

导白血病细胞的凋亡与 bcl-2 的下调有关。

p53 基因是重要的肿瘤抑制基因, 许多人类肿瘤都伴有不同程度的 p53 基因突变。突变的 p53 基因, 局限于上游的细胞凋亡调节中心, 从而有助于恶性肿瘤的发展, MDM2 具有重要的生物学作用, 它与 p53 蛋白连结, 因此可直接加速 p53 的退化。突变的 p53 基因能抑制 p53 的生化作用。一般认为野生型 p53 蛋白的半衰期很短, 正常组织细胞中 p53 蛋白的水平很低, 免疫组化技术检测不到。突变型 p53 蛋白不仅稳定性增加, 半生期延长, 并于核内积聚, 免疫组化技术可以检测到^[10]。本研究结果表明, 以不同浓度的 As₄S₄ 处理细胞后, 突变型 p53 蛋白表达水平呈剂量依赖性降低, 而且 As₄S₄ 下调 p53 mRNA 表达也呈剂量依赖性。提示 As₄S₄ 在体外能显著抑制人白血病细胞系 HL-60 细胞的生长, 并呈时间-剂量依赖性, 通过下调 bcl-2 和突变 p53 基因的表达来诱导细胞凋亡, 可能是其重要的机制。

参考文献:

[1] Chen S Y, Li X M, Liu S X. Over view of the advance in the research of traditional Chinese medicine containing arsenic for the treatment of malignant hematologic disease[J]. Chinese Materi a Magazine, 2000, 25(8):454.

[2] Wang Z Y. Arsenic compound as anticancer agents [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2001, 48 (Suppl): 572-576.
[3] Chen Z, Chen G Q, Shen Z X, et al. Treatment of acute promyelocytic leukemia with arsenic compounds: In vitro and in vivo studies [J]. Semin Hematol, 2001, 38 (1): 26-36.
[4] 王振义. 开展砷剂治疗白血病的临床和机制研究 [J]. 中华血液学杂志, 1996, 17: 57.
[5] 蔡洪培, 邓志华, 李石, 等. 三氧化二砷治疗急性早幼粒细胞白血病的机制研究 [J]. 白血病, 1996, 5 (3): 131.
[6] 刘延方, 江滨, 陆道培. 硫化砷诱导 NB4 细胞凋亡及细胞周期阻滞的研究 [J]. 中华血液学杂志, 2000, 21 (12): 647-648.
[7] 钟璐, 陈芳源, 韩洁英, 等. 雄黄对 NB4 和 HL-60 细胞形态、PML mRNA 及蛋白的表达影响 [J]. 中国实验血液学杂志, 2001, 9(3):223-227.
[8] 潘炳力, 徐凌云, 杨祥良. 雄黄抗肿瘤作用研究进展 [J]. 中药材, 2004, 27 (3): 226-228.
[9] De Maria R, Testi R. Fas2FasL interactions: a common patho-genetic mechanism in organspecific auto immunity [J]. Immunol Today, 1998, 19: 121-125.
[10] Hau P H, Lane D P. p53 in tumor pathology. Can we trust immunohistochemistry? [J]. Pathol, 1994, 172: 1-4.

商陆对阿霉素所致肾损伤大鼠肾组织 NO 浓度的影响

Effect of a Chinese herb “*Phytolacca Acinosa* Roxb” on NO expression in damaged renal tissues of rats caused by adriamycin

庞军¹, 张克非^{2*}, 余伍中², 王宏², 李明², 李辉², 王颖²

PANG Jun¹, ZHANG Ke-fei^{2*}, YU Wu-zhong², WANG Hong², LI Ning², LI Hui², WANG Ying²

(1. 宁波大学医学院附属阳明医院肾内科, 浙江 余姚 315400; 2. 遵义医学院附属珠海医院肾内科, 广东 珠海 519100)

摘要: 以商陆粗提物及强的松喂饲阿霉素所致肾损伤大鼠, 观察两者对肾损伤大鼠肾组织一氧化氮(NO)与尿蛋白的影响。结果商陆粗提物可以减少阿霉素所致肾损伤大鼠尿蛋白的排泄, 可能与其降低肾组织内 NO 浓度有关。

关键词: 商陆; 阿霉素; 肾; 一氧化氮(NO)

中图分类号: R692.5 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2007)04-0254-02

现代药理学发现, 商陆含有商陆碱、多量硝酸钾、皂苷、商陆多糖、植物致丝裂素、脂溶性成分(棕榈酸、十四酯)等, 商陆皂苷甲具有很强的抗炎作用^[1,2]。阿霉素(ADR)肾病模型以水肿、大量蛋白尿、低蛋白血症、高脂血症为特点, 其发病机理与氧自由基(OFR)产生、脂质过氧化物(LPO)形成, 对肾小球和上皮细胞产生毒性, 肾小球滤过膜电荷屏障缺损, 对分子缺乏控制, 使肾小球滤过膜通透性改变和肾小管重吸收障碍有关^[3]。为了观察商陆与 NO 自由基的内在关

系, 本实验观察商陆对阿霉素肾病大鼠肾组织匀浆中 NO 浓度的影响, 以探讨商陆对肾损伤大鼠的保护作用及其机制。

1 材料与方 法

1.1 动物

健康雄性 SD 大鼠 32 只, 体重为 (300±20) g, 由第三军医大学野战外科研究所提供。合格证号: SCK 渝 200203。

1.2 药物

贵州本地野生商陆由遵义医学院附属医院中药局提供。水煎、过滤、浓缩, 至每 ml 含生药 1 g, 装入瓶中密封, 冷藏保存。阿霉素(造模用药)由深圳万乐药业有限公司生产, 每支 10 mg, 批号: 0411E1。

1.3 分组与动物处理

大鼠适应性饲养 1 周后, 分别置于代谢笼里取尿, 测定尿蛋白, 结果均为阴性。将 32 只大鼠随机分为 5 组, 即正常对照组(6 只)、商陆对照组(6 只, 未造模喂饲商陆)、阿霉素组(6 只)、阿霉素+商陆组(7 只)、阿霉素+激素组(7 只)。各组按照参考文献[4]方法建立模型。

1.4 治疗

在第 2 次注射 ADR 后的次日, 开始灌胃给药, 商陆各组喂予商陆提取物 4 ml·kg⁻¹·d⁻¹ (相当于商陆生药 4 g·kg⁻¹·d⁻¹), 1 次灌入, 连续 2 周; 阿霉素+激素组给予强的松悬液

收稿日期: 2006-11-01; 修回日期: 2007-01-10

作者简介: 庞军 (1970-), 男, 硕士, 主治医师, 主要从事肾脏病的临床及基础理论研究。

* 通讯作者, 教授, 硕士生导师, E-mail: zkfz@126.com

4 ml·kg⁻¹·d⁻¹ (相当于强的松 16 mg·kg⁻¹·d⁻¹) 灌胃, 连续 2 周; 正常对照组及阿霉素组予等量的生理盐水灌胃, 同样连续 2 周。

1.5 肾组织匀浆的制备

治疗 2 周后处死大鼠取左肾, 去包膜, 取 100 mg 肾组织加 0.9 ml 生理盐水, 匀浆, 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清, 沸水浴 3 min, 10 000 r/min 离心 5 min, 取上清备用。

1.6 观察指标及检测方法

1.6.1 尿液检查 各组大鼠于实验结束前置于代谢笼中, 留取尿液, 检测尿蛋白定量。为减少大便对测定结果的影响, 所有大鼠均禁食 24 h, 仅喂以 10% 葡萄糖水。尿蛋白定量以全自动生化分析仪测定。

1.6.2 大鼠肌酐、白蛋白检测 各组大鼠均于实验结束时断颈处死取血, 检测肌酐、白蛋白, 以全自动生化分析仪测定。

1.6.3 NO 的检测 取制备好的肾组织匀浆上清液 0.1 ml, 以 530 nm 波长、0.5 cm 比色杯检测 OD 值, OD 值换算为浓度公式: NO 浓度 = 测定管 OD / 标准管 OD × 100 μmol/L。NO 试剂盒 (酶法) 由晶美生物工程 (北京) 公司提供。

1.7 统计学处理

使用 SPSS12.0 软件包对数据进行处理分析。

2 结果

2.1 实验结束后各组大鼠的 NO 浓度及尿蛋白、白蛋白、肌酐测定结果 (表 1)

表 1 各组大鼠 NO 浓度及尿蛋白、白蛋白、肌酐排泄量 ($\bar{x} \pm s$)

组别	药物剂量 (mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹)	NO 浓度 (μmol/L)	尿蛋白 (g/L)	白蛋白 (μmol/L)	肌酐 (μmol/L)
商陆对照组	4 000	5.92 ± 0.83 [▲]	0.21 ± 0.06 [▲]	39.67 ± 3.46 [▲]	44.56 ± 7.53
阿霉素组	0	20.80 ± 5.94	1.53 ± 1.28	18.23 ± 4.03	46.67 ± 4.89
阿霉素+ 激素组	16	12.77 ± 6.36 [▲]	0.46 ± 0.25 [▲]	28.44 ± 6.43 [▲]	44.44 ± 5.36
阿霉素+ 商陆组	4 000	8.64 ± 0.99 [▲]	0.32 ± 0.15 [▲]	27.93 ± 7.64 [▲]	44.74 ± 5.77
正常对照组	0	7.15 ± 1.97 [▲]	0.22 ± 0.09 [▲]	38.68 ± 3.48 [▲]	45.82 ± 5.33

▲与阿霉素组比较, P < 0.05

2.2 肾组织匀浆 NO 浓度与尿蛋白排泄量相关系数 r = 0.494, P = 0.02, 呈正相关。

3 讨论

NO 对肾脏具有明显的保护和损伤双重作用, 其原因是 NO 就是一种双重作用的细胞因子。低水平的持续合成 NO 可抗御炎症、抑制血小板和白细胞粘附、抑制肾小球系膜细胞增生, 但短期大量合成 NO 则导致急性组织损伤, 引发急性炎症反应^[5]。本课题组在以往的实验中也发现商陆皂苷甲 (ESA) 对系膜增生性肾小球肾炎具有减少尿蛋白, 抑制系膜细胞和基质增生的作用^[6-8]。本实验中各组对肌酐影响均不明显, 我们分析可能为实验周期较短、肾功能损害不明显所致。但本实验发现阿霉素组大鼠肾组织 NO 浓度显著升高, 并且肾组织内 NO 浓度与尿蛋白排泄量成正相关, 提示 NO 对阿霉素所致肾脏损害具有重要影响。而商陆和激素组尿蛋白排出减少, NO 浓度降低, 说明商陆和激素均具有减少尿蛋白排出及降低肾组织内 NO 浓度的作用, 其减少尿蛋白排出的作用可能与降低了肾组织内 NO 浓度有关。此点可为临床降低尿蛋白的治疗提供新思路。

参考文献:

- [1] 韩克慧. 商陆的免疫药理与临床应用 [J]. 中成药研究, 1986, (12): 24.
- [2] 田普永. 商陆的药理作用及临床应用 [J]. 西北药学杂志, 1989, 4 (1): 33.
- [3] Washizawa K, Ishii K, Itoh N, et al. Morphometric changes in glomerular anionic sites during aminonucleoside [J]. Nephrosi's Acta Pathol Jpn, 1989, 39: 558.
- [4] 许涛, 吕磊, 钱琛, 等. 大鼠阿霉素肾病的病理学观察 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2001, 6 (1): 43-45.
- [5] 钟慈声. 一氧化氮的生物医学 [M]. 上海: 上海医科大学出版社, 1997: 257.
- [6] 庞军, 张克非, 祝荣文, 等. 商陆粗提物对阿霉素肾病大鼠的治疗作用的试验研究 [J]. 中医药学刊, 2006, 24 (7): 1322-1323.
- [7] 张克非, 张亮, 吴雄飞, 等. 商陆皂苷甲治疗大鼠抗-Thy1.1 系膜增生性肾炎的实验研究 [J]. 四川大学学报 (医学版), 2004, 35 (5): 662-664.
- [8] 庞军, 张克非, 祝荣文, 等. 商陆对阿霉素肾病大鼠可溶性白介素 2 受体的影响 [J]. 中药药理与临床, 2006, 22 (3, 4): 107-108.

(上接第 248 页)

- [23] Kalia K, Flora S J. Strategies for safe and effective therapeutic measures for chronic arsenic and lead poisoning [J]. J Occup Health, 2005, 47 (1): 1-21.
- [24] 施宗驱, 林克强, 陈启江. 大剂量亚甲蓝救治重度氰化钠中毒 [J]. 现代实用医学, 2004, 16 (11): 666.
- [25] Hall A H, Rumack B H. Hydroxocobalamin/sodium thiosulfate as a cyanide antidote [J]. J Emerg Med, 1987, 5 (2): 115-121.
- [26] 王世俊. 中毒的解毒疗法 [J]. 中华内科杂志, 1998, 37 (10): 710-712.
- [27] 徐勤惠, 荣康泰, 恽榴红, 等. 河豚毒素的新型人工抗原及其

高效的抗毒效应 [J]. 免疫学杂志, 2003, 19 (6): 424-428.

- [28] 段华玲, 车娟婷. 乙酰胺联合乙醇抢救氟乙酰胺中毒临床观察 [J]. 职业卫生与应急救援, 2006, 24 (1): 48.
- [29] 陈根娣, 陈建荣. 乙酰胺治疗急性氟乙酰胺中毒临床疗效 [J]. 镇江医学院学报, 2000, 10 (3): 535-536.
- [30] Burns M J, Gaudins A, Aaron C K. Treatment of methanol poisoning with intravenous 4-methylpyrazole [J]. Ann Emerg Med, 1997, 30 (6): 829-832.
- [31] Kosinski E J, Malinzak GS. Glucagon and isoproterenol in reversing propranolol toxicity [J]. Arch Intern Med, 1973, 132 (6): 840-843.
- [32] Radiogardase insoluble prussian blue capsules; product information [Z]. Berlin: HEYL Chemisch-pharmazeutische Fabrik GmbH & Co, 2003.