, 但对 T315I 位点突变的激酶区活性无明显影响, 与阳性对照药 dasatinib 相当。结论: FB2 可明显抑制 imatinib 耐药的 K562 细胞的增殖, 其抗慢性髓系白血病的作用与抑制 Bcr / Abl、Src 的磷酸化水平直接相关, 提示 FB2 有望成为一种新型克服 imatinib 耐药的治疗慢性髓系白血病的双靶点药物。

## 吉非替尼与紫杉醇合用于 HERs 高表达胃癌细胞的实验研究

刘振佳 陈晓光

中国医学科学院北京协和医学院药物研究所 北京 100050

联合应用靶向 HER1 (ErbB1, EGFR) 的抗肿瘤药吉非替尼与传统化疗药紫杉醇, 观察 HERs 高表达胃癌细胞的生长抑制作用及对 HERs 的影响。吉非替尼 (Gefitinib, Iressa) 是苯胺噻唑啉类 HER1 酪氨酸激酶抑制剂 (TKIs); 紫杉醇 (Paclitaxel, Taxol) 是抗微管药, 二者通过不同作用机制引发肿瘤细胞凋亡。胃癌在我国是高发生率、高死亡率的肿瘤, 目前针对胃癌的靶向治疗或联合靶向药物与传统化疗药物的研究较少, 而胃癌中 33%~74% 存在 HER1 的高表达。联合应用 HER1 靶向药物吉非替尼与化疗药紫杉醇, 考察其合用时的疗效, 相互作用 (协同, 相加等), 及可能的作用机制

是本研究的主要目的。研究中先采用 MTT 法考察单独给予两药对不同 HERs 表达水平胃癌细胞的抑制作用。再采用 MTT 法检测两药不同比例联合应用对 HERs 高表达胃癌细胞的抑制作用,在此基础上通过计算 CI 值(Combination Index Value),考察两药合用于 HERs 高表达胃癌细胞株的相互作用关系(协同或相加)。研究发现在两药浓度比例为 330: 1, 联合抑制率在 60~80%时,能够协同抑制 HERs 高表达胃癌细胞。并进一步探讨其可能的机制,通过 Western Blot 法检测药物作用对 HERs、磷酸化 HERs 以及下游信号通路中(如 PI3K-Akt 信号途径)信号分子(Akt/磷酸化 Akt)表达的影响;通过免疫荧光法检测药物对微管聚合的影响。最终导致细胞凋亡增多,通过 Hoechst33342 染色及检测凋亡相关蛋白的表达,进一步确证协同促进细胞凋亡的作用。结果表明两药适宜配比可协同抑制 HERs 高表达胃癌细胞的生长。

## 黄酮类抗肿瘤先导化合物的研究

刘巍 李伟亮 石玉 周娜 徐为人

天津药物研究院 天津市新药设计与发现重点实验室 天津 300193

目的: 在已报道具有蛋白酪氨酸激酶抑制活性的黄酮类结构的基础上,进行结构修饰,设计并合成了一系列化合物,并对其生物活性进行测定,旨在发现新的抗肿瘤先导化合物。方法: 利用 Swiss PDB Viewer3.7 软件的 Magic fit 模块,将不同来源的 EGFR, FGFR<sub>1</sub>, FGFR<sub>2</sub>, IGFR, VEGFR<sub>2</sub>, C-kit 分别进行立体结构的叠合,共确定了 6 种蛋白酪氨酸激酶结构(1XKK、1AGW、10EC、2OJ9、1Y6A 和 1PKG)作为对接模板。基于黄酮类结构设计了一系列小分子化合物,分别采用了 Gold3.0.1 和 Schrödinger 两个软件进行了分子对接及评价,为确定目标分子提供理论基础。通过化学合成得到目标化合物,以核磁共振进行结构确证。MTT 方法检测化合物对体外培养的 HL-60 细胞、SGC-7901 细胞、SW-480 细胞及 MCF-7 细胞增殖的影响,计算 IC<sub>50</sub> 值。结果: ZHT 系列分子和蛋白酪氨酸激酶的各种受体对接成功,有较好的结合能力,存在合理的结合模式。合成了 10 个代表性的目标化合物即 ZHT002~ZHT011,经核磁共振氢谱和碳谱确认结构正确。其中 ZHT009 和 ZHT010 对体外培养的 HL-60、SGC-7901、SW-480 和 MCF-7 四种肿瘤细胞具有较强的增殖抑制作用,ZHT009 的 IC<sub>50</sub> 分别为 3.44、7.16、4.86 和 7.76 μg/ml; ZHT010 的 IC<sub>50</sub> 分别为 1.58、0.64、2.47 和 5.22 μg/ml。结论: 基于黄酮类结构设计并合成的 ZHT 系列化合物,具有较好的体外抗肿瘤活性,是很有开发潜力的多靶点酪氨酸激酶抑制剂。

## PTEN 缺失的前列腺癌细胞中 PI3K 的激活机理

蒋新农<sup>1</sup> Steve P. Balk<sup>2</sup>

1 华中科技大学生命科学与技术学院生物物理与生物化学所 武汉 武汉市洪山区珞瑜路 1037 号 430074

2 Harvard Medical School/Beth Israel Deaconess Medical Center, Division of Oncology and Hematology, Boston, MA 02215, USA

研究目的: 根据底物及产物的不同, PI3K 可分为 3 类。I 类 PI3K 的产物是 3,4,5-三磷酸肌醇(PIP<sub>3</sub>),该产物可与蛋白中的 PH domain 结合,从而将蛋白招募到细胞膜附近。I 类 PI3K 可进一步被分为 IA 和 IB 两个亚类,IA 类 PI3K 由调节亚单位 p85 和催化亚单位 p110(包括 p110 $\alpha$ ,  $\beta$  和  $\delta$ )组成,其中 p85 亚单位的 SH2 domain 可与 Tyr 磷酸化的受体或 adaptor 蛋白结合,该类 PI3K 由受体 Tyr 蛋白激酶(RTK)所激活。IB 类 PI3K 则由调节亚单位 p101 和催化亚单位 p110 $\gamma$  组成,由 G 蛋白偶联受体(GPCR)所激活。近期有研究表明 p110 $\beta$  也可通过 GPCR 激活 PI3K 信号通路。正常细胞中,PI3K 信号通路被 PIP<sub>3</sub> 的磷酸酶 PTEN 所拮抗。许多研究表明,由 PTEN 缺失所导致的 PI3K 信号通路的激活在成胶质神经细胞瘤和前列腺癌(prostate cancer; PCa)中起着主要作用,并在其他一些肿瘤中起着一定作用。对于 PTEN 突变的鉴定以及 PTEN 蛋白的研究表明,在大部分转移性 PCa 及许多侵袭性的原发性 PCa

中, PTEN 的活性发生丢失。在前列腺中缺乏 PTEN 蛋白表达的小鼠中, 其前列腺在早期出现高级上皮细胞内增生 (PIN), 并逐渐发展成腺癌, 这进一步证实了 PTEN 缺失会促进 PCa 的发生。通常情况下, PI3K 由 p85 与磷酸化的 RTK 或 adaptor 蛋白相结合而被激活。然而, 由于肿瘤中的 PI3K 也可通过其他途径被激活, 例如 p110 $\beta$  可以不依赖于 p85 而激活 PI3K, 所以尚不清楚由 p85 与 RTK 参与的 PI3K 信号通路的激活是否为 PTEN 缺失的 PCa 细胞所必需, 值得进一步探讨。研究结果: PTEN 缺失的人类 PCa 细胞系 LNCaP 即使在无血清条件下培养三天, 细胞中的 PI3K 仍有很高的活性。用 RTK 的抑制剂 lapatinib 和 sorafenib 处理细胞可抑制 PI3K 的激活, 且两者之间有协同效应。免疫共沉降实验表明 p85 可以和 5 种 Tyr 磷酸化得蛋白结合, 然而, 进一步的抑制剂处理和质谱分析却表明 p85 与这些 pTyr 磷酸化蛋白之间的结合并非由 p85 的 SH2 domain 所介导。对细胞中 p110 亚单位的免疫印迹和质谱分析表明 p110 $\beta$  的表达量为 p110 $\alpha$  的五倍, 提示 p110 $\beta$  可能是 LNCaP 细胞中调节 PI3K 信号通路的关键分子。实验结论: 尽管 PTEN 缺失的 LNCaP 细胞中 PI3K 具有很高的活性, 但是, 该通路的激活并不依赖于由 p85 的 SH2 domain 所介导的来自 RTK 的信号, p110 $\beta$  很可能在 PI3K 的激活中起着主要作用。

## 格列苯脲通过激活 ROS-JNK 通路发挥抗肿瘤作用

钱霞 李菁 丁建花 王志媛 黄旭 胡刚

江苏省神经退行性疾病重点实验室 南京医科大学 南京 210029

**目的:** 探讨 ATP 敏感性钾通道 ( $K_{ATP}$ ) 阻断剂格列本脲对胃癌细胞株 MGC-803 的抗肿瘤作用及相关机制。  
**方法:** 应用 MTT、Hoechst 法分别检测格列本脲对细胞活力和凋亡的影响; 应用 Western-blot、RT-PCR 等方法检测 MGC-803 细胞 KATP 亚基的表达、线粒体细胞色素 C 和凋亡诱导因子 (AIF) 的释放、JNK、Akt 的磷酸化, 以及 NADPH 氧化酶催化亚基 gp91 的表达; 应用  $H_2DCFDA$  ROS 荧光探针检测 ROS 和  $O_2^-$  的产生, 氧电极法测定线粒体呼吸功能。结果: MGC-803 细胞表达由 kir6.2 和 SUR1 亚基构成的  $K_{ATP}$  通道。格列本脲可降低 MGC-803 细胞活力、促进其凋亡; 格列本脲能促进 NADPH 氧化酶源性和线粒体源性 ROS 的生成, 进而活化 JNK 激酶, 并降低线粒体膜电位、促进细胞色素 C 和凋亡诱导因子 (AIF) 的释放, 触发线粒体通路介导的细胞凋亡; 抗氧化剂 N-乙酰半胱氨酸 (NAC) 可抑制格列本脲降低 MGC-803 细胞活力、诱发细胞凋亡, 以及活化 JNK 的作用; 进一步的研究显示, 格列本脲可显著降低野生型 MEF 细胞的活力、促进其凋亡, 并能抑制抗凋亡的 Akt 信号通路, 但不影响 JNK1 $^{-/-}$  和 JNK2 $^{-/-}$  MEF 细胞的存活。结论:  $K_{ATP}$  通道阻断剂格列本脲可通过促进 ROS 的生成, 激活 JNK、抑制 Akt 信号通路, 触发线粒体通路介导的细胞凋亡, 从而发挥其抗肿瘤作用。研究结果提示,  $K_{ATP}$  通道可能是发展抗肿瘤药物的有效靶标。

## CpG ODN107 对人脑胶质瘤放射增敏作用及其机制研究

蒋为薇 颜伟 周红

第三军医大学药理教研室 重庆 400038

**目的:** 探讨含 CpG 的寡脱氧核苷酸 (ODN) 单独及与  $\beta$  射线联用对人脑胶质瘤的治疗作用及其初步机制。**方法:** MTT, 细胞迁移实验观察 CpG ODN107 对 CHG-5 细胞  $\beta$  射线照射后的生长、细胞迁移的抑制作用; Griess 法检测 CpG ODN107 对 CHG-5 细胞释放 NO 的影响; ELISA 法检测 NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$ 、IL-6、INF- $\gamma$  活化情况; 流式细胞技术观察肿瘤细胞周期的变化情况; 裸鼠移植瘤模型上观察 CpG ODN107 在体内的放射增敏作用。结果: CpG ODN107 能显著提高 CHG-5 细胞对  $\beta$  线的放射敏感性, 可增强  $\beta$  射线对 CHG-5 细胞的生长、细胞迁移的抑制作用, 放射增敏比达到 1.88; 在荷瘤裸鼠移植瘤模型中, CpG ODN107 (100  $\mu$ g/只) 可明显抑制肿瘤组织的生长,

显著增加  $\beta$  射线对肿瘤组织的抑制作用。在给予 CpG ODN107 并  $\beta$  射线照射后, CHG-5 细胞的 NF- $\kappa$ B 明显活化增强, 分泌 NO 明显增加, 但是 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IFN- $\gamma$  并没有明显变化。细胞周期检测显示经 CpG ODN107 处理后的  $\beta$  射线照射后的细胞大量的阻滞于 G1 期。结论: CpG ODN107 能显著提高 CHG-5 细胞对  $\beta$  线的放射敏感性, 并且这种放疗增敏作用与 CpG ODN 的免疫刺激作用无关, 是由于增加了肿瘤细胞本身释放 NO, 导致肿瘤细胞在 G1 期的阻滞造成的。

## 肿瘤血管生成及其供血模式研究进展

季宇彬<sup>1,2,3</sup> 周婷婷<sup>1,2</sup> 邹翔<sup>1,2,3</sup>

1. 哈尔滨商业大学生命科学与环境科学研究中心
2. 国家教育部抗肿瘤天然药物工程研究中心
3. 哈尔滨商业大学药物所博士后科研工作站 哈尔滨 150076

在肿瘤的生长、侵袭和转移过程中, 肿瘤血管生成研究尤为重要。本文对目前研究较多的肿瘤血管生成过程、相关影响因子及不同供血模式等方面做一综述。研究表明肿瘤生长分为无血管的缓慢生长阶段和血管快速增长阶段。在无血管的缓慢生长阶段, 促血管生成因子(如血管内皮细胞生长因子 VEGF、成纤维细胞生长因子 FGF、整合素 INT 等)和血管生成抑制因子(如内皮抑素 ES、血管抑素 AS、血小板反应蛋白-1TSP-1 等)处于平衡状态, 当实体肿瘤达到或超过 1-2mm<sup>3</sup> 时, 单纯依靠弥散作用已不能满足自身营养需求, 肿瘤自身缺血缺氧诱导促血管生成因子产生, 平衡状态被打破, 血管生成表型启动。在肿瘤的生长过程中, 各种因子相互作用, 肿瘤组织内部会出现不同的供血模式, 主要有血管生成拟态 VM、马赛克血管 MV 和内皮依赖性血管三种。VM 完全以肿瘤细胞变形构建; MV 由不连续内皮细胞和肿瘤细胞相间构建; 内皮依赖性血管完全由内皮细胞衬覆。有文献将此三种模式称为“三阶段现象”即肿瘤供血模式由 VM 到 MV 再到内皮依赖性血管。目前, 抗血管生成在肿瘤治疗研究中占据重要的地位, 但还有许多问题尚未清晰。我们更需进一步研究, 为抗血管生成在临床上的应用及与传统抗肿瘤治疗方法的结合提供充实的理论依据。

## 藻胆蛋白主要生物活性研究进展

季宇彬<sup>1,2,3</sup> 徐博慧<sup>1,2,3</sup> 高世勇<sup>1,2,3</sup>

1. 哈尔滨商业大学生命科学与环境科学研究中心
2. 哈尔滨商业大学药物研究所博士后科研工作站
3. 教育部抗肿瘤天然药物工程研究中心 黑龙江 哈尔滨 150076

海藻是海洋生物资源的重要组成部分, 蓝藻、红藻、隐藻和少数甲藻中存在一类色素复合蛋白--藻胆蛋白(phycobiliproteins), 它易溶于水, 按光谱特性可分为红色的藻红蛋白(phycoerythrin, PE)、蓝紫色的藻蓝蛋白(phyocyanin, PC)和孔雀蓝色的异藻蓝蛋白(allophycocyanin, APC), 并有报道称其中以藻红蛋白为主。获得藻胆蛋白的主要途径是从海藻中提取分离藻胆蛋白。目前已知的提取方法主要有: 反复冻融法, 化学试剂处理法, 溶胀法和超声波法等。目前研究表明, 藻胆蛋白的生物活性主要表现在以下三个方面: 1 作为荧光探针. 藻胆蛋白荧光探针可以分为单一性与非单一性两种, 分别可以与一个或多个单抗共价结合用于疾病的检测诊断, 重要的是, 藻胆蛋白作为荧光探针具有荧光强度高、可长期保存且无明显衰减等许多传统荧光染料无法比拟的优越性。2 光敏作用. 作为新型光动力药物藻胆蛋白在光动力治疗癌症方面显示出了很好的前景。藻红蛋白介导的光动力反应能够有效的抑制肿瘤细胞 DNA 合成并杀伤癌细胞。3 抗肿瘤活性. 藻胆蛋白抗肿瘤活性研究广泛, 例如 R-藻蓝蛋

白还能抑制 HL-60 细胞的生长, 且存在浓度效应和时间效应; R-藻红蛋白能将 HeLa 细胞周期阻滞在 G2/M 期, 抑制细胞增殖并诱导细胞凋亡等。最近研究表明藻胆蛋白还具有抗氧化, 抗衰老, 抗炎, 抗病毒等功能, 但研究有待进一步深入。

## MAPK 信号转导通路与肿瘤细胞凋亡

季宇彬<sup>1,2,3</sup>, 孙胜男<sup>1,2</sup>, 邹翔<sup>1,2,3</sup>, 高鹏<sup>1,2</sup>

1. 哈尔滨商业大学生命科学与环境科学研究中心

2. 国家教育部抗肿瘤天然药物工程研究中心

3. 哈尔滨商业大学药物所博士后科研工作站 哈尔滨 150076

丝裂原活化的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)是一组可被多种信号激活的丝/苏氨酸激酶。经双重磷酸化激活后可参与细胞的多种生物活性, 如调节基因转录, 诱导细胞凋亡、调节细胞周期等。而 MAPK 对细胞凋亡的诱导作用, 是近年来研究的重点, 尤其是对肿瘤细胞凋亡的诱导作用, 更是人们关注的焦点。现已发现 p38, ERK5, ERK 以及 JNK 4 个亚族。其中 ERK, JNK, p38MAPK 三条通路与肿瘤细胞凋亡关系密切。细胞凋亡是在特定时空发生的、受机体严密调控的细胞“自杀”现象。在肿瘤细胞中, 活化的 p38 可增强 c-myc 表达、磷酸化 p53、参与 Fas/ FasL 介导的凋亡; 可增强 TNF- $\alpha$  表达; 作用于 Caspase 家族的上游而诱导肿瘤细胞凋亡。某些作用于 p38 通路的化疗药物, 也是通过诱导凋亡, 产生抗肿瘤作用。JNK 信号转导通路参与多种凋亡反应, 现阶段研究表明, JNK 通路介导肿瘤细胞凋亡的机制是通过磷酸化 Bcl-2 和 Bcl-xL, 促进线粒体释放细胞色素 C, 进而激活 Caspase 级联反应, 最终作用于 Caspase-3, 导致细胞凋亡。ERK 通路是目前研究的最为透彻的 MAPK 通路, 其激酶可被依赖于高浓度  $Ca^{2+}$  的 Ras 激活, 而其底物蛋白就包括 c-myc 等, 大量研究表明, ERK 介导的肿瘤细胞凋亡正是通过 c-myc 起作用。同时, ERK 诱导肿瘤细胞凋亡的机制也包括: 下调 Bcl-2、上调 Bax, 作用于 Caspase 家族等。综上, MAPK 通路对诱导肿瘤细胞凋亡有非常重要的作用, 将有望成为抗肿瘤药物新的作用靶点。

## GHGKHKNK 八肽抑制小鼠恶性黑色素瘤 B16-F10 转移及其机制的实验研究

杜培革<sup>1</sup> 吕刚<sup>2</sup> 田丹<sup>2</sup> 安丽萍<sup>1</sup> 韩笑<sup>1</sup> 徐广宇<sup>1</sup> 杨松<sup>1</sup> 高莉因<sup>1</sup>

1. 北华大学药学院微生物与生化药学教研室

2. 北华大学生命科学研究中心 吉林 132013

目的: 探讨 GHGKHKNK 八肽抑制小鼠恶性黑色素瘤 B16-F10 细胞转移及其机制。结果: 1. 不同剂量的 GHGKHKNK 八肽对小鼠恶性黑色素瘤细胞 B16-F10 的克隆形成均有抑制作用, 与对照组相比较均有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。2. 不同剂量的 GHGKHKNK 八肽在体外作用 24h 后可以显著抑制小鼠恶性黑色素瘤 B16-F10 细胞的侵袭, 穿膜细胞数与对照组比较具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。3. GHGKHKNK 八肽在 24h 时  $5.5 \times 10^{-4}$  mol/L、 $5.5 \times 10^{-5}$  mol/L、 $5.5 \times 10^{-6}$  mol/L 对小鼠恶性黑色素瘤细胞 B16-F10 黏附抑制率与对照组相比较均有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。4. 经 GHGKHKNK 八肽作用后, 小鼠恶性黑色素瘤细胞 ICAM-1、LN-R 表达降低表达降低, E-cadhesion 表达增强。与对照组比较明显差异  $P < 0.05$ 。5. GHGKHKNK 八肽对 B16-F10 人工肺转移的抑制作用的实验结果显示: GHGKHKNK 八肽各剂量组和环磷酰胺组肺转移灶的平均数目与生理盐水组对照组相比较有明显差异 ( $P < 0.05$ ); GHGKHKNK 八肽 500ug/kg/d、50ug/kg/d 剂量组与环磷酰胺组对比有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。结论: 1. GHGKHKNK 八肽在体外能抑制小鼠恶性黑色素瘤细胞的体外克隆形成能力, 能显著抑制小鼠恶性黑色素瘤 B16-F10 细胞的侵袭。提示 HGKHKNK

八肽可能通过抑制小鼠恶性黑色素瘤细胞的侵袭和增殖而抗肿瘤细胞的转移。2. GHGKHKNK 八肽抑制小鼠小鼠恶性黑色素瘤细胞 B16-F10 与人工基底膜的黏附, 提示 GHGKHKNK 八肽可能通过抑制细胞与基底膜的黏附来抑制肿瘤细胞的转移。3. GHGKHKNK 八肽能够下调细胞间黏附因子 1(ICAM-1)和层黏连蛋白受体(LN-R)在细胞内的表达, 提示 GHGKHKNK 八肽可能通过抑制细胞间黏附因子的表达而抑制肿瘤细胞的转移。4. GHGKHKNK 八肽能显著抑制小鼠恶性黑色素瘤细胞 B16-F10 在小鼠体内的肺转移。

## 蛇葡萄素与苯并芘合用对大鼠肝组织内 CYP 和 GST 基因表达的影响

杨秀芬\*<sup>1</sup> 钟正贤<sup>2</sup> 廖梅春<sup>1</sup> 杨子明<sup>1</sup> 郭菁菁<sup>1</sup> 高倩倩<sup>1</sup>

<sup>1</sup>广西中医学院药学院药理学教研室 南宁 530001 中国

<sup>2</sup>广西中医药研究院 南宁 530022 中国

目的: 观察蛇葡萄素与苯并芘合用对大鼠肝组织内 CYP 和 GST 基因表达的影响。方法: 蛇葡萄素(二氢杨梅素) 250mg/kg、500mg/kg, 溶于蒸馏水, 空白组和模型组给等体积的蒸馏水, 雄性 SD 大鼠, 灌胃给药 15 日, 第 15 日模型组和两个给药组分别腹腔注射(ip) 苯并芘 100mg/kg(溶于玉米油), 空白对照组 ip 等容积玉米油, 禁食不禁水, 24 小时后断头取出肝组织, 用逆转录-实时荧光定量 PCR 法检测肝组织内的的细胞色素 P450 基因 CYP1A1、CYP1A2、CYP1B1 和谷胱甘肽-S 转移酶基因 GST-m1、GST-pi 的表达情况。结果: 苯并芘组(模型组)可明显诱导肝组织内的 CYP1A1、CYP1A2、CYP1B1 基因表达( $p < 0.0001$ ), 分别是空白对照组的 121 倍、11 倍、684 倍, 但不影响谷胱甘肽-S 转移酶基因 GST-m1 和 GST-pi 的表达, 反而有抑制趋势, 分别是空白对照组的 0.79 倍和 0.82 倍; 蛇葡萄素(二氢杨梅素)组+苯并芘组可明显诱导肝组织内的 CYP1A1、CYP1A2、CYP1B1 基因表达( $p < 0.0001$ ), 蛇葡萄素 250mg/kg+苯并芘组和蛇葡萄素 500mg/kg+苯并芘组分别是空白对照组的 189 和 289 倍(有剂量效应关系)、16.9 和 44.5 倍(有剂量效应关系)、914 和 804 倍(无明显的剂量效应关系), 与苯并芘组(模型组)相比, 蛇葡萄素 250mg/kg+苯并芘组和蛇葡萄素 500mg/kg+苯并芘组不影响 CYP1B1 的基因表达, 但明显诱导 CYP1A1 的基因表达, 分别是苯并芘组(模型组)的 1.56 倍( $p > 0.05$ )和 2.39 倍( $p < 0.05$ ), 呈明显的剂量效应关系; 明显诱导 CYP1A2 的基因表达, 分别是苯并芘组(模型组)的 1.53 倍( $p < 0.05$ )和 4.04 倍( $p < 0.05$ ), 呈明显的剂量效应关系。与空白组相比蛇葡萄素 250mg/kg+苯并芘组不影响谷胱甘肽-S 转移酶基因 GST-m1 和 GST-pi 的表达, 分别是空白对照组的 1.08 倍和 1.50 倍; 但蛇葡萄素 500mg/kg+苯并芘组明显诱导谷胱甘肽-S 转移酶基因 GST-m1 和 GST-pi 的表达, 分别是空白对照组的 2.18 倍( $p < 0.001$ )和 2.12 倍( $p < 0.05$ ); 与苯并芘组(模型组)相比蛇葡萄素 250mg/kg+苯并芘组不影响谷胱甘肽-S 转移酶基因 GST-m1 和 GST-pi 的表达, 分别是空白对照组的 1.38 倍( $p > 0.05$ )和 1.82 倍( $p = 0.06$ ); 但蛇葡萄素 500mg/kg+苯并芘组明显诱导谷胱甘肽-S 转移酶基因 GST-m1 和 GST-pi 的表达, 分别是苯并芘组(模型组)组的 2.78 倍( $p < 0.001$ )和 2.57 倍( $p < 0.05$ )。结论: 与苯并芘合用, 蛇葡萄素(二氢杨梅素)可明显诱导 CYP1A1、CYP1A2 基因和谷胱甘肽-S 转移酶基因 GST-m1 和 GST-pi 的表达。对 CYP1B1 基因无明显影响。表明蛇葡萄素与苯并芘合用可加速苯并芘代谢形成非致癌物而解毒和加速排泄。提示蛇葡萄素可对抗苯并芘的致癌作用。

## 半边旗二萜类化合物 5F 下调 BEL-7402 细胞中 PIK3CA 和 AKT 的表达

吴科锋<sup>1</sup> 吕应年<sup>1</sup> 何太平<sup>2</sup> 刘义<sup>1</sup> G G Chen<sup>3</sup> 梁念慈<sup>4</sup>

1. 广东天然药物研究与开发重点实验室 广东 湛江 524023

2. 广东医学院检验学院 广东 湛江 524023
3. 香港中文大学威尔士亲王医院外科系 香港沙田
4. 广东医学院生物化学与分子生物学研究所 广东 湛江 524023

目的: 研究半边旗二萜化合物 5F (简称 PsL5F) 对人肝癌细胞株 BEL-7402 中 PIK3CA (Phosphoinositide-3-kinase, catalytic, alpha polypeptide) 和 AKT (V-akt murine thymoma viral oncogene homolog) 表达的影响, 探讨其抗肿瘤的可能作用机制。方法: 应用肿瘤基因芯片、荧光定量实时 PCR 和 Western blot 法检测 PsL5F 对 PIK3CA 和 AKT 表达的影响。结果: PsL5F 能明显下调肝癌细胞中 PIK3CA 和 AKT 的表达。结论: PsL5F 抗肿瘤作用与 PIK3CA、AKT 低表达有关。

## 绿茶提取物 EGCG 对肺癌细胞 HIF-1 $\alpha$ 和 VEGF 表达的影响

唐旭东<sup>1,2</sup> 周新<sup>2</sup> 李刚<sup>1</sup> 丁航<sup>1</sup> 覃燕梅<sup>1</sup> 周克元<sup>1</sup>

1. 广东医学院生物化学与分子生物学研究所 广东 湛江 524023
2. 武汉大学中南医院临床基因诊断中心 湖北 武汉 430071

绿茶的水溶性提取物含有多种多酚类化合物, 其中表没食子儿茶素没食子酸酯[(-)-epigallocatechin-3-gallate, EGCG]的含量最高, 也最具有药用功效。已发现 EGCG 可抑制人肺癌血管生成, 但其抑制肺癌血管生成的机制还不完全清楚。低氧诱导因子 1 $\alpha$  (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ ) 和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 是促血管生成的关键因子。本文的目的拟探讨在非小细胞肺癌细胞 A549 中, EGCG 是否通过影响 HIF-1 $\alpha$  和 VEGF 表达来抑制肺癌血管生成。方法: 将已在无血清培养液中饥饿 24 h 的 A549 细胞用不同浓度的 EGCG [0 (对照)、10、25、50、100  $\mu\text{mol/L}$ ] 预处理 1 h 后, 再加终浓度为 40 ng/mL 的胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factor-I, IGF-I) 在 37 $^{\circ}\text{C}$  继续孵育 16 h。将各组细胞和条件培养液收集后, 采用 Western blot 分析各组细胞中 HIF-1 $\alpha$  蛋白的表达、ELISA 检测各条件培养液中 VEGF 的蛋白分泌、实时 PCR 测定各组细胞 HIF-1 $\alpha$  和 VEGF mRNA 的表达水平。结果: IGF-I 能在 A549 细胞中诱导 HIF-1 $\alpha$  蛋白的表达、VEGF 蛋白的分泌和 VEGF mRNA 的表达, 但对 HIF-1 $\alpha$  mRNA 的表达无明显影响。同时, 各浓度 EGCG 抑制了 IGF-I 诱导的 HIF-1 $\alpha$  蛋白的表达, 但对 HIF-1 $\alpha$  mRNA 表达的影响不具有统计学意义 ( $P>0.05$ ); 另外, 50、100  $\mu\text{mol/L}$  EGCG 具有统计学意义地抑制了 IGF-I 诱导的 VEGF 蛋白的分泌和 VEGF mRNA 的表达 (同对照组比较  $P<0.01$ )。结论: EGCG 可通过影响 HIF-1 $\alpha$  蛋白的表达、VEGF 蛋白的分泌和 VEGF mRNA 的表达来抑制肺癌血管生成。

## 细胞凋亡的线粒体途径机制研究

孙桂超<sup>1,2</sup> 邹翔<sup>1,2</sup> 季宇彬<sup>1,2</sup>

1. 哈尔滨商业大学生命科学与环境科学研究中心药物研究所博士后科研工作站 哈尔滨 150076
2. 国家教育部抗肿瘤天然药物工程研究中心 哈尔滨 150076

细胞凋亡是细胞有机体为调控机体发育, 维护内环境稳定而主动采取的、由基因决定的、自动结束细胞生命的过程。线粒体在细胞凋亡中发挥着重要的作用。线粒体通透性转变孔 (MPTP) 开放导致线粒体内释放出包括细胞色素 C (Cyt-c)、Smac/DIABLO 和 AIF 等线粒体凋亡因子在内的各种蛋白, 从而启动细胞凋亡程序引起细胞凋亡。Cyt-c 释放到细胞浆后, Cyt-c、dATP、Aapf-1 和 procaspase-9 组成聚合体, 称为凋亡体。凋亡体可激活其下游的 procaspase-3, 从而导致细胞死亡。在凋亡诱导因素的刺激下, AIF 可从线粒体转位进入胞核, 直接引起染色

质浓缩及DNA的断裂。AIF的转位足以介导体外细胞凋亡的发生。Smac/ DIABLO受到凋亡刺激时, Smac/ DIABLO 蛋白的线粒体定位信号肽被切除, 能够从线粒体释放到胞质, 与凋亡抑制蛋白( IAP) 分子特异性结合, 解除凋亡抑制因子对 caspase 的阻碍作用, 激活各级caspase引起级联反应, 从而促进细胞凋亡。细胞凋亡的线粒体途径调控机制非常复杂, 关于线粒体蛋白的释放与线粒体功能的关系还有待深入研究。

## 4-氨基-2-三氟甲基苯基维甲酸酯诱导 K562 细胞分化的作用 及细胞周期阻滞的作用机制

阮晶晶<sup>1</sup> 陈飞虎<sup>1</sup> 徐佼<sup>1</sup> 沈娟<sup>1</sup> 石静波<sup>1</sup> 吴繁荣<sup>1</sup> 汪渊<sup>2</sup>

1. 安徽医科大学药学院

2. 安徽医科大学分子生物学实验室、生物化学教研室和安徽省/  
省部共建教育部重要遗传病基因资源利用重点实验室 合肥 230032

目的: 本研究探讨新型维甲酸衍生物 4-氨基-2-三氟甲基苯基维甲酸酯 (4-amino-2-trifluoromethyl-phenyl retinate, ATPR) 对 K562 细胞株的抑制增殖的和诱导分化活性并对其发生的细胞周期 G<sub>1</sub> 期阻滞的机制进行研究。方法: ATPR 作用于 K562 细胞 3d 后, 通过 MTT 法检测细胞的增殖, NBT 还原实验法分析细胞的分化指标, FCM 检测分析细胞周期和细胞表面分化抗原 CD<sub>45</sub>、CD<sub>71</sub>、CD<sub>117</sub> 变化。RT-PCR 法检测细胞周期蛋白 cyclin E、cyclin D1, 细胞周期蛋白依赖性激酶 CDK2、CDK4、CDK6, 周期蛋白抑制蛋白 / 激酶抑制蛋白(CIP/KIP) P21<sup>(cip1)</sup>、P27<sup>(kip1)</sup>、P57<sup>(kip2)</sup> mRNA 的变化情况。Western Blot 法检测 cyclin D1 和 CDK4 蛋白表达的改变。结果: ATPR 呈浓度依赖性抑制 K562 细胞增殖的作用。ATPR 诱导分化活性表现为 NBT 阳性细胞率增加, 细胞表面分化抗原 CD<sub>71</sub> 表达减少, G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞表达量增加, S 期细胞表达量减少, 呈 G<sub>1</sub> 期阻滞。RT-PCR 检测发现 cyclin E、cyclin D1、CDK2、CDK4、CDK6 表达减少, PCNA、P21<sup>(cip1)</sup>、P27<sup>(kip1)</sup> 改变不明显, P57<sup>(kip2)</sup> 表达增加。Western Blot 检测 cyclin D1 和 CDK4 蛋白表达减少。结论: ATPR 有较强的抑制 K562 细胞增殖并诱导其分化的活性, 并通过上调 P57<sup>(kip2)</sup> 的表达, 抑制 Cyclin-CDK 激酶复合物, 发挥细胞周期阻滞的作用。

## 类胰岛素结合蛋白-6 和甲状腺素受体 $\alpha 1$ 相互作用并干扰 TR:RXR 异二聚体的形成

裘佳 王岚 陈虹 黄秉仁

中国医学科学院基础研究所 清华大学医学部北京协和医学院  
医学分子生物学国家重点实验室 北京 100005

类胰岛素结合蛋白-6 (IGFBP-6) 在细胞生长过程中具有 IGF 依赖性和非依赖性效应。之前的研究已经证明 IGFBP-6 具有功能序列可以介导其进入细胞核。但是, IGFBP-6 在细胞核中的非 IGF 依赖作用还不清楚。研究目的: 探讨 IGFBP-6 对甲状腺素信号在靶基因转录调控中的影响机制, 为 IGFBP-6 作为药物治疗甲状腺素引起的疾病提供实验依据。具体探讨 IGFBP-6 能否与甲状腺素受体  $\alpha 1$  (TR $\alpha 1$ ) 和视黄醇类 X 受体  $\alpha$  (RXR $\alpha$ ) 相互作用, 并检测 IGFBP-6 能否阻止 TR:RXR 异二聚体的形成。结果: 通过 GST-pull down、Western blot 方法体外证明 IGFBP-6 质粒转染 293T 细胞 24h 后, 细胞中过表达的 IGFBP6 蛋白可以直接和大肠杆菌 BL21 表达的 TR $\alpha 1$  及 RXR $\alpha$  相互作用。分别表达 TR $\alpha 1$  的不同区域发现只有 TR $\alpha 1$  的 DNA 结合区可以结合 IGFBP-6。IGFBP-6 的 N 端和 C 端区都可以与 TR $\alpha 1$  作用, 但 C 端区结合力更强。通过 His 柱纯化和 GST-pull down 方法证明 IGFBP-6 蛋白可以干扰 TR:RXR 异二聚体的形成。通过 CO-IP、Western blot 方法证明 293T 细胞中转染 TR $\alpha 1$  和 IGFBP-6 质粒 24h 后, 在过表

达 TRa1 和 IGFBP-6 蛋白的情况下, 给予 T3  $10^{-6}$ M 作用 4h, IGFBP-6 可以直接和 TRa1 相互作用。共聚焦显微镜检测 TRa1 和 IGFBP-6 共定位于 293T 细胞核。结论: 首次证明 TRa1 和 RXRa 是 IGFBP-6 的结合蛋白。它们的相互作用揭示了两个之前认为无关的信号传导系统之间的相互作用, 对研究生长因子和核受体配体在癌症及其它疾病中的 cross-talk 开拓了新的研究方向, 为 IGFBP-6 作为药物治疗甲状腺素引起的疾病中的应用提供可能。

## 柚皮素硫酸酯对兔全血血小板聚集的影响

刘文<sup>1</sup> 段宁<sup>2</sup> 张莹<sup>2</sup> 覃燕梅<sup>1</sup> 梁念慈<sup>1</sup>

1. 生物化学与分子生物学研究所

2. 第一临床学院 05 级 广东医学院 湛江 524023

柚皮素富含于柚子中的黄烷酮类化合物, 它具有广泛的药理学特性包括抗炎、抗氧化、抗肿瘤形成与生长等活性, 但是, 柚皮素不溶于水, 极大地限制了其生物利用度和体内给药途径。理论上, 在力求保持其活性结构的情况下, 将柚皮素改造成水溶性的衍生物, 这衍生物可望开发成为一种新的药物。本文用柚皮素作为母体分子, 采用化学合成法合成出柚皮素硫酸酯钠盐的衍生物, 其结构经高效液相色谱 (HPLC)-大气压化学电离(APCI)-质谱(MS)联用确定为柚皮素单硫酸酯, 而且它们母核的基本结构没有被破坏; 此外, 本文还研究柚皮素硫酸酯对兔全血血小板聚集的影响, 结果发现柚皮素硫酸酯对凝血酶诱导的兔全血血小板聚集有抑制作用, 当柚皮素硫酸酯的浓度为 160、320 和 640  $\mu\text{mol/L}$  时, 抑制率分别为 52%、35% 和 46%。本文的研究结果提示, 柚皮素硫酸酯具有抗血小板聚集的作用, 此外, 本文所采用的化学合成法并不破坏黄酮类化合物的活性结构, 在黄酮类化合物结构改造中值得推广。

## 黄酮类抗肿瘤先导化合物的研究

刘巍 李伟亮 石玉 周娜 徐为人

天津药物研究院 天津市新药设计与发现重点实验室 天津 300193

目的: 在已报道具有蛋白酪氨酸激酶抑制活性的黄酮类结构的基础上, 进行结构修饰, 设计并合成了一系列化合物, 并对其生物活性进行测定, 旨在发现新的抗肿瘤先导化合物。方法: 利用 Swiss PDB Viewer3.7 软件的 Magic fit 模块, 将不同来源的 EGFR, FGFR<sub>1</sub>, FGFR<sub>2</sub>, IGFR, VEGFR<sub>2</sub>, C-kit 分别进行立体结构的叠合, 共确定了 6 种蛋白酪氨酸激酶结构 (1XKK、1AGW、10EC、2OJ9、1Y6A 和 1PKG) 作为对接模板。基于黄酮类结构设计了一系列小分子化合物, 分别采用了 Gold3.0.1 和 Schrödinger 两个软件进行了分子对接及评价, 为确定目标分子提供理论基础。通过化学合成得到目标化合物, 以核磁共振进行结构确证。MTT 方法检测化合物对体外培养的 HL-60 细胞、SGC-7901 细胞、SW-480 细胞及 MCF-7 细胞增殖的影响, 计算 IC<sub>50</sub> 值。结果: ZHT 系列分子和蛋白酪氨酸激酶的各种受体对接成功, 有较好的结合能力, 存在合理的结合模式。合成了 10 个代表性的目标化合物即 ZHT002~ZHT011, 经核磁共振氢谱和碳谱确认结构正确。其中 ZHT009 和 ZHT010 对体外培养的 HL-60、SGC-7901、SW-480 和 MCF-7 四种肿瘤细胞具有较强的增殖抑制作用, ZHT009 的 IC<sub>50</sub> 分别为 3.44、7.16、4.86 和 7.76  $\mu\text{g/ml}$ ; ZHT010 的 IC<sub>50</sub> 分别为 1.58、0.64、2.47 和 5.22  $\mu\text{g/ml}$ 。结论: 基于黄酮类结构设计并合成的 ZHT 系列化合物, 具有较好的体外抗肿瘤活性, 是很有开发潜力的多靶点酪氨酸激酶抑制剂。

## 粟米草中抗肿瘤化学成分的研究

刘可越

目的: 研究粟米草 (*Mollugo pentaphylla* L.) 中具有抗肿瘤作用的活性成分。方法: 将粟米草乙醇提取物依次用石油醚 (A)、醋酸乙酯 (B) 和正丁醇 (C) 萃取, 得到 3 种极性不同提取部位 A、B、C。利用硅胶柱色谱、Sephadex LH20、PHPLC 等手段对提取部位 A、B 进行分离纯化, 通过理化和波谱分析方法鉴定化合物结构, 并对分得的化合物的 MTT 体外抑瘤活性进行测定。结果: 从粟米草中分离得到了 7 个化合物, 经 IR、NMR、MS 等波谱方法鉴定为表木栓醇 (epi-friedelanol) (1)、麦角甾醇 (taraxerol) (2)、 $\alpha$ -菠甾醇 ( $\alpha$ -spinasterol) (3)、 $\beta$ -谷甾醇 ( $\beta$ -sitosterol) (4)、5,25-豆甾二烯醇 (5,25-stigmastadien-3-ol) (5)、山奈酚 (kaemferol) (6)、槲皮素 (quercetin) (7)。结论 化合物 1、2、3、6、7 为首次从该属植物中获得。药理活性实验研究结果表明, 表木栓醇 (1)、山奈酚 (6)、槲皮素 (7) 对小鼠肺腺癌细胞 LA795 都表现出显著的抑制作用。

## 半边旗提取物 5F 诱导肝癌细胞株 HepG2 发生凋亡的机制

李立<sup>1</sup> 吕应年<sup>1</sup> 刘义<sup>1</sup> 吴科锋<sup>1</sup> 梁念慈<sup>1,2</sup> GG Chen<sup>3</sup>

1. 广东医学院广东天然药物研究与开发重点实验室 湛江 524023

2. 广东医学院生物化学与分子生物学研究所 湛江 524023

3. 香港中文大学韦尔斯亲王医院外科学系 新界 沙田

半边旗 (*Pteris Semipinnata* L) 是凤尾蕨属植物, 生长于我国南方。民间常用于治疗疔疮、毒蛇咬伤、跌打损伤、疟疾等。广东医学院梁念慈教授在九十年代初筛选二十多种中草药的抗癌作用时, 发现半边旗的水提液或醇提液显示对多种培养的癌细胞均有较强细胞毒作用。其中, 从半边旗中分离出的具有抗癌活性的二萜类化合物 5F (ent-11 $\alpha$ -hydroxy-15-oxo-ent-kaur-16-en-19-oic-acid) 可抑制多种培养的癌细胞的增殖。本研究通过酶联免疫技术、流式细胞技术、免疫双染技术等多途径显示出 5F 可通过诱导肝癌细胞株 HepG2 发生凋亡来抑制肿瘤细胞的生长, 分析了该凋亡与 p53、NF $\kappa$ B、IKB、HIF、VEGF、Bax、cyto-c 及 AIF 等细胞因子表达变化的关系, 并检测了癌细胞内活性氧浓度的变化与 5F 及凋亡的相关性。

## 康艾注射液体内、外对肿瘤细胞增殖抑制作用的对比研究

黄素培 海灵 郜娜

郑州大学临床药理研究所 郑州 450052

目的: 通过康艾注射液体内、外对肿瘤细胞增殖抑制作用的比较, 考察其体内转化过程对抑瘤作用的影响。方法: SD 大鼠尾静脉注射给药, 心脏采血, 采用 MTT 法测定大鼠给药后不同时间血清对卵巢癌 HO-8910 细胞增殖的抑制率, 并与康艾注射液体外抑制肿瘤细胞增殖作用进行对比分析。结果: 1. 苦参素注射液、康艾注射液对 HO-8910 细胞的 IC<sub>50</sub> 分别为: 681.64、686.27 mg·L<sup>-1</sup>, 苦参素注射液和康艾注射液体外对肿瘤细胞增殖的抑制作用无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 结果提示氧化苦参碱为康艾注射液中直接抑制肿瘤细胞增殖的主要有效成分; 2. 大鼠给药后血清对肿瘤细胞增殖的抑制率为即刻血清最高, 随时间延长和血药浓度的降低逐渐下降, 含药血清中氧化苦参碱的 IC<sub>50</sub> 为 347.06 mg·L<sup>-1</sup>, 含药血清对卵巢癌细胞增殖的抑制作用显著大于相应浓度的药物的作用。结论: 康艾注射液有体内、外抑瘤作用, 其主要的直接抑瘤成分为氧化苦参碱, 且体内转化过程显著增强了其抑瘤作用。

## 桦树皮有效部位抑制肿瘤血管生成研究

陈平华 李岩

北京理工大学 北京理工大学生命科学与技术学院药理组 100081

**目的** 探讨桦树皮抗肿瘤有效部位 (HSP) 对肿瘤新生血管生成的抑制作用, 以及其对 JAK-STAT 通路中磷酸化信号传导与转录激活因子-3 (p-STAT3) 表达的影响。**方法** MTT 法测定 HSP 对人脐静脉血管内皮细胞 (ECV-304) 细胞的增殖抑制率; 体外琼脂法检测内皮细胞的迁移能力, 并用光镜观察内皮细胞形态变化; MTT 法测定肿瘤细胞 HepG2 培养液对 EVC-304 增殖活性的影响; Western Blot 法动态检测 HSP 作用前后肝癌细胞 p-STAT3 的表达情况。**结果** 经不同浓度 (75  $\mu$ g/mL、150  $\mu$ g/mL) HSP 诱导的 EVC-304 的凋亡率分别是 (67.1  $\pm$  11.4)% ( $p < 0.05$ )、(84.3  $\pm$  5.6)% ( $p < 0.01$ )。EVC-304 迁移抑制率分别为 (81.15  $\pm$  12.36)% ( $p < 0.001$ )、(94.2  $\pm$  9.15)% ( $p < 0.001$ )。肿瘤细胞培养液对 EVC-304 增殖有促进作用, HSP 作用后肿瘤细胞培养液对 EVC-304 的增殖促进作用减弱, 而且随着药物浓度的增加, 肿瘤细胞培养液促进 EVC-304 增殖的作用下降。Western Blot 显示, HSP 作用前后, p-STAT3 在肝癌细胞 HepG2 中的蛋白表达量明显降低, p-STAT3 在 HepG2 中的表达量与给药浓度呈负相关。**结论** HSP 对肿瘤新生血管的生成通过血管内皮细胞的增殖迁移方面发挥药效作用, 作用显著。HSP 可能是通过阻断肿瘤细胞内 STAT3 高度磷酸化, 抑制肿瘤血管生成。HSP 阻断 STAT3 信号转导通路可能是其发挥抗肿瘤药效的重要机制。

## 半边旗提取物 5F 对人高转移肺癌细胞 PGCL<sub>3</sub> 侵袭转移的影响

陈杰 覃燕梅 张志珍 林观平 梁念慈

广东医学院生物化学与分子生物学教研室

**目的** 研究半边旗提取物 5F (以下简称 5F) 对人高转移肺癌细胞 PGCL<sub>3</sub> 转移相关能力的影响。**方法** MTT 法检测 5F 对 PGCL<sub>3</sub> 细胞的增殖抑制作用; Transwell chamber 法检测 5F 对 PGCL<sub>3</sub> 细胞侵袭能力和趋化性运动能力的影响; 细胞粘附实验检测 5F 对 PGCL<sub>3</sub> 细胞粘附能力的影响。**结果**: 5F 对 PGCL<sub>3</sub> 细胞的生长和增殖都具有一定程度的抑制作用, 当药物浓度为 12.5、25、50、100  $\mu$ mol/L 作用细胞 24 小时, 抑制率分别为: (5.74  $\pm$  0.20)%、(9.91  $\pm$  0.58)%、(15.02  $\pm$  0.42)%、(36.50  $\pm$  1.15)%。当用浓度为 25、50、100  $\mu$ mol/L 的药物处理细胞 6h 后, 能明显抑制细胞体外侵袭基底膜成分 matrigel 的能力, 其抑制率分别为: (30.62  $\pm$  0.42)%、(55.30  $\pm$  4.53)%、(76.21  $\pm$  3.21)%。当用浓度为 25、50、100  $\mu$ mol/L 的药物处理细胞 6h 后, 能明显抑制细胞的趋化运动能力。其抑制率分别为: (18.91  $\pm$  1.43)%、(43.72  $\pm$  2.84)%、(59.61  $\pm$  4.01)%。当用上述浓度的药物处理细胞 5h 后, 测定其在 1h 内与 matrigel 的粘附能力。**结果表明**: 5F 能使 PGCL<sub>3</sub> 细胞的粘附能力明显降低, 其抑制率分别为: (25.38  $\pm$  2.52)%、(32.5  $\pm$  4.35)%、(48.06  $\pm$  3.65)%。**结论**: 5F 能抑制 PGCL<sub>3</sub> 细胞的侵袭、转移和粘附能力。

## 螺旋藻多糖的生物活性研究

季宇彬<sup>1,2,3</sup> 侯洪宝<sup>1,2,3</sup> 高世勇<sup>1,2,3</sup>

1. 哈尔滨商业大学生命科学与环境科学研究中心

2. 哈尔滨商业大学药物研究所博士后科研工作站

3. 教育部抗肿瘤天然药物工程研究中心 哈尔滨 150076

人类疾病的趋势朝着综合性, 复杂性的方向发展, 治疗手段多元化并且疗效也越来越明显, 但是副作用对人类健康的威胁始终困扰着医药工作者, 努力寻找无毒高效的新型药物俨然成为首要任务, 随着陆地药源的逐渐枯竭, 海洋药物的开发已经迫在眉睫, 螺旋藻是海洋中古老的单细胞藻类, 属于蓝藻门, 颤藻科, 氨基酸含量丰富, 其中有八种人体必需氨基酸, 此外还有  $\beta$ -胡萝卜素、 $\gamma$ -亚麻酸、肌醇等营养物质, 又经过漫长的生物进化, 生物活性广泛, 性状稳定资源丰富, 现在已经大规模的人工养殖, 亟待深度开发, 螺旋藻多糖简称 PSP, 是从螺旋藻中提取的天然有效活性物质, 无毒高效, 有防治多种疾病同时还能显著增强机体免疫力的双重作用, 成为新型药物和保健品的理想之选。本文从对免疫器官, 免疫细胞和体液免疫及其对机体抗肿瘤, 抗病毒, 抗辐射, 抗疲劳, 降血糖等方面综述了螺旋藻多糖的生物活性研究进展, 应用前景十分广阔。

## 神经药理

### PTD-BDNF 跨血脑屏障作用及神经营养活性研究

周建平 李前 孙曼霁

军事医学科学院六所 北京 100850

目的: 探讨 PTD-BDNF 对原代培养海马神经元及 Alzheimer 病模型小鼠的作用。方法: 根据大肠杆菌遗传特点选择大肠杆菌偏爱密码子优化 PTD-BDNF 的基因结构。同时预测 mRNA 翻译起始区二级结构, 利用计算机对 PTD-BDNF 进行预测和分析, 在氨基酸序列不变的条件下, 突变大部分不利于大肠杆菌表达的密码子, 构建高效原核表达菌株制备 PTD-BDNF; 原代培养大鼠海马神经元, 凋亡细胞计数法和 MTT 法观察 PTD-BDNF 对  $A\beta$  (22-35) 致海马神经元损伤的保护作用; 静脉给予小鼠 PTD-BDNF, 用免疫组织化学检测 PTD-BDNF 在脑内分布。用 ELISA 法检测 PTD-BDNF 在脑内随时间的变化; Morris 迷宫检测 PTD-BDNF 对  $A\beta$  (22-35) 所致 AD 模型小鼠学习记忆的影响。结果: 经优化设计的 PBV-PTD-BDNF 表达量占总蛋白含量的 40% 左右, 较未优化的原基因表达量 (占总蛋白含量的 10% 左右) 显著增高, 1L 菌纯化后能得到 PTD-BDNF 蛋白为 2.8mg 左右; 凋亡细胞计数显示, 对照组、BDNF 组和 PTD-BDNF 组凋亡细胞少见, 凋亡率变化不大, 而  $A\beta$ 25-35 处理的模型组细胞凋亡明显增多, 达  $41.6\pm 9.5$  (%), 随着 PTD-BDNF 和 BDNF 浓度增大, 凋亡率减少, 与模型组比较, 凋亡率均显著减少 ( $p < 0.01$ )。MTT 检测结果显示, 随着 PTD-BDNF 和 BDNF 浓度增高, 细胞存活率逐渐增高, 在 0.6nmol/L 时最明显, 与  $A\beta$  25-35 模型组比较, 细胞存活率显著增高 ( $p < 0.01$ )。经尾静脉注射 PTD-BDNF 和 BDNF 5 mg/kg 体重, 免疫组化显示在脑组织海马等部位出现明显阳性反应, ELISA 分析表明静脉注射 PTD-BDNF 后, 与 BDNF 组和对照组比较, 小鼠海马组织中 BDNF 含量在约 1h 后明显升高 ( $p < 0.01$ ), 此后维持在一个较高水平至第 6h 后迅速下降, 至第 8 小时降至初始水平。血清中 PTD-BDNF 组在 1~4h 下降速度慢于 BDNF 组, 此后即迅速下降组至初始水平。Morris 水迷宫测试显示 PTD-BDNF 明显缩短 AD 模型小鼠的游泳时间和路程。结论: PTD-BDNF 具有神经营养活性, 对聚集态的  $A\beta$  25-35 致海马神经元损伤的保护作用。经尾静脉注射 PTD-BDNF 后能穿过血脑屏障进入脑组织。可明显提高 AD 的立体空间学习记忆能力。

### 谷氨酸引起星形胶质细胞核形态改变

杨春章 于常海

北京大学神经科学研究所, 教育部神经科学重点实验室,

卫生部神经科学重点实验室, 北京大学神经生物学系 北京 100191

谷氨酸是中枢神经系统中最主要的兴奋性神经递质, 参与脑细胞间兴奋性信息的传递。星形胶质细胞表面丰富的谷氨酸转运蛋白可以有效清除细胞外谷氨酸, 以终结谷氨酸的信号传递作用, 但谷氨酸摄取的潜在生物学功能尚不明确。本研究首次证明谷氨酸进入星形胶质细胞后, 直接引起细胞核发生形态改变。细胞核形态改变是谷氨酸的特异反应, 与细胞外谷氨酸浓度密切相关。细胞膜表面的谷氨酸转运蛋白直接参与细胞核形态调节, 而与离子型、代谢型谷氨酸受体, 细胞内钙离子浓度改变无关。我们进一步证实水通道蛋白-1 (AQP1) 分布于星形胶质细胞核膜表面, 并直接参与了谷氨酸引起的核形态调节。本项目证明细胞外谷氨酸通过转运蛋白和 AQP1 直接调节星形胶质细胞核形态, 提示神经元兴奋性调节细胞核形态功能的潜在机制。

## 强啡肽原及其转录调节因子 **DREAM** 在星形胶质细胞的表达和功能

孙峰波 于常海

北京大学神经科学研究所, 教育部神经科学重点实验室, 卫生部神经科学重点实验室,  
北京大学神经生物学系 北京 100191

星形胶质细胞可参与慢性疼痛的发生和维持, 对其机制的研究多关注星形胶质细胞激活后分泌大量炎症因子。对星形胶质细胞参与慢性疼痛新机制的发现将有助于以星形胶质细胞为靶点的慢性疼痛治疗药物的研发。转录因子 DREAM (Downstream Regulatory Element Antagonist Modulator) 通过抑制强啡肽原 (prodynorphin) 基因的转录, 影响神经递质: 强啡肽 (dynorphin) 的释放, 在疼痛信息传递过程中发挥重要作用。以往的研究认为星形胶质细胞不能转录强啡肽原的基因, 进而无强啡肽的表达及分泌。我们的研究证实了星形胶质细胞可以合成强啡肽原 mRNA, 表达并向细胞外释放强啡肽。我们的研究还发现星形胶质细胞可以合成 DREAM mRNA, 表达 DREAM 蛋白。使用免疫组化的方法, 我们证实了 DREAM 蛋白在星形胶质细胞的细胞核及细胞浆中的分布。进一步的研究发现星形胶质细胞中的 DREAM 蛋白以两种形式存在, 一种分子量大约 120kd, 主要存在于细胞核; 另一种分子量大约 35kd, 主要存在于细胞浆。并且在一些疼痛相关物质, 如谷氨酸、P 物质及缓激肽处理下, 星形胶质细胞中 DREAM 蛋白的表达、强啡肽原 mRNA 和强啡肽的释放都会发生改变。在星形胶质细胞中发现 DREAM、强啡肽原及强啡肽为星形胶质细胞参与慢性疼痛提供了新的有力证据, 为将来以星形胶质细胞为靶点的慢性疼痛治疗药物的研发提供了新思路。

## 左旋丁基苯酞改善 AD 转基因小鼠学习记忆缺失

彭英<sup>1,2</sup>, Stephanie Hon<sup>2</sup>, Alyssa N. Nylander<sup>2</sup>, Weiming Xia<sup>2</sup>, 冯亦璞<sup>1</sup>, 王晓良<sup>1</sup>, Cynthia A. Lemere<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 中国医学科学院药物研究所 药理室 100050

<sup>2</sup> Center for Neurologic Diseases, Brigham & Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02115

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD), 是一种与年龄相关的不可逆的神经退行性疾病, 是老年人中引起痴呆最常见的一种疾病。临床上以记忆力减退、认知功能障碍为特征, 病情呈进行性加重。左旋丁基苯酞 (1-3-n-butylphthalide, L-NBP) 是药物研究所从芹菜籽中分离得到的单体化合物, 在脑缺血、血管性痴呆和 A $\beta$  侧脑室灌流的动物模型上已经证实有良好的神经保护作用。在本研究中, 我们采用三转基因小鼠模型 (3xTg-AD) 来考察 L-NBP 对小鼠学习记忆缺失的改善作用。10.7 月龄的 3xTg-AD 小鼠分别口服 L-NBP 15mg/kg 和对照溶剂植物油。18 周后, 进行 Morris 水迷宫实验, 之后小鼠被处死, 留取脑组织进行生化和病理实验。在行为学实验中, L-NBP

治疗的小鼠寻找隐蔽平台的潜伏期较对照组明显缩短 ( $P<0.05$ ), 经过 5 天的训练, 在探索实验中, L-NBP 治疗的小鼠在平台所在象限花费的时间明显长于对照组 ( $P<0.05$ ), 提示 L-NBP 明显改善空间学习和记忆功能障碍。A $\beta$  ELISA 结果显示, L-NBP 显著降低脑内可溶性和聚集性的 A $\beta$ 水平 ( $P<0.05$ )。免疫组化结果显示, L-NBP 降低海马区 A $\beta$ 斑块达 47% ( $P=0.051$ )。此外, 我们发现 L-NBP 增加 $\alpha$ APPs 水平, 提示 L-NBP 调节 APP 加工朝非淀粉样肽合成的方向发展。综上所述, L-NBP 改善转基因小鼠的学习记忆缺失, 降低 A $\beta$ 含量, 升高具有神经保护作用 $\alpha$ APPs, 提示 L-NBP 是一个有良好前景的抗 AD 药物。

## 胍丁胺调节阿片功能的分子和神经生物学机制

李锦 苏瑞斌 吴宁 李斐

军事医学科学院毒物药物研究所 北京 100850

胍丁胺是一种内源性生物活性物质, 由左旋精氨酸在左旋精氨酸脱羧酶作用下脱羧生成。我们的前期研究发现不管是内源性还是外源性胍丁胺都具有明确的阿片功能调节作用, 表现为镇痛、增强吗啡镇痛、抑制吗啡耐受, 躯体依赖和精神依赖。近年来, 在这些工作的基础上, 我们研究了胍丁胺调节阿片功能的分子和神经生物学机制。提出了胍丁胺调节阿片功能可能和激活咪唑啉受体有关这一假说。为了证明这一假说的客观性, 本实验室首次建立了 IRAS-Cho 细胞稳定表达系统, 通过观察 IRAS 的亚细胞定位、配体结合特性、生物学功能和信号转等证明了由美国科学家克隆的 IRAS 就是野生型 I1 咪唑啉受体。在此细胞模型上, 我们首次证明胍丁胺调节阿片功能与激活 I1 咪唑啉受体相关。为了在神经元上, 特别是在整体行为学实验模型上证明上述发现的存在, 本实验室用 RNA 干扰技术在大鼠原代培养海马神经元和大鼠摇体实验模型上进一步证明胍丁胺调节阿片功能与激活 I1 咪唑啉受体相关。在这些工作基础上, 我们的研究进一步发现胍丁胺激活咪唑啉受体调节阿片功能与其抑制多巴胺和谷氨酸受体作用系统在阿片长期作用下发生的代偿性适应相关。这些研究工作不但初步证明了胍丁胺调节阿片功能的分子和神经生物学机制, 可能还为最终阐明阿片依赖的神经生物学机制提供了有益的实验依据。

## 肾上腺素诱导分化的 PC12 细胞中微管相关蛋白-2C 磷酸化的机制研究

铁璐 李学军

北京大学医学部基础医学院药理学系 100191

肾中上腺素受体介导内源性儿茶酚氨的作用并显示可以影响神经原的发育。微管相关蛋白-2 是一种重要的细胞骨架蛋白, 其磷酸化参与调节神经突起的生长和神经原的可塑性。本研究拟观察肾上腺素对分化的 PC12 细胞中 MAP-2 的磷酸化的影响并分析其可能的作用机理。实验中我们发现肾上腺素可以时间及剂量依赖性地促进分化的 PC12 细胞中 MAP-2C 丝氨酸 136 位的磷酸化水平。同时在分化的 PC12 细胞中我们还检测到 $\alpha_{2A}$ -肾上腺素受体的表达, 其特异性的拮抗剂育亨宾可以抑制肾上腺素引起的 MAP-2C 丝氨酸 136 位磷酸化的增加, 而 $\alpha_2$ -肾上腺素受体的选择性激动剂可乐定则与肾上腺素有着相类似的作用。此外, 肾上腺素可以引发分化的 PC12 细胞中 ERK 和 PKC 的激活, 而 ERK 和 PKC 特异性的抑制剂又可以拮抗肾上腺素引起的 MAP-2C 丝氨酸 136 位磷酸化的增加。而预孵育肾上腺素可以部分抑制诺考达唑对神经突起的收缩作用。上述这些结果提示肾上腺素可能通过 $\alpha_2$ -肾上腺素受体介导的 ERK/PKC 依赖的信号转导通路促进 MAP-2C 丝氨酸 136 位的磷酸化, 并可能起到增加微管稳定性的作用。

## 激活星形胶质细胞 $K_{ATP}$ 通道对抗 MPP<sup>+</sup>所致神经元的损伤作用

孙秀兰 范益 钱霞 谢娟 丁建花 胡刚

江苏省神经退行性疾病重点实验室 南京医科大学 南京 210029

目的：研究星形胶质细胞上 ATP 敏感性钾通道 (ATP-sensitive potassium channel,  $K_{ATP}$ ) 在神经损伤中的重要作用。方法：将源自 Kir6.2 基因敲除 (Kir6.2<sup>-/-</sup>) 小鼠和野生型 (Kir6.2<sup>+/+</sup>) 小鼠原代培养的中脑神经元和星形胶质细胞共培养，应用神经毒素 MPP<sup>+</sup> 建立离体神经损伤模型，应用免疫荧光、免疫细胞化学和 western blot 等方法研究共培养体系中，MPP<sup>+</sup> 对星形胶质细胞通道亚基 Kir6.1 表达、星形胶质细胞活化、胶质递质 D-serine 及其合成酶丝氨酸消旋酶 (serine racemase, SR) 表达，以及神经元数目及形态的影响。结果：MPP<sup>+</sup> 导致 Kir6.2<sup>+/+</sup> 星形胶质细胞明显活化，不引起 Kir6.2<sup>-/-</sup> 星形胶质细胞的活化；星形胶质细胞-中脑神经元共培养体系中，Kir6.2<sup>-/-</sup> 星形胶质细胞可对抗 MPP<sup>+</sup> 所致两种基因型中脑神经元的损伤作用，表现为增加 TH 神经元数目和神经元平均突起长度。进一步研究显示，MPP<sup>+</sup> 引起 Kir6.2<sup>-/-</sup> 星形胶质细胞  $K_{ATP}$  通道亚基 Kir6.1 表达上调；MPP<sup>+</sup> 显著增加 Kir6.2<sup>+/+</sup> 星形胶质细胞内 D-serine 和 SR 表达，但不影响 Kir6.2<sup>-/-</sup> 星形胶质细胞内 D-serine 和 SR 的表达。结论：激活星形胶质细胞  $K_{ATP}$  通道可对抗 MPP<sup>+</sup> 所致神经元的损伤作用，其机制与调节胶质递质 D-serine 传递有关。研究结果提示表达于星形胶质细胞的 Kir6.1- $K_{ATP}$  通道通过调节胶质传递发挥神经保护作用。

## N-乙酰氨基葡萄糖激活 $Ca^{2+}$ 信号通路体外诱导小鼠 T 淋巴细胞增殖

曹秀明 马娇 万晓峰

哈尔滨商业大学生命科学与环境科学研究中心药物所、  
抗肿瘤天然药物教育部工程研究中心 黑龙江 哈尔滨 150076

目的 N-乙酰氨基葡萄糖 (N-acetyl-D-glucosamine, NAc-Glu) 是甲壳素的一种重要衍生物。其分子量小，水溶性好，有更独特的生理生化活性，近些年已经引起越来越多的关注。但关于 NAc-Glu 对 T 淋巴细胞增殖的影响，国内外罕见报道。本文研究 N-乙酰氨基葡萄糖体外作用于小鼠 T 淋巴细胞诱导淋巴细胞增殖。方法 以 T 淋巴细胞为研究对象，应用 MTT 法，流式细胞术法考察了 NAc-Glu 对淋巴细胞的增殖的影响，采用  $Ca^{2+}$  探针 (Fura-3/AM)、激光共聚焦显微镜和流式细胞仪检测的方法从  $Ca^{2+}$  信号通路入手对 NAc-Glu 诱导淋巴细胞增殖的机制进行了研究。结果 NAc-Glu 可以诱导淋巴细胞由  $G_0/G_1$  进入 S 期，使细胞的有丝分裂启动，细胞发生增殖。NAc-Glu 作用下的淋巴细胞内  $Ca^{2+}$  的浓度显著增加，其中加药 6 h 后淋巴细胞内的  $Ca^{2+}$  浓度最高。24 h 后有所下降。 $Ca^{2+}$  浓度的改变又影响了 CaM 和 CaN 这两种与  $Ca^{2+}$  密切相关的蛋白的表达。NAc-Glu 作用下，CaM 和 CaN 这两种蛋白的阳性表达细胞也显著增加。NAc-Glu 处理 72 h 后，细胞内钙调蛋白阳性表达细胞的百分率与对照组相比显著增加，由  $61.80 \pm 0.97\%$  增加到  $72.61 \pm 1.45\%$  ( $P < 0.05$ )。说明 NAc-Glu 能够诱导淋巴细胞细胞内钙调蛋白表达增加。NAc-Glu 处理 72 h 后，细胞内钙调神经磷酸阳性表达细胞的百分率与对照组相比显著增加，由  $78.6 \pm 0.95\%$  增加到  $87.9 \pm 0.96\%$  ( $P < 0.01$ )。说明 NAc-Glu 能够诱导淋巴细胞细胞内钙调神经磷酸表达增加。结论 NAc-Glu 作为一种新的诱导淋巴细胞增殖的活化剂，其机理是 NAc-Glu 激活了淋巴细胞的  $Ca^{2+}$  信号通路，促使淋巴细胞发生增殖。

## 新化合物 B2 镇静催眠作用机制的初探

张莹 张建军

本试验选用 GABA<sub>A</sub> 受体激动剂蝇蕈醇、非竞争性拮抗剂印防己毒素、竞争性拮抗剂荷包牡丹碱、苯二氮卓拮抗剂氟马西尼、GABA 合成关键酶 GAD 的抑制剂盐酸氨基脲, 观察它们对新化合物 B2 镇静催眠作用的影响。将雄性 ICR 小鼠分为 4 组, 每组 10 只, 分别为空白对照组、B2 组 (灌胃给药)、拮抗剂或者激动剂组 (腹腔注射给药)、B2 与拮抗剂或激动剂联合给药组, 各组给予相应药物后均腹腔注射阈上剂量的戊巴比妥钠 (39 mg · kg<sup>-1</sup>), 以翻正反射消失为标志, 记录小鼠睡眠时间。本试验所选用的激动剂或拮抗剂的剂量均对阈上剂量戊巴比妥钠诱导的小鼠睡眠情况无明显影响。结果显示, 在 B2 与蝇蕈醇协同试验中, 空白对照组小鼠睡眠时间为 41.9 ± 2.8min, B2 (3.75mg · kg<sup>-1</sup>) 组小鼠的睡眠时间为 49.3 ± 2.3min, 而 B2 与蝇蕈醇 (0.1mg · kg<sup>-1</sup>) 合并给药后, 小鼠的睡眠时间延长至 64.0 ± 7.3min, 与 B2 组相比, 显示出明显的协同作用, 提示 B2 镇静催眠作用可能通过 GABA<sub>A</sub> 受体介导; 在 B2 与印防己毒素的拮抗试验中, 空白对照组小鼠的睡眠时间为 44.7 ± 2.9min, B2 (15 mg · kg<sup>-1</sup>) 组小鼠的睡眠时间为 82.1 ± 5.5min, 而 B2 与印防己毒素合并给药后, 小鼠的睡眠时间为 65.0 ± 4.5min, 与 B2 组相比, 表现出明显的拮抗作用, 提示 GABA<sub>A</sub> 受体上印防己毒素的识别位点可能是 B2 发挥镇静催眠作用的一个靶点; 荷包牡丹碱及氟马西尼则对化合物 B2 镇静催眠作用无明显影响。在 B2 与盐酸氨基脲的拮抗试验中, 空白对照组小鼠的睡眠时间为 41.5 ± 2.7min, B2 (15 mg · kg<sup>-1</sup>) 组小鼠睡眠时间为 83.1 ± 5.9min, 而将 B2 与盐酸氨基脲合并给药后, 小鼠的睡眠时间为 63.7 ± 4.0min, 与 B2 组相比, 显示出明显的拮抗作用, 提示 B2 可能通过增强 GABA 合成酶 GAD 活性, 增加脑内 GABA 水平而产生镇静催眠作用。综上所述, 化合物 B2 发挥镇静催眠作用与 GABA 通路有关, 其中 GABA<sub>A</sub> 受体上的印防己毒素结合位点可能是其发挥镇静催眠作用的一个靶点, 同时化合物 B2 还可能通过增强 GABA 合成酶 GAD 活性增加脑内 GABA 水平来发挥作用。

## 原花青素对 A $\beta$ <sub>25-35</sub> 诱导去血清培养 PC12 细胞 *Cyclin D1*、*CDK4*、*E2F1* 基因表达的影响

谢朝阳<sup>1</sup> 吴斌华<sup>1</sup> 祝其锋<sup>2</sup>

广东医学院 1. 检验医学研究所 2. 生物化学与分子生物学研究所 湛江 524023

**目的:** 探讨原花青素 (Proanthocyanidins, PAC) 对  $\beta$ -淀粉样肽 (25-35) [ $\beta$  amyloid peptide -(25-35), A $\beta$ <sub>25-35</sub>] 诱导体外去血清培养 PC12 细胞 *Cyclin D1*、*CDK4* 和 *E2F1* 基因表达的影响。**方法:** 种入培养瓶的 PC12 细胞贴壁后用常用的去血清培养法使细胞同步于 G<sub>0</sub> 期, 分为 0 对照组、A $\beta$ <sub>25-35</sub> 诱导组、PAC 保护组, 按实验需要分别在不同时间加入药物并收集细胞, 通过 RT-PCR 和 Western blot 从 mRNA 及蛋白水平检测 *Cyclin D1*、*CDK4* 和 *E2F1* 基因表达水平的变化。**结果:** 本课题组在前面的研究中发现 PAC 对 A $\beta$ <sub>25-35</sub> 诱导体外去血清培养 PC12 细胞周期变化有逆转作用, 但具体机制尚未清。本实验用 25 $\mu$ mol/L A $\beta$ <sub>25-35</sub> 浓度处理去血清培养 PC12 细胞 0.20h, *Cyclin D1*、*CDK4*、*E2F1* mRNA 表达和 *Cyclin D1*、*CDK4* 蛋白表达增加; 用 30mg/L 的 PAC 预处理细胞 1h, 再加入终浓度为 25 $\mu$ mol/L A $\beta$ <sub>25-35</sub> 处理 0.20h, 与 A $\beta$ <sub>25-35</sub> 诱导组比较, *p21* mRNA 表达和 P21 蛋白表达逐渐增加; *Cyclin D1*、*CDK4*、*E2F1* mRNA 表达和 *Cyclin D1*、*CDK4* 蛋白表达逐渐降低。**结论:** PAC 对 A $\beta$ <sub>25-35</sub> 诱导体外血清饥饿培养 PC12 细胞周期变化的影响机制可能是与下调 *Cyclin D1*、*CDK4*、磷酸化 pRb、*E2F1* 基因的表达有关。

## Snapiin 与 TrkA 相互作用对神经递质释放影响的研究

王岚 裘佳 陈虹 黄秉仁

中国医学科学院基础经济学研究所 北京 100005

神经营养素能够影响脊椎动物神经元的增殖、分化、凋亡、存活等生命过程, 但其功能的发挥则需要 Trk

和 p75NTR 两种膜受体的存在。TrkA 受体是一种酪氨酸激酶受体,同其它酪氨酸激酶受体一样,其受体膜内区的酪氨酸磷酸化后,可以被其它信号分子识别,为信号的传导提供有关蛋白的募集位点。肝细胞生长因子的受体 Met 也是一种酪氨酸激酶受体,它的酪氨酸激酶区同 TrkA 相比具有 37% 的同源性,有报道发现 Met 与神经递质释放和内分泌过程中的一个关键调节蛋白——Snapin 有相互作用,且 Trk 受体可以调节突触囊泡的胞吞和胞吐的过程,影响神经递质受体的活性,所以我们推测 Snapin 和 TrkA 之间也可能存在相互作用。在此前提下我们开展了一系列实验并且取得了初步的实验结果,通过酵母双杂交实验验证了 TrkA 的功能区 TrkAICD、TrkA-ATP、TrkA-775、TrkA-790 均能够与 Snapin 相互作用,免疫共沉淀实验也证明了 TrkAICD 与 Snapin 能够相互作用。荧光能量共转移(FRET)实验显示了 Snapin 与 TrkAICD 可以在胞浆中共同表达,并且有能量转移现象的发生,更有力地证明了两者之间的相互作用。TrkA 对 Snapin 在神经递质释放过程中功能的调控机制将是我們下一步的研究重点,相信这些研究资料会为神经细胞中信号的传导网络的作用机制的阐明提供有力的证据,并且为更深入的研究神经递质的释放机制打下坚实基础,同时也能为临床神经性疾病的靶向治疗提供一定的理论依据。

## 影响骨骼肌生长发育的 microRNA 分子的系统鉴定

陈莹

中国医学科学院基础医学研究所 北京协和医学院基础学院 北京 100005

MicroRNAs 是一类具有调控作用的非编码小 RNA 分子,并且已有大量实验证据表明一些 microRNAs 分子在成肌细胞的增殖和分化过程中发挥重要的调控作用。我们利用蛋鸡和肉鸡的骨骼肌作为研究模型,通过高通量测序的方法得到小 RNA 的转录组数据。根据小 RNA 的转录组数据,系统鉴定影响骨骼肌生长发育的 microRNA 分子。随后通过结合 microRNA 靶基因预测的结果,研究这些 microRNA 分子在肌肉发生过程中的作用,从而对一些人类的肌肉退行性疾病提供重要的参考价值。

【方法】(1)通过高通量测序的方法得到蛋鸡和肉鸡骨骼肌组织中小 RNA 的转录组数据。

(2)实验验证上述候选 miRNAs 在蛋鸡和肉鸡中的表达情况和可能存在的表达差异。

(3)差异表达的 miRNAs 靶基因的预测和功能鉴定。

【结果】选取 HH36 阶段的蛋鸡和肉鸡骨骼肌组织作为实验材料,通过高通量测序的方法获得小 RNA 的转录组数据。MiRbase 10.0 公布的 124 个已知的鸡 microRNA 分子,有 95 个出现在我们的小 RNA 转录组数据中。用 Real-time PCR 和 northern 杂交的方法已经证实一些已知 miRNA 分子在蛋鸡和肉鸡骨骼肌中的表达情况,并且鉴定出 2 个在蛋鸡和肉鸡中差异表达。同时通过建立统计模型和机器学习的方法,我们鉴定出 897 个新的 microRNA 分子。后续我们将通过实验方法验证这些新的 microRNA 分子在蛋鸡和肉鸡骨骼肌中的表达水平,同时鉴定差异表达的 microRNA 分子。通过结合 microRNA 靶基因预测的结果,研究差异表达 microRNA 分子在肌肉发生过程中发挥的功能。

【结论】利用生物信息学和实验相结合的方法,系统鉴定影响骨骼肌生长发育的 microRNA 分子,从而研究上述 microRNA 分子在肌肉发生过程中的作用。

## Protective effect of stilbenes containing extract-fraction from *Cajanus cajan* L.on amyloid beta-peptide 25-35 induced cognitive deficits in mice

Can-Jun Ruan<sup>a</sup>, Lan Sun<sup>a\*</sup>, Li Zhang<sup>c</sup>, Jian-Yong Si<sup>b</sup>, and Di-Hua Chen<sup>b</sup>, Guan-Hua Du<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Dept of pharmacology, Institute of Basic Medical Sciences Chinese Academy of Medical Sciences, School of Basic

Medicine Peking Union Medical College, Beijing 100005, China

<sup>b</sup>Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100094, China

<sup>c</sup> National Centre for Pharmaceutical Screening, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China

*Cajanus cajan(L)* is a natural plant, which contains a lot of potential active components. In the present study, we identified the effects of the stilbenes containing extract-fraction from *Cajanus cajan L* (sECC) on Abeta25-35-induced cognitive deficits, oxidative stress and cholinergic dysfunction. All experimental mice were divided into 5 groups: control group, model group, sECC-treated with 200 mg/kg/day or 100 mg/kg/day, and estrogen group. Mice were treated with sECC(200 mg/kg/day and 100 mg/kg/day) for one week, and then received a single intracerebroventricular (i.c.v) injection of Abeta25-35(10 $\mu$ g/mice). Behavioral changes and neuron apoptosis in mice were evaluated using Morris water maze and Tunel tests. The consumption of sECC(200mg/kg) significantly ameliorated the cognitive deficits and neuron apoptosis caused by i.c.v injection of A $\beta$ 25-35. To further explore the mechanism of sECC, superoxide dismutase(SOD), choline acetyl transferase (ChAT) and AchE activity in hippocampus and cortex were analyzed by spectrophotometric method. Compared with model group, the decreased SOD activity in hippocampus and cortex were markedly increased by sECC ( 200 mg/kg ) by 21.1% and 60.3% (P<0.05, P<0.01), respectively. At the same time, the ChAT activity in hippocampus and cortex were also increased by 29.6% and 65.8% (P<0.05, P<0.01), respectively. But there is no difference for AchE activity in hippocampus and cortex among the model group , mice that were administered sECC at 200 mg/kg/d and at 100 mg/kg/d. These findings suggest that sECC may be a potential candidate for development as therapeutic agent to manage cognitive impairment associated with condition such as Alzheimer's disease through increasing the activity of ChAT and anti-oxidative mechanism.

## **Activation of GABA<sub>B</sub> receptors protects cerebellar granule neurons from apoptosis via IGF-I receptor transactivation**

Haijun Tu, Chanjuan Xu, Wenhua Zhang, Qiuyao Liu, Jianfeng Liu

Sino-France Laboratory for Drug Screening, Key Laboratory of Molecular Biophysics, Ministry of Education, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei, China.

$\gamma$ -amidobutyric acid (GABA) is a major inhibitory neurotransmitter in the central nervous system and mediates fast synaptic inhibition through GABAA and GABAC ionotropic receptors as well as slow and prolonged synaptic inhibition through the metabotropic GABAB receptors. GABAB receptors mediate both presynaptic inhibition of neurotransmitter release and post-synaptic inhibition of neuronal excitability.

Functional GABAB receptors are composed of GABAB1 and GABAB2 subunits and are widely expressed in the central nervous system (CNS). However, the physiological significance of GABAB receptors in the CNS is not fully understood. Here, we identify a functional role for GABAB receptors in the regulation of life and death decision in cerebellar granular neurons. We show that specific activation of GABAB receptors by either agonists or positive allosteric modulators protects cerebellar granule neurons from apoptosis. Surprisingly, the neuroprotective effect of GABA is mediated by transactivation of IGF-I receptors independently of its ligand IGF-1. Further evidence demonstrates that this neuroprotection depends

on the activation of Akt, which is triggered by a cross-talk between the GABA and IGF-1 signaling, involving GABAB2, Gi/o, PLC $\beta$ , IGF-1 receptor, Src kinase, and PI3 kinase. These results reveal the GABAB receptor as a potential target for the treatment of neurodegenerative disorders.

## 心血管药理

### 前列腺素 E<sub>1</sub> 药理性预适应对缺血-再灌注豚鼠心室肌细胞 ATP 敏感性钾通道的影响

角灿武 付润芳

郑州大学基础医学院药理教研室 郑州 450052

目的: 研究前列腺素 E<sub>1</sub> (PGE<sub>1</sub>) 药理性预适应对缺血再灌注豚鼠心室肌细胞 ATP 敏感性钾通道 (K<sub>ATP</sub>) 电流的影响, 以探讨 PGE<sub>1</sub> 对缺血再灌注心肌的药理性预适应的作用机制。方法: 用 Langendorff 法制作离体豚鼠心脏缺血再灌注损伤模型, 并进行不同浓度 PGE<sub>1</sub> 的预处理, 随后采用酶解消化的方法分离单个豚鼠心室肌细胞, 利用全细胞膜片钳技术记录心室肌细胞的 K<sub>ATP</sub> 电流的变化。结果: 单纯缺血再灌注时 K<sub>ATP</sub> 通道电流为  $1.41 \pm 0.58$  pA/pF (n=8), 不同浓度 PGE<sub>1</sub> (14  $\mu$ g/L、42  $\mu$ g/L、126  $\mu$ g/L) 预处理后, K<sub>ATP</sub> 通道电流分别增加为  $2.14 \pm 0.30$  pA/pF (n=12, P<0.05)、 $2.51 \pm 0.25$  pA/pF (n=8, P<0.05) 和  $4.04 \pm 0.97$  pA/pF (n=9, P<0.05)。结论: PGE<sub>1</sub> 药理性预适应可激活缺血再灌注心肌细胞 K<sub>ATP</sub> 通道, 并呈浓度依赖性促进缺血再灌注豚鼠心室肌细胞 K<sub>ATP</sub> 通道的开放, 提示 PGE<sub>1</sub> 药理性预适应对抗缺血-再灌注心肌细胞损伤的作用机制与促进缺血再灌注心肌细胞 K<sub>ATP</sub> 通道的开放有关。

### WNK4 激酶通过激酶依赖途径抑制大电导钙激活钾通道的活性

张雪梅<sup>1,2</sup> 庄捷秋<sup>2,5</sup> 李娟<sup>3,4</sup> 周波<sup>2</sup> 王德玄<sup>2,5</sup> 吴文浩<sup>2</sup> 刘源杰<sup>1</sup>

唐纳德 D. 邓森<sup>4</sup> 道格拉斯 C. 伊顿<sup>3</sup> 蔡惠<sup>2,3</sup>

1. 复旦大学 药学院 药理学教研室 上海 埃默里大学 2. 医学部 3. 生理学部
4. 麻醉学部 佐治亚州 亚特兰大 5. 温州医学院 第二附属医院 肾脏病科 浙江

WNK (with no lysine (k)) 激酶是一类新型丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶亚型。WNK 家族的两种突变型会导致以高血压、高血钾、代谢性酸中毒为临床特征的 II 型假性低醛固酮血症 (PHA II)。这些临床症状表明 WNK 对肾脏远曲小管主要的钾离子转运体包括肾外部髓质钾通道 (ROMK) 和钙激活钾通道 (Maxi K or BK) 可能有调节作用。最新研究表明, WNK4 激酶不仅抑制 ROMK 通道功能, 并且 PHA II 型突变的 WNK4 激酶能够增强对非洲爪蟾卵的 ROMK 通道功能的抑制。目标: 为确定 WNK 激酶是否会影响 Maxi K 通道功能, 我们研究稳定表达 Maxi K 通道  $\alpha$  亚基的 HEK 293 细胞 (HEK 293-Maxi K) 中的 WNK4 激酶对 Maxi K 通道功能的影响。方法: 用 CD4、WNK4 野生型或者 WNK4 激酶失活变异型 D321A 分别转染 HEK 293-Maxi K, 2 至 4 天后用细胞粘附式膜片钳记录单离子通道的活动。结果: 在对照组中, 19 个稳定表达  $\alpha$  亚基的 HEK 293 细胞中有 15 个细胞记录到了 Maxi K 电流, 膜片中的平均通道数为  $2.7 \pm 0.5$ , 在 +20 mV 电压下通道活性 (NPo) 为  $0.11 \pm 0.03$ 。在野生型 WNK4 质粒短暂转染 HEK 293-BK 细胞的组中, 22 个细胞中只有 10 个细胞检测到 Maxi K 电流, 和对照组相比每片通道数量和通道活性均有显著下降, 分别为  $N = 0.95 \pm 0.3$  ( $p < 0.05$ ), 在 +20 mV 下 NPo =  $0.025 \pm 0.01$  ( $p < 0.05$ )。在 WNK4 失活变异型 D321A 短暂转染细胞组中, 与对照组相比 Maxi K 平均通道数量与活性并无明显变化。结论: 这些结果表明 WNK4 激酶通过激酶依赖机制抑制 Maxi K 通道功能, 显示出

WNK4 激酶与肾脏中 ROMK 和 Maxi K 通道功能的调节有关。

## 亚急性缺氧通过内源性 15-HETE 抑制大鼠肺动脉 Kv1.5 通道的表达

唐晓波 朱大岭

哈尔滨医科大学药学院 哈尔滨

目的：缺氧通过抑制 Kv 通道引起肺血管收缩，但是机制不清楚。我们的研究表明缺氧激活肺动脉远端 15-脂氧酶（15-LOX）增加 15-羟基二十碳四烯酸（15-HETE）的产量。15-HETE 诱导的肺血管收缩是通过抑制 Kv 通道实现的（Kv1.5, Kv2.1 and Kv3.4）。然而，目前还没有将缺氧、15-HETE 和 Kv 通道亚型抑制直接联系起来的报道。因此，我们研究了 15-LOX/15-HETE 通路是否参与了缺氧诱导的 Kv 下调表达。由于 Kv1.5 是氧敏感通道，我们首先研究它的作用。结果：我们发现使用 NDGA 抑制 15-LOX 的活性显著降低了缺氧的肺血管环对苯肾上腺素的响应。缺氧条件下，脂氧酶抑制剂显著上调了肺动脉和肺动脉平滑肌细胞 Kv1.5 通道 mRNA 和蛋白质的表达。抑制 15-LOX 的活性部分恢复了  $I_{Kv}$ 。结论：15-HETE 参与了缺氧条件下 Kv1.5 通道的下调表达、 $I_{Kv}$  抑制及肺动脉张力增加。缺氧通过 15-LOX/15-HETE 通路抑制 Kv1.5。

## 巴戟天寡糖对转化生长因子 $\beta$ 信号传导的影响

焦平利 冯国清 胡香杰

郑州大学基础医学院药理教研室 郑州 450001

目的：细胞移植技术的探索，为急性心肌梗死患者坏死区的心肌细胞重建及衰竭心脏的功能恢复，可能是一种极具前途的临床治疗手段。我们前期的研究初步证实巴戟天寡糖（*Morinda officinalis* How oligosaccharides, MOO）具有明显促进成肌细胞的增殖和分化的作用保护心脏作用的研究。方法：采用离体纯化培养乳鼠双侧后肢骨骼肌成肌细胞的方法，以 5-氮杂 2'-脱氧胞苷（5-Aza-dc）为阳性药对照组、并设立 MOO 中剂量+5-Aza-dc 联合用药组，应用免疫组化、蛋白免疫痕迹技术进一步观察了 MOO 促成肌细胞向心肌样细胞分化时对 TGF- $\beta$  2 受体及信号传导的影响。结果：(1)与空白对照组相比，各组 TGF- $\beta$  2 表达水平均上调，差异显著（ $P < 0.05$ ）；与阳性对照组相比，MOO 各剂量组 TGF- $\beta$  2 表达水平随剂量增加而增强，联合用药组 TGF- $\beta$  2 表达水平显著高于阳性对照组（ $P < 0.05$ ）。(2)与空白对照组相比，各用药组 Smad4 表达水平均显著上调（ $P < 0.05$ ），各用药组间 Smad4 表达水平无明显差异。(3)与空白对照组相比，MOO 小剂量组及联合用药组 Smad2/3 表达轻微上调、MOO 中、大剂量组及阳性组均下调 Smad2/3 的表达。(4)与空白对照组相比，各组 Smad7 的表达差异显著（ $P < 0.05$ ），其中 MOO 小剂量组、阳性组和联合组均抑制 Smad7 表达，MOO 中、大剂量组逐渐增强 Smad7 的表达。结论：(1) MOO 可促进 TGF- $\beta$  2 的表达，并随着剂量的增加表达增强。(2) MOO 可影响 TGF- $\beta$  2 的下游信号传导因子 Smads 的表达：上调共同通路型信号传导因子 Smad4 的表达，对于磷酸化的受体激活（特异）型信号传导因子 Smad2/3（p-Smad2/3）及抑制型信号传导因子 Smad7 的表达均因剂量不同而呈双向调节。(3) MOO 诱导成肌细胞向心肌样细胞分化作用与其对上述因子的调节作用相关。(4) MOO 中剂量和 5-Aza-dc 联合应用，对 TGF- $\beta$  2、Smad4 及 Smad7 表达呈无关现象；对 Smad2/3 表达呈协同作用。

## Apelin 促大鼠血管平滑肌细胞增殖的 PI3K/Akt 信号通路研究

陈临溪 李芳 张先慧 高晶 李兰芳 秦旭平 廖端芳

南华大学药物药理研究所 衡阳 421001

目的: 研究 G 蛋白偶联受体 APJ 的内源性配体多肽 apelin-13 是否通过 PI3K/Akt 信号通路影响血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)的生长增殖, 发现 apelin-APJ 系统促血管平滑肌细胞增殖的新的信号转导机制; 方法: 培养大鼠胸主动脉血管平滑肌细胞, 噻唑蓝比色法 (MTT) 观察 VSMCs 增殖; Western blot 检测 PI3K 等信号蛋白表达。结果: Western blot 检测结果显示, apelin-13 (0、0.5、1、2、4  $\mu\text{mol/L}$ ) 刺激大鼠血管平滑肌细胞 PI3K 磷酸化、Akt 磷酸化增加, 以 1  $\mu\text{M}$  最为明显; 1  $\mu\text{M}$  apelin-13 分别刺激大鼠 VSMCs 0、5、15、30、45、60min, PI3K 磷酸化、Akt 磷酸化表达在 30min 时最为明显, PI3K 阻断剂 LY294002 明显抑制 apelin-13 诱导的 PI3K 磷酸化及 Akt 磷酸化表达, Akt 阻断剂 1701-1 明显抑制 apelin-13 诱导的 Akt 磷酸化、ERK1/2 磷酸化及 cyclinD1 表达, MTT 法显示 PI3K 抑制剂 LY294002 和 Akt 抑制剂 1701-1 能明显抑制 apelin-13 诱导的 VSMCs 增殖; 结论: Apelin-13 通过 PI3K/Akt 信号转导通路促进大鼠血管平滑肌细胞增殖。

## 罗勒水提取物对大鼠血栓闭塞性脉管炎的治疗作用

依巴代提.吐乎提 阿迪力.阿不都热合曼 艾尼瓦尔.吾买尔 王晓雯  
新疆医科大学 药学院 药理教研室 乌鲁木齐 830011

目的 探讨罗勒水提取物对大鼠血栓闭塞性脉管炎的治疗作用。方法 采用月桂酸股动脉注射造成大鼠血栓闭塞性脉管炎模型, 大鼠随机分为假手术组、病理模型组、复方丹参片对照组、罗勒低剂量组、中剂量组和高剂量组。参照文献方法制作大鼠血栓闭塞性脉管炎模型: 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉, 游离股动脉, 夹闭阻断血流, 假手术组注入 0.2 mL 生理盐水, 其余各组大鼠注入 0.2 mL 月桂酸, 快速医用胶封闭针孔。造模 3 d 后, 病理模型组给予蒸馏水灌胃, 丹参片组灌胃复方丹参片悬液 300mg/(kg·d), 罗勒 3 剂量组灌胃罗勒水提液, 剂量分别为 75 mg/(kg·d)、150mg/(kg·d)、300mg/(kg·d)。连续灌胃 21 d。观察大鼠的体征变化、病理切片血栓分级、血液流变学指标。放射免疫法测定血浆 TXB<sub>2</sub>、6-K-PGF<sub>1</sub> 含量。结果 罗勒水提取物能减少血管内血栓形成数量, 改善血液流变学指标, 罗勒组与模型组比较, 全血比粘度、血浆比粘度明显降低 (P<0.05), 但红细胞压积、变化不明显; 罗勒各剂量组与模型组相比, 6-K-PGF<sub>1</sub> 含量明显升高, TXB<sub>2</sub>、T/K 比值降低 (P<0.01), 其治疗作用接近复方丹参片对照组。结论 罗勒水提取物对大鼠血栓闭塞性脉管炎模型具有较好的治疗作用, 其机理与改善血液流变学、增强血管的抗血栓功能有关。

## 雷米普利对实验性糖尿病大鼠缺血/再灌注损伤心肌的保护作用

吴艳娜 张喆 陈艳 焦建杰 康毅 高卫真 娄建石 刘艳霞  
天津医科大学药理学教研室 天津 300070

目的: 研究雷米普利(RAM)对糖尿病大鼠心肌缺血/再灌注损伤的保护作用。方法: 链脲佐菌素致糖尿病大鼠被随机分为缺血/再灌注(I/R)、缺血预适应(IPC)和 RAM 三组。RAM 组每天用 RAM(1 mg·kg<sup>-1</sup>)灌胃, IPC 和 I/R 组用等体积生理盐水灌胃。4wk 后各组动物均经历心肌缺血/再灌注损伤, IPC 组于缺血前行心肌缺血预适应。连续监测心电图, 检测心肌梗死范围、心肌细胞凋亡、凋亡蛋白 Bcl-2 与 Bax 表达, 光镜及电镜下观察心肌形态学改变。结果: 与 I/R 组比较, RAM 及 IPC 组室早出现时间明显推迟(14.8±7.8 min, 11.6±6.0 min vs 5.5±2.1 min, P<0.05), 持续时间明显缩短(5.1±4.4 min, 10.5±5.1 min vs 16.6±6.0 min, P<0.01), 持续时间缩短, 室速(9.1%, 36.4% vs 72.7%)、室颤(0, 9.1% vs 36.4%)发生率降低, 心肌梗死范围缩小(17±8.5, 19

$\pm 5.9$  vs  $34 \pm 12.6$ ,  $P < 0.01$ ), 心肌细胞凋亡减轻, Bcl-2/Bax 比值升高 ( $0.221 \pm 0.101$ ,  $0.269 \pm 0.162$  vs  $0.105 \pm 0.065$ ,  $P < 0.05$ ), 形态学观察心肌损伤减轻, 心肌纤维及线粒体特征性结构保持清晰, 血管通畅, 内皮损伤减轻。结论: 连续 4wk 应用 RAM 可减轻糖尿病大鼠心肌缺血 / 再灌注损伤。

## 钙调蛋白在钙通道钙依赖性易化与失活机制中的作用

郝丽英

中国医科大学药学院药物毒理学教研室 沈阳 110001

电压门控钙通道受钙依赖性易化和失活两种相互对立的反馈机制的调节。研究表明此调节机制的失衡与心律失常等的发病机制密切相关。目前认为不同浓度的钙离子, 通过作为钙感受器的钙调蛋白 (calmodulin, CaM) 的介导, 分别引发钙依赖性易化和失活。然而, 同一分子 CaM 如何介导易化和失活两个相对立的过程, 其具体机制尚不明确。本研究采用膜片钳单通道的膜内向外记录技术观察了豚鼠心室肌 L 型钙通道的钙依赖性易化与失活过程, 并观察了不同浓度的 CaM 和  $[Ca^{2+}]$  对此过程的影响。结果表明: 在  $100 \text{ nM } [Ca^{2+}]$  下, CaM ( $0.1\text{-}14 \mu\text{M}$ ) 对钙通道活性的影响呈先增高后降低的过程, 浓度依赖性曲线为钟型, 而不是 S 型。随着钙离子浓度的增加, 此钟型曲线向左侧 (即低 CaM 浓度侧) 移动。然而, 如果钙通道活性发生 “run-down” 现象而消失后, CaM 对钙通道活性的 “钟型” 调节作用及钙依赖性易化与失活也同时消失。钙调蛋白激酶 II 的存在可以使钙通道恢复对钙离子和 CaM 调节的感受性。上述结果提示钙通道钙依赖性易化与失活是一个复杂的过程, 钙通道同时存在钙依赖性和 CaM 依赖性易化和失活过程, 而这些过程是在钙通道磷酸化的基础上进行的。

## 6-溴基丁基苯酞对大鼠局灶性脑缺血再灌注的保护作用

高远<sup>1)</sup> 陈华艳<sup>2)</sup> 察雪湘<sup>1)</sup> 胡香杰<sup>2)</sup> 海莉丽<sup>3)</sup> 乔海灵

<sup>1)</sup> 郑州大学基础医学院药理教研室 <sup>2)</sup> 郑州大学机能中心

<sup>3)</sup> 郑州大学基础医学院临床药理教研室

目的: 观察 6-溴基丁基苯酞对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用。方法: SPF 级 Wistar 大鼠 36 只, 随机分为 6 组, 每组 6 只。除假手术组, 余 5 组 (分别为丁基苯酞组、模型对照组和 6-溴基丁基苯酞 80, 40, 20mg/kg 组) 均以改良的线栓法制作急性大鼠中动脉脑缺血再灌注损伤模型。丁基苯酞组、6-溴基丁基苯酞 80, 40, 20mg/kg 组于缺血 2 小时灌胃给药, 再灌注 4 小时后断头取脑, 观察药物对脑梗塞体积以及抗脂质过氧化和病理保护的研究, 并进行神经行为评分。结果: 与模型组大鼠相比, 6-溴基丁基苯酞 80, 40, 20mg/kg 组和丁基苯酞组大鼠神经运动功能障碍均明显改善 ( $P < 0.01$ ); 能明显缩小脑梗塞体积 ( $P < 0.01$ ;  $P < 0.05$ ); 能显著提高神经细胞成活率 ( $P < 0.01$ ;  $P < 0.05$ ); 作用机制可能与能够提高 SOD 活性有关 ( $P < 0.01$ ;  $P < 0.05$ ), 并且 6-溴基丁基苯酞 80mg/kg 能显著减少 MDA 的含量。与丁基苯酞组相比, 6-溴基丁基苯酞 80, 40mg/kg 缩小梗塞体积优于丁基苯酞组 (40mg/kg), 显著提高细胞成活率 ( $P < 0.01$ ;  $P < 0.05$ )。结论: 6-溴基丁基苯酞对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤具有保护作用。

## 6-氟基丁基苯酞对大鼠局灶性脑缺血再灌注的保护作用

察雪湘<sup>1)</sup> 陈华艳<sup>2)</sup> 高远<sup>1)</sup> 胡香杰<sup>2)</sup> 海莉丽<sup>3)</sup> 乔海灵

<sup>1)</sup> 郑州大学基础医学院药理教研室 <sup>2)</sup> 郑州大学机能中心

3) 郑州大学基础医学院临床药理教研室

目的: 观察 6-氟基丁基苯酞对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用。方法: SPF 级 Wistar 大鼠 36 只, 随机分为 6 组, 每组 6 只。除假手术组, 余 5 组 (分别为丁基苯酞组、模型对照组和 6-氟基丁基苯酞 80, 40, 20mg/kg 组) 均以改良的线栓法制作急性大鼠中动脉脑缺血再灌注损伤模型。丁基苯酞组、6-氟基丁基苯酞 80, 40, 20mg/kg 组于缺血 2 小时灌胃给药, 再灌注 4 小时后断头取脑, 观察药物对脑梗塞体积以及抗脂质过氧化和病理保护的研究, 并进行神经行为评分。结果: 与模型组大鼠相比, 6-氟基丁基苯酞 80, 40mg/kg 组和丁基苯酞组大鼠神经运动功能障碍均明显改善 ( $P < 0.01$ ), 但 6-氟基丁基苯酞 20mg/kg 与模型组相比无显著性差异; 与模型组大鼠相比, 6-氟基丁基苯酞 80, 40mg/kg 组和丁基苯酞组大鼠能明显缩小脑梗塞体积 ( $P < 0.01$ ;  $P < 0.05$ ); 但 6-氟基丁基苯酞 20mg/kg 与模型组相比无显著性差异; 与模型组大鼠相比, 6-氟基丁基苯酞 80, 40mg/kg 组和丁基苯酞组能显著提高神经细胞成活率 ( $P < 0.01$ ;  $P < 0.05$ ); 但 6-氟基丁基苯酞 20mg/kg 与模型组相比无显著性差异; 作用机制可能与能够提高 SOD 活性有关 ( $P < 0.01$ ;  $P < 0.05$ )。与丁基苯酞组相比, 6-氟基丁基苯酞 80mg/kg 缩小梗塞体积优于丁基苯酞组 (40mg/kg) ( $P < 0.05$ ), 显著提高细胞成活率 ( $P < 0.05$ )。结论: 6-氟基丁基苯酞对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤具有保护作用。

## 巴戟天寡糖对成肌细胞增殖及向心肌样细胞分化的影响

吴瑶 冯国清 胡香杰

郑州大学基础医学院药理教研室 郑州 450001

目的: 研究巴戟天寡糖 (*Morinda officinalis* How oligosaccharides, MOO) 诱导成肌细胞增殖、分化的机制并观察其是否可诱导心肌细胞标志物的表达, 为临床探索运用心脏组织工程学治疗心肌梗死提供更有依据的依据。方法: 采用出生 1~3d 的 SD 大鼠乳离体差速贴壁法纯化培养双侧后肢骨骼肌成肌细胞的方法, 用 24 h 后的原代成肌细胞进行试验。实验分 5 组: 空白对照组、5-氮杂胞苷 ( $10\mu\text{mol/ml}$ ) 阳性药对照组、MOO 各剂量 ( $100\mu\text{g/ml}$ 、 $300\mu\text{g/ml}$ 、 $500\mu\text{g/ml}$ ) 组。分别检测以下指标: (1) 观察加药前后成肌细胞形态学改变。(2) Desmin (结蛋白) 鉴定。(3) 加药前后成肌细胞对异丙肾上腺素 (Isoprenaline, IP) 的反应。(4) 采用 RT-PCR 法检测成肌细胞中 TGF- $\beta$ 1、GATA-4 mRNA 的表达。结果: (1) 与空白对照组相比, MOO 诱导 48h 后成肌细胞生长密集, 胞浆丰富, 增殖明显, 具有较好的折光性。并呈一定方向性的长轴平行排列, 细胞融合的肌管增多, 分化良好, 有明显自发性搏动的收缩现象, 生长状态明显好于空白对照组。(2) 与空白对照组相比, IP 对阳性药对照组和 MOO 小剂量组成肌细胞正性变时作用不明显 ( $P > 0.05$ ); 而 IP 对 MOO 中剂量组和大剂量组成肌细胞正性变时作用显著 ( $P < 0.05$ )。(3) 半定量 RT-PCR 显示: 与空白对照组比较, 阳性药对照组 TGF- $\beta$ 1 mRNA 表达水平升高显著 ( $P < 0.05$ ); 与阳性药对照组相比, MOO 小、中、大各剂量组均可上调 TGF- $\beta$ 1 mRNA 表达, 其中以小、中剂量组差异显著 ( $P < 0.05$ ), 中剂量组表达最强; 大剂量组 TGF- $\beta$ 1 mRNA 表达较小、中剂量组下降, 无剂量相关性。(4) 空白对照组成肌细胞未见 GATA-4 mRNA 的表达, 阳性药对照组及 MOO 各剂量组均出现了 GATA-4 mRNA 的表达; 与阳性药对照组相比, MOO 诱导后各剂量组均可显著上调 GATA-4 mRNA 的表达 ( $P < 0.05$ ), 并呈剂量依赖性。结论: (1) MOO 有促进成肌细胞增殖的作用及诱导成肌细胞向心肌样细胞分化的潜在可能。(2) MOO 可上调成肌细胞 TGF- $\beta$ 1 mRNA 的表达, 但其上调作用有一定的剂量范围。(3) MOO 促进成肌细胞增殖与调控 TGF- $\beta$ 1 的基因表达有关。(4) 骨骼肌成肌细胞在 MOO 诱导后可出现心脏转录因子 GATA-4 基因的表达, 并随着剂量的增加表达增强, 但其是否具有心肌细胞特有的电生理特征及功能, 还有待进一步研究证实。

## 巴戟天寡糖对成肌细胞增殖及分化的影响

王奎鹏 冯国清 胡香杰  
郑州大学基础医学院药理教研室 郑州 450001

目的：观察巴戟天寡糖 (Morinda Officinalis How Oligosaccharide, MOO) 对成肌细胞增殖分化的影响。方法：采用离体纯化培养大鼠双侧下肢骨骼肌成肌细胞的方法，制成浓度为 $1 \times 10^5/\text{mm}^3$ 的成肌细胞悬液，接种到25ml培养瓶中培养。实验分为5组：空白对照组 5-氮杂胞苷 (5-Aza) ( $10\mu\text{mol}/\text{mL}$ ) 对照组；MOO小、中、大剂量 ( $100\mu\text{g}/\text{ml}$ ,  $300\mu\text{g}/\text{ml}$ ,  $500\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 组；并检测以下指标：1. 成肌细胞形态学变化。2. 免疫细胞化学法鉴定结蛋白 (Desmin)。3. 免疫细胞化学法测定转化生长因子  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) 和增殖细胞核抗原 (PCNA)。4. 四甲基偶氮唑蓝 (MTT) 法检测巴戟天寡糖对成肌细胞增殖的影响。5. 绘制生长曲线。结果：1. 倒置显微镜下，成肌细胞培养24 h 后，可见大量折光率强的圆形细胞贴壁，且有极少量细胞有小突起；48 h 后，细胞呈梭形并出现单个细胞核；72h 后，成肌细胞变得细长，并相互拉网，从单核期进入合体细胞阶段；继续培养，成肌细胞相互融合，形成多核性长管状初生肌管；培养第5天后，可观察到分化状态较好的肌管有自发性搏动的收缩；用desmin 抗体对分裂增殖4~5 天的成肌细胞进行间接免疫酶染色，细胞核外周及胞浆呈棕黄色的desmin阳性反应，表明培养的细胞为成肌细胞；成肌细胞生长曲线显示原代成肌细胞生长培养48 h 后开始增生，早期增殖较快，倍增时间为5 d，6~7 d 进入平稳期。2. 与空白对照组和阳性对照组相比，MOO 小、大剂量组单核成肌细胞及多核初生肌管内的胞浆中免疫细胞化学反应TGF- $\beta 1$ 呈阳性反应，中剂量组呈强阳性反应。3. 与空白对照组和阳性对照组比较，MOO 小、中剂量组多数单核成肌细胞核免疫细胞化学反应呈PCNA阳性；大剂量组呈强阳性反应。4. MTT法检测MOO以剂量方式促进成肌细胞增殖，且各组与对照组相比均有显著差异，在 $500\mu\text{g}/\text{m}$ 剂量达到最大效应( $P < 0.05$ )。结论：1. MOO具有明显促进成肌细胞增殖及分化的作用。2. MOO可在一定剂量范围内增加成肌细胞的TGF- $\beta 1$ 表达，但是剂量过高反而抑制其表达，其原因还需进一步深入探讨。3. PCNA可作为成肌细胞增殖的一种标志物。

## 巴戟天寡糖促治疗性血管新生机制的探讨

孟祥光 冯国清 胡香杰  
郑州大学基础医学院药理教研室 郑州 450001

目的：通过观察巴戟天寡糖 (Morinda officinalis How oligosaccharides, MOO) 对 AMI 后大鼠心室重构 (Ventricular Remodeling) 的干预及缺血心肌组织局部血小板源性生长因子-B (Platelet Derived Endothelial Growth Factor-B, PDGF-B) 及血管内皮细胞生长因子受体-1 (Fms-like Tyrosine Kinase-1, Flt-1) 的蛋白表达变化，进一步探讨 MOO 促进治疗性血管新生作用的机制，为心脏组织工程学的临床应用提供实验依据。方法：60 只雄性 Wistar 大鼠，除假结扎组 10 只开胸分离冠脉后只穿线不结扎外，其余 50 只均结扎冠状动脉左前降支，制成 AMI 模型，随机分为模型组，麝香保心丸 ( $30\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ) 阳性药对照组，MOO 小、中、大 ( $0.7\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ,  $1.4\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ,  $2.8\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ) 剂量组，每组 10 只。各组均于手术后 24 h 内开始给药，模型组及假结扎组每 d 用与药物组等容积的蒸馏水灌胃，给药 6w 后处死。心肌取材进行心脏大体及一般组织形态学观察，测定大鼠左心室质量指数 (Left Ventricular Mass Index, LVMI)，观察药物干预后各组大鼠心率变化率 (Changing Rate of Heart Rate, CROHR)，应用免疫组织化学 SP 法检测各组大鼠缺血心肌细胞 PDGF-B、Flt-1 蛋白表达的情况，用病理图像分析系统测定生长因子蛋白表达光密度值 (Optical Density Value, ODV)，并进行半定量分析。结果：1. 心脏形态观察：与假结扎组比较模型组心脏体积变大，左心室腔明显扩大，并可见坏死 (灰白色) 变薄的心室壁；阳性药对照组及 MOO 各组与模型组相比随着剂量的增加左室腔明显减小，左室坏死面积明显缩小。心肌一般组织形态学观察：各组光镜下均可看到新生的毛细血管；其中假结扎组毛细血管增生不明显、模型组可见少量毛细血管增生、MOO 小、中剂量组可见较多增生的毛细血管、麝香保心丸组和 MOO 大剂量组可见多数增生的毛细血管。2. 处死前用药各组 CROHR 均较模型组显著降低 ( $P < 0.05$ )，其中 MOO 大剂量组的差异最为明显。MOO 三个剂量效应呈显著负相关 ( $r = -0.828$ )。3. MOO 及麝香保心丸干

预6w后其LVMI值除MOO小剂量组外其它各组均较模型组为小,统计上均有显著差异( $P<0.05$ ); MOO三个剂量呈显著负相关( $r=-0.890$ )。4.与假结扎组相比模型组PDGF-B蛋白表达显著升高( $P<0.05$ ),用药各组PDGF-B蛋白表达均高于模型组,以MOO大剂量组蛋白表达量最高;MOO三个剂量呈显著正相关( $r=0.888$ )。5.与假结扎组相比模型组Flt-1蛋白表达显著增高( $P<0.05$ );用药各组Flt-1蛋白表达均高于模型组,其中以麝香保心丸组与MOO大剂量组表达量最高,MOO三个剂量效应呈显著正相关( $r=0.945$ )。结论:1.MOO能够改善心梗后大鼠的一般状况,延缓和改善大鼠的心室重构。2.MOO可显著促进缺血心肌治疗性血管的新生。3.MOO呈剂量相关性诱导缺血心肌局部PDGF-B及Flt-1蛋白表达升高,为促进治疗性血管新生的重要机制之一。

## 巴戟天寡糖促治疗性血管生成作用的实验研究

杨景柯 冯国清 胡香杰

郑州大学医学院药理教研室 郑州 450001

目的:观察巴戟天寡糖(*Morinda officinalis* How oligosaccharides, MOO)对鸡胚绒毛尿囊膜(CAM)模型及大鼠急性心肌梗死(AMI)模型血管生成的作用。方法:1.制备MOO(0.7g/kg、1.4g/kg、2.8g/kg)含药血清,建立CAM模型,随机分为NS组、空白血清组、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)组及MOO小、中、大剂量组,每组10只。体视显微镜下观察血管生成表现,并进行一二级血管计数。2.50只雄性Wistar大鼠,除假结扎组开胸分离冠脉后只穿线不结扎外,其余40只均制成急性心肌梗死(AMI)模型,随机分为模型组、麝香保心丸组(30 mg/kg, d), MOO小、中、大剂量组(0.7g/kg, d、1.4g/kg, d、2.8g/kg, d), 每组8只。另取10只设为。各组均于造模后24h内开始药物(灌胃)干预,假结扎组及模型组给予等容积的生理盐水。6w后处死,心肌取材,行一般组织形态学观察,检测各组大鼠缺血心肌中微血管密度(MVD),以及血管内皮生长因子(VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)蛋白的表达,用病理图像分析系统测定生长因子蛋白表达光密度值,并进行半定量分析。结果:1.CAM血管生成: NS组、空白血清组无特异性血管生成,或特异性放射状程度低, bFGF组和MOO含药血清组主干血管向载体物靠拢,中小血管明显增生,尤其是小血管以载体为中心呈辐射状生长;与空白血清组相比, MOO各剂量组及bFGF组一、二级血管数目显著增加( $P<0.05$ )。2.与假结扎组、模型组比较,心肌组织切片可见MOO各剂量组和麝香保心丸组毛细血管增生及MVD显著增多( $P<0.05$ )。3.与假结扎组和模型组相比,麝香保心丸组、MOO各剂量组大鼠缺血心肌VEGF、bFGF光密度值显著增高( $P<0.05$ )。结论:1.巴戟天寡糖可明显促进鸡胚绒毛尿囊膜的血管生成。2.巴戟天寡糖可明显促进AMI后大鼠缺血心肌的血管生成,改善缺血心肌局部的侧支循环。3.巴戟天寡糖可明显促进AMI后大鼠缺血心肌VEGF、bFGF蛋白的表达,这可能是其促血管生成机制之一。

## 原花青素对大鼠脑缺血再灌注损伤能量代谢的影响

陈香红 张艳 冯国清 贾丹辉 胡香杰

郑州大学基础医学院药理学教研室 郑州 450052

目的:研究原花青素(procyanidin, GSP)对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤代谢障碍的影响。方法:SD大鼠随机分为假手术组、缺血再灌注模型组及GSP低、中、高剂量(50、100、200mg/kg)组。术前30min采用腹腔注射给予不同浓度的原花青素溶液,脑缺血2h后重复给药一次,假手术组和缺血再灌注模型组分别给予等量的生理盐水。采用线栓法制备大鼠局灶性脑缺血2h再灌注24h模型,观察不同剂量GSP对大鼠脑缺血再灌注后神经功能状态、脑组织含水量及乳酸含量、能量代谢酶( $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+}\text{-ATP}$ 酶)活性的影响。结果:与假手术组相比,缺血再灌注模型组大鼠神经功能缺损评分分值明显升高( $P<0.01$ ),脑组织含水量及乳酸含量均升高( $P<0.01$ ),

Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPase、Ca<sup>2+</sup>-ATPase 的活性降低 ( $P<0.05$ )；与缺血再灌注模型组相比，GSP 中、高剂量组大鼠神经功能缺损评分值显著降低 ( $P<0.05$ )，且两组间无显著差异 ( $P>0.05$ )，低剂量组无显著差异 ( $P>0.05$ )；GSP 高、中剂量组大鼠脑组织含水量降低 ( $P<0.05$ )，且两组间无显著差异 ( $P>0.05$ )，低剂量组变化不明显 ( $P>0.05$ )；GSP 各剂量组乳酸含量均降低 ( $P<0.05$ )，且各剂量组间均有显著 ( $P<0.05$ ) 差异；GSP 中、高剂量组 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>ATPase 活性升高 ( $P<0.05$ )，且两组间无显著差异 ( $P>0.05$ )，低剂量组改变不明显 ( $P>0.05$ )；GSP 高剂量组 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性升高 ( $P<0.05$ )，中、低剂量组变化不明显 ( $P>0.05$ )。结论：GSP 对大鼠局灶性脑缺血再灌注引起的神经损伤具有保护作用。其机制可能与其减轻脑水肿、改善脑细胞能量代谢有关。

## 实验性大脑皮质梗死继发丘脑损伤后 DNA 修复酶的变化

何美霞 张明明 华海婴

郑州大学医药科学研究院 河南省医药科学研究院药理研究室 郑州 450052

目的：观察大鼠大脑皮质梗死后丘脑继发性损害是否导致 DNA 修复酶 apurinic/aprimidinic endonuclease (APE) 以及 Escherichia coli MutY DNA glycosylase (MYH) 的改变。方法：采用易卒中型肾血管性高血压大鼠 (RHRSP)，建立大脑中动脉皮质支闭塞 (MCAO) 模型后分为：1) 假手术组，2) 模型组。2 周后 HE 染色观察神经细胞形态的变化；免疫组化检测大鼠丘脑腹后外侧核 (ventroposterior nucleus of the thalamus, VPN) APE 以及 MYH 的表达；免疫双标用于研究 MYH 是否为神经元细胞特异表达，采用微管相关蛋白-2 (microtubule-associated protein -2, MAP-2)，作为神经元的标志蛋白。结果：MCAO 后 2 周，HE 染色可见假手术组同侧 VPN 细胞形态规整，胞浆丰富，每个细胞有清晰的胞核，细胞核完整。而缺血组同侧 VP 神经细胞出现细胞体积变小，胞浆减少，胞核固缩。免疫组化发现 APE 定位于 VPN 的胞核，MCAO 后 2 周同侧 VPN 的 APE 水平显著下降。免疫荧光可见 MCAO 后 2 周，同侧假手术组 VPN 神经细胞的胞浆和胞核有 MYH 阳性细胞表达。与假手术组相比，缺血组同侧 VPN 的 MYH 阳性细胞数目显著下降。免疫双标发现 VPN 的 MYH 阳性细胞为神经元细胞。结论：实验性大脑皮层梗死后 2 周，同侧 VPN 的 DNA 修复酶 APE 和 MYH 的水平明显下降，MYH 的改变是神经元细胞所致。

## 白细胞介素-6 基因多态性与高脂血症的关联性研究

何美霞<sup>1</sup> 张莉蓉<sup>2</sup> 张明明<sup>1</sup> 华海婴<sup>1</sup>

1. 郑州大学医药科学研究院 河南省医药科学研究院药理研究室 郑州 450052

2. 郑州大学基础医学院药理教研室 郑州 450052

目的：探讨高血脂患者白细胞介素-6 (IL-6) 启动子-634C/G 基因在中国人群中的多态性，旨在了解其是否为高脂血症的遗传因素。方法：筛选高脂血症患者 197 例，健康志愿者 200 例。采用酚-氯仿法提取外周血 DNA，聚合酶链反应-限制性片段长度多态性 (PCR-RFLP) 技术检测 IL-6 基因多态性。结果：高脂血症组 CC、CG 和 GG 基因型的频率分别为 51.3% (101/197)，37.6% (74/197) 和 11.1% (22/197)，与正常对照组 [CC: 65% (130/200)；CG: 28.5% (57/200)；GG: 6.5% (13/200)] 相比差异具有显著性 ( $P<0.05$ )。关联分析显示 G 等位基因是高脂血症的一个独立危险因素 (OR=1.736, 95%CI=1.257-2.397)。高脂血症组中，CG 及 GG 基因型者的 TC 水平明显高于 CC 型，GG 基因型 HDL-C 水平明显低于 CC 型。结论：IL-6-634 CG 及 GG 基因型和 G 等位基因携带者具有患高脂血症易感性。

## 柚皮素硫酸酯对兔全血血小板聚集的影响

刘 文<sup>1</sup> 段 宁<sup>2</sup> 张 莹<sup>2</sup> 覃燕梅<sup>1</sup> 梁念慈<sup>1</sup>

1. 生物化学与分子生物学研究所

2. 第一临床学院 05 级; 广东医学院 湛江 524023

柚皮素富含于柚子中的黄酮类化合物,它具有广泛的药理学特性,包括抗炎、抗氧化、抗肿瘤形成与生长等活性,但是,柚皮素不溶于水,极大地限制了其生物利用度和体内给药途径。理论上,在力求保持其活性结构的情况下,将柚皮素改造成水溶性的衍生物,这衍生物可望开发成为一种新的药物。本文用柚皮素作为母体分子,采用化学合成法合成出柚皮素硫酸酯钠盐的衍生物,其结构经高效液相色谱(HPLC)-大气压化学电离(APCI)-质谱(MS)联用确定为柚皮素单硫酸酯,而且它们母核的基本结构没有被破坏;此外,本文还研究柚皮素硫酸酯对兔全血血小板聚集的影响,结果发现柚皮素硫酸酯对凝血酶诱导的兔全血血小板聚集有抑制作用,当柚皮素硫酸酯的浓度为160、320和640  $\mu\text{mol/L}$ 时,抑制率分别为52%、35%和46%。本文的研究结果提示,柚皮素硫酸酯具有抗血小板聚集的作用,此外,本文所采用的化学合成法并不破坏黄酮类化合物的活性结构,在黄酮类化合物结构改造中值得推广。

## 次乌头碱对心肌细胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 及 L-Ca 通道 mRNA 表达的影响

李志勇<sup>1,2</sup> 孙建宁<sup>1</sup>

1 北京中医药大学中药学院 北京 100012

2 中央民族大学中国少数民族传统医学研究院 北京 100081

目的:观察次乌头碱对SD乳鼠心肌细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度及细胞膜 L-Ca 通道 mRNA 的影响。方法:原代培养 SD 乳鼠心肌细胞,给予不同浓度的次乌头碱,采用流式细胞技术分别检测给药后 15min、30min、60min 心肌细胞内钙浓度的变化,并分析次乌头碱对心肌细胞内钙浓度的作用与 L-Ca 通道 mRNA 表达的相互关系。结果:30~120  $\mu\text{M/L}$  次乌头碱引起心肌细胞内游离  $\text{Ca}^{2+}$  浓度升高,细胞“钙超载”出现在给药后 15min ( $P < 0.01$ ),且呈一定的剂量依赖性,但无明显的时间依赖性;60  $\mu\text{M/L}$  次乌头碱与心肌细胞作用 5min 即能增加 L-Ca 通道 mRNA 表达 ( $P < 0.05$ ),随着次乌头碱浓度的增加,L-Ca 通道 mRNA 的表达也增多,但亦未表现出明显的时间依赖性。结论:次乌头碱为附子中的主要成分之一,其可能通过增加心肌细胞膜 L-Ca 通道开放数量而导致细胞内钙增加,发生钙超载,并最终导致心律失常的发生。

## 人参皂苷 Rg1 保护心肌细胞免于缺氧-复养损伤涉及 PKC $\epsilon$ -activated ERK1/2 径路

朱 丹 黄秀兰

中央民族大学 中国少数民族传统医学研究院 北京 100081

目的:人参皂苷 Rg1 是人参、三七等人参属药材的主要活性成分。众多研究表明人参总皂苷和三七总皂苷具有心血管方面的活性及治疗作用。本研究旨在观察人参皂苷 Rg1 单体 心肌保护作用及作用机制。方法:培养大鼠乳鼠心肌细胞,缺氧 3 小时复养 1 小时后检测心肌细胞乳酸脱氢酶(LDH)的渗漏,心肌细胞内总超氧化物歧化酶(T-SOD)和过氧化氢酶(CAT)的活性,还原型谷胱甘肽的含量。利用 DFH 为探针检测细胞内活性氧(ROS)水平,Fluo-4 探针检测细胞内钙水平。采用 Western Blot 技术检测细胞 PKC  $\epsilon$  在细胞膜和细胞浆的分布,以及 ERK1/2、P38 和 JNK 的蛋白磷酸化水平,选择 PMA 为 PKC  $\epsilon$  的激动剂,PD98059、SP600125、SB203580 为 ERK1/2、P38 和 JNK 的抑制剂。结果:人参皂苷 Rg1 具有缺氧-复氧损伤保护作用,可明显降低乳酸脱氢酶的渗漏。人参

皂苷 Rg1 可抑制 ROS 的产生,并可升高细胞内的抗氧化酶活性。与模型组比较 Rg1 120  $\mu$ M 处理组 T-SOD、CAT、GSH 分别升高 85.8%、73.1%和 36.9%, 细胞内 ROS 水平下降了 63.8%。另外, 人参皂苷 Rg1 可显著抑制缺氧-复氧损伤引起的细胞内钙超载。人参皂苷 Rg1 可激活 PKC  $\epsilon$  磷酸化并转位至膜, 可明显提高 ERK<sub>1/2</sub> 的磷酸化水平, 同时可抑制 P38 的磷酸化, 对 JNK 的影响较弱。人参皂苷 Rg1 和 PMA 均可明显激活 ERK<sub>1/2</sub> 的磷酸化, 且被 PD98059 阻断。结论: 人参皂苷 Rg1 对缺氧-复氧损伤的抗氧化保护作用涉及到 PKC  $\epsilon$  依赖性激活的 ERK<sub>1/2</sub> 信号通路, 另外保护作用也涉及到 P38 的激活抑制。人参皂苷 Rg1 调节细胞内钙平衡作用也是其发挥心肌保护作用的途径之一。

## 抗炎免疫及抗病毒药理

### Toll 样受体 9 (TLR9) 结合 CpG DNA 功能片段的确认

周红 丁国富 潘夕春 李斌

第三军医大学药学院药理学教研室 重庆 400038

Toll 样受体家族的 TLR9(Toll-Like Receptor 9)是巨噬细胞识别 CpG DNA 的模式识别受体, 它可通过激活单核/吞噬细胞系统信号转导, 活化 NF- $\kappa$ B、AP-1, 从而大量释放 TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6 和 IL-12 等多种前炎症细胞因子, 引起急性炎症反应、脓毒症甚至休克、死亡。TLR9 是 I 型跨膜蛋白质, 分为胞外区、跨膜区和胞内区三部分。TLR9 胞外区由 25 个富含亮氨酸的重复序列(leucine-rich repeats, LRRs)组成, 与识别 CpG DNA 有关。其中的 LRR2、5、8、11 序列后跟随有插入氨基酸序列, 可能是与 CpG DNA 的结合位点或参与结合 CpG DNA。但是, 迄今为止, TLR9 是如何识别 CpG DNA、其识别位点在何处还不清楚, 更不清楚 TLR9 识别 CpG DNA 的分子机制。因此, 明确 TLR9 与 CpG DNA 的结合位点对阐明 CpG DNA 介导炎症的发生机制, 并将其作为可能的新的药物靶点进行疾病防治具有重要意义。为此, 在前期偶然发现转染 TLR9 胞外段 LRRs 能够抑制宿主菌生长现象的基础上, 设计一系列实验, 通过细菌生长抑制实验、细胞因子释放抑制实验和亲和力的测定, 基本确定能够与 CpG DNA 高亲和力结合的 TLR9 胞外段 LRR, 在 TLR9 胞外段各个 LRR 中, LRR11 是最有可能与 CpG DNA 结合的位点。

### A $\beta$ <sub>1-42</sub> 诱导 U251 细胞趋化因子 RANTES 表达的研究

杨云霞 郝杰 王沼丹

四川大学华西基础与法医学院药理学教研室 成都 610041

目的: 探讨  $\beta$ 淀粉样蛋白 1-42(A $\beta$ <sub>1-42</sub>)诱导体外 U251 细胞炎症反应的分子学机制。方法: 采用终浓度为 0.2~4 $\mu$ mol/L A $\beta$ <sub>1-42</sub> 处理 U251 细胞 24h, 以四唑盐比色法测定细胞存活率; U251 细胞经常规去血清培养, 采用硝酸还原酶法检测一氧化氮含量; 采用双抗体夹心 ELISA 法测定细胞 RANTES 蛋白表达水平; 以免疫细胞化学染色法检测 NF- $\kappa$ B 和 STAT1 的表达。结果: 随着 A $\beta$ <sub>1-42</sub> 剂量的增加, 细胞的存活率降低 (P<0.05); 用 2 $\mu$ mol/L A $\beta$ <sub>1-42</sub> 处理 U251 细胞 12、24h, NO、RANTES 分别增加 4 倍和 10 倍; 2 $\mu$ mol/L A $\beta$ <sub>1-42</sub> 刺激 U251 细胞 24h 后细胞内 NF- $\kappa$ B P65 和 STAT1 表达明显。结论: A $\beta$ <sub>1-42</sub> 降低体外培养的 U251 细胞存活率, 诱导 NO 和 RANTES 的释放, 提示 A $\beta$ <sub>1-42</sub> 诱导的 U251 细胞的趋化因子 RANTES 产生可能与 NF- $\kappa$ B 和 STAT1 的活化有关。

## 羧胺三唑对脂多糖诱导大鼠腹腔巨噬细胞 iNOS 蛋白的表达和 NF- $\kappa$ B 活化的影响

郝晓健 郑茹 姚伊人 叶菜英 张德昌

中国医学科学院基础医学研究所药理学系 北京 100005

目的: 本课题组前期的研究结果显示, 羧胺三唑 (CAI) 在多种急性、亚急性和慢性炎症模型中均具有良好的抗炎作用。本研究以正常大鼠的腹腔巨噬细胞为研究对象, 探讨可能具有潜在抗炎作用的抗肿瘤药物 CAI 对与多种炎症相关因子的体外调节作用。方法: 收集正常大鼠的腹腔巨噬细胞, 待细胞贴壁后, 将一系列浓度的 CAI 与上述细胞共同孵育 48 小时后, 利用 MTT 法测定 CAI 对正常大鼠腹腔巨噬细胞活力的影响。分别将 5  $\mu$ m、10  $\mu$ m、20  $\mu$ m 和 40  $\mu$ m 的 CAI 加入已经贴壁的巨噬细胞中, 共同培养 24 小时, 同时加入浓度为 10  $\mu$ g/mL 的脂多糖 (LPS) 以诱导上述细胞的活化。培养基上清中 NO 的含量和 TNF- $\alpha$  的水平分别用硝酸还原法和 TNF- $\alpha$  ELISA 检测试剂盒进行测定, 用 Western blot 法测定 iNOS 蛋白的表达和 NF- $\kappa$ B 活化情况。结果: CAI (5-40  $\mu$ m) 对正常大鼠腹腔巨噬细胞的细胞活力没有影响, 浓度为 5  $\mu$ m、10  $\mu$ m、20  $\mu$ m 和 40  $\mu$ m 的 CAI 能够剂量依赖性的降低 10  $\mu$ g/mL LPS 诱导的正常大鼠腹腔巨噬细胞 NO 的释放以及 TNF- $\alpha$  的分泌, CAI (20  $\mu$ m) 即能够明显抑制 10  $\mu$ g/mL 的 LPS 引起的 iNOS 蛋白的表达和 NF- $\kappa$ B 活化。结论: CAI 对与炎症相关的调控因子 iNOS 蛋白的表达和 NF- $\kappa$ B 活化具有抑制作用, 表明该药物在动物模型中表现出的抗炎作用可能与上述机制有关。

## 双环醇对免疫性肝纤维化大鼠的保护作用及机制研究

谷雨 李燕

中国医学科学院/北京协和医学院药物研究所/北京协和医学院药用植物研究所 北京 100050

目的: 观察双环醇对免疫性肝纤维化大鼠的保护作用, 并探讨其作用机制。方法: SD 大鼠多点皮下注射 BSA (9mg/ml) -弗氏不完全乳化液, 0.5mL/只。注射 5 次后 (前两次注射间隔两周, 后三次注射间隔一周), 应用双向扩散法检测大鼠血清抗 BSA 抗体。抗体阳性大鼠尾静脉注射 BSA (2mg 递增至 4mg/只), 一周两次, 继续 8 周。尾静脉攻击第 4 周始, 给药组口服双环醇 (100, 200, 300mg/kg/d), 连续给药 5 周。采用生化法测定大鼠肝脏羟脯氨酸 (HYP) 含量, ELISA 法测定血清透明质酸 (HA)、III 前胶原 (PIIIP), HE 染色及 Masson 染色检测肝脏病理形态学改变。RT-PCR 法测定肝组织中 TGF- $\beta$  1, IL-1, IL-10, MMP-2 mRNA 的表达。结果: 双环醇可明显抑制免疫性肝纤维化大鼠肝脏羟脯氨酸、血清透明质酸以 III 前胶原水平升高, 肝组织炎性细胞浸润、坏死和纤维组织增生等均明显减轻。双环醇还可抑制肝组织中 TGF- $\beta$  1, IL-1, IL-10, MMP-2mRNA 的表达。结论: 双环醇对牛血清白蛋白诱发的大鼠肝纤维化有明显的治疗作用, 其机制与抑制 TGF- $\beta$ , IL-1, IL-10, MMP-2 mRNA 的过表达相关。

## 双环醇对四环素引起小鼠脂肪肝的保护作用及机制研究

于红燕 李燕

中国医学科学院/北京协和医学院药物研究所 北京 100050

目的: 研究双环醇对四环素引起小鼠脂肪肝保护作用的相关机制。方法: ICR 小鼠给予双环醇 75、150、300mg/kg, 连续三次。末次给药 1h 后腹腔注射四环素 200mg/kg。采用生化法测定血清丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、门冬氨酸氨基转移酶 (AST), 肝脏甘油三酯 (TG)、胆固醇 (CHO)、丙二醛 (MDA) 和谷胱甘肽 (GSH) 含量; 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性、线粒体渗透性转换 (MPT)、线粒体呼吸链复合酶 I&IV (MRC I&IV)、线粒体酰基辅酶 A 脱氢酶 (ACD)、过氧化酶体乙酰辅酶 A 氧化酶 (AOX)、微粒体 CYP2E1 活性, HE 染色检测肝脏病理形态学变化。应用 LC/MS 联用方法检测肝微粒体 CYP4A 活性。应用 RT-PCR 法检测过氧化酶体增殖活化受体 (PPAR $\alpha$ )、LCAD、AOX、CYP2E1、CYP4A10、CYP4A12 mRNA 表达。结果: 双环醇对四环素引起小鼠脂肪肝有明显保护作用, 表现为降低升高的 ALT、AST 水平, 减少肝脏 TG、CHO 堆积, 减轻肝细胞水样变性和空泡变性等病理学改变。双环醇可抑制四环素引起的 MDA 升高, 调控 GSH 水平及 SOD 活性, 改善 MRC I&IV 活性及线粒体渗透性转换的异常。此外, 双环醇还可抑制 PPAR $\alpha$  的表达下降, 并在酶学及 mRNA 水平抑制 LCAD、AOX、CYP2E1、CYP4A 活性及表达降低。结论: 双环醇对四环素引起脂肪肝的保护作用与其调控 PPAR $\alpha$  转导通路紊乱及改善损伤的线粒体功能密切相关。

## 应用假病毒模型寻找 H5N1 高致病流感病毒侵入抑制剂

曹颖莉 杨森 李英霞<sup>3</sup> 陈虹<sup>2</sup> 郭颖<sup>1</sup>

1. 中国医学科学院&北京协和医学院药物研究所药理学室 北京 100050

2. 武警医学院生药教研室 天津 300162

3. 中国海洋大学药物合成一室 青岛 266003

目的: 建立不同亚型流感病毒侵入环节的细胞水平重组病毒药理筛选模型, 并应用该模型筛选流感病毒侵入抑制剂。方法: 将表达流感病毒外壳蛋白 (hemagglutinin, HA) 质粒和 HIV-1 核心基因共转染至病毒生成细胞, 生成由 HA 包装 HIV 核心的重组病毒颗粒, 简称 HA/HIV 模型, HIV-1 核心基因上携带的报告基因的表达水平可以反映感染水平。在筛选过程中, 以 VSVG/HIV 模型作为特异性对照模型, 以 HA 抗体作为阳性对照。结果: 成功构建了两种 H5N1 亚型和一种 H5N2 亚型的流感病毒侵入为靶标的药理筛选模型, HA 抗体可以成功抑制 HA/HIV 假病毒颗粒的侵入。应用以上模型筛选了 2000 余个化合物, 其中发现三个海洋来源的化合物 YCUA-6、YC-72、GC-29 可以剂量依赖性抑制三种不同亚型流感病毒 HA 介导的侵入, 其 IC<sub>50</sub> 均在 1~10 $\mu$ M 之间。结论: 目前针对流感病毒的侵入环节尚无有效的药物, 本研究首次建立了以流感病毒侵入环节为靶标的药物筛选模型, 发现三个海洋来源化合物单体 YCUA-6、YC-72、GC-29 可有效抑制 H5N1 高致病流感病毒的侵入, 本研究提供了流感病毒侵入抑制剂的先导化合物, 为研发新靶点和新结构类型的流感病毒抑制剂建立了筛选和物质平台。

## 氟康唑对 HERG 钾通道电生理功能的影响

韩圣娜 张莉蓉 胡香杰 范天黎

郑州大学基础医学院药理教研室 河南 郑州 450052

目的: 观察咪唑类抗真菌药氟康唑 (fluconazole) 对 HERG 钾通道电生理功能的影响。方法: 采用磷酸钙瞬时转染的方法, 将质粒 cgi-GFP-HERG 转染到人胚肾细胞 (HEK-293) 中进行表达, 随后应用全细胞膜片钳的方法, 观察不同浓度的氟康唑对 HERG 电流的影响。结果: 氟康唑浓度依赖性的抑制 HERG 电流 (I<sub>step</sub>) 和尾电流 (I<sub>tail</sub>)。当浓度为 0.01、0.1、1、3、10、30 和 100  $\mu$ M 时, 其抑制率分别为 105 $\pm$ 1.69% (P>0.05); 92.39 $\pm$ 1.00%; 80.46 $\pm$ 2.39%; 69.67 $\pm$ 3.26%; 46.84 $\pm$ 2.62%; 40.24 $\pm$ 2.06%; 34.06 $\pm$ 1.21% (P<0.05), 其 IC<sub>50</sub> 值为 3.41 $\pm$ 1.93 $\mu$ M。但氟康唑对 HERG 钾通道的激活曲线和失活曲线均无影响。结论: 氟康唑可阻断 HERG 钾通道电流, 提示该药

可致动作电位时程延长, QT 间期延长, 从而有致心律失常的风险。

## 青霉素过敏病人血清特异性 IgE 与 IgG、IgG3、IgG4

杨静 乔海灵 郜娜 贾琳静 田鑫 郭玉忠  
郑州大学临床药理研究所 郑州 450052

目的: IgE 抗体在青霉素过敏反应中的地位已得到公认, IgG 抗体的作用也日益受到重视。IgG 分为 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4 四种亚类。IgG 与过敏反应的关系至今尚未明确, 可能与其亚类有关。为探讨 IgG 及其亚类在青霉素过敏反应中的作用, 分析与特异性 IgE 抗体的关系, 以期对青霉素过敏反应的诊断及防治提供理论依据。方法: 采用放射免疫吸附试验(RAST)检测青霉素过敏病人血清中 8 种抗原决定簇(BPO-PLL、BPA-PLL、PVO-PLL、PVA-PLL、APO-PLL、APA-PLL、AXO-PLL、AXA-PLL) 特异性 IgE 抗体。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测青霉素过敏病人血清中 8 种特异性 IgG、IgG3 和 IgG4 抗体。结果: 164 例过敏病人中, IgG、IgG3 和 IgG4 的阳性率分别为 28.05%、13.39%、12.80%。其中, 迟发过敏反应组的 IgG3 阳性率显著高于速发过敏反应组 ( $P<0.05$ )。皮试阴性组的 IgG 阳性率显著高于皮试阳性组 ( $P<0.01$ ), 并且皮试阴性用药后出现过敏症状组的 IgG 阳性率显著高于皮试阳性同时出现过敏症状组 ( $P<0.05$ )。IgG 在主要抗原决定簇中的阳性率显著高于次要抗原决定簇 ( $P<0.01$ )。特异性 IgG 与 IgG3 和 IgG4 的一致率分别为 74.02%和 79.27%。IgG 与 IgG3 和 IgG4 均呈正相关( $r_s=0.394, P<0.01; r_s=0.419, P<0.01$ )。特异性 IgG、IgG3 和 IgG4 与 IgE 的一致率分别为 37.80%、37.80%和 39.02%。IgG、IgG3 和 IgG4 与 IgE 之间均无相关性。结论: IgG3 与青霉素迟发过敏反应关系密切。青霉素过敏反应与 IgG 的主要抗原决定簇关系密切, 且 IgG 与出现过敏症状的皮试结果有关。青霉素过敏病人血清中的 IgG 与 IgG3、IgG4 均呈正相关。

## 青霉素过敏病人血清食入性、气源性致敏原特异性 IgE 抗体

王秀丽 田鑫 乔海灵  
郑州大学临床药理研究所 郑州 450052

目的: 为进一步研究青霉素类过敏反应的机制, 探讨青霉素过敏反应与食入性、气源性致敏原过敏反应的相关性。方法: 本研究采用放射过敏原吸附试验(RAST)检测 219 例青霉素过敏病人血清 8 种普通过敏原(包括 4 种食入性和 4 种气源性)和 8 种青霉素主、次要抗原决定簇。结果: 青霉素过敏病人中, 至少一种青霉素类药物特异性 IgE 抗体阳性率为 62.10%, 至少一种普通过敏原 IgE 抗体阳性率为 42.92%, 食入性致敏原特异性 IgE 抗体阳性率和气源性致敏原特异性 IgE 抗体阳性率分别为 33.33%和 23.29%。青霉素抗体阳性病人组中, 食入性致敏原 IgE 抗体阳性率显著高于抗体阴性组 ( $P<0.05$ ), 且食入性致敏原 IgE 与青霉素 IgE 呈正相关( $r=0.213, P=0.002$ ); 气源性致敏原 IgE 抗体阳性率在两组间无显著性差异 ( $P>0.05$ ), 且气源性致敏原 IgE 与青霉素 IgE 无相关性( $r=0.119, P=0.08$ )。结论: 食入性致敏原对 IgE 介导的青霉素过敏病人的致敏性较高。

## MAPK 通路对慢支大鼠肺泡巨噬细胞 TNF- $\alpha$ 表达的影响 及枇杷叶三萜酸的作用环节研究

江国林 李俊 黄艳  
安徽医科大学药学院 合肥 230032

目的：观察丝裂原活化蛋白激酶（MAPK）信号转导通路对慢性支气管炎（CB）大鼠肺泡巨噬细胞（AM）中细胞因子 TNF- $\alpha$  生成的影响，并初步探讨枇杷叶三萜酸（TAL）的作用环节。方法：分离纯化 CB 模型大鼠的 AM，以 AM 为实验平台。用 RT-PCR 法检测 TAL（0.05, 0.5, 5, 50, 500mg/L）对 TNF- $\alpha$  生成的影响；用 Western Blot 的方法检测 MAPK 三条通路对 CB 大鼠 AM 中 TNF- $\alpha$  的蛋白表达的影响，并使用 TAL 与 MAPK 通路阻滞剂联合给药的方法进一步验证 TAL 的作用环节。结果：RT-PCR 法检测结果显示 50mg/L 组的 TAL 对 CB 大鼠 AM 中 TNF- $\alpha$  抑制作用最为显著（ $P < 0.01$ ）；Western Blot 检测结果显示 MAPK 三条通路中 p38 对 TNF- $\alpha$  生成的抑制作用最为显著（ $P < 0.01$ ）；与单用 TAL 或 SB203580 组比较，SB203580 + TAL 组 TNF- $\alpha$  蛋白的表达减少，且有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。结论：TAL 对 TNF- $\alpha$  的抑制作用可能与其抑制 p38 信号通路有关，这可能是 TAL 防治慢支的主要作用环节之一。

## 甘草多糖抗骨关节炎作用及其机制研究

李小军<sup>1</sup> 汪巍<sup>1</sup> 范雯<sup>1</sup> 何文博<sup>1</sup> 张逸杰<sup>1</sup> 商亮<sup>1</sup> Jacques Magdalou<sup>2</sup> 汪晖<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> 武汉大学基础医学院药理学系 武汉 430071

<sup>2</sup> UMR 7561 CNRS-Université Henri Poincaré Nancy I, Faculté de Médecine, Vandoeuvre-lès-Nancy, France.

目的：我国 60 岁以上的老年人骨关节炎（osteoarthritis, OA）患病率高达 50%。OA 发病机制十分复杂，生物化学上表现为软骨细胞和基质中蛋白多糖丢失、胶原基质破坏；软骨细胞氧化损伤是其重要的发病机制之一。目前临床上尚缺乏高效、价廉的抗骨关节炎药物。甘草为中医骨关节炎治疗方剂中的常用单味药，甘草多糖（*glycyrrhiza polysaccharide*, GP）是其主要成分之一。本研究在细胞分子水平上初步探讨了自制 GP 的抗 OA 疗效、作用机制和有效成分。方法及结果：甘草经过脱脂、水提、醇沉、Sevag 法除蛋白、干燥等过程得到 GP；用 DEAE Sephadex A-50 分离，苯酚硫酸法检测，得到三个组分（GP-1、GP-2 和 GP-3）。培养大鼠原代软骨细胞，二甲基亚甲基蓝（DMMB）染色法测定培养基中所含硫酸化糖胺聚糖（GAGs）含量，发现 GP 能浓度依赖性的促进 GAGs 释放；以 100  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 造模，给予 50、100 和 200 mg/L GP，MTT 法检测细胞活力，发现 GP 能浓度依赖性的对抗 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 引起的细胞活力降低；以 10 ng/L IL-1 $\beta$  造模，Real-time PCR 检测发现，100 mg/L GP 可以逆转 IL-1 $\beta$  引起的 GAGs 合成关键酶——葡萄糖醛酸转移酶 I 表达的降低；将 GP、GP-1、GP-2 和 GP-3 分别作用于软骨细胞，MTT 法发现，GP-2（1、10 mg/L）能明显促进细胞增殖。用 Sephadex A-25 柱进一步考察 GP-2 的成分，苯酚硫酸法检测只得到一单峰，证明 GP-2 的分子量分布较为集中。结论：GP 可以促进正常软骨细胞释放 GAGs，对抗 IL-1 $\beta$  对 GlcAT-I mRNA 抑制作用和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 造成的氧化损伤，经葡聚糖凝胶柱分离得到的 GP-2 具有显著的促软骨细胞增殖作用，提示 GP 具有防治 OA 作用，有临床应用前景。

## 阿魏酸钠治疗实验性骨关节炎的疗效及其机制研究

商亮<sup>1</sup> 汪晖<sup>1\*</sup> 陈廖斌<sup>2</sup> Jacques Magdalou<sup>3</sup>

<sup>1</sup> 武汉大学基础医学院药理学系 武汉 430071

<sup>2</sup> 武汉大学中南医院骨外科 武汉 430071

<sup>3</sup>UMR7561 CNRS-UHP, Faculté de Médecine, Vandoeuvre-lès-Nancy Cedex, Lorraine, France

目的: 证实阿魏酸钠 (SF) 治疗实验性关节炎 (OA) 软骨细胞的疗效, 并应用蛋白组学技术初步探讨其分子机制。**方法:** 取成年 Wistar 大鼠髌关节软骨细胞, 行平面培养和藻酸钙串珠三维培养, 分别设立正常对照组、IL-1 $\beta$  模型对照组、高浓度 SF 对照组和 SF 治疗组 (IL-1 $\beta$ +低、中、高浓度 SF)。SF 处理细胞 72 h 后, 对平面培养细胞采用四甲基偶氮唑盐 (MTT) 法检测细胞增殖, Real time-PCR 法检测软骨基质合成限速酶葡萄糖醛酸转移酶 I (GlcAT- I) mRNA 的表达以及碘化吡啶 (PI) 单染检测细胞凋亡率; 对三维培养细胞采用放射性 <sup>35</sup>S 标记检测软骨蛋白多糖含量。为深入探讨其可能机制, 还应用二维电泳法初步检测 OA 平面培养软骨细胞的蛋白组学变化, 电泳后的凝胶经标准硝酸银染色法染色, BIO-RAD GS-800™ 扫描仪获取图像, PDQuest 7.0 软件分析蛋白图谱。结果: 与正常对照组比较, 模型对照组细胞 MTT 值、GlcAT- I 表达和蛋白多糖含量均明显降低, 而细胞凋亡率明显增高 ( $P < 0.01$ ), 而在 SF 对照组中, 上述指标均无明显变化。125、500 和 1000  $\mu$ M SF 均可显著升高 MTT 值, 降低细胞凋亡率 ( $P < 0.01$ ), 且具有浓度相关性。1000  $\mu$ M SF 可使 GlcAT- I 的表达明显升高 ( $P < 0.01$ ), 蛋白多糖却无明显变化。银染后的二维电泳凝胶均能清晰显示大量蛋白质斑点 (>1000), PDQuest 7.0 软件对图谱上蛋白斑点进行识别匹配分析, 发现正常对照组与 SF 对照组差异点 17 个, 其中斑点灰度值超过 2 倍的 10 个, SF 使 8 个上调, 2 个下调; 模型对照组与 SF 治疗组差异点 15 个, 斑点灰度值超过 2 倍的 9 个, SF 使 8 个上调, 1 个下调。结论: SF 可有效促进 OA 软骨细胞增殖而抑制凋亡, 缓解 OA 病理变化, 还可在高浓度下增强基质合成限速酶 GlcAT- I 的表达, 但其作用不足以对抗 OA 模型对照组中的蛋白多糖含量降低, 说明其对于 OA 的治疗作用可能着重于细胞活性的调节, 对于基质的促进作用较弱。二维电泳法用于分析 SF 处理骨关节炎软骨细胞后蛋白组学的表达变化, 具有较好的初筛效果, 目前正通过二维电泳凝胶考马斯亮蓝染色获取差异性蛋白质点, 并进行质谱分析及 Western blot 验证。

## 去卵巢小鼠造血系统的改变对骨细胞的影响实验研究

孙元明 杨福军 晁爱军 李雨民

中国医学科学院放射医学研究所 300192

研究目的: 本实验通过卵巢切除小鼠与破骨和成骨有关的造血指标进行观察, 探讨卵巢切除小鼠造血系统的改变及其意义。**方法:** 实验动物 C57 BL / 6J 纯系雌性小鼠, 实验组切除卵巢, 对照组假手术鼠。小鼠脾 CFU-S 测定: 取小鼠骨髓细胞, 制成生理盐水细胞悬液, 经尾静脉注射接受 8.0 Gy  $\gamma$  射线照射的同种小鼠体内, 剂量  $3 \times 10^4$  细胞/0.2 ml 只。9 d 后取受体鼠脾脏, 经 Bouin' S 液固定, 计数 CFU-S 的数量。小鼠 CFU-F 测定: 将小鼠骨髓细胞用 IMDM 培养液稀释至  $5 \times 10^6$ /ml, 加入 20% 胎牛血清, 每个培养皿内加 1ml 细胞悬液, 培养 9~12 d, 取出染色, 计数细胞集落。小鼠 CFU-GM 测定: 将小鼠骨髓细胞用 IMDM 培养液稀释至  $5 \times 10^4$ /ml, 接种于含有马血清 20%、GM-CSF 200u/ml 和 0.3% 软琼脂生长体系中, 培养 7d。解剖显微镜下计数 CFU-GM 集落。结果: 实验组和对照组小鼠 CFU-S 结果比较无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。CFU-F: 实验组  $65.67 \pm 3.14$ , 对照组  $49.5 \pm 1.64$ , 实验组高于对照组 ( $P < 0.01$ )。CFU-GM: 实验组  $70.00 \pm 2.94$ , 对照组  $52.25 \pm 2.22$ , 实验组高于对照组 ( $P < 0.01$ )。讨论: 小鼠卵巢切除后, 其成骨细胞的前体细胞 CFU-F 和破骨细胞的前体细胞 CFU-GM 比未切除卵巢组高。说明在卵巢切除术后, 在局部和全身细胞因子和其他因素的作用下, 会有更多的破骨细胞和成骨细胞的前体细胞生成, 进而可以分化为破骨细胞和成骨细胞, 使骨转换增强、骨重建失衡, 特别是增加破骨细胞的数量和活性, 继而出现骨丢失, 致使骨折危险性增加。由于卵巢切除术后小鼠造血系统内的成骨细胞前体细胞即发生相应的改变, 因此, 在卵巢切除术和绝经后骨质疏松的预防和治疗中, 应当关注造血系统的相应改变对成骨细胞和破骨细胞功能和活性的影响, 完善治疗方案。提高疗效。

## Vam3 抗磷酸组胺致豚鼠哮喘作用的研究

杨莉 温明春<sup>1</sup> 白金叶 关慕贞 刘柏合 程桂芳 侯琦

中国医学科学院药物研究所 北京 100050

<sup>1</sup> 山东美诺医药科技有限公司 山东潍坊 261041

我们以往研究表明,天然二苯乙烯低聚体类化合物 Vam3,具有确切的抗炎作用。本实验旨在通过研究 Vam3 的抗哮喘作用,初步探讨 v am3 抗慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 的机制。观察 Vam3 对磷酸组胺致豚鼠哮喘模型的影响,将豚鼠随机分成对照组,阳性药组 (孟鲁斯特),大剂量组 (50mg),小剂量组 (25mg),每组 8 只。观察各组豚鼠气道病理改变,对支气管肺泡灌洗液 (BALF) 进行总细胞计数,采用 ELISA 法检测豚鼠支气管肺泡灌洗液 (BALF) 及血清中 TNF $\alpha$ , IL-4 的浓度。研究发现 Vam3 能够减轻支气管肺炎反应,减少 BALF 中的炎性细胞总数,抑制肥大细胞脱颗,降低 TNF $\alpha$ 、IL-4 水平。病理结果显示,模型组粘液分泌增多等气道炎症的症状。Vam3 给药组及阳性对照组与模型组比较,炎症反应较轻微,对气道炎症有一定的改善作用。表明 Vam3 通过抑制炎症细胞浸润和炎症细胞因子的生成来发挥抗哮喘作用。拟进一步观察 Vam3 对气道平滑肌 MMP-9 表达和气管上皮细胞凋亡以及对气道重塑的影响等,为探讨 Vam3 抗哮喘作用机理提供实验依据。

## 替泊沙林对冰醋酸所致小鼠扭体的镇痛作用

张宏伟<sup>1</sup> 聂雅莉<sup>1</sup> 蔡雪湘<sup>1</sup> 王书洋<sup>2</sup> 胡香杰<sup>1</sup> 乔海灵<sup>3</sup> 常俊标<sup>4</sup>

<sup>1</sup> 郑州大学基础医学院药理教研室 <sup>2</sup> 河南大学化学系

<sup>3</sup> 郑州大学基础医学院临床药理教研室 <sup>4</sup> 郑州大学化学系

目的: 观察选择性 COX-2 抑制剂替泊沙林对冰醋酸所致小鼠扭体的镇痛作用。方法: 雄性昆明种小鼠,体重 18~22g,随机分为 5 组,每组 10。对照组灌服 0.5%羧甲基纤维素钠 (20ml/kg),试药组分别灌服 0.56、1.12、2.24 及 4.48mg/kg 的替泊沙林。灌服 1 小时后,腹腔注射 0.6%冰醋酸 (生理盐水配制) 10ml/kg,观察注射后小鼠首次出现扭体反应的时间 (以“扭体反应潜伏期”表示),并记录注射冰醋酸后 1 小时内小鼠的扭体次数。结果: 替泊沙林可明显抑制小鼠因腹腔注射冰醋酸而出现的扭体反应。灌服给药后,该化合物显著延缓小鼠首次出现扭体反应的时间及减少 1 小时内的扭体次数。CMC 对照组和替泊沙林 0.56、1.12、2.24 及 4.48mg/kg 四试药组的扭体反应潜伏期分别为 3.7、6.1、11.8、12.6 及 15.1min;与上述组别相对应的 1 小时内小鼠的扭体次数分别为 139、113.6、73.4、46.8 及 31.4 次。方差分析结果表明: 替泊沙林给药组和 CMC 对照组间扭体反应潜伏期及 1 小时内小鼠的扭体次数均有显著性的差异 (P < 0.05),且替泊沙林可剂量依赖性地延长注射冰醋酸后的扭体反应潜伏期并减少 1 小时内小鼠的扭体次数。结论: 替泊沙林对小鼠因冰醋酸刺激所致疼痛具有显著的镇痛效果。

## LA 镇痛抗炎作用的研究

丁晓瑜 李斌

江西中医学院 南昌 330006

目的：研究 LA 有效部位及有效成分的抗炎镇痛作用。方法：建立巴豆油致小鼠耳肿胀和角叉菜胶所致的足肿胀模型，观察植物 LA 中有效部位及有效成分 A 对急性炎症的治疗效果，采用冰醋酸所致的扭体镇痛实验，观察其镇痛作用，同时观察其有效成分 A 对大鼠肥大细胞脱颗粒的影响，采用 ELISA 法观察有效成分 A 对小鼠腹腔巨噬细胞 TNF-分泌的影响。结果：与模型组比较，LA 中的有效成分 A 可抑制巴豆油所致的小鼠耳部炎症 ( $P < 0.01$ )，减轻角叉菜胶所致的足肿胀 ( $P < 0.05$ )。结论：LA 中的有效成分 A 具有一定的抗炎作用。

## 当归补血汤总苷抗大鼠肺纤维化的实验研究

刘勇 李俊 王胜霞 高建  
安徽医科大学药学院 合肥 230032

目的：观察当归补血汤总苷(TGDB)对平阳霉素(BLM A5)致大鼠肺间质纤维化模型的保护作用，探讨 TGDB 抗肺纤维化形成的作用机制。方法：Wistar 雄性大鼠 105 只随机分为对照组、模型组、醋酸泼尼松组、TGDB 高、中剂量组，于给药第 7、14、28d 各组分别处死 7 只大鼠，Masson 染色观察肺组织病理学变化，测定 7、14、28d 时大鼠血清中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)，超氧化物歧化酶(SOD)，丙二醛(MDA)和肺组织中羟脯氨酸(HYP)含量以及 28d 时血清 TGF- $\beta_1$  的水平，肺组织 TGF- $\beta_1$  mRNA 的表达情况。结果：TGDB 能减轻大鼠肺纤维化程度，提高血清中 GSH-Px 和 SOD 含量，降低 MDA 含量和肺组织中 HYP 含量，降低血清 TGF- $\beta_1$  水平，TGF- $\beta_1$  mRNA 的表达下降。结论：TGDB 能调节肺纤维化大鼠体内自由基水平，减轻自由基对肺组织结构的氧化损伤，并能显著降低血清 TGF- $\beta_1$  水平，减少 TGF- $\beta_1$  mRNA 的表达，这可能是其防治肺纤维化的作用机制之一。

## 豹皮樟总黄酮抗肝纤维化作用及对肝组织中 TGF- $\beta_1$ 、CTGF 表达的影响

朱鹏里 李俊 张磊 黄成 江国林 黄艳 刘娟  
安徽医科大学药学院 合肥 230032

目的：研究豹皮樟总黄酮(TFLC)抗肝纤维化作用并探讨部分作用机制。方法：SD 大鼠随机分为 6 组，正常组、模型组、TFLC 组(100、200、400mg/kg)和秋水仙碱组(0.1mg/kg)。除正常组外，采用 50% CCl<sub>4</sub> 花生油溶液(1ml/kg)皮下注射，每周 2 次，连续 12 周复制肝纤维化模型。治疗组于造模第 7 周开始灌胃给予相应的药物。第 12 周末处死老鼠，分离血清，比色法检测血清中谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)的含量，放免法检测血清中透明质酸(HA)、层粘连蛋白(LN)、IV 型胶原(CIV)、III 型前胶原氨基端肽(PIIINP)的含量。ELISA 法检测血清中转化生长因子- $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )的水平。肝组织石蜡切片 HE 染色。RT-PCR 法和 Western Blot 法检测肝组织中 TGF- $\beta_1$ 、CTGF mRNA 和蛋白的表达情况。结果：与模型组相比，TFLC(200、400mg/kg)组血清中反映肝细胞损伤程度的 ALT、AST 水平明显下降，反映肝纤维化程度的 HA、LN、CIV、PIIINP 水平也明显下降，病理学检查显示肝纤维化程度明显减轻。此外，与模型组比较，TFLC(200、400mg/kg)组血清中 TGF- $\beta_1$  的水平降低。进一步采用 RT-PCR 法和 Western Blot 法检测肝组织中 TGF- $\beta_1$ 、CTGF mRNA 和蛋白的表达情况，显示 TFLC(200、400mg/kg)组肝组织中 TGF- $\beta_1$ 、CTGF mRNA 和蛋白的表达较模型组明显减少。结论：TFLC 有抗肝纤维化的作用，这可能与它能够抑制肝纤维化大鼠肝组织中 TGF- $\beta_1$ 、CTGF 的表达有关。

## 玉屏风散活性多糖对实验性肝纤维化的防治作用及机制研究

王佳佳 施磊 李俊

安徽医科大学药学院 合肥 230032

目的：观察玉屏风散活性多糖（Active Polysaccharides from YuPingFeng Powder, YPF-P）的抗肝纤维化作用。方法：将SD大鼠随机分为六组：正常组，模型组，YPF-P30、60、120mg·kg<sup>-1</sup>三个剂量组，黄芪多糖60 mg·kg<sup>-1</sup>组和秋水仙碱0.1mg·kg<sup>-1</sup>阳性药组。除正常组外，其余各组采用皮下注射四氯化碳（CCl<sub>4</sub>）诱导肝纤维化模型。造模开始后，各给药组分别灌胃相应的受试药物，正常组和模型组灌胃等容量的生理盐水，每天一次，疗程12周。实验结束后，取大鼠血清测ALT、AST、SOD、MDA；取大鼠肝、脾称重，计算肝、脾指数；同时取固定部位肝组织，测定组织Hyp含量以及TGF-β1、TIMP-1、MMP-13、collagenα1(I)、collagenIII mRNA；另取部分肝组织做病理组织学HE及Masson染色和电镜学检查。结果：YPF-P能显著降低肝纤维化大鼠肝、脾指数，并降低血清中升高的ALT、AST活性及MDA含量，升高降低的SOD活性，降低肝组织中Hyp含量。病理组织学和电镜检查结果显示YPF-P60、120mg·kg<sup>-1</sup>组肝脏组织结构明显改善，肝纤维化增生程度减轻。进一步机制研究表明，YPF-P60、120mg·kg<sup>-1</sup>组明显抑制肝组织中TGF-β1、TIMP-1、collagenα1(I)、collagenIII表达，显著升高MMP-13的表达发挥抗纤维化作用。结论：YPF-P对CCl<sub>4</sub>所致大鼠肝纤维化有明显防治作用，其机制可能与抑制氧自由基的生成有关。

## 豹皮樟总黄酮对酒精性脂肪肝大鼠脂质过氧化及 TNF-α 生成的影响

刘洪峰 李俊 胡成穆 王焱 朱鹏里

安徽医科大学药学院 合肥 230032

目的：研究豹皮樟总黄酮（TFLC）对酒精性脂肪肝大鼠的保护作用及其部分机制 方法：喂食酒精、蔗糖混合液体食料制备大鼠酒精性脂肪肝模型。给药组在第6周末给予不同剂量的豹皮樟总黄酮或凯西莱共给药6周。于实验的第12周末处死大鼠，测定血清天门冬氨基转移酶（AST）、丙氨酸氨基转移酶（ALT）、肿瘤坏死因子-α（TNF-α）的水平，肝组织超氧化物歧化酶（SOD）、丙二醛（MDA）、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-PX）的含量及肝组织TNF-α mRNA的表达情况，取肝组织作病理学检查。结果：TFLC能降低模型大鼠ALT、AST、MDA、TNF-α的含量，提高SOD、GSH-PX的含量，肝组织TNF-α mRNA表达下降。同时病理学显示TFLC能明显减轻肝的病理损伤程度，表现为TFLC干预后大鼠肝细胞脂肪变及炎症程度减轻。结论：TFLC能可明显减轻酒精性脂肪肝大鼠肝组织脂肪变和炎症程度，减轻脂质过氧化，并能显著降低血清TNF-α水平，减少肝组织TNF-α mRNA表达，该作用可能是其有效防治酒精性脂肪肝作用机理机制之一。

## 银杏酸对大鼠肝脏线粒体的损伤作用

孙锴 潘小海 黄诗颖 叶一舟 潘家祜

复旦大学 药学院 药理室 上海 200032

目的：在分离制备的大鼠肝脏线粒体上，检验银杏酸（GAs）的损伤作用。方法：银杏酸（6-羟基水杨酸衍生物）从银杏外种皮中通过提取、分离、纯化而制备，并通过液-质联机鉴定。采用其中两个主要单体 C13:0 (GA13) 和 C15:1 (GA15) 进行研究。采用分步差速离心法制备大鼠肝脏线粒体。以线粒体呼吸功能和胞浆及线粒体标志酶（乳酸脱氢酶和柠檬酸合酶）活性来评估线粒体制备质量。采用 Clark 氧电极法测定线粒体呼吸功能（以 RCR 和 ADP/O 值为指标），采用分光光度法测定线粒体通透性孔道开放（mPTP），采用荧光指示剂 Rhodamine 123 测定线粒体膜电位( $\Delta\Psi_m$ )，采用 MTT 法评价线粒体活力。结果：GAs 可呈剂量依赖性地抑制线粒体的呼吸功能，并显示对氧化磷酸化有解耦联作用。GA13 和 GA15 可剂量依赖性地诱导 mPTP 的开放（ $EC_{50}$  值分别为 2.75  $\mu\text{M}$  和 3.20  $\mu\text{M}$ ），且均被 mPTP 拮抗剂 CysA 特异性抑制。GA13 和 GA15 可剂量依赖性地消散线粒体膜电位，其  $IC_{50}$  值分别为 3.58  $\mu\text{M}$  和 3.79  $\mu\text{M}$ 。GA13 和 GA15 还可剂量依赖性地抑制线粒体活力（MTT 信号），其  $IC_{50}$  值分别为 9.77  $\mu\text{M}$  和 7.61  $\mu\text{M}$ 。结论：本研究通过对线粒体的功能评价首次阐明了银杏酸对肝脏线粒体的损伤作用及相关机制。

## 小檗碱对免疫性肝损伤的治疗作用研究

李瑞雯 高爱梅 汪晖

武汉大学基础医学院药理学系 武汉 430071

目的：肝星状细胞（HSC）是肝纤维化形成时细胞外基质的主要来源细胞，其激活过程是肝纤维化发生的关键环节。抑制 HSC 的活化增殖、减少活化 HSC 的聚集已成为防治肝纤维化的主要策略。小檗碱（berberine）是从黄连、黄柏等中药中提取的一种生物碱，主要用于治疗肠道细菌感染性疾病。本实验室前期研究证实了小檗碱对复合因素（高脂、酒精和四氯化碳）所致肝纤维化具有一定的预防作用。本文在整体水平进一步观察了小檗碱对免疫因素所致肝纤维化的治疗作用，并对其机制进行了初步探讨。方法：采用猪血清诱导的大鼠肝纤维化模型，造模成功后给予小檗碱（50, 100, 200 mg/kg）灌胃，并设姜黄素（40 mg/kg）阳性对照组，给药 17 天后取肝脏进行相关指标检测。结果：与正常对照组相比，模型对照组的肝组织呈典型的肝纤维化改变。与模型对照组相比，小檗碱大剂量组的肝细胞坏死明显减轻，汇管区及小叶间纤维组织增生明显减少，炎性细胞浸润减轻；Masson 染色及其 Hyp 生化检测检测结果证实，小檗碱各组及姜黄素组的胶原纤维减少，胶原含量呈剂量依赖性降低。进一步发现，与正常对照组相比，模型对照组肝脏的  $\alpha$ -SMA 表达明显，SOD 活性降低，而 MDA 含量增高；而与模型对照组相比，小檗碱给药后  $\alpha$ -SMA 表达显著降低，中、大剂量组及姜黄素组作用显著；SOD 活性在各给药组均有不同程度的升高，也以中、大剂量组及姜黄素组升高最为明显（ $P < 0.05$ ）；而 MDA 含量降低。结论：小檗碱具有增强肝细胞抗氧化能力、减少活化 HSC 数量并减少肝脏胶原含量的作用，能有效的逆转肝纤维化。

## 双环醇对组成型雄甾烷受体和孕烷 X 受体介导的 CYP3A4 和 CYP2B6 转录的调控

李越 李燕

中国医学科学院/北京协和医学院药物研究所 北京 100050

目的：构建 pGL4.17-CYP3A4 启动子嵌合报告基因表达载体，研究双环醇是否通过活化组成型雄甾烷受体（Constitutive Androstane Receptor, CAR）和孕烷 X 受体（pregnane X receptor, PXR）影响 CYP3A4 及 CYP2B6 的转录。方法：以提取的人肝组织基因组 DNA 为模板，应用 RT-PCR 技术，扩增获得 CYP3A4 启动子的近端启动序列（-362/+53）和远端调控序列（-7836/-7208），并连接到 pGEM-T 载体，测序正确后将目的基因片段先后插入至 pGL4.17 报告基因表达载体。将 hPXR、hCAR 表达载体分别与 CYP3A4 及 CYP2B6 报告载体共转染 HepG2 细胞，利用双荧光素酶报告基因系统检测 CYP3A4 及 CYP2B6 均具有启动活性后，双环醇分别与转染 hPXR 和 CYP3A4、hCAR 和 CYP3A4、hCAR 和 CYP2B6 的 HepG2 细胞温孵 24h 后，收获细胞并裂解，检测活性以分析双环醇对 CYP3A4 及 CYP2B6 的转录调节途径。结果：获得 pGL4.17-CYP3A4 启动子嵌合报告基因表达载体，经酶切鉴定及核酸序列测定证实该报告基因表达载体构建成功。双环醇主要通过活化 CAR 受体途径，调控 CYP3A4 和 CYP2B6 的转录，而 PXR 受体途径较少参与。结论：成功构建 CYP3A4 启动子嵌合报告基因表达载体。双环醇可通过活化 CAR 受体诱导 CYP3A4 和 CYP2B6 的表达，为深入了解双环醇对 CYP450 诱导的分子机制提供依据。

## 天然产物白藜芦醇的类似物合成及其对 HIV-1 的抑制作用

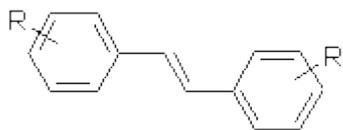
王琳<sup>1</sup> 朴志松<sup>1</sup> 张兴权<sup>2</sup>

1. 中国医学科学院药物研究所 北京 100050

2. 美国加州大学 圣地亚哥分校 医学感染系疾病部 CA 92117

林茂等<sup>1</sup>首先从买麻藤植物中分离到天然产物白藜芦醇（**5**, 3,5,4'-三羟基反式二苯乙烯, resveratrol）。1997 年美国 Jang 等人<sup>2</sup>报导它有较强抗癌活性，我们全合成了化合物（**5**），并发现它有抑制 HIV-1 作用。为了寻找高效低毒的抗艾滋病药物，我们设计合成了天然产物异丹叶大黄素（**1**, isorhapontigenin）、银松素（**3**, pinosylvin）以及其类似物，并评价了其抗 HIV-1 活性，实验结果见表 1。天然产物（**1**）的活性最强（IC<sub>50</sub> = 1.59 μM），进一步结构优化正在进行中。

表 1. 多羟基取代反式二苯乙烯类化合物的结构及其在 PBMC 组织培养细胞中的 HIV-1\*抑制作用



编号	R	R'	IC <sub>50</sub> (μM)	CC <sub>50</sub> (μM)	SI*
<b>1</b>	3,5-(OH) <sub>2</sub>	3-OCH <sub>3</sub> , 4-	1.59	13.60	8.55

		OH			
<b>2</b>	3,4,5-(OH) <sub>3</sub>	4-OH	1.84	101.97	55.85
<b>3</b>	3,5-(OH) <sub>2</sub>	H	2.42	45.45	18.78
<b>4</b>	3,4-(OH) <sub>2</sub>	4-OH	5.26	79.25	15.07
<b>5</b>	3,5-(OH) <sub>2</sub>	4-OH	9.79 <sup>§</sup>	-	-
<b>6</b>	3,4,5-(OH) <sub>3</sub>	3-OH	31.30	119.68	3.82
<b>7</b>	3,5-(OH) <sub>2</sub>	3,5-(OH) <sub>2</sub>	51.60	825.63	16.00
<b>8</b>	3,4-(OH) <sub>2</sub>	4-OH	131.24	768.00	5.85

\* HIV-1 株为 1018a

§ H9 细胞

※ SI = CC<sub>50</sub>/IC<sub>50</sub>

## 猪戊型肝炎病毒重组蛋白 ORF2-V1 单克隆抗体的制备及抗原表位差异分析

李丹丹 张小莺

西北农林科技大学 712100

目的：开发猪戊型肝炎病毒单克隆抗体并探究其抗原识别位点对病毒的分型，疫苗开发研究和疾病的鉴别诊断具有重要意义。结果：本研究用纯化的 SHEV 大庆株 (DQ) 重组蛋白 ORF2-V1 免疫 BALB/c 小鼠，取免疫小鼠脾细胞与 SP2/0 骨髓瘤细胞进行融合，经 3 次克隆和间接 ELISA 筛选，获得了 α C11、α C12、γ H1、γ F8、BC4 和 CH8 6 株稳定分泌单克隆抗体的杂交瘤细胞株。通过间接 ELISA 测定单抗效价分别为：细胞培养上清 1 : 1.60 × 10<sup>3</sup> ~ 1 : 3.20 × 10<sup>3</sup>，腹水为 1 : 1.28 × 10<sup>6</sup> ~ 1 : 2.56 × 10<sup>6</sup>；经 ELISA 法测定，6 株单克隆抗体均与重组蛋白 ORF2-V1 反应，而不与 ORF2 其它部分片段的蛋白反应；分别用制备的 6 株单克隆抗体和 SHEV 多克隆抗血清对感染 SHEV 的 A549 细胞培养物进行了间接免疫荧光 (IFA) 病原的检测，同时用猪的阳、阴性血清、SP2/0 细胞培养上清做对照，结果表明均呈阳性反应，说明这 6 株单抗可以与天然病毒发生反应；与用多克隆抗体的阳性对照相比，McAb 鉴定的 SHEV 感染细胞培养物间接免疫荧光染色结果特异性强，排除了高背景的非特异荧光影响，对结果的判定更为准确。而以多克隆抗体作为检测抗体，IFA 有一定的非特异性荧光反应。单抗的亚类鉴定结果表明，所有 McAbs 均为 IgG1 型，且所有单抗的轻链均为 κ 链。单抗抗原识别位点分析结果表明，6 株单抗分别针对 4 个不同抗原位点，McAb—γ H1、BC4、CH8 识别的位点各不相同，其中 McAb—γ H1、BC4 识别的位点有部分重叠，McAb—α C11、α C12、γ F8 识别同一位点，位于 γ H1、BC4 识别位点的重叠区内。结论：这组单抗有望用于 HEV ORF2-V1 重组蛋白抗原表位分析、诊断试剂中优选抗原多肽及优势抗体的筛选。

## 梔子拮抗细菌脓毒症有效成分京尼平苷的研究

郑新川 杨东 刘鑫 王宁 李斌 曹红卫 鲁永玲 卫国 周红 郑江

第三军医大学药学院药理教研室 重庆 400038

目的：脓毒症是感染因素介导的全身炎症反应综合征，是烧伤、创伤和感染性疾病患者的常见并发症，其中内毒素（LPS）是介导细菌脓毒症的重要病原体相关分子模式。重组人活化蛋白 C 作为 FDA 批准的第一个用于治疗重度脓毒症的药物，经过 6 年的应用评估，其疗效已被否定，迄今脓毒症治疗仍缺乏有效药物。本文通过从中药栀子中提取分离具有中和 LPS 作用的有效成分京尼平苷，研究其拮抗细菌脓毒症的活性。方法：以 LPS 活性中心 Lipid A 为靶点，采用生物传感器技术，从传统清热中药中筛选出具有 Lipid A 结合活性的栀子，进而利用现代色谱技术分离出具有拮抗 LPS 活性的单体京尼平苷，通过鲎试剂法检测京尼平苷对 LPS 的体内外中和作用；RT-PCR 法检测京尼平苷对 LPS 诱导巨噬细胞 TLR4 和 TNF- $\alpha$  mRNA 表达的影响；ELISA 法检测京尼平苷对 LPS 刺激 RAW264.7 细胞产生细胞因子(TNF- $\alpha$ )的抑制作用；观察京尼平苷对脓毒症模型小鼠的保护作用。结果：京尼平苷在体外对 LPS 具有直接的中和作用，并呈现出较好的剂量效应关系；同时可剂量依赖的抑制 LPS 刺激引起的 RAW264.7 细胞的活化（TLR4 和 TNF- $\alpha$ mRNA 的表达下调，细胞因子 TNF- $\alpha$ 的产生减少）；在体内可降低 LPS 血症模型动物血中的 LPS 水平；对致死剂量热灭活大肠埃希氏菌攻击的小鼠具有显著的保护作用。结论：从中药栀子中定向分离出京尼平苷，首次发现了其在体内外对 LPS 的中和作用和对脓毒症模型小鼠的保护作用。明确了京尼平苷是栀子拮抗细菌脓毒症的有效成分。

## 氟喹诺酮类药物体外诱导大肠埃希菌交叉耐药性研究

毛理纳<sup>1</sup> 罗予<sup>2</sup> 荆鹏伟<sup>2</sup> 陈妍<sup>2</sup>

1.河南职工医学院 2.河南省医药科学研究院 郑州 451191

目的：探讨大肠埃希菌在体外对氟喹诺酮类药物的交叉耐药性。方法：采用多步诱导法，对大肠埃希菌临床分离株分别进行环丙沙星、左氧氟沙星、加替沙星的诱导耐药试验；用琼脂稀释法测定药物敏感性。结果：大肠埃希菌经环丙沙星诱导后其MIC<sub>90</sub>由0.0548  $\mu$  g/ml 升到 252.5108  $\mu$  g/ml；对左氧氟沙星和加替沙星产生交叉耐药，MIC<sub>90</sub>由3.3873  $\mu$  g/ml和3.2494  $\mu$  g/ml升到50.2169  $\mu$  g/ml和25.1102  $\mu$  g/ml。经左氧氟沙星诱导后其MIC<sub>90</sub>由3.3873  $\mu$  g/ml 升到390.7599  $\mu$  g/ml；对环丙沙星和加替沙星产生交叉耐药，MIC<sub>90</sub>分别由0.0548  $\mu$  g/ml和3.2494  $\mu$  g/ml 升到390.7599  $\mu$  g/ml和59.7173  $\mu$  g/ml。经加替沙星诱导后其MIC<sub>90</sub>由3.2494  $\mu$  g/ml 升到362.0762  $\mu$  g/ml；对环丙沙星和左氧氟沙星产生交叉耐药，MIC<sub>90</sub>分别由0.0548  $\mu$  g/ml和3.3873  $\mu$  g/ml 升到415.8149  $\mu$  g/ml和362.0762  $\mu$  g/ml。3种氟喹诺酮类药物诱导前后大肠埃希菌ESBLs阳性率无变化。临床分离大肠埃希菌ESBLs 阳性菌株对3种氟喹诺酮类药物的耐药率分别为82.8%、72.4%、51.7% 均大于ESBLs 阴性菌株的60.7%、28.6%、17.9%。结论：大肠埃希菌在低浓度氟喹诺酮类药物诱导下，产生交叉耐药，其耐药性的产生及MIC<sub>90</sub>，环丙沙星>左氧氟沙星>加替沙星。大肠埃希菌ESBLs 阳性菌株对3种氟喹诺酮类药物的耐药率均大于ESBLs 阴性菌株。

## 多重过敏病人血清特异性 IgG 抗体

刘晓艳 乔海灵

郑州大学临床药理研究所 郑州 450052

目的：探讨过敏反应的发生机制及 IgG 抗体在过敏反应中的作用。方法：为了探讨 IgG 抗体与多重过敏反

应的关系,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)和放射过敏原吸附试验(RAST)分别检测 72 例多重过敏病人和 258 例仅对一种过敏原过敏病人血清 16 种过敏原(花生、鸡蛋、牛奶、海蟹、春季花粉、豚草花粉、尘螨、室尘、BPO-IgG、BPA-IgG、APO-IgG、APA-IgG、AXO-IgG、AXA-IgG)特异性 IgG、IgE 抗体;正常对照组为 146 例无任何过敏史和家族史的健康志愿者。结果:多重过敏病人血清 BPO-IgG, APO-IgG, AXO-IgG, AXA-IgG 抗体及鸡蛋特异性 IgG 抗体水平显著高于正常对照组;BPA-IgG, APA-IgG 特异性 IgG 抗体水平显著低于正常对照组( $P<0.05$ );其它过敏原特异性 IgG 抗体在两组间差异均无显著性( $P>0.05$ )。所有过敏病人中,多重过敏病人血清花生、牛奶、春季花粉及尘螨特异性 IgG 抗体水平显著低于单一过敏原过敏者;两组过敏者特异性 IgE 抗体总阳性率无显著性差异,但多重过敏者血清特异性 IgG 抗体总阳性率显著低于单一过敏原过敏者( $P<0.05$ )。推测,多重过敏者体内特异性 IgG 抗体阳性率的下降,对机体保护作用减弱,从而其过敏的过敏原数量多于其他过敏者。结论:特异性 IgG 抗体在多重过敏反应中可能为保护性抗体。

## IgG 抗体与食物过敏

刘晓艳 乔海灵

郑州大学临床药理研究所 郑州 450052

目的:探讨 IgG 抗体与过敏反应的关系,并在此基础上进一步研究影响 IgG 抗体的相关因素。方法:为探讨 IgG 抗体在食物过敏反应中的作用,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)和放射过敏原吸附试验(RAST)分别检测 61 例食物过敏者及 269 例非食物过敏的过敏者血清四种常见食物过敏原(花生、鸡蛋、牛奶、海蟹)特异性 IgG、IgE 抗体;正常对照组为 65 例无任何过敏史和家族史的健康志愿者。结果:除了食物过敏者以外,在非食物过敏的过敏病人血清中,也检测到了四种食物过敏原特异性 IgG 抗体。非食物过敏者血清花生、鸡蛋、牛奶特异性 IgG 抗体水平平均高于食物过敏者( $P<0.05$ ),而且非食物过敏者食物特异性 IgG 抗体阳性率显著高于食物过敏者( $P<0.05$ ),但两组间 IgE 抗体阳性率无显著性差异( $P>0.05$ )。与正常对照组相比,食物过敏者血清四种食物过敏原特异性 IgG 抗体水平平均无显著性差异;但非食物过敏者血清中,花生、鸡蛋、牛奶三种食物过敏原特异性 IgG 抗体均显著高于正常对照组( $P<0.05$ )。非食物过敏的过敏病人血清海蟹特异性 IgG 抗体与食物过敏者无显著性差异( $P>0.05$ )。结论:特异性 IgG 抗体在食物过敏反应中可能为保护性抗体;食物特异性 IgG 抗体与过敏原对过敏者的刺激有关。

## 青霉素与头孢菌素交叉过敏反应及特异性抗体

刘相端 乔海灵

郑州大学临床药理研究所 郑州 450052

目的:探讨青霉素与头孢菌素交叉过敏反应机制,评价侧链结构在交叉过敏反应中的地位。方法:采用 RAST 分别检测了 420 例青霉素过敏病人和 34 例头孢菌素过敏病人体内 8 种青霉素特异性 IgE 抗体(BPO、PVO、APO、AXO、BPA、PVA、APA 和 AXA)以及 11 种头孢菌素特异性 IgE 抗体(CEXO、CLO、CEZO、CPZO、CTO、CZO、CXO、CEXA、CLA、CEZA、CPZA),采用 RAST 抑制试验检测了 4 例典型过敏病人特异性抗体对多种药物及其不同侧链和母核结构的识别位点。结果:头孢菌素过敏病人血清中头孢菌素特异性 IgE 抗体阳性率显著高于青霉素过敏病人( $P<0.01$ )。特异性 IgE 抗体检出阳性率随所检测抗原决定簇种类的增多而增高,并且检测 9 种与检测 19 种抗体所得阳性率无显著性差异( $P>0.05$ )。454 例病人中有 90 例(19.82%)存在青霉素与头孢菌素抗生素交叉过敏反应。对具有相同或相似侧链结构抗生素的次要抗原决定簇特异性 IgE 抗体进行相关性分析发

现, APA-IgE 与 AXA-IgE, APA-IgE 与 CEXA-IgE, AXA-IgE 与 CEXA-IgE, BPA-IgE 与 CLA-IgE 水平均正相关 ( $P<0.05$ ), 且氨苄西林、阿莫西林抗体阳性组头孢氨苄抗体阳性率显著高于其抗体阴性组 ( $P<0.05$ )。RAST 抑制试验, 特例 646 各侧链及母核结构的抑制率均较高; 特例 H11 母核结构抑制率高于侧链结构; 特例 1112 侧链结构抑制率远远高于母核结构; 特例 H166, CL 的抑制率远高于母核及侧链结构。结论: 青霉素与头孢菌素间存在交叉过敏反应, 交叉过敏反应率达 19.82%; 头孢菌素特异性 IgE 抗体对药物分子的识别具有较高的结构特异性, 侧链结构在交叉过敏反应中发挥作用。

## 青霉素过敏病人与头孢菌素的交叉过敏反应

刘相端 乔海灵

郑州大学临床药理研究所 郑州 450052

目的: 探讨青霉素过敏病人与头孢菌素交叉过敏反应的情况。方法: 采用放射性过敏原吸附试验 (RAST) 检测 420 例青霉素过敏病人体内 8 种青霉素特异性 IgE 抗体 (BPO、PVO、APO、AXO、BPA、PVA、APA 和 AXA) 以及 11 种头孢菌素特异性 IgE 抗体 (CEXO、CLO、CEZO、CPZO、CTO、CZO、CXO、CEXA、CLA、CEZA、CPZA)。结果: 头孢菌素特异性 IgE 抗体检出阳性率随所检测抗原决定簇种类的增多而增高, 并且检测 5 种与检测 11 种抗体所得阳性率无显著性差异 ( $P>0.05$ )。420 例病人中有 73 例 (17.38%) 存在青霉素与头孢菌素交叉过敏反应, 有 95 例 (22.62%) 至少一种头孢菌素特异性 IgE 抗体呈阳性。青霉素特异性 IgE 抗体阳性组头孢菌素特异性 IgE 抗体阳性率显著高于其抗体阴性组 ( $P<0.01$ )。对具有相同或相似侧链结构抗生素的次要抗原决定簇特异性 IgE 抗体的相关性分析发现, APA-IgE 与 AXA-IgE, APA-IgE 与 CEXA-IgE, AXA-IgE 与 CEXA-IgE, BPA-IgE 与 CLA-IgE 水平均正相关 ( $P<0.05$ ), 且氨苄西林、阿莫西林抗体阳性组头孢氨苄抗体阳性率显著高于其抗体阴性组 ( $P<0.05$ )。结论: 青霉素过敏病人存在与头孢菌素的交叉过敏反应, 交叉过敏反应率达 17.38%。

## 青霉素过敏反应与 STAT6 基因多态性

黄晨征 乔海灵

郑州大学临床药理研究所 郑州 450052

目的: STAT6 即信号转导和转录激活因子 6, 它是信号转导和转录激活因子 (STAT) 家族的一员, 其介导的信号传导途径对白细胞介素 4 (IL-4) 生物学效应的发挥起着重要作用, 而 IL-4 是目前已知最强的 IgE 调节因子。青霉素类抗生素临床应用十分广泛, 但其过敏反应发生率居各类药物之首, 过敏反应的发生, 通常伴有血清总 IgE 或特异性 IgE 的升高。因此, 本试验以 STAT6 基因为研究对象, 重点讨论该基因 in2SNP3 多态性位点与青霉素过敏反应及血清特异性 IgE 的关系。方法: 采用 RAST 检测了 242 例过敏病人和 86 例正常对照血清中 4 种药物青霉素 G、青霉素 V、氨苄西林和阿莫西林 (PG、PV、AP、AX) 的 8 种抗原决定簇 (BPO-PLL、PVO-PLL、APO-PLL、AXO-PLL、BPA-PLL、PVA-PLL、APA-PLL、AXA-PLL) 的特异性 IgE 抗体; 采用 PCR-RFLP 检测了 242 例过敏病人和 220 例正常对照 IL-4R $\alpha$  Q576R、IL-4R $\alpha$  I75V 和 STAT6 in2SNP3 多态性位点的基因型。结果: 242 例青霉素过敏病人, 根据皮试结果可分为皮试阳性组和皮试阴性组, 根据有无过敏史可分为过敏史组和无过敏史组, 各组间 IgE 抗体阳性率差异均无显著性 (59% vs 65%, 60% vs 61%)。STAT6 in2SNP3 位点, 与正常对照相比, CC 基因型频率在过敏病人中显著升高 (60% vs 47%,  $P<0.01$ ), 在出现症状的过敏病人尤其是荨麻疹症状组中显著升高 (65% vs 47%, 70% vs 47%,  $P<0.05$ ), 在 BPO 和 AXO 抗体阳性过敏病人中显著升高 (64% vs 47%, 66% vs 47%,  $P<0.05$ ), 在 AXO 抗体阳性过敏病人中显著升高 (66% vs 57%,  $P<0.05$ )。结论: 青霉素过敏反应与 STAT6

in2SNP3 位点基因多态性有关；STAT6 in2SNP3 位点基因多态性与 AXO-、BPO-IgE 抗体的产生有关，还与青霉素过敏反应症状尤其是荨麻疹的发生有关。

## 青霉素过敏反应与 IL-4R $\alpha$ 基因多态性

黄晨征 乔海灵

郑州大学临床药理研究所 郑州 450052

目的：青霉素类抗生素临床应用十分广泛，但其过敏反应发生率居各类药物之首。青霉素过敏反应的发生，通常伴有血清总 IgE 或特异性 IgE 的升高。白细胞介素 4 (IL-4) 是目前已知最强的 IgE 调节因子，其生物学效应是通过与靶细胞表面的白介素 4 受体 (IL-4R) 结合而发挥的。因此，本试验以白介素 4 受体 $\alpha$ 链 (IL-4R $\alpha$ ) 基因为研究对象，重点讨论该基因的部分多态性位点与青霉素过敏反应及血清特异性 IgE 的关系。方法：采用 RAST 检测了 242 例过敏病人和 86 例正常对照血清中 4 种药物青霉素 G、青霉素 V、氨苄西林和阿莫西林 (PG、PV、AP、AX) 的 8 种抗原决定簇 (BPO-PLL、PVO-PLL、APO-PLL、AXO-PLL、BPA-PLL、PVA-PLL、APA-PLL、AXA-PLL) 的特异性 IgE 抗体；采用 PCR-RFLP 检测了 242 例过敏病人和 220 例正常对照 IL-4R $\alpha$  Q576R 和 IL-4R $\alpha$  I75V 多态性位点的基因型。结果：IL-4R $\alpha$  Q576R 位点，与正常对照相比，AA 基因型频率在过敏病人特别是皮试阳性的过敏病人中显著升高 ( $P<0.05$ )，在特异性 IgE 阳性的过敏病人中显著升高 ( $P<0.05$ )，在主、次要抗原决定簇抗体阳性的过敏病人中均显著升高 ( $P<0.05$ )，在 APO 抗体阳性过敏病人中显著升高 ( $P<0.05$ )。应用 SHEsis 软件平台对 IL-4R $\alpha$  基因的 Q576R 和 I75V 两个位点进行连锁不平衡分析，结果表明 IL-4R $\alpha$  Q576R 和 I75V 位点间不存在连锁不平衡。IL-4R $\alpha$  基因的 Q576R 和 I75V 两个多态性位点共组成四种单倍体，其中 Q576/I75 型单倍体频率在过敏病人中显著高于正常对照 ( $P<0.05$ )。结论：IL-4R $\alpha$  Q576R 位点基因多态性与青霉素皮试阳性、APO-IgE 抗体的产生、荨麻疹的发生等有关；IL-4R $\alpha$  基因 Q576R 和 I75V 位点的 I75/Q576 型单倍体与青霉素过敏反应存在相关性。

## 头孢菌素过敏病人与青霉素的交叉过敏反应

乔海灵 刘相端

郑州大学临床药理研究所 河南 郑州 450052

目的：探讨头孢菌素过敏病人与青霉素交叉过敏反应的情况，并改进头孢菌素过敏反应的诊断方法，方法：采用放射性过敏原吸附试验 (RAST) 检测 34 例头孢菌素过敏病人体内 8 种青霉素特异性 IgE 抗体 (BPO、PVO、APO、AXO、BPA、PVA、APA 和 AXA) 以及 11 种头孢菌素特异性 IgE 抗体 (CEXO、CLO、CEZO、CPZO、CTO、CZO、CXO、CEXA、CLA、CEZA、CPZA)。结果：特异性 IgE 抗体检出阳性率随所检测抗原决定簇种类的增多而增高，并且检测 5 种与检测 11 种抗体所得阳性率无显著性差异 ( $P>0.05$ )。34 例病人中有 32 例 (94.12%) 至少一种头孢菌素特异性 IgE 抗体呈阳性，18 例 (52.94%) 存在青霉素与头孢菌素交叉过敏反应，19 例 (55.88%) 至少一种青霉素特异性 IgE 抗体呈阳性。除 CLO-IgE 和 CPZO-IgE 外，其余 9 种头孢菌素特异性 IgE 抗体水平病人组显著高于正常对照组 ( $P<0.05$ )。结论：RAST 检测头孢菌素特异性 IgE 抗体灵敏度、特异性好，可辅助临床诊断头孢菌素过敏反应；头孢菌素过敏病人存在与青霉素的交叉过敏反应，交叉过敏反应率达 52.94%。

## 黄芩苷的致过敏作用机制

田锋齐 乔海灵 郜娜  
郑州大学临床药理研究所 郑州 450052

目的：黄芩苷是双黄连粉针剂的主要有效成分，有报道称双黄连注射液过敏反应与黄芩苷有关，本研究旨在阐明黄芩苷的致过敏作用机制，探索一种能够避免多种中药制剂引起过敏的方法。方法：本文采用活性酯法制备黄芩苷全抗原，建立黄芩苷致豚鼠过敏性变态反应的动物模型；通过被动皮肤过敏反应试验（PCA）、豚鼠肥大细胞脱颗粒、离体回肠收缩试验分析黄芩苷致过敏作用的变应原性；采用酶联免疫吸附试验和放射过敏原吸附试验测定血清中黄芩苷特异性抗体。结果：黄芩苷与牛血清蛋白（BSA）、人血清白蛋白（HSA）耦联成功。致敏豚鼠激发后，迅速出现呼吸困难、小便失禁直到呼吸停止死亡等症状，组织 HE 染色显示豚鼠出现了典型的速发型过敏反应特征。被动皮肤过敏反应试验表明致敏豚鼠体内同时存在黄芩苷特异性 IgE 和 IgG 型抗体，IgE 和 IgG 两抗体之间无相关性。19 只致敏豚鼠特异性 IgG 抗体阳性率为 84%，特异性 IgG 水平与特异性 IgG 抗体效价之间有相关性（ $P<0.05$ ）。致敏血清处理组肥大细胞激发后，脱颗粒率为（ $72.63\pm 11.45$ ）%，显著高于阴性对照组（ $P<0.01$ ）。致敏豚鼠离体回肠经黄芩苷-HSA 激发后收缩明显，阴性对照组经黄芩苷-HSA 激发后，离体回肠收缩不明显。16 例双黄连过敏者血清中黄芩苷特异性 IgE 和 IgG 抗体阳性率分别为 25%和 37.5%，两种特异性抗体之间无显著相关性（ $P>0.05$ ）。结论：采用活性酯法成功合成了黄芩苷全抗原；成功建立了黄芩苷致豚鼠过敏反应休克模型；黄芩苷所致豚鼠及人体过敏反应与其特异性 IgG、IgE 抗体有关。

## 鱼腥草注射剂过敏反应机制的实验研究

张彬彬 田鑫 乔海灵  
郑州大学临床药理研究所 郑州 450052

目的：探讨鱼腥草注射剂过敏反应的发生机制。方法：制备鱼腥草素和新鱼腥草素全抗原，建立豚鼠过敏反应模型，采用 PCA 和 ELISA 方法测定致敏豚鼠血清特异性 IgE 和 IgG 抗体。结果：鱼腥草素组和新鱼腥草素组致敏豚鼠经激发后，两致敏组过敏反应发生率分别为 80%和 90%，休克发生率分别为 20%和 50%，死亡率分别为 20%和 40%，致死豚鼠的肝肺组织病理均呈现典型的过敏性休克变化特征；致敏豚鼠血清特异性 IgE 和 IgG 抗体均在第 23 天达到高峰，两组抗体效价与过敏反应分级均呈显著性相关（ $P<0.01$ ），IgE 和 IgG 抗体效价之间无相关性（ $P>0.05$ ）；ELISA 和 PCA 所测特异性 IgG 效价之间存在相关性（ $P<0.05$ ）；被动致敏肥大细胞经抗原攻击后，肥大细胞脱颗粒率均显著高于阴性对照组（ $P<0.01$ ）；两组致敏豚鼠离体回肠经抗原攻击后，肠管收缩明显增强，并能被苯海拉明所阻断。结论：鱼腥草注射剂过敏反应的发生与鱼腥草素和新鱼腥草素的过敏原性有关，其发生机制与特异性 IgG、IgE 抗体产生、肥大细胞等释放过敏介质有关。

## 糖尿病药理研究

### PTP1B 抑制剂改善胰岛素抵抗作用的实验研究

张晓琳 田金英 陶荣亚 贺伊博 叶菲 肖志艳  
中国医学科学院 药物研究所 北京 100050

目的：研究苯并咪唑-苯氧乙酸类化合物 CCF06240 对蛋白酪氨酸磷酸酶 1B（Protein tyrosine phosphates 1B，

PTP1B) 活性的抑制作用, 探讨其对高脂饮食诱导的胰岛素抵抗小鼠的胰岛素增敏作用及其作用机制。方法: 以体外酶学方法观察药物对基因重组人PTP1B活性的影响。雄性C57BL/6j小鼠经高脂高糖饲料诱导形成肥胖的胰岛素抵抗动物模型 (IRF)。以小鼠口服葡萄糖耐量实验 (OGTT) 中葡萄糖负荷后血糖水平的变化评价动物对葡萄糖的耐受能力。采用胰岛素耐量实验 (ITT) 和正常葡萄糖水平的高胰岛素钳夹 (正糖钳) 实验评价机体的胰岛素敏感性。结果: 化合物CCF06240对基因重组人PTP1B活性有较强的抑制作用, 其 $IC_{50}$ 为 $9.6 \times 10^{-7}$  M。连续灌胃给予IRF小鼠CCF06240 10 mg/kg/day, 与模型对照组比较, CCF06240组动物体重降低17% ( $p < 0.001$ ), 血甘油三酯降低77%, 总胆固醇降低71%, 非禁食状态下血糖降低20%, 禁食2 h后血糖降低25% ( $p < 0.001$ )。同时, CCF06240使OGTT中葡萄糖负荷后的血糖-时间曲线下面积 (AUC) 降低34%; 使ITT中胰岛素负荷后的AUC降低43%; 在正糖钳实验中, CCF06240组稳态时的葡萄糖输注率 (Glucose infusion rate, GIR) 较IRF组升高8.1倍 ( $p < 0.001$ )。结论: 苯并咪喃-苯氧乙酸类化合物CCF06240通过抑制PTP1B活性, 影响胰岛素信号通路和瘦素信号通路, 从而增加机体的胰岛素敏感性和改善脂质代谢异常。

## 穿心莲内酯对STZ糖尿病大鼠降血糖作用及可能机制的研究

杨萃<sup>1</sup> 陈森洲<sup>2</sup> 肖胜军<sup>3</sup> 侯巧燕<sup>3</sup> 周英琼<sup>3</sup> 冯梅<sup>1</sup> 李莉<sup>1</sup>

1. 桂林医学院药理教研室 2. 桂林医学院微免教研室

3. 桂林医学院病理学教研室 桂林医学院 桂林 541004

目的: 穿心莲内酯是穿心莲的主要有效成分之一, 前期的实验表明穿心莲具有降血糖作用。本实验旨在探讨穿心莲内酯对实验性糖尿病大鼠降血糖及其可能的作用机制。方法: 大鼠腹腔一次性注射链脲佐菌素 (STZ) 65mg/kg 制备糖尿病大鼠模型, 将成模的大鼠再随机分为4组, 每组10只。即糖尿病模型组 (简称模型组)、穿心莲内酯大剂量组、穿心莲内酯小剂量组及二甲双胍组, 每天灌胃给药一次, 连续给药2周。末次给药后1 h, 自大鼠眼眶取血, 离心取血清, 采用葡萄糖氧化酶法测定Glu、采用硫代巴比妥酸反应物 (TBA 比色) 法测MDA含量、采用黄嘌呤氧化酶法测SOD活性、采用快捷免疫组化MaxVision™法观察胰岛细胞凋亡情况及测定胰岛细胞Bcl-2表达。结果: 穿心莲内酯组血糖明显下降, MDA活性降低, 同时SOD活性升高, 与模型组比较, 具有显著性差异 ( $P < 0.01$ ); 模型组Bcl-2表达减弱, 给药组Bcl-2表达较模型组增强, 二者比较差异显著 ( $P < 0.05$ )。结论: 穿心莲内酯对糖尿病模型大鼠具有抑制胰岛细胞凋亡, 降低血糖作用; 其机制可能与增强Bcl-2基因表达水平; 使SOD活性升高, 从而减轻氧自由基, 减少脂质过氧化生成有关。

## ABCC2基因多态性与阿托伐他汀调脂疗效的关系

李彦鹏 张莉蓉 胡香杰

郑州大学基础医学院药理学教研室 450052

目的: 查明ABCC2基因多态性位点C-24T和G1249A在中国高脂血症人群中的分布, 探讨ABCC2基因单核苷酸多态性对阿托伐他汀调脂疗效的影响。方法: 收集高脂血症患者221例, 每晚顿服阿托伐他汀20mg, 连续用药4周。在给药前及给药4周后采集患者空腹静脉血, 测定血清总胆固醇 (TC)、血清三酰甘油 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 和高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 水平。用给药4周后TC、TG、LDL-C和HDL-C的变化率

作为评价阿托伐他汀调脂疗效的标准。采用PCR-RFLP技术检测ABCC2基因启动子(C-24T) 和第10外显子(G1249A)的单核苷酸多态性。根据基因分型结果将患者分组, 观察ABCC2基因多态性对阿托伐他汀调脂疗效的影响。结果: ABCC2C-24T和ABCC2G1249A等位基因在高脂血症人群中的频率分别为23.5%和9.6%, 等位基因和基因型分布符合Hardy-weinberg平衡 ( $p>0.05$ )。221例高脂血症患者服用阿托伐他汀4周后, HDL-C变化率在ABCC2 C-24T不同基因型亚组患者的 $P$ 值 $<0.05$  ( $P=0.047$ ), TC、TG和LDL-C变化率在ABCC2 C-24T和ABCC2 G1249A不同基因型之间无显著性差异。ABCC2 C-24T和ABCC2 G1249A构成单倍体时, CCGG、H<sub>A</sub>(Heterozygote)和TTAA基因型亚组患者TC、TG、LDL-C和HDL-C水平的变化率也均无显著性差异。采用协方差分析排除年龄、体重指数和给药前血脂水平的影响后,  $P$ 值仍大于0.05。结论: ABCC2C-24T和ABCC2G1249A基因多态性在中国高脂血症人群中较为常见, 其发生频率与日本人相似。ABCC2C-24T和ABCC2G1249A基因多态性对阿托伐他汀的调脂疗效无明显影响。

## 高脂血症患者 *CYP3A1* 基因多态性与阿托伐他汀调脂疗效的相关性研究

李彦鹏 张莉蓉

郑州大学基础医学院药理学教研室 450052

目的: 测定高脂血症人群中 *CYP3A1*\*3等位基因的变异频率, 观察 *CYP3A1*\*3基因多态性对阿托伐他汀调脂疗效的影响。方法: 收集高脂血症患者179例, 每晚顿服阿托伐他汀20mg, 连续用药4周。在给药前及给药4周后采集患者空腹静脉血, 测定血清总胆固醇(TC)、血清三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)和高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平。用给药4周后TC、TG、LDL-C和HDL-C的变化率作为评价阿托伐他汀调脂疗效的标准。采用PCR-RFLP技术检测 *CYP3A1*\*3单核苷酸多态性。根据基因分型结果将患者分组, 观察 *CYP3A1*\*3不同基因型患者之间阿托伐他汀调脂疗效的差异。结果: *YP3A1*\*3等位基因在高脂血症人群中的频率为75.4%, 等位基因分布符合Hardy-weinberg平衡 ( $P>0.05$ )。用药4周后, *CYP3A1*AA型患者TC、TG、LDL-C和HDL-C的变化率分别为16.9%±3.6%、22.8%±9.0%、27.2%±6.0%和-0.3%±9.5% (mean±SD), AG型患者TC、TG、LDL-C和HDL-C的变化率分别为17.8%±3.9%、22.2%±8.6%、27.5%±4.8%和0.5%±10.0%, GG型患者TC、TG、LDL-C和HDL-C的变化率分别为17.1%±2.8%、21.6%±9.7%、26.8%±7.1%和-0.9%±9.0%, 三组患者之间TC、TG、LDL-C和HDL-C的变化率无显著性差异 ( $P=0.233, P=0.889, P=0.913, P=0.801$ )。采用协方差分析排除年龄、体重指数和给药前血脂水平的影响后, *CYP3A1*各基因型亚组间血脂的变化率仍无显著性差异 ( $P>0.05$ )。按性别分组后, 在男性组高脂血症患者中AA基因型携带者TC降低的百分率显著低于AG+GG基因型携带者(AA vs. AG+GG: 16.3%±2.3% vs. 18.5%±4.3%,  $P=0.002$ ); 女性组各基因型间血脂浓度的变化率无显著性差异。结论: 在中国高脂血症人群中 *CYP3A1*\*3等位基因的频率为75.4%。*CYP3A1*\*3对阿托伐他汀的调脂疗效的影响存在性别差异。

## 氟康唑对 HERG 钾通道电生理功能的影响

韩圣娜 张莉蓉 胡香杰 范天黎

郑州大学基础医学院药理教研室 郑州 450052

目的: 观察咪唑类抗真菌药氟康唑(fluconazole)对HERG钾通道电生理功能的影响。方法: 采用磷酸钙瞬时转染的方法, 将质粒cgi-GFP-HERG转染到人胚肾细胞(HEK-293)中进行表达, 随后应用全细胞膜片钳的方法, 观察不同浓度的氟康唑对HERG电流的影响。结果: 氟康唑浓度依赖性的抑制HERG电流( $I_{step}$ )和尾电流

( $I_{tail}$ )。当浓度为 0.01、0.1、1、3、10、30 和 100  $\mu\text{M}$  时, 其抑制率分别为  $105 \pm 1.69\%$  ( $P > 0.05$ );  $92.39 \pm 1.00\%$ ;  $80.46 \pm 2.39\%$ ;  $69.67 \pm 3.26\%$ ;  $46.84 \pm 2.62\%$ ;  $40.24 \pm 2.06\%$ ;  $34.06 \pm 1.21\%$  ( $P < 0.05$ ), 其  $IC_{50}$  值为  $3.41 \pm 1.93 \mu\text{M}$ 。但氟康唑对 HERG 钾通道的激活曲线和失活曲线均无影响。结论: 氟康唑可阻断 HERG 钾通道电流, 提示该药可致动作电位时程延长, QT 间期延长, 从而有致心律失常的风险。

## 鹰嘴豆提取物对 2 型糖尿病大鼠糖、脂代谢的影响

何雯 帕尔哈提·克热木

新疆维吾尔自治区卫生厅 乌鲁木齐 830000

**目的:** 观察鹰嘴豆提取物对 2 型糖尿病大鼠糖、脂代谢的影响, 初步探讨其作用机制, 并对 2 个配方的鹰嘴豆提取物进行对比、评价。**方法:** 采用高糖高脂饲料喂养 4 周后, 腹腔注射链脲佐菌素 (STZ)  $45 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$  的方法建立糖尿病大鼠模型。造模成功后灌胃 2 个配方的低、中、高三个剂量组的鹰嘴豆提取物, 观察空腹血糖 (FPG)、血清胰岛素 (FINS)、胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 水平的变化, 计算肝指数、胰岛素敏感指数 (ISI) 及观察肝脏、肾脏的组织病理学改变。**结果:** 与模型组相比, 2 个配方的鹰嘴豆提取物均能降低糖尿病大鼠的肝指数。除配方 B 低剂量组外, 各组均能降低血糖, 增加 ISI。鹰嘴豆提取物各组对血清胰岛素水平影响不大。鹰嘴豆提取物配方 A 低、中剂量组能降低 TG、TC、LDL-C, 高剂量组能降低 TC; 配方 B 低、中剂量组能降低 TG、TC、LDL-C, 高剂量组能降低 LDL-C。鹰嘴豆提取物 2 个配方降糖、调脂作用无明显区别 (除 TG)。鹰嘴豆提取物能改善肝脏、肾脏病理损害。**结论:** 鹰嘴豆提取物有较好的降低血糖、调节血脂的作用。

## HPLC-MS/MS 法定量测定人血清中 CLD 浓度

王博雅 赵芊 江骥 胡蓓

中国医学科学院 北京协和医院 北京 100730

**目的:** 为测定血清中 CLD 浓度建立一种灵敏、特异、快速和重现性好的高效液相色谱—串联质谱 (HPLC-MS/MS) 定量分析方法。**方法:** 样品处理取 200  $\mu\text{L}$  血清, 加入 0.3 mL 2% 氨水和 0.2 mL 内标 (可待因), 混匀。Oasis 10mg HLB 固相萃取柱先经过 0.6 mL 甲醇活化, 0.6 mL 水平衡后, 上样。先后使用 0.3 mL 2% 氨水、0.3 mL 氨水: 纯水: 甲醇=2:88:10 (v:v:v) 淋洗, 然后使用 150  $\mu\text{L}$  甲酸: 纯水: 甲醇=2:68:30 (v:v:v) 洗脱两次后,  $40^\circ\text{C}$   $\text{N}_2$  条件下吹干, 200  $\mu\text{L}$  纯水: 甲醇=4:1 (v:v) 复溶后待测。色谱条件为: 色谱柱为 Waters 公司 Symetry Shield RP18  $2.1 \text{ mm} \times 50 \text{ mm}$  ( $3.5 \mu\text{m}$ ); 流动相是 10 mM 乙酸铵 (pH 5.3): 甲醇 =65:35, (v/v); 流速 0.2 mL/min; 进样量 20  $\mu\text{L}$ , 每一个样品分析用时 2.0 min。使用质谱进行测定, 采用电喷雾 (ESI) 离子源, 在正离子电离模式下选用多反应监测 (MRM) 的质谱扫描方式进行测定, CLD 的母离子对质荷比为:  $m/z$  230.1 $\rightarrow$ 213.1。结果: 此方法测定血清中 CLD 浓度的最低定量限为 0.1 ng/mL。日内和日间精密度的  $CV\% \leq 11.5\%$ , 准确度在 89.6% 至 110.4% 范围内。血清中 CLD 浓度在 0.1~100 ng/mL 范围内浓度与峰面积有良好的线性关系, 标准曲线  $r$  值范围均在 0.990~1.000。血清中 CLD 低、中和高浓度质控样品的平均萃取回收率为 66.4%。血浆样品在  $-30^\circ\text{C}$  冰箱冻存 11 个月、血浆样品由  $-30^\circ\text{C}$  至室温冻融 3 次、制备后的样品在自动进样器中放置 24 h、血浆样品在室温放置 24 h 后测定样品的浓度结果均符合相对标准误差  $< 15\%$  的要求。结论: 本方法操作快速、选择性好、准确、灵敏, 可用于 CLD 的药代动力学和生物利用度研究。

## 高效液相色谱-串联质谱法测定人血浆中 8601、8602、8603 的含量

张澜 胡蓓 江骥

中国医学科学院 北京协和医院 北京 100730

目的: 8601是一种口服抗血栓新药, 8602 和8603是8601的两种活性代谢产物。目前, 8601主要用于预防有缺血性脑中风或短暂性缺血性发作病史的病人发生缺血性脑血管及心血管事件。在研究中还发现, 其同时也有预防痴呆等方面疗效, 其开发前景还很广阔。因此开发一中能够满足临床试验要求的检测方法是具有很高的应用价值的。高效液相色谱-电喷雾串联质谱(Liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry, LC-ESI-MS/MS) 联用技术是当今药物定量分析研究强有力的工具, 具有灵敏度高, 专属性好, 样品处理简单, 分析快速等优点。本研究对定量测定人血浆中8601、8602、8603浓度的液相色谱-串联质谱方法进行了摸索和考核, 为药代动力学研究提供可靠的检测方法。结果与讨论: 2.1 特异性 按选定的HPLC-MS/MS条件, 测得加入8601三种高浓度代谢产物后, 对8601、8602、8603及IS01的质量色谱图。结果显示, 人血浆中不存在8601、8602、8603及IS01本底, 也无其它干扰杂质, 所以在本实验条件下对8601、8602、8603及IS01的分离和测定无干扰。2.2 线性范围 血浆中8601、8602、8603浓度在0.5~500 ng/mL范围内浓度与峰面积有良好的线性关系, 标准曲线 $r^2$ 值范围均在0.990~1.000。2.3 最低定量限与萃取回收率 本方法8601、8602、8603的最低定量浓度为0.5 ng/mL。血浆中8601、8602、8603, 低和高浓度质控样品的平均萃取回收率分别为99.20%、79.40%和92.90%。2.4 准确度与精密度 从低至高3种不同浓度的8601、8602、8603质控样品的准确度在85%~115%之间 ( $n=18$ ), 日内和日间(3个不同的测定日)测定的相对标准误差均 $<15\%$ 。结论: 本研究建立检测生物样品中8601、8602、8603浓度的LC-MS/MS方法。此方法在特异性、线性、灵敏度、准确度及分析速度等方面均能满足临床研究及实验室研究的要求。为同时检测8601及其代谢产物8602, 8603三种化合物的药代动力学研究提供了可靠的方法。

## 康艾注射液和苦参素注射液在大鼠体内的药代动力学

郜娜 乔海灵

郑州大学临床药理研究所 郑州 450052

目的: 研究康艾注射液(复方)和苦参素注射液(单方)中氧化苦参碱在大鼠体内的药代动力学, 考察康艾注射液中多种成分对氧化苦参碱体内过程的影响。方法: SD 大鼠尾静脉注射给药, 给药剂量为  $200\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$  (按氧化苦参碱计), 心脏采血, 采用高效液相色谱法测定血清中氧化苦参碱和其活性代谢物苦参碱的浓度。药-时数据采用 3P97 软件进行处理。结果: 康艾注射液和苦参素注射液中氧化苦参碱及苦参碱在大鼠体内的药理学均符合二房室模型。两制剂中氧化苦参碱的主要药理学参数如下: 血清峰浓度  $C_{\max}$   $585.60\pm 16.21$  和  $603.09\pm 46.02\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 分布半衰期  $t_{1/2\alpha}$   $0.25\pm 0.02$  和  $0.21\pm 0.03\text{h}$ , 消除半衰期  $t_{1/2\beta}$   $1.61\pm 0.21$  和  $1.27\pm 0.52\text{h}$ , 表观分布容积  $V_d$   $0.33\pm 0.03$  和  $0.31\pm 0.04\text{L}$ ; 苦参碱的主要药理学参数如下:  $C_{\max}$   $23.23\pm 10.22$  和  $10.28\pm 0.82\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $t_{\max}$   $0.10\pm 0.22$  和  $1.70\pm 0.60\text{h}$ ,  $t_{1/2\alpha}$   $0.23\pm 0.25$  和  $3.66\pm 0.39\text{h}$ ,  $t_{1/2\beta}$   $2.31\pm 0.1$  和  $5.18\pm 0.7\text{h}$ ,  $V_d$   $12.98\pm 5.23$  和  $32.32\pm 5.17\text{L}$ ,  $\text{AUC}_{0-t}$   $45.53\pm 2.53$  和  $35.56\pm 3.55\text{mg}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。经统计分析证明, 与单方相比, 复方中氧化苦参碱在大鼠体内的  $t_{1/2\alpha}$ 、 $t_{1/2\beta}$  均较长 ( $P<0.05$ ), 主要活性代谢物苦参碱的转化率较高,  $t_{1/2\alpha}$ 、 $t_{1/2\beta}$  均较短 ( $P<0.05$ ), 表明复方中氧化苦参碱的分布和消除较慢, 而代谢物的分布、转化及消除较快, 转化较多。结论: 复方中的其它成分显著影响了氧化苦参碱在大鼠体内的分布、转化和消除过程。

## 康艾注射液的药动学和药效学结合研究

黄素培 乔海灵 郜娜

郑州大学临床药理研究所 郑州 450052

目的：建立药动学-药效学结合研究方法，分析康艾注射液中氧化苦参碱及其代谢物苦参碱的药动学与其含药血清对肿瘤细胞增殖的抑制作用之间的关系。方法：SD大鼠，尾静脉注射给与康艾注射液250、200、150mg·kg<sup>-1</sup>后，分别与0、0.25、0.5、1、1.5、2、3、4、6、8、10、12h心脏采血，分离血清。采用高效液相色谱法测定血清中氧化苦参碱和其代谢物苦参碱的浓度，同时采用MTT法测定给药后不同时间大鼠血清对卵巢癌细胞HO-8910增殖的抑制率。应用SPSS10.0软件对氧化苦参碱和苦参碱的血药浓度和含药血清对HO-8910细胞增殖的抑制率进行pearson相关性检验和多元线性回归分析。结果：1. 康艾注射液各剂量组大鼠血清中氧化苦参碱、苦参碱的浓度和其对肿瘤细胞增殖的抑制率均具有显著的相关性( $P < 0.05$ )，相关系数分别为氧化苦参碱：0.818、0.878、0.905、0.799，苦参碱：0.620、0.911、0.925、0.621；2. 各剂量组的复相关系数分别为：0.943、0.925、0.876、0.909( $P < 0.05$ )，各剂量组的多元线性回归模型的确定系数均大于氧化苦参碱和苦参碱单独作用的回归模型，提示氧化苦参碱和苦参碱联合作为含药血清的效应成分产生抑制肿瘤细胞增殖作用。结论：康艾注射液在体内发挥直接抑制肿瘤细胞增殖作用的主要成分为氧化苦参碱和苦参碱，复方中的其他成分可能通过不同的机制发挥协同作用。

## 蜂房提取物治疗大鼠糖尿病胃肠神经功能紊乱的实验研究

刘庆山 崔 箭

中央民族大学 中国少数民族传统医学研究中心 北京 100050

目的：为评价蜂房提取物对糖尿病大鼠胃肠道功能的作用。方法：采用链脲佐菌素(streptozocin,STZ)诱发的糖尿病大鼠胃肠神经功能紊乱模型，灌胃给予蜂房提取物1 mg/kg、3 mg/kg、9 mg/kg，测定其对血糖、胃肠慢波电位、小肠壁内神经蛋白含量，观察了蜂房提取物对胃肠推进功能的影响以及胃肠对Ach、阿托品敏感性的影响。结果：灌胃给予蜂房提取物对血糖无明显影响，也未见蜂房提取物改善十二指肠对Ach、阿托品的敏感性，也未见其对胃肠的直接促蠕动作用。灌胃给予蜂房提取物可改善糖尿病大鼠胃肠慢波电位、提高了胃肠推进功能、增加了胃肠壁内神经蛋白含量。结论：糖尿病导致的胃肠神经功能紊乱可以通过灌胃给予蜂房提取物而改善，其重要机制可能是蜂房提取物对抗糖尿病引起的胃肠神经病变。

## 药物代谢动力学

### 布格呋喃与大鼠肝脏药物代谢酶的相互作用

李恩 李燕

中国医学科学院北京协和医学院药物研究所

目的：研究参与布格呋喃代谢的CYP450同工酶类型和体外代谢的酶促动力学特征，并观察口服布格呋喃对大鼠肝脏药物代谢酶的影响。方法：采用比色/动态荧光法及UV-HPLC法检测大鼠口服布格呋喃(8mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)，连续3

日)后肝脏 CYP450 同工酶 (CYP1A2、2C6、2C11、2D2、2E1 和 3A2) 和 II 相酶—谷胱甘肽巯基转移酶 (GST)、尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 (UDPGT) 和谷胱甘肽还原酶 (GR) 活性。应用肝微粒体温孵法测定布格呋喃体外代谢速率 ( $V_{max}$  和米氏常数  $K_m$ )。比较布格呋喃在正常及高诱导大鼠肝微粒体中代谢速率的差异以及 CYP1A2、2C6、2C11、2D2、2E1 和 3A2 的选择性抑制剂 (呋拉茶碱、磺基苯吡唑、奥美拉唑、奎尼丁、戒酒硫和酮康唑) 对布格呋喃代谢的抑制程度, 鉴定参与布格呋喃代谢的 CYP450 同工酶类型。结果: 布格呋喃在乙醇、地塞米松和 3-甲基胆蒽诱导大鼠肝微粒体中的  $K_m$ 、 $V_{max}$  分别为正常组的 11 倍、6 倍和 1.3 倍; 应用 CYP3A2、2E1 和 1A2 的选择性抑制剂酮康唑、戒酒硫和呋拉茶碱可不同程度地抑制布格呋喃的代谢, 使代谢速率下降为对照组的 34%、47% 和 78%。布格呋喃体外对 CYP1A2、2E1、3A2、2C11、2D1/2 的  $IC_{50}$  均大于  $10\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。布格呋喃多次给药 ( $8\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ , 连续 3 日) 对大鼠肝脏 CYP450 总量无明显影响, 但可不同程度诱导 CYP1A2、2E1、3A 的活性, 分别为正常对照组的 1.6、1.2 和 1.7 倍。布格呋喃处理大鼠肝脏 GST 和 GR 活性较对照组分别升高 40% 和 10%, UDPGT 无明显变化。结论: CYP3A 和 2E 可介入布格呋喃在大鼠肝脏的代谢, CYP1A 也有少量参与。布格呋喃可诱导大鼠肝脏 CYP1A、2E 和 3A, 对主要 CYP450 同工酶无显著抑制作用。此外, 布格呋喃对 II 相酶 GST 和 GR 也有一定诱导作用。

## A771726 在大鼠尿中代谢产物

李淑娟 李俊 金涌 孙玲 程娟  
徽医科大学药学院 合肥 230032

目的: 研究静脉给药途径 A771726 在大鼠尿液中的代谢产物。方法: 大鼠静脉给药 A771726 ( $30\text{mg}/\text{kg}$ ), 分别采集给药前及给药后 0-48h 尿液, 合并后冷存。用电喷雾离子阱多级质谱法 (LC/MS<sup>n</sup>) 对 A771726 及其在大鼠尿中的代谢产物进行分析。结果: 大鼠静脉给药 A771726 后, 经过与空白尿液对比, 在尿液中发现 3 种代谢产物, 推测其结构分别是甲基化、羟甲基化, 亚甲基醇半缩甲醛化 A771726。结论: A771726 在大鼠尿中代谢产物以 I 相代谢为主, 未发现 II 相代谢产物。与文献报道通过灌胃途径给药所测到的代谢产物结构相同, 其代谢物的结构及含量有待于进一步分析后确证。

## 基于代谢组学的中药代谢动力学研究思路探讨

李文兰<sup>1,2</sup> 孙志<sup>1</sup> 杜娟<sup>1</sup> 孙向明<sup>1</sup>

1. 哈尔滨商业大学生命科学与环境科学研究中心;
2. 国家教育部抗肿瘤天然药物工程研究中心 哈尔滨 150076

代谢组学高通量、整体性的研究技术和研究思路, 对中药中活性物质的分析方法及其代谢产物的药代动力学分析提供了新思路, 有助于揭示中医证候的科学内涵和开展中药现代化研究。生命体-疾病-中药作用是一个动态的、紧密联系的整体过程, 代谢组学则是连接的枢纽和中心, 其全景式、整体互动性的特点与中医药的整体观念、证候的复杂体系及动态连贯性、中药作用的多靶点和突出整体效应不谋而合, 是中医药现代化的最佳切入点。中药进入生命体后, 起效的是中药中的原成分或代谢产物, 或与机体作用形成的新成分, 三者构成体内中药成分的代谢物组。而中药代谢物组通过多靶点、多系统, 协调干预人体内源性代谢物组来治疗疾病, 所产生的一系列变化实质上仍然是代谢动力学变化, 如能科学阐明原方成分与体内代谢成分的规律, 自然能揭示中药成分的代谢规律, 因此推动与基因组学——蛋白质组学相关联的代谢组学和成分组学的研究, 从根本上解决中药的药动力学问题。中药药代动力学不仅要研究中药 ADME 的动态变化, 而且要研究其时量-时效关系, 基于代谢组学的技术平台与系统整体的研究思路, 给中药代谢动力学研究提供重要的发展契机, 一方面可以通过辨识和解析内源性代谢物组的变化, 促进中医“证”本质的研究, 预测疾病的发生。另一方面通过追踪中药体内代谢物组的组成和变化,

可以整体性评价中国传统中药的疗效和安全性, 阐明中药作用的机制。总之, 基于代谢组学的中药代谢动力学研究为构建中药及复方的现代化研究标准提供了新的研究思路。

## 以 NONMEM 法建立老年患者口服地高辛的群体药物动力学模型

周晓丹<sup>1,2</sup> 李忠东<sup>2</sup> 李俊<sup>1</sup>

1. 安徽医科大学药学院 合肥 230032

2. 空军总医院药学部 北京 100142

目的: 建立中国老年人口服地高辛的群体药代动力学 (PPK) 模型, 为临床个体化给药提供参考。方法: 收集 105 名长期口服地高辛的老年患者 188 次地高辛的测定结果以及相关临床数据。应用 NONMEM 软件求算 PPK 参数值, 建立基础模型和最终模型, 并进行模型验证。结果: 经 NONMEM 法处理, 所有因素中血清肌酐 Cr 对地高辛体内清除率有显著性的影响。最终模型公式为:  $Cl = 5.77 * [1 - 0.000657 * (Cr - 130.3)]$ ;  $K_a: 0.15 \text{ h}^{-1}$ ;  $V_d: 374L$ 。结论: 用 NONMEM 软件拟合可获得老年患者地高辛群体药代动力学最终模型, 该模型经内部验证, 稳定可靠。

## 内皮素受体拮抗剂的活性筛选

池木根 李昕 李凤珍 郑建全 董俊军 高峰 刘克良

军事医学科学院毒物药物研究所 北京 100850

内皮素 (ET) 是由 21 个氨基酸组成的多肽, 具有强大的缩血管和促进血管平滑肌细胞增殖作用, 在许多心、脑、肺、肾和血管疾病的发病中都有重要意义。内皮素的生物学作用是由其在细胞膜上特异的内皮素受体所介导的, 通过与内皮素受体结合后发挥广泛的生物学活性。目前, 对 ET 受体拮抗剂的研究已成为此领域的热点, 本文主要是叙述新型内皮素受体拮抗剂在离体血管功能和内皮素受体上作较为系统的活性筛选。根据离体血管功能实验, 对新拮抗剂进行了初筛, 结果表明: 筛选出有较高活性的肽类拮抗剂 53 个, 其中有 18 个活性超过阳性对照 BQ<sub>485</sub>, 筛选出 9 个非肽类拮抗剂显示出较强的拮抗活性。离体大鼠血管条初筛 2 位为 pro 的系列化合物, 其中 12 个化合物与阳性 BQ<sub>485</sub> 相当。离体初筛不同 R 结构的系列化合物, 有 6 个化合物活性与 BQ<sub>485</sub> 相当。离体初筛含特定非天然氨基酸的化合物, 有 7 个化合物与 BQ<sub>485</sub> 相当。实验用大鼠肺和小脑提取的内皮素受体与配体结合技术, 分别用标记的 BQ<sub>123</sub> 和 ET-3 对 ET<sub>A</sub>R 和 ET<sub>B</sub>R 作出了饱和曲线, 并求出它们的 K<sub>D</sub> 为 2.8nM 和 24PM, 它们的 B<sub>max</sub> 为 0.67nM 和 2.85pM。用内皮素受体筛选到非常有效的化合物, 将这些化合物观察了对 ET<sub>A</sub>R 和 ET<sub>B</sub>R 的选择性作用, 并跟阳性 (BQ<sub>485</sub> 和 ET-3) 对照, 分别对 ET<sub>A</sub>R 和 ET<sub>B</sub>R 作出了它们的 IC<sub>50</sub>。其中 5 个多肽类化合物对 ET<sub>A</sub>R 亚型均有极高亲和力, 尤其是 ETP<sub>20</sub> 对 ET<sub>A</sub>R 的亲和力超过阳性对照 BQ<sub>123</sub> (~100 倍) 和 BQ<sub>485</sub> (~10 倍)。同阳性对照药一样, 所选用的 5 个化合物对 ET<sub>B</sub>R 亲和力极低。3 个 GF 类化合物对 ET<sub>A</sub>R 亚型有较高亲和力, 而 3 个 GF 类化合物对 ET<sub>B</sub>R 亲和力也极低。用放射性配体受体结合实验, 确定了合成的全新结构化合物竞争性拮抗内皮素受体的效能和效价, 观察这些化合物对内皮素受体不同亚型的选择性, 为从受体水平阐明这类化合物的作用机制提供了有力实验依据。

## 以受体为靶点的药物筛选模型的建立和应用

池木根 郑建全

我国的新药研制工作面临着十分严峻的竞争和挑战。在创制新药的研究中寻找和发现具有生物活性的先导化合物是至关重要的环节之一，而对大量化合物进行活性筛选则是发现先导化合物的主要手段和途径。近年来，我们应用以受体为靶点的药物筛选模型筛选新药技术，已取得了一定的经验。所谓受体配体结合技术，就是利用从器官中分离出细胞膜受体或重组受体技术制备的受体作为筛选模型，利用受体和配体结合的高度特异性以及放射性核素测量的高灵敏度的特点，用放射性核素标记配体（\*L），在一定的条件下，使其与受体（R）结合，形成受体——配体复合物（R·\*L），通过测量 R\*L 的放射性，达到了解受体的结合活性的目的，使用这种技术测定标记配体的类似物和受体的亲和力，来比较一系列的化合物与受体结合的亲和力。由于受体配体结合分析操作快速，简便，药品用量少，可作为药物构效关系研究的工具。通过大量类似活性药物结构的化合物研究，不难总结出构效关系，明确定位出药物活性的分子部位，指导化学合成，研制安全有效的新型特异性药品提供可靠的评价手段。我们利用这种技术已建立了二十六种受体配体结合技术模型，并在这些模型上分别筛选到了有价值的亲和力大小和功能活性的新化合物参数，从而大大加快了先导化合物发现的进程。

## 体外神经干细胞三维药物筛选模型的构建

关水<sup>1</sup> 陆瑞欣<sup>1</sup> 刘天庆<sup>1</sup> 马学虎<sup>1</sup> 崔占峰<sup>2</sup>

<sup>1</sup>大连理工大学干细胞与组织工程研究室 辽宁 大连 116024; <sup>2</sup>牛津大学科学与工程系 英国 牛津

研究目的：建立中药对神经干细胞诱导转变为神经细胞的体外模型，不仅对研究脑的发育和分化以及神经系统疾病的治疗具有重要价值，而且也有助于了解中药的作用机制，为中药的临床应用提供坚实的科学依据。本研究评价体外海马神经干细胞在胶原凝胶内的生长情况，探讨胶原凝胶作为神经系统组织支架材料的可行性，以建立适合于干细胞药物筛选及作用机理研究的三维培养模型。研究方法：①细胞培养：体外培养来源于孕 13 天胎鼠的海马部位神经干细胞，传至第三代；根据胶原的特性，把神经干细胞均匀混合于胶原的预凝胶溶液中，便可形成“细胞-胶原”的凝胶三维结构。②检测指标：倒置相差显微镜和激光共聚焦显微镜观察胶原凝胶中神经干细胞的生长、伸展情况；通用免疫细胞化学方法及荧光显微技术鉴定神经干细胞，BrdU 染色标记增殖的细胞；采用 CCK-8 法及 Live/Dead Viability/Cytotoxicity Kit 试剂盒检测神经干细胞不同培养条件下的生存和增殖能力，筛选出最佳的胶原工作浓度。结果：①倒置相差显微镜下观察发现胶原凝胶中的神经干细胞生长状态良好；②胶原凝胶中的神经干细胞大部分呈 Nestin、BrdU 阳性；③与悬浮二维培养方式相比，三维胶原凝胶更利于神经干细胞的生存及增殖；④通过 CCK-8 法筛选出最佳的胶原浓度为 0.5mg/ml。结论：神经干细胞在胶原凝胶中生长良好，适合于构建干细胞药物筛选的三维培养模型。

## 纳米金作为药物载体的初步研究

梁菊 刘秋伟 尹卫平

河南科技大学化工与制药学院 洛阳 471003

鉴于纳米金的低毒性、尺寸的可控性<sup>[1]</sup>和表面修饰的简易性<sup>[2]</sup>，我们初步探讨了纳米金作为药物载体的可行性。实验采用经典 Frens 法，利用柠檬酸钠还原氯金酸制备纳米金溶胶，透射电镜分析其粒径为 20-30nm，光谱扫描发现其最大吸收峰位于 528nm 处。随后我们采用直接和间接修饰的方法用巯基乙酸修饰纳米金，将得到的巯基修饰的纳米金和未修饰纳米金与盐酸黄连素进行偶联，发现未修饰的纳米金可以和盐酸黄连素很好的偶联，

且中性条件下偶联效果最理想,表现在其最大吸收峰红移到 534nm。分析原因,可能是纳米金表面由于吸附柠檬酸根离子自身带负电荷<sup>[1]</sup>,可与带正电荷的盐酸黄连素在中性条件下较好偶联。但修饰后纳米金由于自身电荷发生改变,与盐酸黄连素偶联不理想。最后我们对被偶联前后的药物进行了抑菌活性检测。发现偶联前后药物活性变化不大。初步说明纳米金可以作为药物的理想载体。本研究的最终目的旨在开发药物新载体,来提高药物的稳定性与药性,延缓体内消除速度和降低被人体网状内皮系统巨噬细胞吞噬的几率,从而提高靶向病变组织的药物浓度和治病疗效,为开展纳米金联合药物的研究奠定基础。

## 新技术新方法

### 用 CD40 高表达细胞膜色谱模型筛选抗动脉粥样硬化中药的活性成分

林蓉 杨广德 王维蓉 贺浪冲

西安交通大学医学院药理系 西安 710061

**目的:** 细胞膜色谱 (Cell Membrane Chromatograph, CMC) 技术是一种研究药物与靶体 (包括受体) 相互作用的亲和色谱分析技术。它是将活性细胞膜固定在特定载体表面,制备成细胞膜固定相 (CMSP),用液相色谱的方法研究药物或化合物与固定相上细胞膜及膜受体的相互作用。所以特别适用于中药药物有效部位及活性成分的筛选。但是 CMC 法使用的自然生物膜中存在多种活性蛋白,化合物可能与多种受体或通道蛋白结合,所以缺乏特异性、靶向性而 CD40-CD40L 是 As 疾病相关基因,阻断 CD40-CD40L 炎症信号通路为抗 As 药物作用靶点,因此建立 CD40 高表达的 CMC 模型,其方法更具有应用价值。我们建立了 CD40 高表达细胞膜色谱模型,对经典抗 As 中药丹参进行特异性、靶向性筛选,以期发现其活性抗动脉粥样硬化成分。从而为中药筛选提供了方法和途径,为中药现代化提供了新思路。**方法:** 构建 CD40 高表达的内皮细胞(ECV-304),制备细胞膜固定相,应用 CD40 高表达的内皮细胞膜色谱模型筛选丹参中抗动脉粥样硬化的有效成分。**结果:** 丹参酯溶性和水提取部位均存在对 CD40 高表达细胞膜的亲和作用,而由丹参酯溶性和水提取部位中分离得到成分丹参酮IIA、丹参酮 I A 和丹参素,用洛伐他汀作为对照药物,用 CD40 高表达的 CMC 模型对丹参的不同极性部位进行筛选。色谱图结果发现,酯溶性部位、水萃取部位和洛伐他汀有类似的色谱保留特性,经鉴定这些活性成分是丹参酮IIA、丹参酮 I A 和丹参素。CMC 法使用的自然生物膜中存在多种活性蛋白,化合物可能与多种受体或通道蛋白结合,即包括特异性结合,也包括非特异性结合。随着分子生物学技术的发展,通过基因克隆和细胞转染技术可方便地获得细胞膜高表达某一蛋白的细胞株。本实验将 CMC 法与细胞和分子生物学方法相结合,根据 CD40 是 As 相关的靶基因,构建了高表达 CD40 的内皮细胞,然后用 CD40 高表达的细胞制备细胞膜色谱柱,应用 CD40 高表达细胞膜色谱柱对丹参中抗 As 的有效成份进行筛选。**结论:** CD40 高表达细胞膜色谱模型可用于抗动脉粥样硬化药物的筛选。

### 西洋参皂甙的生物合成研究进展

孙超 陈士林

中国医学科学院药用植物研究所 北京 100193

西洋参为名贵中药材,中国是西洋参的第一大消费国和第二大生产国。皂甙是西洋参的主要活性成分,也是影响西洋参品质的主要因素。目前分离得到的西洋参皂苷已超过 30 种,不同皂苷具有不同的药理作用,主要包括抗肿瘤,抗氧化,抗衰老,抗疲劳,增强免疫力,改善心血管系统功能等作用。由于一些种类的西洋参皂苷天

然含量较低,无法通过化学提取获得足够的产物来完成临床试验,更无法满足正常药物生产的需要。通过化学方法合成皂苷受到成本和产量的制约,利用植物细胞培养或毛状根培养生产皂苷的研究已经进行了数十年,但始终未获得突破性进展,与天然西洋参相比,培养物中的皂苷含量没有显著提高。因此,皂苷来源的困难成为制约皂苷药物研究和生产的瓶颈。在西洋参中,皂苷合成途径是异戊二烯代谢途径的一个分枝,分枝点为氧化鲨烯经氧化鲨烯环化酶催化形成达玛烷或 $\beta$ -香树脂,然后经过多个细胞色素 P450 和糖基转移酶的催化作用形成终产物皂苷。本课题组在国内外率先开展了对西洋参皂甙合成相关基因的克隆和研究。已经完成了达玛烷合成酶和 $\beta$ -香树脂合成酶的克隆和鉴定工作,并通过 cDNA 文库构建,EST 序列分析和 RACE 扩增等方法获得了多个细胞色素 P450 和糖基转移酶的候选基因,有关基因的进一步筛选和鉴定正在进行中。本研究计划将氧化鲨烯环化酶, P450 单加氧酶和三萜糖基转移酶等三种关键酶基因导入氧化鲨烯高产酵母菌株,在酵母体内重建皂甙合成途径,利用内源性氧化鲨烯合成西洋参皂甙。利用代谢工程方法在酿酒酵母中生产西洋参皂苷具有成本低,周期短,产量高的优点,将是一种大规模生产西洋参皂苷的理想方法。

## Preparation and Cytotoxic activity of Hydroxycamptothecin Nanosuspensions

Wei-Jing Liu<sup>1</sup>, Yong-Xing Zhao<sup>1</sup>, Hai-Ying Hua<sup>2</sup>

1. College of Pharmaceutical Science, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan Province 450001, PR China

2. Academy of Medical and Pharmaceutical Sciences of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan Province 450052, PR China

This manuscript describes the preparation, characterization, and cytotoxic activity of hydroxycamptothecin nanosuspensions. The precipitation-combined high-pressure homogenization (PCH) technique was evaluated for formulation preparation. Based on the homogenization pressure and number of cycles, the process with 10 cycles at 18000 psi of homogenization pressure was found to be the most efficient method to achieve consistent particle size reduction. It was used to prepare nanosuspensions for characterization and evaluation of the formulation performance. Lyophilization of hydroxycamptothecin nanosuspensions, the shape and crystal form of the drug, and antiproliferative activity were also studied. The mean particle size of the reconstituted freeze-dried powder was small and uniform. The freeze-dried powder might be a good choice for intravenously administrating poorly soluble hydroxycamptothecin, which proved to have the higher cytotoxicity against the cancer cells than hydroxycamptothecin injections ( $p < 0.001$ ). Overall, these studies have demonstrated that the PCH technique can be used successfully to prepare hydroxycamptothecin nanosuspensions.

## 利用 ForteBio Octet Red 多通道生物分子相互作用系统非标记实时检测小分子和蛋白质结合的动力学常数

杨淑静

冷泉港生物科技股份有限公司 北京 邮编 100037

测定评价小分子和治疗靶点蛋白结合的亲和力在药物开发和先导化合物优化过程中很重要。我们使用一种新的无需标记的方法来检测碳酸酐酶和一些小分子抑制物 (<500 Daltons) 结合的动力学常数, 包括速率常数和亲和常数。

ForteBio 的 Octet RED 系统检测生物分子相互作用时不需要标记,八通道同时检测,待检测的样品可以放在96孔板中。该系统检测时基于生物膜层反射光干涉技术 (BioLayer Interferometry), 简单地讲, 光纤制成的生物传感器 (Biosensor) 底端覆盖了生物分子相容层, 可以用来固定相互作用分子中的一个, 形成生物膜层, 当具有一定带宽的可见光入射生物膜层时, 根据薄膜干涉的简化模型和光线反射折射定律, 入射光线在生物膜层表面被分成两部分, 形成第一部分反射光, 进入生物层的透射部分在生物层的第二个界面产生反射, 形成第二部分反射光。光束垂直入射时, 两部分反射光形成干涉波, 被光谱仪所检测。相互作用发生时, 生物层厚度增加, 反射光干涉光谱曲线整体向波长增加方向移动。分子结合或解离时, 都会导致干涉曲线的漂移, 这种变化可以被实时监测。

实验的流程很简单: 生物素化的碳酸酐酶被固定在具有高亲和力的亲和素传感器表面, 同时检测几个分子量从 150-350Da 的小分子和靶蛋白的结合和解离反应, 由此得到的这些化合物和碳酸酐酶结合的动力学常数 (亲和常数从 mM 到 nM) 和已经发表的结果一致, 即 Octet RED 和其他基于 SPR 技术开发的非标记实时检测生物分子相互作用的仪器得到的结果是一致的。因此 Octet 系统可以非标记实时检测生物分子相互作用, 简单快速, 通量高, 结果可靠。

Octet 系统应用广泛, 可以检测的相互作用包括: 抗体-抗原、多肽-抗体、筛选抗体对、基因工程片段抗体-抗原、抗原表位定位、抗体定量、受体-配体、蛋白-蛋白、蛋白-多肽、蛋白-小分子、蛋白定量、DNA-DNA、DNA-蛋白质、核酸适体-其他分子、条件优化 (抗体生产、细胞培养、生物反应器) 等等。

## 小动物体内可见光成像技术及其在药物研发领域的应用

赵春林

冷泉港/北京龙脉得生物技术有限公司 北京 100037

小动物体内可见光成像是小动物体内的细胞运动, 基因表达及蛋白行为等生物学现象进行直接观察的一种新方法。利用一套非常灵敏的光学成像系统, 我们可以观察荧光素酶基因或者荧光蛋白以及其他荧光染料标记的细胞, 基因, 蛋白或其他大分子在活体动物体内的表达, 生长, 运动和相互作用。因为其极高的灵敏度, 安全性及使用方便等特点, 小动物体内可见光成像技术在基础医学和药物研发等领域得到了广泛应用。短短几年内, 利用这个技术已经发表了六百多篇文章, 在 Nature 和 Science 上就发表了近五十篇文献。最近的一篇文章中, 利用这个技术, 研究人员在小动物体内观察到了荧光素酶基因标记的一个细胞, 展现了这个技术在动物体内生物学现象研究领域的极大潜力。基于基础医学研究的成功, 这个技术也广泛的应用于药物研发领域, 尤其是抗肿瘤药物的早期疗效和抗生素的研发等领域。仅在最近几年, 就有十一个肿瘤药物和抗生素的研发在上报给美国 FDA 的实验数据中采用了小动物体内成像技术。这个技术主要应用于药物研发的以下几个方面:

1. 观察肿瘤细胞的早期生长和转移及其对药物的反应
2. 观察相关基因的表达, 建立病理模型, 研究其对药物的反应
3. 观察病毒和细菌对体内的侵染及以病毒为载体的基因治疗在体内的表达
4. 观察蛋白及多肽药物在体内的相互作用及其药代动力学研究
5. 观察干细胞, 免疫细胞, 神经细胞和其他细胞在动物体内的生长, 转移和其他变化

这次的讲座将会对这个技术的进展和其在基础医学及药物研发等相关领域的应用进行回顾和总结, 比较小动物体内可见光成像技术和其他相关技术的一些特点, 尤其会侧重于其在药物研发领域的应用。同时, 我们也会对小动物体内可见光成像领域的发展和应用前景进行展望。

## 微管道内溶液的等效电阻与外加电压相关性的研究<sup>1</sup>

曹晋君 高飞

研究和掌握微细通道内溶液的电特性,对于研究、开发微流控芯片进行生物医疗分析,食品安全检测及环境监测等具有十分重要的现实意义。本文搭建测量微米级管道内溶液电阻的测量平台,研究微管道内溶液的等效电阻,建立了在直流小电压作用下,微管内溶液的等效电阻与外加电压的相互关系,结果表明在一定的电压范围内,微管内溶液的等效电阻与施加在两端的电压近似成反比例关系,随着电压值的增大,等效电阻值迅速减少,最后稳定在某一恒定阻值,该阻值近似为对应本体溶液的电阻值。研究结果表明在直流小电压作用下,电解质溶液的电解及电极化作用对溶液的等效电阻有重要的影响,随着电压的增大,这种影响会迅速减少,临界点电压为4~6V。

## 黏质沙雷氏菌产几丁质酶二步发酵工艺的优化

贺淹才<sup>1</sup> 施腾鑫<sup>1</sup> 刘嘉<sup>1</sup> 舒静波<sup>2</sup> 周娟<sup>1</sup>

1. 华侨大学工业生物技术研究所 泉州 362021

2. 华侨大学分子药理学研究所 泉州 362021

采用二步发酵法对一株黏质沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*) 的产几丁质酶发酵条件进行研究,以期在已优化的一步发酵的基础上酶活力得到进一步提高。在二步发酵产酶的过程中,通过单因素法优化得到二步发酵培养基的最适碳源、氮源浓度和菌龄,同时选取发酵时间、初始 pH、接种菌体量和装液量 4 个因子进行正交试验。最终得到的最优条件为:胶体几丁质 0.8%,酵母粉 1.0%,菌龄 12h,发酵时间 72h,初始 pH8.5,菌体干重 90mg,装液量 20mL。在此条件下,酶活力可达  $1.021\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。在二步发酵工艺中另添加 0.1%纤维素,酶活力可提高至  $1.128\text{U}/\text{mL}$ ,比一步发酵提高了 1.27 倍。

## 常压氩等离子体喷枪对大肠杆菌灭菌效应及机理的研究

贾向红 杨景花 万军 赵伶俐 王守国

中国科学院光电研究院 100010

研究目的:近年来,利用低温等离子体对高温敏感材料的灭菌取得了很大的进展,但是由于等离子体灭菌技术尚处在研究阶段,因而对其杀菌机制还没有公认的理论。本研究的目的就是利用本实验室自行研制的常压氩等离子体喷枪,(该喷枪主要用于由真菌、病菌引发的皮肤病治疗、局部菌体污染的消毒等方面),选用大肠杆菌作为研究对象,研究等离子体喷枪对大肠杆菌的灭菌效果及分子生物学机理。研究方法:我们采用氩气作为等离子体喷枪的工作气体;选用 40kHz 正弦高频电源,峰峰值达到 2000 伏;利用石英管和金属电极引发介质阻挡放电。大肠杆菌预先在培养皿中培养 36h,我们利用氩等离子体喷枪照射大肠杆菌,处理不同的时间。每个处理时间做 2 组,一组用于分析其致死率;另一组提取其 DNA,利用琼脂糖凝胶电泳观察等离子体处理后大肠杆菌 DNA 的损伤情况。研究结果:常压氩等离子体喷枪可以迅速杀灭大肠杆菌,由于电子、氩离子等的共同作用,造成大肠杆菌 DNA 链断裂可能是引起菌体死亡的原因。

## 分子模拟与新药虚拟评价

徐为人 汤立达 符海霞 刘冰妮 刘鹏

天津药物研究院 天津市新药设计与发现重点实验室 天津 300193

分子模拟是基于分子力场对各种性质进行理论模拟技术的总称。“计算机辅助药物设计”属于分子模拟技术在药物发现的方面的应用，是分子设计和虚拟筛选技术的集合，传统上主要用于对活性的“虚拟筛选”。随着人们对药物认识的深入，以及尽早认清化合物成药性的要求，分子模拟技术已经由活性向毒性、药代性质方面渗透，由发现阶段向开发阶段渗透，由“虚拟筛选”向“虚拟评价”发展。

药物虚拟筛选一般是在发现阶段应用，以少量方法来评价大量分子，目标是筛出理想的分子再进行合成、活性筛选等等。药物虚拟评价在技术上与之有共同之处，主要在优化阶段和临床前开发阶段应用，通过大量模型和方法评价少量分子，寻找分子的潜在活性、毒性及药代的规律，帮助提高动物实验与临床结果的相关性。药物虚拟评价是分子模拟在新药领域应用的又一发展趋势，随着理论方法和技术的成熟和推广，将发挥越来越重要的作用。

#### (1) PDF 抑制剂的虚拟筛选

目的：利用肽脱乙酰基酶（PDF）结构寻找先导化合物。方法：选取 PDF 酶晶体结构，通过对其作为靶标的合理性考察，选择多个结构为对接模板，采用 3 种方法对设计的分子进行了虚拟筛选，选择适量分子进行合成，并实际测定了抗菌活性。结果：根据对接得分选择了 2 类代表性结构进行合成，其中活性较好的化合物抗肺炎克雷白菌的 MIC 小于 1 $\mu$ g/ml。结论：利用虚拟筛选方法比较容易得到活性化合物。

#### (2) 环烯醚萜类成分活性作用的虚拟评价

目的：利用理论对接方法对环烯醚萜类成分的可能活性进行虚拟评价。方法：选取 6 个甙子环烯醚萜类成分，收集现有常见靶标的晶体结构，利用 Schrödinger 软件进行计算，以分级标准评价选择性。结果：环烯醚萜类的选择性靶标涉及癌症、炎症、肺结核、阿尔茨海默病、痴呆、糖尿病、哮喘、慢性阻塞性肺、心衰、高血压、自身免疫病、抑郁症、疟疾等疾病。糖基对于环烯醚萜类的作用具有重要的影响，饱和五元环对于提高选择性具有较大意义。结论：虚拟评价发现的环烯醚萜苷的活性作用与报道的实验结果吻合较好，表明该技术具有较大的实用性。本研究为利用理论手段研究中药的作用机制进行了有益的尝试

## 大鼠心肌细胞培养方法的改良及 PE 诱导心肌肥大

许家林

中国医学科学院基础医学研究所 中国协和医科大学基础医学研究院 北京 100005

心肌肥大是指心室体积和重量的增加，是心肌细胞对外界环境改变的一种适应性反应，可在短时间内增加心输出量、提高泵血功能，使机体适应外界环境的变化。但心肌细胞持续肥大，会导致心肌收缩力下降，最终引起心力衰竭。心肌肥大作为心血管疾病中危害人类健康的主要因素之一，探讨其发病机制，对于预防和治疗心肌肥大具有重要意义。大鼠心肌细胞对于研究心肌肥大非常重要，可使某种单个影响因素只作用于相互分离的心肌细胞，简化研究系统的复杂性。这对于研究治疗心肌肥大药物的药理学作用极其重要，有利于深入研究其药理学方面的分子机制，为今后的临床应用提供有力证据。现今研究者多数是使用胰酶消化液多次反复消化来分离心肌细胞。该方法由于胰酶对心肌细胞有很大损伤，影响了心肌细胞的生长。使用胶原酶替代胰酶进行大鼠心肌细胞消化提取，可获得具有较高细胞活力的心肌细胞。【实验方法】出生后 1~3 天的大鼠乳鼠，提取心脏放入预冷的 D-Hanks 中。冲洗干净心脏表面的血液，去除心房和血管组织，将心尖部分放入盛有预冷的 D-Hanks 的烧杯中，充分剪碎。加入适量胰酶（50  $\mu$ g/mL），4 $^{\circ}$ C，消化 16-20 小时。从冰箱中取出经过预消化的心肌组织，去除胰酶消化液。加入胶原酶消化液（0.1%），37 $^{\circ}$ C，30~45 min，每 5 min 轻吹心肌组织。放置室温，继续消化 20min（可延长至 60 min），使消化充分。静置 3 min，收集细胞悬液；在沉淀中加入 5mL 无血清培养基，轻吹组织沉淀，静置 3 min，收集

细胞悬液；将得到的细胞悬液离心，1000rpm，5min。10%FBS DMEM/F12 培养液重悬细胞，400 目细胞滤网过滤。将细胞悬液加入培养瓶中，37℃，5%CO<sub>2</sub>，培养 1.5 小时。吸出培养液直接加入经过层粘连蛋白（Laminin, 10 μg/μL）包被的培养皿中，调整细胞密度至 5×10<sup>5</sup>/mL，并加入 5-溴-2'-脱氧尿苷（BrdU, 100 μM）抑制成纤维细胞生长。24 小时以后进行细胞换液，可进行后续实验。【实验结果】该方法得到的心肌细胞，没有经过 37℃胰酶消化，保留了较高的细胞活力。而且接种的心肌细胞多为单个细胞，比较适合后续的心肌肥大药理学方面的研究。使用 100 μM 的苯肾上腺素（phenylephrine, PE），诱导心肌细胞 24 小时，细胞面积增大约 47%，得到较好的诱导心肌细胞肥大效果。

## 毒理及其它

### 线粒体对生精细胞凋亡的调控

季宇彬 吴盼 郎朗

哈尔滨商业大学生命科学与环境科学研究中心，哈尔滨商业大学药物研究所博士后科研  
工作站抗肿瘤天然药物教育部工程中心 哈尔滨 150076

近年来线粒体参与细胞凋亡的发生越来越引起人们的重视。一些学者发现，线粒体在生精细胞的凋亡中也发挥非常重要的作用。Narimon 等通过小鼠 Apaf-1 基因敲除发现，有 5% 的小鼠能发育成熟。在成年鼠中，大脑发育正常；在雄性成年鼠中，精原细胞的降解导致了精子的减少，说明 Cyt c 介导的细胞凋亡途径，对神经的发育不是必要的，而对生殖的发育却是必需的。Li 等通过皮下注射的方式给予大鼠可卡因的实验说明了 Cyt c 从线粒体中释放，进而激活 caspas-9 和 caspase-3，在可卡因诱导的生精细胞凋亡中起重要作用。Matsuki 等将小鼠睾丸暴露于 42℃ 的热水中 15 min，然后用 TUNEL 和 Western blot 方法检测发现，生精细胞凋亡比未经处理的增多，而释放到细胞浆中的 Cytc 也增多。分离的生精细胞在 42℃ 培养 1 h 后，结果相同，但在支持细胞（Sertoli 细胞）却未见 Cytc 的增多。用美满霉素作用于热应激诱导的生精细胞时发现，Cyt c 释放减少，说明在生精细胞凋亡中，线粒体释放 Cytc，导致凋亡途径的激活是非常重要的。Vera 等通过热应激诱导小鼠睾丸生精细胞的凋亡，应用 FasL 和 Fas 分别突变而致功能缺失的小鼠发现，睾丸生精细胞凋亡未被阻断。另外，还发现对热敏感的野生型小鼠生精细胞中，Bax 从细胞浆中重新定位在核外，并伴随着线粒体在核外聚集，进而 Cyt c 释放，激活 caspase-9 和 caspase-3，证明在热应激诱导小鼠睾丸生精细胞凋亡中，线粒体途径是主要的凋亡途径。线粒体调控作用已成为细胞凋亡研究的中心，线粒体及其相关蛋白对细胞凋亡作用的研究将更深入。生精细胞凋亡的线粒体调控对某些生殖疾病和遗传疾病的机理及其防治具有重大的意义，需要进一步深入探讨。

### 放射增效剂. II 号致突变性研究

韩英 刘晓秋 赵阿津

中国医学科学院中国协和医科大学放射医学研究所 天津 300192

研究目的：II 号药（6-硝基吡啶类化合物）是放射所药物室合成的一种放射增敏剂，经体内外实验证明，有很好的放射增敏作用。为了临床安全用药，我们用 Ames 试验、CHO-K 细胞染色体畸变试验及小鼠微核试验对本化合物的致突变性进行了研究。材料与方法：II 号药由放射医学研究所药物室合成，淡黄色结晶，纯度大于 98%，熔点 192~194℃ Ames 菌株为组氨酸营养缺陷型鼠伤寒沙门氏菌 TA97、TA98、TA100、TA102。CHO-k 细胞为中国仓鼠卵巢细胞。实验动物选用纯系 615 小鼠。Ames 试验：采用平板掺入法，分别在加与不加代谢活

化物 (S<sub>9</sub>mix) 两种条件下进行测试。5 个剂量组的受试物剂量分别为 5 000 μg/皿、500 μg/皿、50 μg/皿、5 μg/皿和 1 μg/皿,同时设自发回变组、阴性对照组(溶媒对照)和阳性对照组,后者分别采用敌克松(Dexon)和 2-氨基芴(2-AF)。每组 3 个平皿,做 2 次独立测试,实验结果以回变菌落数表示。小鼠骨髓细胞微核试验:选纯系 615 小鼠雄性 40 只,雌性 30 只,随机分为 5 组,受试物的 3 个剂量组分别为 25、50、125 mg/kg.bw,另设阴性对照组(生理盐水 0.2 ml/只)和阳性对照组(环磷酰胺 30 mg/kg)。腹腔注射给药 2 次(间隔 24 h)6 h 后将动物颈椎脱臼处死,取双侧股骨骨髓制片,计数 1000 个骨髓嗜多染红细胞中的含微核细胞数,计算微核率。染色体畸变试验:CHO-K 细胞用 DMEM 培养液加 10% 小牛血清培养成单层细胞。首先用 II 号药测得细胞的 50% 生长抑制浓度 (IC<sub>50</sub>),以 IC<sub>50</sub> 为试验最高浓度,设 250 μg/ml、120 μg/ml、56 μg/ml 和 31 μg/ml 4 个剂量组、阴性对照组(生理盐水)及阳性对照组(N-甲基-N-硝基-N 亚硝基胍 MNNG)。代谢活化组 II 号药与细胞作用 6 h 后换细胞液继续培养 18 h,非活化组 II 号药与细胞分别作用 24 及 48 h,收集细胞,常规方法制片,每一实验浓度分析 100 个中期相细胞,统计染色体畸变率(%).结果判定按新药临床前安全性评价一书,即细胞畸变率 <5% 为阴性,>10% 为阳性。结果:Ames 试验:受试物各剂量组实验菌株在加与不加 S<sub>9</sub> 代谢活化系统条件下,回变菌落数均未超过自发回变菌落数的 2 倍,且无剂量-反应关系。微核试验:II 号药各剂量组对小鼠骨髓嗜多染红细胞微核率诱发率均未见明显增加,与阴性对照组比较无显著性差异( $p>0.05$ )。CHO-K 细胞染色体畸变试验:在不加 S<sub>9</sub> mix 条件下,各剂量组染色体畸变率均低于 5%,在正常范围内;在加 S<sub>9</sub> mix 条件下,II 号药浓度为 250 μg/ml 时,染色体畸变率为 8.0%,当 II 号药浓度为 120 μg/ml、56 μg/ml 及 21 μg/ml 时,细胞染色体畸变率均低于 5%。结论:II 号药不诱发鼠伤寒沙门氏菌回复突变,不引起小鼠微核率增高,但在活化系统存在下,高剂量组 II 号药可引起 CHO-K 细胞染色体畸变率轻度增高。表明 II 号药在中低剂量条件下无致突变作用,在高剂量条件下对体细胞有可疑遗传毒性。

## 放射增效剂 9402 号对小鼠小肠隐窝上皮细胞增敏作用的研究

刘晓秋 韩 英 赵阿津

中国医学科学院中国协和医科大学放射医学研究所 天津 300192

研究目的:9402 号是以烟酰胺为母体化合物合成的烟酰氨基酸类化合物,其放射增敏作用比母体化合物烟酰胺效果更好,而且毒性更低。为了观察 9402 号对正常组织是否有增敏作用,我们研究了 9402 号对小鼠小肠隐窝上皮细胞的增敏作用。材料与方法:实验动物:昆明种小鼠,由中国医学科学院实验动物研究所提供,体重 18-22g。许可证号:SCXK 京 2004-0001。药物:9402 号药(N-烟酰基-L-天门冬氨酸),为白色块状晶体,含量大于 99%,熔点 182~191℃。由中国医学科学院放射医学研究所药物室合成。照射条件:<sup>60</sup>Co γ 射线,全身照射,剂量率 81.79cGy/min。给药及实验分组:实验分为单纯照射组,加药照射组和正常对照组。照射剂量分别为 7Gy,9Gy,11Gy,13Gy,和 15Gy,每一剂量组 8 只小鼠。照射前 40min,加药照射组腹腔注射 9402 号 1000mg/kg(生理盐水稀释),照后 3.5 天断颈处死小鼠取小肠(幽门下 3cm 处取 2cm 长度,分 5 段,每段做 3 张切片),10%福尔马林固定后石蜡包埋,HE 染色。实验结果的评价方法:按 Withers HR 方法镜下计数小肠隐窝数目。隐窝再生标准为:隐窝细胞数>10 个、核大、胞浆少、嗜碱性明显以及有核分裂象、细胞呈密集状。不能再生的隐窝为无细胞或细胞分散、增大、胞浆嗜酸性。统计学处理:全部实验数据经计算机统计学处理拟合作图,求增敏比。结果:正常组小鼠小肠肠环组织切片可见小肠绒毛尖致密,排列有序,隐窝深邃,腺体丰富。绒毛上皮细胞整齐,形态正常。照射后,由于隐窝底部的干细胞失去增殖能力,绒毛上皮变性肿胀,胞浆空泡,胞核崩解。照后 3.5 天处死小鼠开腹取材,镜下可见照射组和加药照射组自 11Gy 起肠管明显充血,水肿,肠壁变薄,随照射剂量的加大,上述改变逐渐加重,两组小鼠肉眼检查所见差别不大。镜下 7Gy 组小肠隐窝上皮细胞与正常组无明显差别,随照射剂量的增大,小肠粘膜绒毛逐渐变短,存活隐窝上皮细胞数量逐渐减少直到绒毛变平,消失。根据照射组和加药照射组小鼠小肠再生隐窝数量的变化,

得出照射组及加药照射组的剂量生存曲线,两条曲线的直线部分斜率之比为((6.779/6.6518), 增敏比(SER)为 1.02。对两条剂量生存曲线的直线部分进行回归分析,得出加药照射组回归方程为  $Y = -6.6518X + 96.878$  ( $Y$  为再生隐窝数,  $X$  为照射剂量, 单位: Gy,  $r = -0.96113$ ), 照射组的回归方程为  $Y = -6.779X + 96.725$  ( $r = -0.96291$ )。结论: 9402 号与  $^{60}\text{Co}\gamma$  射线联合作用, 对小鼠小肠隐窝上皮细胞的增敏比为 1.02, 其增敏比明显低于对肿瘤细胞的增敏比, 表明 9402 号对正常小肠粘膜隐窝上皮细胞无明显增敏作用。

## 9401 号药对小鼠皮肤放射反应试验

赵阿津 刘晓秋 韩 英

中国医学科学院中国协和医科大学放射医学研究所 天津 300192

研究目的: 烟酰胺是近年来国内外研究较多的放射增敏剂, 经研究发现, 它对体外培养的恶性肿瘤细胞以及对人类恶性肿瘤移植瘤均有明显的放疗增敏作用, 而且毒性低。9401 号是以烟酰胺为母体化合物合成的烟酰氨基酸类化合物, 其放射增敏作用比母体化合物烟酰胺效果更好, 而且毒性更低。为了观察 9401 号对正常组织是否有增敏作用, 我们研究了 9401 号对小鼠皮肤的放射增敏作用。材料与方法: 实验动物: 选用 ICR 小鼠, 由中国医学科学院实验动物研究所提供, 体重 18-22g。许可证号: SCXK 京 2004-0001。药物: 9401 号 (N-烟酰基-亚氨基二乙酸), 为白色粉状晶体, 含量大于 99%, 熔点 182~191℃。由中国医学科学院放射医学研究所药物室合成。照射方法: 照射采用  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  射线垂直照射, 剂量率 81.79cGy/min。一个剂量点一次照射 4 只小鼠, 将小鼠放入特制的有机玻璃模型内固定, 仅照射小鼠后腿, 其它部位用铅快保护。采用 Denekamp9 单次照射法。实验动物分组: 实验分为单纯照射组和加药照射组。动物给药剂量为 1000mg/kg 体重(半数致死量的四分之一), 药物浓度为 100mg/ml, 于照射前 2-3 小时一次腹腔给药。照射剂量分别为 1Gy, 2Gy, 3Gy, 4Gy, 5Gy 和 6Gy, 每一剂量组 8 只小鼠。结果: 对正常组织损伤观察常用小鼠的后腿皮肤, 照射小鼠一侧后腿而以其对侧为对照, 照后每天观察皮肤反应情况, 用不同剂量照射并根据下列表中适合的刻度记分。单次照射的平均皮肤反应是照射后 8 到 29 天对每天皮肤反应打分的平均值。以开始 30 天内皮肤反应的平均值作为纵坐标, 以剂量为横坐标绘制剂量-效应曲线。两条曲线的直线部分斜率之比为 (0.1220/0.10933), 增敏比(SER)为 1.12。对两条剂量生存曲线的直线部分进行回归分析, 得出加药照射组回归方程为  $Y = -0.122 + 5.0486X$  ( $Y$  为照射剂量, 单位: cGy,  $X$  为平均皮肤反应,  $r = 0.93947$ ), 单纯照射组的回归方程为  $Y = -0.10933 + 5.0171X$  ( $r = 0.93767$ )。结论: 9401 号药与  $^{60}\text{Co}\gamma$  射线联合应用, 对小鼠皮肤的放射增敏比为 1.12, 其增敏比明显低于对肿瘤细胞的增敏比, 表明 9401 号药对正常小鼠皮肤无明显增敏作用。

## 9401 号对 ICR 小鼠肝癌 (H<sub>22</sub>) 放射增敏效应的研究

刘晓秋 韩 英 赵阿津

中国医学科学院中国协和医科大学放射医学研究所 天津 300192

研究目的: 9401 号药是以烟酰胺为母体化合物合成的烟酰氨基酸类化合物, 经研究发现, 9401 号药对体外培养的恶性肿瘤细胞有明显的放射增敏作用。本文采用动物肿瘤模型将进一步观察 9401 号药的放射增敏效应。材料与方法: 动物及模型: 选用 ICR 小鼠, 鼠龄 7-8 周, 体重 18-20 克, 雌雄各半。瘤株为移植性实验肿瘤肝癌 (H<sub>22</sub>)。常规方法将瘤体从荷瘤小鼠体内取出, 制成瘤细胞悬液, 按细胞数  $1 \times 10^6$  接种于小鼠右腿外侧皮下, 每鼠 0.2 毫升, 待肿瘤生长至  $250 \pm 50\text{mm}^3$  时开始分组试验, 一般移植后 7-10 天即可。药物: 9401 号 (N-烟酰

基-亚氨基二乙酸), 为白色粉状晶体, 含量大于 99%, 熔点 182~191℃。由中国医学科学院放射医学研究所药物室合成。动物给药剂量为 1000mg/kg 体重 (半数致死量的四分之一), 药物浓度为 100mg/ml, 于照射前 2-3 小时一次腹腔给药。照射方法: 照射采用  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 射线垂直照射, 剂量率 81.79cGy/min。一个剂量点一次照射 4 只小鼠, 将小鼠放入特制的有机玻璃模型内固定, 仅照射荷瘤后腿, 其它部位用铅块保护。采用 Denekamp9 单次照射法, 分 10, 15, 20Gy3 个剂量点, 分别单次照射。实验动物分组: 将荷瘤小鼠随机分成 4 组, 其中单纯放射组及药物加放射组各分 3 个放射剂量亚组, 每组 6 只小鼠。(1) 空白对照组: 不加任何处理。(2) 单纯用药组: 腹腔注射 9401 号药。(3) 单纯放射组: 分 3 个剂量点照射。(4) 用药加放射组: 也分 3 个剂量点照射, 照射方法及剂量与单纯放射组相同, 给药方法及用量同单纯用药组。结果: 肿瘤生长曲线: 实验中每隔一天测量瘤体增长的体积, 直至肿瘤体积增长到开始实验时体积的 4 倍为止。根据 Steel 肿瘤体积计算公式: 体积=长 $\times$ 宽 $^2$ /2 计算, 计算并绘制肿瘤生长曲线, 比较各组肿瘤的生长情况。治疗前各组肿瘤平均体积间差异不显著 ( $P > 0.05$ )。肿瘤生长延迟 (TGD) 和放射增敏比 (SER): 肿瘤体积达到照射时体积 4 倍的天数, 减去对照组达到试验时体积 4 倍的天数, 为肿瘤生长延迟。单纯放射组的等效剂量除以用药加放射组的等效剂量, 为放射增敏比。从单纯照射组与用药加放射组的剂量效应曲线上, 可分别计算出不同肿瘤生长延迟天数的 SER, SER 分别 1.15, 1.30, 1.43, 平均值为 1.30。结论: 实验结果表明联合组肿瘤生长较单纯照射组延缓, 从两组的剂量效应曲线得出 SER 平均值为 1.30, 说明 9401 号药对小鼠肝癌有较明显的放射增敏作用。

## 孕中晚期咖啡因暴露对胎鼠宫内发育的影响及其胎盘损伤机制

周书 鲍冲 黄晶 胡静 张亚杰 刘耕 杨旭 汪晖  
武汉大学基础医学院药理学系 武汉 430071

目的: 建立孕中晚期咖啡因暴露的大鼠宫内发育迟缓 (IUGR) 模型, 观察咖啡因对胎鼠生长发育的影响, 并探讨其胎盘损伤机制。方法: 成年 Wistar 大鼠雌雄 2:1 合笼受孕, 孕鼠随机分为四组, 于孕第 12 天咖啡因灌胃 (20、60 和 180 mg·kg $^{-1}$ ·d $^{-1}$ ), 对照组给予等体积蒸馏水, 孕第 21 天处死孕鼠, 颈动脉取血, 记录各组胎仔的体重、身长、尾长和胎盘重量。透射电镜观察胎盘超微结构改变, 放免法测定孕鼠血浆血管紧张素 II (Ang II) 浓度, RT-PCR 检测胎盘血管紧张素受体 AT1 和 AT2 表达水平。结果: 与对照组比较, 咖啡因组胎仔体重、身长、尾长和胎盘重量均明显降低 ( $P < 0.01$ ), 且呈剂量依赖性; 中、大剂量组 IUGR 发生率明显升高, 分别为 19.6% 和 60.4% ( $P < 0.01$ )。透射电镜下见咖啡因大剂量组胎盘绒毛血管数量明显减少, 管腔狭窄, 滋养层细胞间间距缩小, 细胞损伤明显。孕鼠血中 Ang II 浓度高于对照组, 尤以大剂量组明显 ( $P < 0.01$ )。胎盘组织 AT2 的 mRNA 表达呈上升趋势, 而 AT1 无显著变化。结论: 孕中晚期咖啡因暴露可明显影响胎鼠的宫内发育, 提高 IUGR 发生率。母体血管紧张素 II 升高和胎盘血管紧张素受体 AT1 和 AT2 亚型之间的表达平衡破坏可能是咖啡因致胎盘血流异常和功能损伤, 最终造成 IUGR 发生的重要机制。

## 乌头类有毒中药的毒性基因研究

张仲林<sup>1</sup> 彭成<sup>2</sup>

1 成都医学院药理教研室 成都 610083

2 成都中医药大学 成都 610075

为了探讨乌头类有毒中药在基因层面的毒性及其毒作用机制, 为临床安全使用该类药物提供实验依据。根据国际 ICH 的要求, 在 SPF 实验条件下采用生川乌、生草乌和生附子水煎液灌胃 KM 种小鼠进行急性毒性实验。采

用基因表达谱技术,对小鼠心、肝、脾、肺和肾五种脏器的毒性进行全基因组描绘,应用 Cluster、GO 和 Pathway 等生物信息学手段对获取的数据进行综合分析并进行定量 PCR 验证。进行信息汇总与数据挖掘,结果显示可能的毒性及其毒作用机制如下:

1、离子通道调节失控:(1) Ca<sup>++</sup>通道:破坏 Ca<sup>++</sup>转运的 ATPase,造成 Ca<sup>++</sup>运输障碍,使得心脏细胞内局部浓度过高,造成严重的心脏毒性;使神经冲动传递过程中神经递质积累过多,造成神经元坏死等严重的神经毒性。该方面的影响可以使动物快速致死,推测可能是其毒性机理的首要方面。代表基因如 NM\_009723、NM\_016745 等。(2) 其他离子通道:降低转运 H<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>等离子的 ATP 酶的表达,会迅速导致能量代谢抑制、神经冲动传递抑制和心脏、神经元的细胞受损甚至死亡。H<sup>+</sup>的传递是有氧呼吸链产生能量的必要条件,Na/K 泵是细胞(特别是心肌细胞)维持能量代谢、离子平衡、神经冲动产生与传递的必要条件。当这些离子的转运出现障碍时,肌体应该会表现出明显的代谢毒性和神经毒性。代表基因如 NM\_009721、NM\_007509 等。以上离子通道基因涉及的脏器有心、脑、肝、肺、肾。

2、代谢紊乱:(1) 能量代谢:通过降低柠檬酸合酶的基因表达而抑制 TAC,使得有氧呼吸不能正常提供能量而引起脏器衰竭导致死亡;另外很多负责 H<sup>+</sup>运输的 ATPase 表达也受到抑制,这使得整个有氧呼吸通路特别是氧化磷酸化过程不能产生足够的能量。代表基因如 AB056479、AK003393 等。(2) 物质代谢:主要通过影响脂类的代谢和脂肪酸分化,造成肌体酮代谢异常,也有可能导致黏附斑、有氧呼吸聚合物中脂类含量异常影响正常功能。黏附斑的锚定作用、呼吸链聚合物的 H<sup>+</sup>传递功能都是依靠脂类辅助实现的。代表基因如 AF078667 和 BC018558 等。涉及的脏器有心、肺、脑。

3、细胞骨架改变:通过影响细胞的锚定、骨架使得细胞不能处于正常位置且形态发生改变而丧失正常的功能。这种影响会使得细胞的运动、分化、存活能力都大大下降。这种变化对肌体的影响是广泛而深远的,积累到一定程度后很有可能造成不可修复的衰竭性死亡。在长期毒性中发现,该通路出现在所有脏器和药物中。长期毒性在此方面的影响应该列为考虑的首要条件。代表基因如 AW537707 和 NM\_007631 等。涉及的脏器有心、脑、肺、肾、肝。

4、信号传导、细胞凋亡等异常:在所有的阳性基因的 GO 分类中,信号转导和细胞凋亡是极为重要两类。NM\_023456、NM\_024435 和 D83648 等基因为代表,可能涉及细胞的增殖分化、转录调控、细胞骨架、翻译调节、离子通道和凋亡等多方面功能。涉及的脏器有心、脑、肝、肺、肾。

可见,毒性影响的脏器为心和脑,对其他脏器也有不同程度的影响;乌头类有毒中药是对基因的改变是多靶点、多环节的,而非仅仅直接影响一个或少量的系统;这种改变是以抑制和降低为主要作用方式的,特别对于这些系统的最终作用靶点更是如此;这种改变具有很强的关联性,不仅被影响的系统互相交叉,呈立体网络状分布,呈一致性变化趋势。

## 龙葵碱毒理学研究

季宇彬 王秋平 郎 朗

哈尔滨商业大学生命科学与环境科学研究中心, 哈尔滨商业大学药物研究所博士后  
科研工作站抗肿瘤天然药物教育部工程中心 哈尔滨 150076

龙葵碱又名颠茄碱,是由葡萄糖残基和茄啶组成的一种弱碱性糖苷,不溶于水、乙醚、氯仿,能溶于乙醇,与稀酸共热生成茄啶及一些糖类。大量研究表明龙葵碱具有很好的抗肿瘤、降压、强心、保肝、抗炎以及保护肾细胞等疗效。但能刺激性和腐蚀胃肠道黏膜,麻痹中枢神经,对红细胞产生溶血,损害心肌等,且能于孕早期可导致小鼠胚胎死亡,具有一定的胚胎毒性;致畸和致突变也均有报道。其中对龙葵碱的近期研究主要是遗传毒性及雄性生殖毒性。本实验课题组前期体内实验表明,龙葵碱可以透过血-生殖腺屏障干扰精子正常形成与成熟。

骨髓细胞微核实验显示, 小鼠体细胞遗传物质受到损伤。单细胞凝胶电泳实验从形态学显示龙葵碱对骨髓细胞 DNA 的损伤作用。流式细胞仪分析结果显示, 龙葵碱可使骨髓细胞周期阻滞在 G0/G1 期, 抑制了骨髓细胞的生长。龙葵碱对小鼠骨髓细胞 p53 蛋白含量的影响显示, 龙葵碱能使细胞内 p53 蛋白含量显著增加, 诱导细胞进入 G1 期, 抑制细胞增殖。采用冷胰酶消化法体外原代培养昆明小鼠睾丸支持细胞。取对数生长期细胞给药, MTT 法检测不同浓度龙葵碱 (分别为 0.0025 mol/L、0.005 mol/L、0.01 mol/L、0.02 mol/L、0.04 mol/L) 对于支持细胞增殖的影响, 发现当浓度  $\geq 0.005$  mol/L 时能显著抑制支持细胞增殖, 且呈剂量依赖性。细胞半数抑制浓度 (IC<sub>50</sub>) 约为 0.02 mol/L。实验结果说明龙葵碱可以通过抑制支持细胞增殖, 减少对生精细胞的营养供给以及必须的物理支持, 进而影响雄性生殖功能。从而为进一步探讨龙葵碱抑制精子发生的机理提供了必要的依据。

## 全氟辛酸对于生物体肝脏毒性的研究进展

季宇彬 宋大禹 郎 朗

哈尔滨商业大学生命科学与环境科学研究中心, 哈尔滨商业大学药物研究所博士后  
科研工作站抗肿瘤天然药物教育部工程中心 哈尔滨 150076

全氟辛酸是制造不粘材料过程中的一种基本加工助剂。现今研究表明全氟辛酸在暴露实验中对于肝脏等器官有致癌作用, 损害比较明确, 主要表现为:

- 一, 在目前的啮齿类动物的实验中, 全氟辛酸会引起肝脏癌变。
- 二, 通过分子水平检验。部分实验组肝氧化应激增强。进一步发生肝癌相关的肝脏器质变化。
- 三, 可以通过抑制脂肪酸与 L-FABP (脂肪酸结合蛋白) 结合。
- 四, 可以造成细胞内过氧化物以及氧自由基水平上升。对细胞造成氧化性损伤。
- 五, 引起肝过氧化物酶体增生激活受体  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) 高度表达, 促进肝细胞凋亡。
- 六, 会造成肝脏细胞之间的缝隙连接大量缺乏, 细胞间正常通讯下降。
- 七, 会使与肝细胞生长增值密切相关的基因表达显著。影响激素调节和代谢。

因此, 在现有基础上进一步深入的探讨与研究 PFOA 对于肝脏细胞的毒作用指标及毒作用机制, 将成为今后环境科学和预防医学领域的重点。对于全氟辛酸等化合物的污染及危害研究势在必行, 可以为建立我国全氟辛酸环境污染控制措施, 保护人群健康提供有力的事实依据。

## 细胞凋亡的线粒体途径机制研究

孙桂超<sup>1,2</sup> 邹翔<sup>1,2</sup> 季宇彬<sup>1,2</sup>

1. 哈尔滨商业大学生命科学与环境科学研究中心药物研究所博士后科研工作站 哈尔滨 150076

2. 国家教育部抗肿瘤天然药物工程研究中心 哈尔滨 150076

细胞凋亡是细胞有机体为调控机体发育, 维护内环境稳定而主动采取的、由基因决定的、自动结束细胞生命的过程。线粒体在细胞凋亡中发挥着重要的作用。线粒体通透性转变孔 (MPTP) 开放导致线粒体内释放出包括细胞色素 C (Cyt-c)、Smac/ DIABLO 和 AIF 等线粒体凋亡因子在内的各种蛋白, 从而启动细胞凋亡程序引起细胞凋亡。Cyt-c 释放到细胞浆后, Cyt-c、dATP、Aapf-1 和 procaspase-9 组成聚合体, 称为凋亡体。凋亡体可激活其下游的 procaspase-3, 从而导致细胞死亡。在凋亡诱导因素的刺激下, AIF 可从线粒体转位进入胞核, 直接引起染色质浓缩及 DNA 的断裂。AIF 的转位足以介导体外细胞凋亡的发生。Smac/ DIABLO 受到凋亡刺激时, Smac/ DIABLO 蛋

白的线粒体定位信号肽被切除，能够从线粒体释放到胞质，与凋亡抑制蛋白（IAP）分子特异性结合，解除凋亡抑制因子对 caspase 的阻碍作用，激活各级caspase引起级联反应，从而促进细胞凋亡。细胞凋亡的线粒体途径调控机制非常复杂，关于线粒体蛋白的释放与线粒体功能的关系还有待深入研究。

会议赞助单位



我公司赞助第十一届全国生化与分子药理学学术会议奖学金，旨在推动生命科学和药理学在河南省的发展！

谨祝郑州大学药学院承办的第十一届全国生化与分子药理学学术会议圆满成功！

执行总裁 于常海

（第九、十届河南省政协委员，河南省海外联谊会副秘书长）

营运总监 刘乐庭 （河南青年联合会委员）

致意

**海康生命科技有限公司**

附属公司：

北京海康基因芯片开发有限公司

安利进有限公司

基因科学应用有限公司

食品安全实验室有限公司

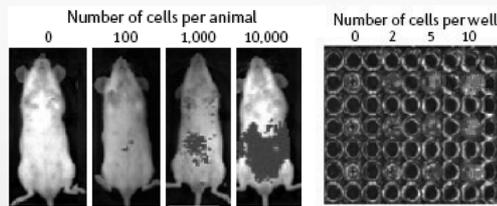
网址：<http://www.haikanglife.com>



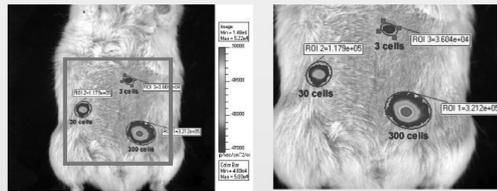
## 精诺真活体动物体内成像系统 直接观察活体动物体内的细胞生长和基因表达



- 最高的体内检测灵敏度，经过全世界最著名的实验室验证
- 唯一的定量分析方法，保证试验结果的可重复性和可比性
- 唯一可提供成熟的技术支持及生物学售后服务
- 最成熟的技术，拥有最多的高水平用户和高质量的发表文章
- 具有这个方法学专利，是药物研究机构的唯一选择



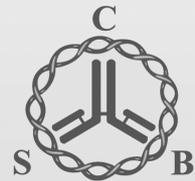
*Nature Rev. 2006 V. 6, pp486*



*PNAS. 2008 V. 105, pp14344*

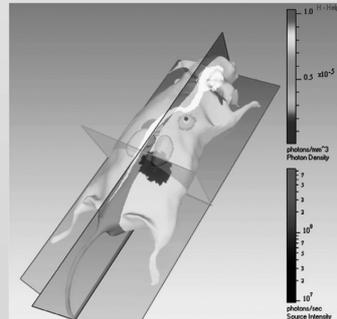
精诺真公司拥有中国国家专利局颁发的可见光成像的方法学专利，专利号：**#95198006.8** (动物体内可见光结合体产生和检测方法)

近年来以活体动物可见光体内成像技术发表了大量Nature, Science, Blood和PNAS研究文章。其中90%以上的高水平文章都是以精诺真技术发表的。根据国际著名期刊Nature 和PNAS报道，精诺真技术在动物体内检测生物发光灵敏度可达3-100个细胞（左图）。



精诺真(Xenogen)活体动物体内可见光成像技术通过生物发光和荧光标记技术直接观察和定量测定细胞在小动物体内的生长和迁移，使研究人员能够在活体动物水平直接监控细胞活动和基因表达；同时可以观察细胞、微生物或目的基因在动物体内各个器官对药物的反应。广泛应用于癌症和药物，干细胞，细胞凋亡，蛋白组学及基因治疗等领域的研究。

三维成像是精诺真技术的最新发展，也是可见光体内成像领域唯一能够实现体内可见光三维成像的技术。



### 冷泉港生物科技股份有限公司

北京西城区阜外大街2号万通新世界广场A2105, 2111, 100037

Tel: +86-10-68080660 E-mail: csbj@cs-biotech.com

## 教学和科研实验仪器介绍

### 生理药理实验用血压、呼吸、张力换能器

#### ※新产品:

1. XH100 型清醒大鼠血压测量装置 (无创):

该装置由光电脉搏换能器, 标准信号压力换能器 (免定标), 血压表、尾压表套、大鼠固定器、加压球等组成, 可配国内外生物信号采集系统使用, 能准确记录大鼠血压变化, 精度 5%, 使用方便, 操作简单。

2. YP1000 型埋入式压力换能器:

该换能器体积小, 能准确的测量出被植入动物的血压变化, 标准信号输出, 无需定标, 输入阻抗 2-3KΩ。

3. XH200 型大鼠、小鼠抓力换能器:

该换能器精度高, 稳定性好, 可与国内外生物信号采集系统配套使用。

4. XH300 型两用听诊器:

该听诊器可与生物信号采集系统配套使用, 广泛用于教学实验, 记录心音的变化。

5. YP101 型压力换能器系列:

-50~76mmHg -50~300mmHg

抗过压 20000mmHg, 精度高, 采用军品级芯片组装而成, 使用寿命大于 3 年, 配成都仪器厂、南京美易、成都泰盟、北京维信斯达、广东药学院、上海嘉龙、南京医大、成都遨生‘美国、澳大利亚生产的生物信号采集系统。

6. JZ300 型高精度张力换能器: 0~5g 0~10g 0~30g …… 0~500g 低漂移, 年漂移小于 1mmv, 使用寿命大于 3 年。

7. 胸带式呼吸换能器系列: HX100 型: 用于人、狗; HX101 型: 用于兔、大鼠、小鼠。

8. YP100 型压力换能器系列: -50~300mmHg -50~760mmHg

9. YP200 型压力换能器系列: -50~76mmHg -50~360mmHg

配美国 BIOPAC 公司、澳大利亚公司生产的生物信号采集系统, 日本光电四道、八道生理记录仪。

10. JZ100 型张力换能器系列 (教学型): 0~5g …… 0~500g

11. JZ101 型张力换能器系列 (科研型): 0~2g 0~3g 0~5g 0~10g 0~50g

12. 插管式呼吸换能器系列: HX200 型呼吸流量换能器, 用于人、狗、兔、大鼠

公司生产的换能器均能配成都仪器厂、南京美易、成都泰盟、北京维信斯达、广东药学院、上海嘉龙、南京医大、成都遨生、美国、澳大利亚生产的生物信号采集系统。

13. 其它换能器:

脉搏换能器、心音换能器、温度换能器、温度显示测量仪、胃肠运动换能器、鼠尾脉搏换能器、握力换能器、心肌张力换能器、记滴换能器。

14. 配件:

进口三通、二位微调器、大鼠固定器、双凹夹、实验架台、电极、屏蔽盒、输尿管平滑肌电位描记装置等。

北京新航兴业科贸有限公司

地 址: 北京市朝阳区北路 199 号摩码大厦 1018 室

电 话: 010-85985769

网 址: www.xinhangxingye.com

邮政编码: 100026

传 真: 010-85987769

电子邮箱: yan85985769@sina.com