

行 GP73 mRNA 进行检测。结果显示 PHC 患者 GP73 mRNA 在全血中的表达量很微弱,其含量与肝硬化、健康对照组比较无统计学差异。所以全血 GP73 mRNA 检测对 PHC 不具有诊断价值。这主要可能是因为 GP73 mRNA 主要存在于肝癌细胞中,而血液中几乎很难检测到有关。这与 Tian 等^[15]的报道一致。本实验通过对肝癌组织及正常肝组织 GP73 mRNA 水平对比发现,肝癌组织 GP73 mRNA 表达量显著高于正常肝组织,其表达量约是正常肝组织的 13 倍,意味着肝癌组织 GP73 mRNA 表达量明显升高,因此笔者认为肝组织 GP73 mRNA 检测是一个较好的 PHC 诊断指标。但是考虑到肝组织取材难、创伤大、患者痛苦等弊端,使其应用受限。

综上所述,GP73 可作为诊断 PHC 的一种新标志,具有良好的敏感度。而全血中的 GP73 mRNA 指标则不能作为 PHC 诊断的标志。检测肝组织中的 GP73 mRNA 可作为 PHC 诊断的肿瘤标志,但存在取材难等缺点,应权衡利弊。血清 GP73 联合 AFP 检测,能有效提高早期 PHC 患者的诊断敏感度,可为早期 PHC 诊断提供有效途径,可应用于 PHC 高危人群的普查及筛查。

REFERENCES

- [1] JEMAL A, BRAY F, CENTER M M, et al. Global cancer statistics [J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(5): 69-90.
- [2] YUEN M F, HOU J L, CHUTAPUTTI A. Hepatocellular carcinoma in the Asia-Pacific region [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2009, 24(7): 346-353.
- [3] MAO Y, YANG H, XU H, et al. Golgi protein 73(GOLPH2) is a valuable serum marker for hepatocellular carcinoma [J]. Gut,

- 2010, 59(6): 1687-1693.
- [4] RICHER M O, STENNER F, LIEWEN H, et al. Golgi phosphoprotein 2 expression in liver tumors and its value as a serum marker in hepatocellular carcinomas [J]. Hepatology, 2009, 49(11): 1602-1609.
- [5] 中国抗癌协会肝癌专业委员会,中华医学会肝病学会肝癌学组,中国抗癌协会病理专业委员会,等.原发性肝癌规范化病理诊断指南(2015年版)[J].中华肝胆外科杂志,2015,21(3): 145-151.
- [6] 中华人民共和国卫生部.原发性肝癌诊疗规范(2011年版)[J].临床肿瘤学杂志,2011,16(10): 929-946.
- [7] HU J S, WU D W, LIANG S, et al. GP73, a resident Golgi glycoprotein, its sensibility and specificity for hepatocellular carcinoma of diagnosis in a hepatitis B-endemic Asian population [J]. Med Oncol, 2010, 27(6): 339-345.
- [8] GU Y, CHEN W, ZHAO Y, et al. Quantitative analysis of elevated serum Golgi protein-73 expression in patients with liver diseases [J]. Ann Clin Biochem, 2009, 46(21): 38-43.
- [9] ZHAO X Y, LI N, DING H G, et al. Detection and evaluation of serum GP73, a resident Golgi glycoprotein, as a marker in diagnosis of hepatocellular carcinoma [J]. Chin J Oncol(中华肿瘤杂志), 2010, 32(12): 943-946.
- [10] XIAO X, CHEN D F. A new serum marker for HCC-GP73 [J]. Med Rev, 2012, 8(20): 3380-3382.
- [11] BLOCK T M, COMUNALE M A, LOWMAN M, et al. Use of targeted glycoproteomics to identify serum glycoproteins that correlate with liver cancer in woodchucks and humans [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(15): 779-784.
- [12] JIANG J C, ZHOU L F. Advances on Golgi glycoprotein 73 and its association with diseases [J]. J Zhejiang Univ(Med Sci)(浙江大学学报:医学版), 2012, 41(2): 215-221.
- [13] 顾剑锋,李明峰,顾树南. GP73 与肝癌关系的研究进展[J].肝胆胰外科杂志,2011,23(6): 520-522.
- [14] ZHOU Y, YIN X, YING J, et al. Golgi protein 73 versus alpha-fetoprotein as a biomarker for hepatocellular carcinoma: a diagnostic meta-analysis [J]. BMC Cancer, 2012, 12(8): 17-21.
- [15] TIAN L, WANG Y, XU D, et al. Serological AFP/Golgi protein 73 could be a new diagnostic parameter of hepatic diseases [J]. Int J Cancer, 2011, 129(23): 1923-1931.

收稿日期: 2014-11-12

肿节风注射液对 U937 细胞共刺激分子表达的影响及其机制

陈小红, 高瑞兰, 沈一平, 沃立科, 王潇(浙江中医药大学附属第一医院血液病研究所, 杭州 310006)

摘要: 目的 探讨肿节风注射液(Sarcandra Glabra injection, SGI)对白血病 U937 细胞共刺激分子表达的影响及其作用机制。方法 用不同浓度(1.83, 2.75, 3.66, 5.49, 7.32 g·L⁻¹)的 SGI 处理白血病 U937 细胞 48 h 后,提取 RNA, RT-PCR 检测细胞的 CD86 和 B7-H1 mRNA 表达;免疫印迹法观察经 SGI 处理前后 CD86、胞浆和核内 NF-κB 蛋白表达。结果 SGI 处理后, B7-H1 mRNA 表达降低;在 SGI 浓度为 3.66~7.32 g·L⁻¹, CD86 mRNA 表达升高;CD86 蛋白含量随 SGI 处理浓度增加而升高;胞浆中的 NF-κB 蛋白含量下降,胞核中含量增加。结论 SGI 在一定浓度下能诱导 U937 白血病细胞 CD86 表达,下调 B7-H1 的表达,其机制可能与核内 NF-κB 含量增加有关。

基金项目:浙江省中医药科学研究基金计划项目(2011ZB031);浙江省教育厅资助项目(Y201017515)

作者简介:陈小红,男,硕士,副研究员 Tel: (0571)87071625 E-mail: cxiaohong@126.com

关键词: 肿节风注射液; U937 细胞; CD86; B7-H1; NF- κ B

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2015)06-0667-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.06.006

Effect of Sarcandra Glabra Injection on the Expression of Costimulatory Molecules of U937 Cells and Its Mechanism

CHEN Xiaohong, GAO Ruilan, SHEN Yiping, WO Like, WANG Xiao(Research Institute of Hematology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the effect of Sarcandra Glabra injection(SGI) on the expression of costimulatory molecules of U937 cells and its potential mechanism. **METHODS** The total RNA was extracted when monocytic leukemia U937 cells were treated with different concentration(1.83, 2.75, 3.66, 5.49, 7.32 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) of SGI for 48 h. The expressions of costimulatory molecules CD86 and B7-H1 mRNA were detected by RT-PCR. The level of CD86 and NF- κ B protein in cytoplasm or intranuclear was measured by Western blotting. **RESULTS** When treated with SGI for 48 h, the expression of B7-H1 mRNA decreased, the concentration of CD86 protein increased as the concentration of SGI increased, the expression of CD86 mRNA increased when the concentration of SGI were 3.66–7.32 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, the concentration of intracytoplasmic NF- κ B protein decreased, the intranuclear NF- κ B protein increased. **CONCLUSION** SGI could enhance the expression of CD86 of U937 cells, and reduce the expression of B7-H1. Its mechanisms might be related to the increase of content of intranuclear NF- κ B protein.

KEY WORDS: Sarcandra Glabra injection; U937cells; CD86; B7-H1; NF- κ B

肿节风为金粟兰科肿节风的全草, 又名草珊瑚、九节茶、接骨木等; 味辛、苦, 性平; 有抗菌消炎、清热解毒、祛风除湿、活血止痛、通经接骨等功效, 用于治疗各种炎症性疾病、风湿关节痛、疮疡肿毒、跌打损伤和骨折等^[1]。

近年来研究表明肿节风用于治疗胃癌、直肠癌、肝癌、鼻咽癌等有较显著效果^[2-5], 并有肿瘤免疫调节作用^[6], 但其对白血病方面的研究较少, 尤其对共刺激分子作用方面尚未见报道。故本实验在前期流式检测结果中已观察到 CD86 表达增高的基础上^[7], 体外观察肿节风注射液(Sarcandra Glabra injection, SGI)刺激后 B7-2 mRNA 的表达, 以及 CD86 的上调与核转录因子的关系, 为研究肿节风对白血病的作用机制及临床应用提供实验基础。

1 材料和方法

1.1 试剂与药物

1640 培养基(美国 Gibco 公司, 批号: 1241108); 新生牛血清(杭州四季青公司, 批号: 131001); CD86(C-19, 批号: D0709)、NF- κ B p50(N-19, 批号: H8769)和 β -Actin(C4, 批号: E6697)多克隆抗体均购自 Santa Cruz 公司; 二抗均购自北京中杉(山羊抗小鼠, 批号: 83350, 兔抗山羊, 批号: 81975); Trizol(Invitrogen 公司, 批号: 1251693); Oligo dT(批号: 27017109)、M-MLV 逆转录酶(批号: 090601)、dNTP(批号: 090603)、Taqase(批号:

RP040205)均购自 Promega 公司; ECL 发光剂(Bio-Rad 公司, 批号: SC2048); SGI(福建古田药业有限公司, 批号: 070513, 规格: 每支 2 mL)。

1.2 细胞来源及培养

U937 白血病细胞株本研究所保存。将 U937 细胞从液氮内复苏, 调整细胞浓度($8\times 10^4\cdot\text{mL}^{-1}$), 加入含 10%新生牛血清的 1640 培养基, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 的 5% CO_2 培养箱中常规培养, 2~3 d 换液传代, 取对数生长期的细胞进行后续实验。

1.3 方法

1.3.1 RNA 的提取与定量分析 ①总 RNA 提取: 取“1.2”项下对数生长期细胞, 调整细胞浓度($1\times 10^6\cdot\text{mL}^{-1}$), 加不同浓度的药物(1.83, 2.75, 3.66, 5.49, 7.32 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), 培养 48 h 后, 收集细胞, 按照稍加改进的 Trizol 提取方法(原先用 Trizol 只提取 1 次, 现改为用 Trizol 提取 2 次), 进行总 RNA 提取, 测定吸光度并计算 RNA 浓度, 分装, -80 $^{\circ}\text{C}$ 保存, 备用。②cDNA 合成: 取上述提取好的 RNA(预溶)、Oligo dT、DEPC 水混匀, 置于 70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 10 min, 每管中加入 $5\times$ 逆转录反应缓冲液、10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ dNTP、Rnasin 和 M-MLV 逆转录酶, 混匀置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 70 min, 收集备用。③PCR 扩增: CD86、B7-H1 和 β -actin 引物均由上海生工生物工程有限公司合成, 引物序列如下: CD86 上游引物: 5'GGGGGA TCCATGGGCTTGGAATCCT TAT3', 下游引物: 5'TCGGGTGACCTTGCTTAGACGTGCAGG3', 产

物为 458 bp; B7-H1 上游引物: 5'CGCATTTACTGT CACGGTTC3', 下游引物: 5'CTTGTCCAGATG ACTTCGGC3', 产物为 456 bp; β -actin 上游引物: 5'GGCACCACACCTTCTACAAT3', 下游引物: 5'-CATAGTCCGCCTAGAAGCAT-3', 产物为 882 bp。每管取上述逆转录产物 5 μ L, 各加入 10 $\times$ PCR 反应缓冲液、10 mmol $\cdot$ L $^{-1}$ dNTP、MgCl $_2$ 、CD86 或 B7-H1 引物、 β -actin 引物、Taqase 和 DEPC 水等共 20 μ L, 矿物油封口。反复混匀, 离心, 置于 DNA 扩增仪上扩增。扩增条件为 94 $^{\circ}$ C 变性 60 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 1.5 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1.5 min, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。④产物凝胶电泳: 取扩增产物 10 μ L, 在 1.2% 琼脂糖凝胶(含 EB)、1 $\times$ TAE 电泳缓冲液上, 80 V 电泳 2 h, 紫外观察, 凝胶图像分析系统分析并拍照保存。

1.3.2 细胞总蛋白、胞浆和核蛋白的提取 取“1.2”项下处理好的细胞($5 \times 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$)离心弃上清, 用冷 PBS 洗涤 2 次后, 去 PBS, 加入 1 mL 改良 RIPA 裂解液(Tris-HCl pH 8.0 50 mmol $\cdot$ L $^{-1}$ 、NaCl 150 mmol $\cdot$ L $^{-1}$ 、脱氧胆酸钠 1%、EDTA 1.5 mmol $\cdot$ L $^{-1}$ 、NP-40 1%、PMSF 1 mmol $\cdot$ L $^{-1}$ 和各种蛋白酶抑制剂 2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 冰浴条件下匀浆, 4 $^{\circ}$ C 10 000 r $\cdot$ min $^{-1}$ 离心, 取上清即为细胞总蛋白。“1.2”项下养好的细胞($5 \times 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$)用冷 PBS 洗涤 2 次后, 重悬在含蛋白酶抑制剂的缓冲液 A(含 Hepes 10 mmol $\cdot$ L $^{-1}$ 、KCl 10 mmol $\cdot$ L $^{-1}$ 、MgCl $_2$ 1.5 mmol $\cdot$ L $^{-1}$ 、DTT 0.5 mmol $\cdot$ L $^{-1}$ 、PMSF 0.5 mmol $\cdot$ L $^{-1}$), 振荡后破碎细胞膜, 离心, 收集胞浆蛋白。取沉淀, 加入缓冲液 C(含 Hepes 20 mmol $\cdot$ L $^{-1}$ 、NaCl 400 mmol $\cdot$ L $^{-1}$ 、25% Glycerol、EDTA 1 mmol $\cdot$ L $^{-1}$ 、DTT 0.5 mmol $\cdot$ L $^{-1}$ 、PMSF 0.5 mmol $\cdot$ L $^{-1}$ 和蛋白酶抑制剂均为 1 mmol $\cdot$ L $^{-1}$), 超声波粉碎, 离心, 收集核蛋白。加入蛋白质显色剂(Bio-Rad)测定总蛋白、胞浆蛋白和核蛋白浓度, 分装, -70 $^{\circ}$ C 保存, 备用。

1.3.3 CD86、胞浆和胞核内的 NF- κ B 蛋白表达 按本实验室已建立的方法, 将提取的细胞总蛋白 30 μg (CD86)、胞浆或核蛋白 20 μg (NF- κ B p50)分别加入到蛋白上样缓冲液中, 煮沸 5 min 后, 上样, 凝胶电泳(100 V, 2.5 h), 将已分离的蛋白条带转移到 NC 膜上(80 V, 90 min), 用含 1.1% 牛血清白蛋白的 TBST 缓冲液封闭 60 min, 分别加入 CD86、NF- κ B p50 和 β -actin 的特异性抗体, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 次日恢复至室温, 经 TBST 缓冲液洗涤 3 次,

分别加辣根过氧化物酶标记的山羊或小鼠二抗(1:3 000 稀释)作用 45 min, 充分洗涤, 加 ECL 发光剂, 置于凝胶图像分析系统中拍照、分析保存, 实验重复 3 次。

1.4 数据处理

各实验中所得到的条带均由 Alphaview 图像处理软件进行光密度扫描分析, 计算出目标基因或蛋白的相对表达量, 再用 SPSS 17.0 软件包统计分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 半定量 RT-PCR 检测 CD86 和 B7-H1 基因的表达

经不同浓度的 SGI 处理 U937 细胞 48 h 后, 提取总 RNA, 进行 RT-PCR 检测, 其结果显示, 较高浓度(3.66~7.32 g $\cdot$ L $^{-1}$)的 SGI 作用后, CD86 mRNA 表达有不同程度的增加, 且明显高于对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 结果见图 1。对抑制性免疫共刺激分子 B7-H1 表达检测结果显示, 经不同浓度的 SGI 处理细胞后, 与对照组相比, B7-H1 表达被抑制, 且随药物浓度增加抑制作用更明显($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 结果见图 2。

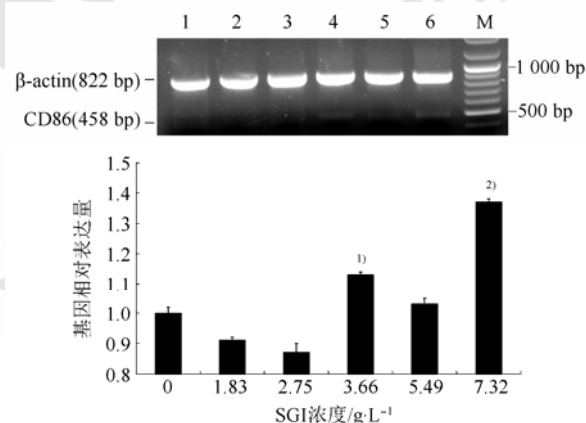


图 1 不同浓度 SGI 处理 48 h 后 U937 细胞中 CD86 mRNA 表达

1-对照; 2-1.83 g $\cdot$ L $^{-1}$; 3-2.75 g $\cdot$ L $^{-1}$; 4-3.66 g $\cdot$ L $^{-1}$; 5-5.49 g $\cdot$ L $^{-1}$; 6-7.32 g $\cdot$ L $^{-1}$; M-参照物; 与对照组比较, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

Fig. 1 The expression of CD86 mRNA in U937 cells after treated with different concentration of SGI for 48 hours
1-control; 2-1.83 g $\cdot$ L $^{-1}$; 3-2.75 g $\cdot$ L $^{-1}$; 4-3.66 g $\cdot$ L $^{-1}$; 5-5.49 g $\cdot$ L $^{-1}$; 6-7.32 g $\cdot$ L $^{-1}$; M-marker; compared with control group, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$.

2.2 Western blot 检测 SGI 处理 U937 细胞后 CD86 蛋白表达及 NF- κ B 蛋白在胞浆和核内的表达

靶细胞用不同浓度的 SGI 处理 48 h 后, 做免疫印迹检测。CD86、NF- κ B 抗原分别与 CD86、NF- κ B 抗体产生结合反应, 显示出特异性条带,

相对分子量为 70 kDa、50 kDa，与目标蛋白相符。

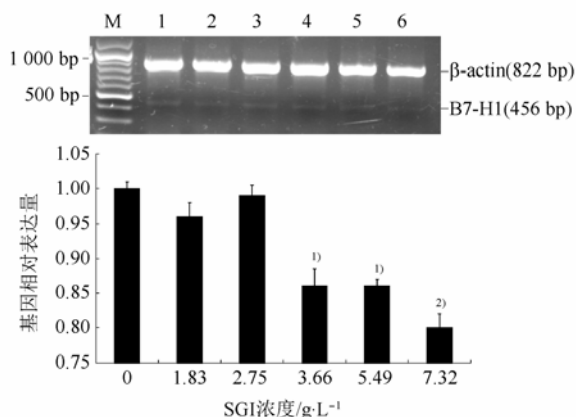


图 2 不同浓度 SGI 处理 48 h 后 U937 细胞中 B7-H1 mRNA 表达

1-对照; 2-1.83 g·L⁻¹; 3-2.75 g·L⁻¹; 4-3.66 g·L⁻¹; 5-5.49 g·L⁻¹; 6-7.32 g·L⁻¹; M-参照物; 与对照组比较, ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01。

Fig. 2 The expression of B7-H1 mRNA in U937 cells after treated with different concentrations of SGI for 48 hours 1-control; 2-1.83 g·L⁻¹; 3-2.75 g·L⁻¹; 4-3.66 g·L⁻¹; 5-5.49 g·L⁻¹; 6-7.32 g·L⁻¹; M-marker; compared with control group, ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01.

图像分析系统分析显示: 在低浓度时(1.83~3.66 g·L⁻¹), CD86 蛋白弱表达, 但随处理药物浓度增加而增加的, 结果见图 3。胞浆中 NF-κB 蛋白表达随药物作用浓度增加而下降, 胞核中的 NF-κB 表达则逐渐升高, 提示经 SGI 作用后, 胞浆中 NF-κB 复合物降解, 释放出活性 NF-κB 可能被移位至细胞核内, 使核内 NF-κB 蛋白含量增加。结果见图 4、5。

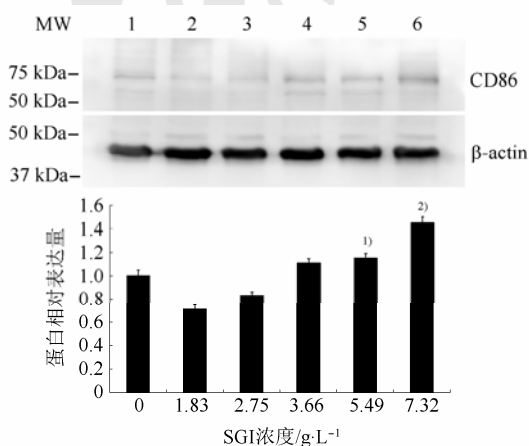


图 3 不同浓度 SGI 处理 U937 细胞 48 h 后 CD86 蛋白表达 1-对照; 2-1.83 g·L⁻¹; 3-2.75 g·L⁻¹; 4-3.66 g·L⁻¹; 5-5.49 g·L⁻¹; 6-7.32 g·L⁻¹; MW-分子量; 与对照组比较, ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01。

Fig. 3 The expression of CD86 protein in U937 cells after treated with different concentrations of SGI for 48 hours 1-control; 2-1.83 g·L⁻¹; 3-2.75 g·L⁻¹; 4-3.66 g·L⁻¹; 5-5.49 g·L⁻¹; 6-7.32 g·L⁻¹; MW-molecular weight; compared with control group, ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01.

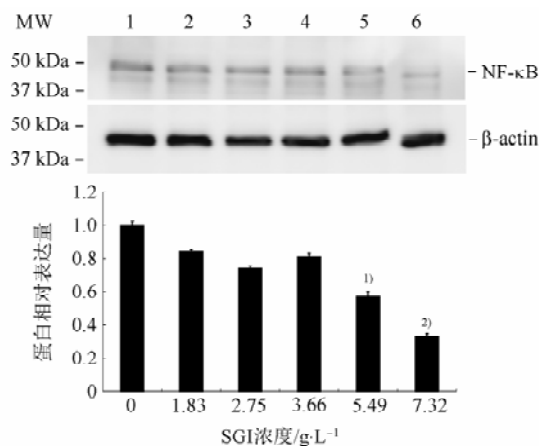


图 4 不同浓度 SGI 处理 U937 细胞 48 h 胞浆中 NF-κB 蛋白表达

1-对照; 2-1.83 g·L⁻¹; 3-2.75 g·L⁻¹; 4-3.66 g·L⁻¹; 5-5.49 g·L⁻¹; 6-7.32 g·L⁻¹; MW-分子量; 与对照组比较, ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01。

Fig. 4 The expression of NF-κB protein in the cytoplasm of U937 cells after treated with different concentrations of SGI for 48 hours

1-control; 2-1.83 g·L⁻¹; 3-2.75 g·L⁻¹; 4-3.66 g·L⁻¹; 5-5.49 g·L⁻¹; 6-7.32 g·L⁻¹; MW-molecular weight; compared with control group, ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01.

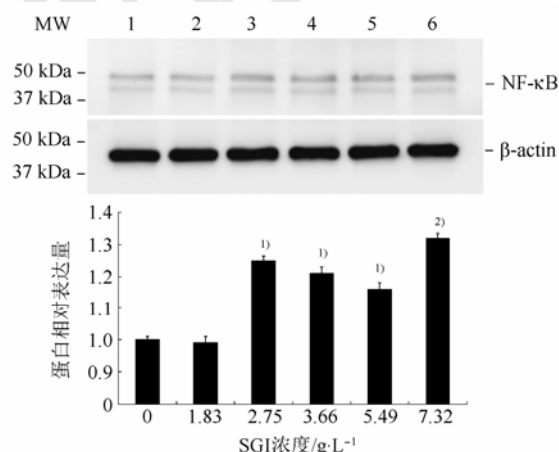


图 5 不同浓度 SGI 处理 U937 细胞 48 h 后细胞核内 NF-κB 蛋白表达

1-对照; 2-1.83 g·L⁻¹; 3-2.75 g·L⁻¹; 4-3.66 g·L⁻¹; 5-5.49 g·L⁻¹; 6-7.32 g·L⁻¹; MW-分子量; 与对照组比较, ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01。

Fig. 5 The expression of NF-κB protein in the nuclei of U937 cells after treated with different concentrations of SGI for 48 hours

1-control; 2-1.83 g·L⁻¹; 3-2.75 g·L⁻¹; 4-3.66 g·L⁻¹; 5-5.49 g·L⁻¹; 6-7.32 g·L⁻¹; MW-molecular weight; compared with control group, ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01.

3 讨论

B7 家族分子(包括 B7-1 和 B7-2 等)是激发免疫应答的重要共刺激分子, B7-2 也称 CD86, 属免疫球蛋白超家族成员之一, 主要表达在抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)上^[8-9]。在肿瘤免疫反应中, 肿瘤细胞即使表达高水平的 MHC-

I 和 II 类抗原并存在特异性的肿瘤肽, 但其表面由于缺乏共刺激分子的表达, 不能有效地激活机体的免疫应答, T 细胞失能, 导致免疫无应答, 则肿瘤细胞逃避免疫监视而存活。因此避免肿瘤细胞逃脱免疫细胞的免疫监视是肿瘤免疫研究中的一大难点。本实验在前期流式结果显示 CD86 表达增高的基础上, 采用半定量 RT-PCR 观察不同浓度的 SGI 对 CD86 的表达, 结果显示 SGI 能刺激靶细胞 CD86 mRNA 的表达, 下调抑制性免疫共刺激分子 B7-H1 基因表达。

NF- κ B 是一类核转录因子, 通常以 p50/p65 二聚体形式存在。当细胞在非刺激状态下, NF- κ B 复合物与它的抑制物 I κ B 结合, 以未被激活的前体形式存在于胞浆中, 当细胞受到损伤等刺激后, 抑制物 I κ B 降解, 活性 NF- κ B 释放并移位于细胞核内, 调节靶基因的转录活性, 故细胞核的 NF- κ B 蛋白质的表达可认为是 NF- κ B 激活的标志^[10]。Li 等^[11]报道 Th 细胞诱导 APC 中 CD86 基因转录是由 NF- κ B 与 CD86 基因启动子结合后激活引起的, 说明正常 APC 分子上调 CD86 分子表达是由 NF- κ B 介导的。因为 CD86 启动子上游-612 位点上有 NF- κ B 结合位点, CD86 基因区域为转录活性结构, 有利于 NF- κ B 转录因子的活化并与之结合而促进转录增强。本实验的免疫印迹结果显示, U937 细胞经不同浓度的 SGI 作用后, 胞浆内的 NF- κ B 蛋白含量随药物浓度增加而下降, 而细胞核内的 NF- κ B 蛋白含量逐渐升高。此结果与前面文献报道相一致, CD86 表达增加可能与核内 NF- κ B 含量增加有关。

SGI 处理白血病细胞后, 能促使白血病细胞表面参与免疫应答的共刺激分子 CD86 表达或表达增高, 可能会增加 T 细胞对白血病细胞的识别作

用, 避免白血病细胞免疫逃逸, 从而有效地激活机体的免疫应答, 增强机体免疫能力。当然细胞内信号传导通路十分复杂, 常为多种信号相互作用、协调的, 有关 SGI 上调白血病细胞 CD86 的作用机制还需进一步阐明。

REFERENCES

- [1] 中国药典. 二部[S]. 2010: 附录 154-155.
- [2] 李晴, 郑立君, 郝振宏, 等. 肿节风片对结肠直肠癌术后化疗患者免疫功能的影响[J]. 上海医药, 2008, 29(9): 420-422.
- [3] SUN W J, LI J, LAN F Y, et al. Antitumor effect of Zhongjiefeng injection on mice liver cancer Hep-A-22 and its toxicity [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2003, 25(4): 313-315.
- [4] SUN W J, LI J, LAN F Y, et al. Antitumor activity of Zhongjiefeng injection on FC in mice with precarcinoma of stomach and its toxicity [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharm(中药新药与临床药理), 2003, 14(3): 168-171.
- [5] KANG M, TANG A Z, LIANG G, et al. A study on the inhibition of *Sarcandrae* extracts on proliferation of nasopharyngeal carcinoma cell [J]. J Guangxi Med Univ(广西医科大学学报), 2008, 25(3): 347-349.
- [6] HE R R, WANG M, LI Y F, et al. Effects of *Sarcandra glabra* extract on immune activity in restraint stress mice [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2009, 34(1): 100-103.
- [7] CHEN X H, GAO R L, SHEN Y P, et al. Inhibition effects of *Sarcandra glabra* injection on expressions of costimulatory molecules CD80 and CD86 on U937 cells [J]. Chin J Tradit Med Sci Technol (中国中医药科技), 2014, 21(5): 513-516.
- [8] SHARPE A H, FREEMAN G J. The B7-CD28 superfamily [J]. Nat Rev Immunol, 2002, 2(2): 116-126.
- [9] ORABONA C, GROHMANN U, BELLADONNA M L, et al. CD28 induces immunostimulatory signals in dendritic cells via CD80 and CD86 [J]. Nat Immunol, 2004, 5(11): 1134-1142.
- [10] BARKETT M, GIMORE T D. Control of apoptosis by Rel/NF- κ B transcription factors [J]. Oncogene, 1999, 18(49): 6910-6924.
- [11] LI J, LIU Z, JIANG S, et al. T suppressor lymphocytes inhibits NF- κ B mediated transcription of CD86 gene in APC [J]. J Immunol, 1999, 163(12): 6386-6392.

收稿日期: 2014-10-28

白花前胡丙素抗哮喘模型小鼠 Th17/Treg 失衡作用

熊友谊, 时维静, 俞浩, 张孝林, 缪成贵, 马世堂(安徽科技学院食品药品学院, 安徽 凤阳 233100)

摘要: 目的 研究白花前胡丙素对哮喘模型小鼠体内 Th17/Treg 失衡的干预作用。方法 小鼠腹腔注射和雾化吸入卵清蛋白以建立气道炎性反应模型, 并灌胃不同剂量的白花前胡丙素干预。模型结束后, 动物肺功能仪分析气道高反应性; 细胞计数器和 Diff-Quick 染色计数支气管灌洗液中白细胞总数及分类; 酶联免疫吸附法检测血清或 BALF 中细胞因子和炎性介质的水平; 苏木精-伊红(HE)染色法观察气道病理改变; 流式细胞检测脾脏 CD4⁺细胞数及分类; RT-PCR 分析脾脏

作者简介: 熊友谊, 男, 博士, 讲师 Tel: 13955064723 E-mail: xytc1@163.com