

也无显著性差异,表明采用微透析法进行血浆蛋白结合率的测定是简便、可行的。

本研究发现虎杖苷具有较高的血浆蛋白结合率,且结合率与药物浓度无显著相关性。由于药物的药理作用强度与血浆中游离药物浓度成正相关,这就提醒我们在虎杖苷的临床研究中,必须考虑到药物血浆蛋白结合率的影响。

REFERENCES

- [1] WANG J, FANG F. Progress in pharmacological study of polydatin in cardio-cerebrovascular system [J]. Med Recapit (医学综述), 2012, 18(13): 2105-2107.
- [2] ZHAO K S, JIN C, HUANG X, et al. The mechanism of polydatin in shock treatment [J]. Clin Hemorheol Microcirc, 2003, 29(3): 211-217.
- [3] CHENG Y, ZHANG H T, SUN L, et al. Involvement of cell adhesion molecules in polydatin protection of brain tissues

- from ischemia-reperfusion injury [J]. Brain Res, 2006, 1110(1): 193-200.
- [4] WANG X, SONG R, CHEN Y, et al. Polydatin-a new mitochondria protector for acute severe hemorrhagic shock treatment [J]. Expert Opin Investig Drugs, 2013, 22(2): 169-179.
- [5] SCHMIDT S, GONZALEZ D, DERENDORF H. Significance of protein binding in pharmacokinetics and pharmacodynamics [J]. J Pharm Sci, 2010, 99(3): 1107-1122.
- [6] FENG S X, WU J, LI J S, et al. Determination of the binding rate of rat plasma protein with five anthraquinones in rhubarb [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2013, 30(1): 1-5.
- [7] LIU R, XIE Y, PAN G, et al. The study progress of method for determination of drug plasma protein binding rate [J]. Tianjin J Tradit Chin Med(天津中医药), 2007, 24(6): 526-528.
- [8] YU W, CHENG Q, FENG J, et al. Microdialysis for pharmacokinetic-pharmacodynamic studies [J]. Pharmazie, 2007, 62(12): 883-891.
- [9] SARRE S, VAN BELLE K, SMOLDERS I, et al. The use of microdialysis for the determination of plasma protein binding of drugs [J]. J Pharm Biomed Anal, 1992, 10(10-12): 735-739.

收稿日期: 2013-04-01

翘苓清肺剂对哮喘大鼠 Th1/Th2 细胞因子失衡的影响

韩超¹, 齐春丽², 潘竞锵¹, 吕俊华^{2*}(1.广州市中医医院, 广州 510130; 2.暨南大学药学院, 广州 510632)

摘要: 目的 观察翘苓清肺剂对哮喘模型大鼠 Th1/Th2 失衡的免疫调节作用及机制。方法 以 10% 卵蛋白(OVA)在实验第 1 天、第 8 天对大鼠进行腹腔注射。第 15 天后用 1% OVA 雾化吸入, 每天 1 次, 连续 2 周; 同时, 分别用生理盐水、地塞米松、氨茶碱及翘苓清肺剂干预致哮喘模型大鼠, 每天 1 次, 连续 4 周, 观察各组大鼠哮喘潜伏期、喘息程度、肺组织、支气管病理学变化; 测定肺泡灌洗液(BALF)中 IL-4、IL-5、IFN- γ 水平变化, 并与阳性药地塞米松及氨茶碱组对照。**结果** 翘苓清肺剂能有效延长 OVA 致哮喘大鼠模型的潜伏期、减轻喘息程度、改善升高的 IL-4 水平, 降低病鼠的 IL-5、IFN- γ 水平及 IL-4/IFN- γ 的比值, 结果均有显著差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。病理组织学检查模型组大鼠支气管黏膜上皮细胞及杯状细胞增生, 肺泡内有分泌物及炎性细胞浸润, 管腔狭窄; 各用药物组病理改变均显著减轻。**结论** 翘苓清肺剂可能通过调节哮喘时失衡的 Th1/Th2 水平, 有效改善哮喘状态, 减轻哮喘发作。

关键词: 翘苓清肺剂; 卵蛋白; 哮喘; IL-4; IL-5; IFN- γ

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2013)11-1178-05

Effects of Qiaoqingfei Ji on Th1/Th2 Imbalance in Rat Asthma Model

HAN Chao¹, QI Chunli², PAN Jingqiang¹, LÜ Junhua^{2*}(1. Guangzhou Hospital of Chinese Medicine, Guangzhou 510130, China; 2. Jinan University College of Pharmacy, Guangzhou 510632, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effect of Qiaoqingfei Ji on immune regulation Th1/Th2 imbalance and its mechanism in the rat asthmatic models. **METHODS** Asthmatic model rats were established by intraperitoneal injection of 10% OVA on the first day and the eighth day. Fifteen days after, gave atomization inhale 1% OVA, once a day for two weeks. At the same time, normal saline, dexamethasone, aminophylline and Qiaoqingfei Ji were used for intervention treatment respectively to asthma model rats, once a day, last for four weeks. The effect of medicine on the asthma degree, asthma latency period and the pathological changes of bronchial and lung tissue, the contents of IFN- γ , IL-4, IL-5 and the IFN- γ /IL-4 ratio in

基金项目: 广州市中医药、中西医结合项目(2008A25)

作者简介: 韩超, 女, 副主任药师 Tel: (020)81226220 E-mail: wendyhan@163.com *通信作者: 吕俊华, 男, 硕士, 教授 Tel: 13660638001 E-mail: yaolilv@163.com

bronchus alveolus lavage fluid of asthma model were observed. And compared with dexamethason group and aminophylline group. **RESULTS** Qiaoqingqifei Ji obviously improved the asthma degree, extended asthma latency period, decreased the content of IL-4, IL-5($P<0.05$ or $P<0.01$), increased the content of IFN- γ and the ratio of IFN- γ /IL-4. Pathological results revealed that the bronchial mucosa epithelial cells and goblet cells hyperplasia, alveolar contains secretions and inflammatory cells infiltration, luminal stenosis in the model group. And these changes were released obviously in the medicine group. **CONCLUSION** Qiaoqingqifei Ji can effectively adjust Th1/Th2 imbalance in asthmatic rats, improve asthma status and reduce asthma attacks.

KEY WORDS: Qiaoqingqifei Ji; ovalbumin(OVA); asthma; IL-4; IL-5; IFN- γ

支气管哮喘(简称哮喘)是一种慢性变应性气道炎症的疾病。近年来研究发现 T 辅助细胞(Th)亚群中, 1 型和 2 型辅助 T 细胞比例(Th1/Th2)失衡可能是哮喘发病的重要原因。在哮喘发病中, 2 型辅助 T 细胞(Th2)起重要作用, Th2 细胞活化亢进是哮喘发病的重要机理^[1]。

翘芩清肺剂为广州市中医医院的院内制剂, 由黄芩、玄参、板蓝根、杏仁等 10 味中药组成。临床应用近 30 年, 主要用于治疗急、慢性支气管炎的急性发作, 有效率达 88%。在临床应用中发现, 它对哮喘防治有积极的作用, 故本研究以卵蛋白(ovalbumin, OVA)诱导, 建立大鼠哮喘模型, 观察翘芩清肺剂对大鼠 Th1/Th2 平衡、哮喘潜伏期、喘息程度及肺组织的影响, 探讨翘芩清肺剂早期干预治疗哮喘的作用机制。

1 材料

1.1 动物

SD 大鼠, 体质量 150~180 g, 鼠龄 6~8 周, ♀, 均购自广东省医学实验动物中心。广东省实验动物质量监测合格证: 粤监证字 2007A003 号。广东省实验动物环境设施监测合格证: 粤监证字 2007A099 号。

1.2 药物与试剂

翘芩清肺剂(广州市中医医院制剂室提供, 2.5 kg 生药量 \cdot L⁻¹); 卵清白蛋白(美国 sigma); 氢氧化铝(天津市福晨化学试剂厂, 批号: 20090907); 醋酸地塞米松(浙江仙琚制药股份有限公司, 批号: 090204); IL-4、IL-5、IFN- γ 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所); 戊巴比妥钠(国药集团化学试剂有限公司, 批号: F20041117)。

1.3 仪器

YLS-8A 多功能诱咳引喘仪(山东省医学科学院设备站); 超净工作台(苏州净化设备有限公司); Safire2 型全波长多功能酶标仪(Tecan, Switzerland); 超低温冰箱(美国 Thermo Forma 公司); FACSCalibur 型流式细胞仪(美国 Becton Dickinson 公司); 移液

器(德国 Eppendorf 公司); AB204-N 电子分析天平(Mettler-Toledo 仪器上海有限公司); LEICA DMRA2 荧光显微镜(德国 Leica 公司); TGL-16G 型高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂)。

2 方法

2.1 哮喘模型的制备

大鼠于干燥、通风、安静的环境下适应性饲养 1 周后采用文献^[2-3]方法并加以改进制备哮喘模型。

致敏阶段: 模型组及给药组大鼠在实验开始第 1 天、第 8 天给予 10% OVA 混悬液 1 mL 腹腔注射。

激发阶段: 第 15 天将大鼠置于半封闭的有机玻璃箱内进行超声雾化以诱发哮喘, 每次吸入 1% OVA 混悬液, 雾化时间为 20 min。哮喘激发每日 1 次, 连续 2 周。以呼吸急促, 咳嗽, 严重者呈深、慢呼吸或呼吸节律不整, 行动迟滞或俯伏不动等表现为激发成功。

2.2 分组及给药

SD 大鼠, 100 只, 150~180 g, ♀, 于干燥、通风、安静的环境中适应性饲养 1 周后, 随机分为 7 组, 从大鼠致敏第 2 天开始, 各组大鼠以对应药物灌胃(其中地塞米松组从哮喘激发当日开始): ①正常组: 生理盐水 5 mL \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹; ②模型组: 生理盐水 5 mL \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹; ③地塞米松组: 0.27 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹; ④氨茶碱组: 50 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹; ⑤翘芩清肺剂高剂量组: 26 g \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹; ⑥翘芩清肺剂中剂量组: 13 g \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹; ⑦翘芩清肺剂低剂量组: 6.5 g \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹。实验全过程共历时 4 周。

2.3 标本采集及相关检测

2.3.1 哮喘潜伏期的测定 根据模型大鼠喘息的程度^[3], 分为: 0 分: 无任何喘息表现; 1 分: 颤动或点头; 2 分: 咳嗽或呼吸加深; 3 分: 节律性收腹样喘促; 6 分: 跌倒。喷雾诱发哮喘, 喷雾停止后记录大鼠引发哮喘的潜伏期(即从喷雾结束开始计时到哮喘发作, 呼吸极度困难直到抽搐跌倒的时间)。

2.3.2 组织学观察 每只大鼠留取右肺中叶组织, 将肺组织标本固定于 10%多聚甲醛中, 4 ℃过夜后, 流水冲洗, 酒精逐级脱水, 石蜡包埋, 切片厚 5 μm, HE 染色, 普通光学显微镜下观察肺脏组织形态结构。

2.3.3 标本的制备及细胞因子的测定 大鼠于最后 1 次雾化激发 24 h 后, 3%的戊巴比妥钠 0.13 mL·(100 g)⁻¹ 麻醉, 暴露胸腔, 每只大鼠左肺行支气管肺泡灌洗术, 将 5 mL 生理盐水分 2 次注入气管内, 每次 2.5 mL, 反复抽吸, 取出肺泡灌洗液 (BALF), 留取约 3~4 mL, 于 4 ℃、2 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 取上清液, -80 ℃保存, 以 ELISA 法测定 INF-*r*、IL-4、IL-5, 具体步骤按试剂盒说明操作。

2.4 统计学方法

所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 13.0 统计软件处理, 多样本各组组间差异比较采用单因素方差分析, 组间比较采用配对 *t* 检验, *P*<0.05 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 对哮喘模型大鼠哮喘程度及哮喘潜伏期的影响

大鼠诱发哮喘后, 按照哮喘程度的标准记录哮喘程度, 记录出现喘促的时间。结果可见各药物组均可在不同程度上减轻病鼠的哮喘程度, 其中翘苓清肺剂的平喘作用随着药物剂量的加大而增强。与模型组比较, 地塞米松组、氨茶碱组及翘苓清肺剂高、中、低剂量组均能明显延长哮喘潜伏期(*P*<0.01), 结果见表 1。

表 2 翘苓清肺剂对哮喘模型大鼠 BALF 中 IL-4、IL-5 及 γ -干扰素的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effect of Qiaoqingfei Ji on IL-4, IL-5 and IFN- γ contents of bronchoalveolar lavage fluid in rat asthma model ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	IL-4/ng·kg ⁻¹	IL-5/ng·L ⁻¹	IFN- γ /μg·L ⁻¹	IL-4/IFN- γ
正常组	-	161.49±6.47	44.08±3.35	2.95±0.023	0.055±0.003
模型组	-	202.06±1.43 ¹⁾	47.67±3.67 ²⁾	2.62±0.042 ¹⁾	0.077±0.001 ¹⁾
地塞米松组	0.000 27	176.69±16.36 ¹³⁾	44.67±2.05 ⁴⁾	2.80±0.110 ¹³⁾	0.063±0.006 ¹³⁾
氨茶碱组	0.05	186.64±15.98 ¹³⁾	45.30±2.22	2.90±0.131 ³⁾	0.065±0.008 ¹³⁾
高剂量	26	168.72±14.50 ³⁷⁾	44.17±2.19 ⁴⁾	2.79±0.110 ¹³⁾	0.061±0.006 ¹³⁾
中剂量	13	175.11±16.62 ²³⁾	46.14±2.75	2.73±0.042 ¹³⁾⁶⁾	0.064±0.006 ¹³⁾
低剂量	6.5	183.98±22.31 ¹⁴⁾	47.09±2.85 ²⁵⁾	2.67±0.086 ¹⁵⁾⁶⁾	0.068±0.008 ¹³⁾

注: 与正常组比较, ¹⁾*P*<0.01, ²⁾*P*<0.05; 与模型组比较, ³⁾*P*<0.01, ⁴⁾*P*<0.05; 与地塞米松组比较, ⁵⁾*P*<0.05; 与氨茶碱组比较, ⁶⁾*P*<0.01, ⁷⁾*P*<0.05
 Note: Compared with control group, ¹⁾*P*<0.01, ²⁾*P*<0.05; compared with model group, ³⁾*P*<0.01, ⁴⁾*P*<0.05; compared with dexamethasone group, ⁵⁾*P*<0.05; compared with aminophylline group, ⁶⁾*P*<0.01, ⁷⁾*P*<0.05

3.3 翘苓清肺剂对哮喘模型大鼠支气管和肺组织形态学的影响

光镜下正常组大鼠的细小支气管及肺泡结

表 1 翘苓清肺剂对哮喘模型大鼠哮喘程度及哮喘潜伏期的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effect of Qiaoqingfei Ji on asthma degree and latency of asthmatic rat model ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ g·kg ⁻¹	动物/ 只	喘息程度					哮喘潜伏期/ s
			0 分	1 分	2 分	3 分	6 分	
正常组	-	13	13	-	-	-	-	-
模型组	-	14	-	-	-	11	3	93.77±19.06
地塞米松组	0.000 27	11	-	9	2	-	-	267.00±15.58 ¹⁾
氨茶碱组	0.05	12	-	8	4	-	-	225.20±13.77 ¹⁾
翘苓清肺剂								
高剂量组	26	11	-	7	4	-	-	203.40±12.56 ¹⁾
中剂量组	13	12	-	7	3	2	-	185.82±16.19 ¹⁾
低剂量组	6.5	11	-	-	8	3	-	132.90±15.83 ¹⁾

注: 与模型组比较 ¹⁾*P*<0.01

Note: Compared with model group, ¹⁾*P*<0.01

3.2 翘苓清肺剂对哮喘模型大鼠 BALF 中白介素 4(IL-4)、白介素 5(IL-5)及 γ -干扰素(IFN- γ)的影响

与正常组比较, 模型组哮喘大鼠 BALF 液中 IL-4、IL-5 含量明显增加, IFN- γ 含量明显降低 (*P*<0.05 或 *P*<0.01)。经药物处理后, 与模型组比较, 各药物组均能明显降低 IL-4 的含量及 IL-4/IFN- γ 的比值(*P*<0.05 或 *P*<0.01)。其中, 翘苓清肺剂降低 IL-4 水平的作用随着剂量的加大而增强, 高剂量组与氨茶碱组比较, 差异具有统计学意义(*P*<0.05), 整体作用优于 2 个阳性对照组。与模型组相比, 地塞米松组及翘苓清肺剂高剂量组可明显降低 IL-5 的含量(*P*<0.05), 而氨茶碱、翘苓清肺剂中、低剂量组则无明显影响(*P*>0.05)。与模型组相比, 地塞米松、氨茶碱组及翘苓清肺剂高、中剂量组可显著增加 IFN- γ 的含量(*P*<0.01), 而翘苓清肺剂低剂量组无明显影响(*P*>0.05), 结果见表 2。

性细胞浸润。地塞米松组大鼠上皮细胞及杯状细胞增生减少,肺泡内未见分泌物。氨茶碱组大鼠上皮细胞及杯状细胞增生减少,肺泡内未见炎性渗出物。翘苓清肺剂干预后各组大鼠支气管粘膜

上皮细胞及杯状细胞的增生减少,肺泡内少有炎性分泌物及细胞浸润,平滑肌增厚不明显,以上改变随翘苓清肺剂剂量的加大而减轻。结果见图1。

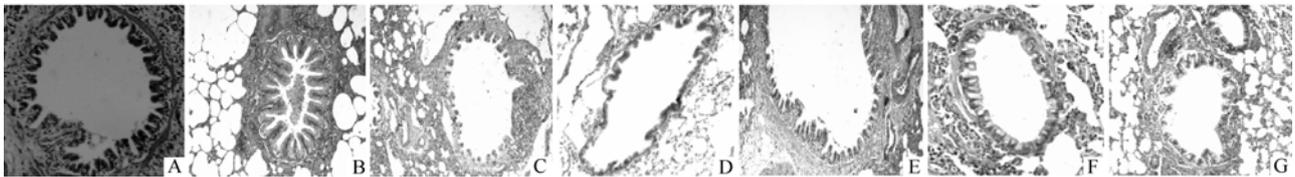


图1 翘苓清肺剂对哮喘模型大鼠支气管和肺组织形态学的影响

A-正常组; B-模型组; C-地塞米松组; D-氨茶碱组; E-翘苓清肺剂高剂量组; F-翘苓清肺剂中剂量组; G-翘苓清肺剂低剂量组

Fig 1 Effect of Qiaoqingfei Ji on Histopathological changes in bronchus and lung tissue in rat asthma model

A-normal group; B-model group; C-dexamethasone group; D-aminophylline group; E-Qiaoqingfei Ji high dose group; F-Qiaoqingfei Ji medium dose group; G-Qiaoqingfei Ji low dose group

4 讨论

支气管哮喘是由气道免疫相关细胞的反常活化和聚集以及T淋巴细胞、嗜酸性粒细胞、单核细胞等细胞的功能障碍为特点的慢性气道炎症性疾病^[4]。根据T淋巴细胞在免疫应答中的功能不同,可将T淋巴细胞分成辅助性T细胞(Th)、细胞毒性T细胞(Tc)和调节性T细胞(Treg),其中Th细胞又分为Th1细胞和Th2细胞。研究表明, Th1和Th2之间存在相互调节的关系^[5], Th1/Th2失衡在哮喘发生、发展中起重要作用^[6]。Th1/Th2细胞失衡时, Th1细胞功能不足, Th2细胞功能亢进,即Th2反应模式是哮喘气道炎症的重要特征,也是哮喘病生理过程形成的始动因素和维持因素。

研究显示,在哮喘发病中Th2细胞可释放IL-4、IL-5、IL-10等细胞因子进一步激活B淋巴细胞,在气道聚集促使嗜酸粒细胞以及血清免疫球蛋白E的生成,引起气道慢性炎症与反应性增高,而Th1细胞释放Th1型细胞因子如IL-12、IFN- γ 等来抑制Th细胞分化,减轻或阻止过敏原导致的嗜酸粒细胞和白细胞在肺组织的聚集^[7-8]。当Th2细胞反应占主导时, Th1/Th2平衡发生改变,并在哮喘气道炎症细胞的趋化、成熟、存活过程中起着重要作用。因此,抑制Th2型反应、增强Th1型反应被认为对哮喘的发病起防治作用。IFN- γ 为Th1型细胞因子,被认为是一种抗支气管哮喘因子,可抑制变态反应,抑制IL-4mRNA的转录水平,是IL-4合成的生物拮抗剂^[9]。IFN- γ 诱导CD⁺4 T细胞分化为Th1细胞,还可以抑制Th2细胞的分化。另一方面,由Th2细胞分泌的IL-4可以诱导CD⁺4 T细胞分化为Th2细胞,还可以抑制Th1细胞的功能^[10]。因此,

IFN- γ 、IL-4含量变化及IFN- γ /IL-4比可体现出Th1/Th2细胞功能状态。当Th2细胞反应占主导时, Th1/Th2平衡发生改变,引起各种过敏性疾病,对此方面的研究已成为哮喘免疫治疗的热点之一^[11-12]。

本研究发现,哮喘组及哮喘生理盐水组大鼠BALF中IL-4水平升高,IFN- γ 水平降低,IL-4/IFN- γ 明显升高,表现出Th2细胞因子占优势的Th1/Th2失衡状态,与哮喘时的Th1/Th2失衡状态相吻合。翘苓清肺剂具有下调IL-4、IL-5含量,上调IFN- γ 含量作用,通过对IL-4、IFN- γ 含量的影响,而具有一定调节Th1/Th2类细胞因子的作用。从实验结果还可以看出,翘苓清肺剂调节Th1/Th2细胞失衡作用优于阳性对照药,这体现出了中药对机体的调节免疫功能作用优于糖皮质激素,这也正是中医药治疗哮喘优势所在。

本研究以OVA为致敏原,成功制备了哮喘大鼠动物模型。与正常组相比,模型组大鼠出现了易激惹、呼吸急促、腹肌抽搐、大小便失禁等症状,通过光学显微镜下观察哮喘大鼠支气管、肺组织形态学的病理结果显示模型组大鼠支气管粘膜上皮细胞及杯状细胞增生,肺泡内有分泌物及炎性细胞浸润大鼠小支气管、血管黏膜下和肺组织有明显的炎细胞浸润等病理改变。应用翘苓清肺剂后,能显著延长病鼠的哮喘潜伏期,减轻哮喘程度。病理结果显示病鼠肺组织内炎性分泌物及炎性细胞的浸润得到明显缓解,支气管黏膜皱襞减少,抑制哮喘大鼠肺组织支气管粘膜上皮细胞和杯状细胞的增生,有效的减少气道炎症,作用随剂量的加大而增强。由此说明翘苓清肺剂具有良好平喘作用与临床结果相符合,其机制可能

是通过抑制哮喘大鼠肺组织内炎性介质及因子的释放,从而减轻炎性细胞的浸润,减少气道炎症而具平喘效果。

综上所述,翘芩清肺剂可有效预防及治疗哮喘,其作用可能是通过抑制调整哮喘时失衡的Th1/Th2及其引起的一系列生物学效应,调节紊乱的机体免疫功能等途径来实现的。由于哮喘发病的复杂性,翘芩清肺剂具体的作用机制有待进一步深入探讨。

REFERENCES

- [1] HARADA M, NAKASHIMA K, HIROTA T, et al. Functional polymorphism in the suppressor of cytokine signaling 1 gene associated with adult asthma [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2007, 36(4): 491-496.
- [2] LEE M, KIM S, KWON O K, et al. Anti-inflammatory and anti-asthmatic effects of resveratrol, a polyphenolic stilbene, in a mouse model of allergic asthma [J]. *Int Immunopharmacol*, 2009, 9(4): 418-424.
- [3] SAKAGUCHI S. Regulatory T cells: key controllers of immunologic selftolerance [J]. *Cell*, 2000, 101(5): 455-458.
- [4] LIU G T, WU Y P. Observation of salmeterol and fluticasone propionate inhalation on the treatment of bronchial asthma to lead to the change of methacholine challenge test [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2011, 28(13): 1360-1362.

- [5] LUCEY D R, CLERICI M, SHEARER G M. Type 1 and type2 cytokine dysregulation in human infectious, neoplastic, and inflammatory diseases [J]. *Clin Microbiol Rev*, 1996, 9(4): 532-562.
- [6] JAMES A, MACLEAN. T cell-dependent regulation of eotaxin in antigen induced pulmonary eosinophilia [J]. *J Exp Med*, 1996, 184(4): 1461-1469.
- [7] HAN S M, CUI Y H. Th1-and Th2-type cytokine levels from peripheral blood mononuclear cells in patients with asthma [J]. *Chin J Prim Med Pharm(中国基层医药)*, 2007, 14(3): 439-440.
- [8] LU Y P. The adjustment and clinical observation on Th1/Th2 cells in peripheral blood by aminophylline in asthma patients [J]. *Strait Pharm J(海峡药理学)*, 2009, 21(2): 85-87.
- [9] JIAO G W, LIU X M, MA Y X. Association between bronchial asthma and the interferon gamma +874(A/T) gene polymorphism [J]. *J Haerbin Med Univ(哈尔滨医科大学学报)*, 2011, 45(3): 243-245.
- [10] FENG X Y, ZHAO L L, GUAN W, et al. Simvastatin asthma model of rats IL-4、IFN- γ influence of experiments [J]. *Chinese Journal of Asthma(Electronic Edition)(中华哮喘杂志电子版)*, 2012, 6(5): 334-337.
- [11] BISSET L R, SCHMID-GRENDELMEIER P. Chemokines and their receptors in the pathogenesis of allergic asthma: Progress and perspective [J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2005, 11(1): 35-42.
- [12] GIBBONS F K, ISRAEL E, DEYKIN A, et al. The combined effects of zafirlukast, prednisone, and inhaled budesonide on IL-13 and IFN γ secretion [J]. *J Clin Immunol*, 2005, 25(5): 437-444.

收稿日期: 2013-03-23

猫爪草总皂苷体外抗人非小细胞肺癌 NCI-H460 细胞活性研究

童晔玲, 杨锋*, 戴关海, 任泽明, 王波波(浙江省中医药研究院, 杭州 310007)

摘要: 目的 观察猫爪草总皂苷体外对人非小细胞肺癌 NCI-H460 细胞活性的影响。方法 采用系统溶剂法提取猫爪草总皂苷, $^3\text{H-TdR}$ 掺入法观察猫爪草总皂苷对 NCI-H460 细胞增殖的影响; 流式细胞仪检测其对 NCI-H460 细胞凋亡和周期的影响。结果 猫爪草总皂苷对 NCI-H460 细胞增殖有较好的抑制作用, 呈现较好的量效关系, 可促进 NCI-H460 细胞的早期凋亡, 细胞周期出现 G_0/G_1 期的阻滞。结论 猫爪草总皂苷能较好的抑制 NCI-H460 细胞增殖, 其机制可能与诱导凋亡、 G_0/G_1 期阻滞有关。

关键词: 猫爪草总皂苷; 人非小细胞肺癌 NCI-H460 细胞; 细胞凋亡; 细胞周期

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2013)11-1182-05

Study on the *in Vitro* Activity of *Ranunculus Ternati Radix* Saponins on Non-Small Cell Lung Cancer Cell of NCI-H460

TONG Yeling, YANG Feng*, DAI Guanhai, REN Zeming, WANG Bobo(*Zhejiang Institute of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310007, China*)

基金项目: 浙江省中医药管理局资助项目(2011ZB010)

作者简介: 童晔玲, 女, 硕士, 助理研究员 Tel: (0571)88849082 E-mail: tongyeling@sina.com *通信作者: 杨锋, 男, 硕士, 研究员 Tel: (0571)88849081 E-mail: 88082214@163.com