

皂角刺含药血清诱导直肠癌细胞 SW-480 凋亡 及其对 Bcl-2/Bax mRNA 表达的影响

何峰¹, 何光志², 张利新¹, 王琴¹, 李志¹, 王开平¹, 邓文玲¹, 符中柱^{1*}
(1. 贵阳中医学院第一附属医院, 贵阳 550002; 2. 贵阳中医学院, 贵阳 550002)

[摘要] 目的: 采用血清药理学方法探讨皂角刺含药血清诱导肠癌细胞凋亡的作用机制。方法: 制备皂角刺药液, 50 只健康 SD 大鼠分为皂角刺高中低剂量组 (每 1 mL 分别含有生药 2 000, 1 000, 500 mg), 环磷酰胺阳性对照组 (50 mg·kg⁻¹) 和生理盐水空白对照组 5 个组, 按 20 mL·kg⁻¹ 大鼠体质量给药, 以制备含药血清。取含药血清培养液在体外作用于 SW-480 细胞 (密度为 1 × 10⁶/mL), 分别在 24, 48, 72 h 后, 采用 MTT 法检测含药血清对 SW-480 增殖的影响; 加入药物血清培养液处理细胞 24 h 后, 采用流式细胞仪检测 SW-480 凋亡率, RT-PCR 检测各组含药血清对细胞 B 细胞淋巴瘤/白血病 2 (Bcl-2)/Bcl-2 相关 x 蛋白 (Bax) 基因表达的影响。结果: 与空白对照组比较, 皂角刺含药血清培养液作用细胞的吸光度 (A) 在 20, 40, 60 h 均明显低于空白组 (0.370 ± 0.005)%, (0.624 ± 0.008)%, (1.078 ± 0.038)% (P < 0.01); 皂角刺高、中、低剂量含药血清培养液诱导 SW-480 凋亡依次为 (37.386 ± 0.163)%, (35.834 ± 0.092 3)%, (27.572 ± 1.193)% 显著高于空白对照 (5.036 ± 0.378)% (P < 0.01); 皂角刺含药血清培养液对 SW-480 细胞的 Bcl-2 表达 (0.258 ± 0.037, 0.442 ± 0.024 和 0.652 ± 0.072) 明显低于空白对照组 (0.936 ± 0.047) (P < 0.01), 随灌胃给药的药物剂量增加 Bcl-2 表达而增加, 而 Bax 表达 (1.946 ± 0.017, 1.810 ± 0.023 和 1.810 ± 0.023) 明显高于空白对照组 (1.260 ± 0.029) (P < 0.01), Bax 表达反而减少。结论: 皂角刺含药血清对能抑制 SW-480 生长和诱导其凋亡, Bcl-2 mRNA 基因表达减少与 Bax mRNA 基因表达增多可能是皂角刺诱导肠癌细胞凋亡的机制之一。

[关键词] 皂角刺含药血清; SW-480; 抑瘤作用; 凋亡; B 细胞淋巴瘤/白血病 2 基因/Bcl-2 相关 x 蛋白基因

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0217-05

[doi] 10.11653/syfy2013190217

Effect of Serum Containing Gleditsiae Spina on Inducing Apoptosis and Bcl-2 and Bax mRNA Expression of Human Colorectal Cancer SW-480 Cells

HE Feng¹, HE Guang-Zhi², ZHANG Li-xin¹, WANG Qin¹, LI Zhi¹,
WANG Kai-ping¹, DENG Wen-ling¹, FU Zhong-zhu^{1*}

(1. Frist Affiliated Hospital of Guiyang College of Traditional Chinese Medicine (TCM),
Guiyang 550003, China; 2. Guiyang College of TCM, Guiyang 550002, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of serum containing Gleditsiae Spina on inducing apoptosis and B cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2) and Bcl-2 associated x protein (Bax) mRNA expression of human colorectal cancer SW-480 cells. **Method:** Liquid extracted from Gleditsiae Spina was prepared, the serum containing Gleditsiae Spina was prepared by feeding healthy 50 SD rats at high, medium and low dose of Gleditsiae Spina (2 000, 1 000, 500 mg·L⁻¹). normal saline and cyclophosphamide (CTX) group (50 mg·kg⁻¹) according to the rat body weight (20 mL·kg⁻¹). The impact of serum containing Gleditsiae Spina on SW-480 with a cell density of 1 × 10⁶/mL proliferation was estimated by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) at 24, 48, 72 h after

[收稿日期] 20130501(002)

[基金项目] 贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究课题 (QZYY2011)

[第一作者] 何峰, 硕士研究生, 主治医师, 从事肛肠病学的教学、科研与临床, Tel: 15180735550, E-mail: hefeng8097@qq.com

[通讯作者] * 符中柱, 主任医师, 硕士生导师, 从事肛肠病学的教学、科研与临床, Tel: 13985111276, E-mail: doctorhefeng@sina.com

intervened, the apoptosis was detected by flow cytometry (FCM) and Annexin V-FITCPI. And the mRNA expression variance of the bax and Bcl-2 was used to detect by RT-PCR after intervention with various dose of serum containing Gleditsiae Spina for 24 h. **Result:** The serum containing Gleditsiae Spina had obvious inhibition effects on human colorectal cancer SW-480 cells *in vitro*, the *A* were significantly lower than that of the blank group (0.370 ± 0.005)%, (0.624 ± 0.008)%, (1.078 ± 0.038)% ($P < 0.01$), the apoptosis of human colorectal cancer SW-480 cells (36.918 ± 1.390)%, (33.036 ± 2.972)%, (23.372 ± 1.612)% was significantly lower than that of the blank group (5.036 ± 0.378)% ($P < 0.01$), the expression of mRNA of Bax (0.258 ± 0.037 , 0.442 ± 0.024 , 0.652 ± 0.072) was significantly lower than that of the blank group (0.936 ± 0.047) ($P < 0.01$), whereas expression of Bcl-2 (1.946 ± 0.017 , 1.810 ± 0.023 , 1.724 ± 0.028) was higher than that of the blank group (1.260 ± 0.029) ($P < 0.01$). **Conclusion:** The serum containing Gleditsiae Spina can inhibit proliferation and induce apoptosis of human colorectal cancer SW-480 cells. The decreased expression of Bcl-2 gene and the increased expression of Bax gene may be the mechanism of apoptosis of SW-480.

[**Key words**] Gleditsiae Spina; containing serum; human colorectal cancer SW-480 cells; apoptosis; Bcl-2/Bax gene

皂角刺《本草纲目》记载“消肿脱毒,妒乳,风疔恶疮,排脓,杀虫”。皂角刺也常作为中医治疗多种癌症常用的配伍药之一,已被列为抗癌中草药之一^[1]。曾元范将肿瘤细胞移植到小鼠体内建立荷瘤小鼠模型,以皂角刺为主的复方注射剂 814 静脉注射液进行治疗,发现其对 5 种移植性肿瘤有明显的效果,抑制率均大于 30%^[2]。张娟采用黄芪和皂角刺等组成复方治疗肺癌,疗效显著^[3]。熊燕子等采用黄芪和皂角刺等中药结合西医方法治疗 32 例中晚期肺癌患者,比 32 例单纯化疗肺癌患者疗效要好,且毒副作用减少^[4]。近年来,贵州省肛肠病医院一直运用皂角刺加减治疗直肠癌和结肠癌等,取得显著的疗效,并且未见明显的毒副作用。但目前对皂角刺抗肿瘤作用机制尚欠研究。故本研究对皂角刺含药血清在体外诱导直肠癌细胞 SW-480 凋亡及对细胞 Bcl-2/Bax 基因表达影响进行研究,拟在为深入开发利用皂角刺提供依据。

1 材料

1.1 动物 健康 SD 大鼠 50 只,雌雄各半,清洁级,购自重庆市中药研究院实验动物研究室,动物许可证号 SCXK(渝)2007/0006,体重(210 ± 10)g。

1.2 瘤株 人直肠癌 SW-480 细胞株:购自中国科学院上海细胞生物研究所。

1.3 药品和试剂 皂角刺 *Gleditsia sinensis* Lam. 药材购自贵阳中医学院一附院,由贵阳中医学院一附院崔昊(药学博士,药师)鉴定。环磷酰胺注射剂(CTX,购自江苏恒瑞医药股份有限公司,批号 12081121,用生理盐水配制成 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 无菌注射液); RPMI-1640 培养基(Invitrogen 公司,批号

728712); 0.25% 胰蛋白酶消化液(美国 Gibco 公司产品,批号 2010041); 小牛血清(杭州四季青生物工程材料公司,批号 07III5); RNA 反转录试剂盒(Thermo 公司,批号 21111A); Taq PCR Master Mix(北京北泰克生物技术有限公司,批号 PR1701); DNA Marker DL2000[宝生物(大连)工程有限公司,批号 D501A]。

1.4 仪器及设备 SW-CJ-1FD 超净工作台(中国苏净集团安泰公司), MCO-15AC 恒温 CO_2 培养箱(日本 Sanyo 公司), TS100-F 倒置光学显微镜(日本尼康公司), LD4-2 低速离心机(中国北京医用离心机厂), C1000 系列 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司), Image Quant 100 Image Quant 凝胶成像系统(美国 GE Healthcare 公司), FACS Arial™ 流式细胞仪(BD 公司); DYY-6C 电泳仪(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 皂角刺药液的提取 参照徐哲等方法^[5],取皂角刺药材 1 kg,采用 8 倍量体积分数为 70% 乙醇加热回流提取 3 次,每次 2 h。滤集提取液,放置 12 h 后,滤除胶状物,合并后减压回收至干,得皂角刺乙醇提取物,加热使乙醇挥发,得浸膏 150 g。参考预试验配制实验用皂角刺醇提物为 500, 1 000, 2 000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.2 皂角刺大鼠含药血清的制备 参照冯泳和季旭明等制备含药血清的方法^[6-7],略有改动。50 只健康 SD 大鼠,进行适应性饲养 1 周后随机分为 5 组,每组 10 只,按如下方法分别灌胃给药:皂角刺高、中、低剂量组($2 000$, $1 000$, $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)和空白对照组(生理盐水, pH 7.2)均按容量 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$

(药物体积/小鼠体重)分别进行给药,每日1次;环磷酰胺对照组按 $5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量进行给药,每日1次。以上各组连续给药3 d,末次给药1 h后大鼠股动脉取血。血样于 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 静置12 h, $1\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 低速离心分离血清,同组血清混合,经 $56 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 min 灭活处理,经 $0.22 \text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤除菌,获得5组含药血清,置 $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

2.3 对直肠癌 SW-480 细胞增殖抑制作用 选取对数期的细胞消化后制成细胞悬液,用含10%小牛血清的培养液调整细胞密度为 $1 \times 10^6/\text{mL}$,置于96孔培养板进行培养,每孔 $100 \text{ }\mu\text{L}$ 。取对数生长期密度为 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 的直肠癌 SW-480 细胞接种于6孔细胞培养板中。实验分5组分别为高、中、低剂量皂角刺含药血清、空白血清对照组和环磷酰胺含药血清,每组设5个复孔。将2.2制备的大鼠含药血清与 RPMI-1640 培养液按1:9配制成血清浓度为10%的药物血清培养液,向各孔加入药物血清培养液继续培养细胞分别于24,48,72 h 3个时间点,分别取出细胞培育板轻轻吸弃上清,分别于每孔加入 $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 MTT 试剂 $100 \text{ }\mu\text{L}$, $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光静置培养4 h后,吸弃上清,分别在每孔加入 $150 \text{ }\mu\text{L}$ 的 DMSO。在恒温摇床中振荡孵育10 min 使沉淀结晶完全溶解,用酶标仪检测每孔的吸光度 A_{492} 。根据公式计算生长抑制率(IR):

$$\text{IR} = (1 - \text{实验组 } A / \text{对照组 } A) \times 100\%$$

2.4 皂角刺含药血清诱导直肠癌 SW-480 细胞凋亡 参照陈武等方法^[8],略有改动。取对数生长期密度为 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 的直肠癌 SW-480 细胞接种于6孔细胞培养板中。分组与和采用药物血清培养液与2.3相同。待细胞贴壁后弃上清,分别加入各组血清培养液干预细胞,培养24 h 弃上清,分别用 0.25% 胰蛋白酶溶液消化细胞并用 PBS 于 $1\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心5 min 洗涤2次,收集沉淀细胞,每样本细胞数均为 $1 \times 10^6/\text{mL}$,用 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 的 PBS 洗涤后,加 $250 \text{ }\mu\text{L}$ 结合缓冲液混匀细胞,再加 $2.5 \text{ }\mu\text{L}$ Annexin V-FITC 和 $2.5 \text{ }\mu\text{L}$ PI (终浓度均为 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),避光作用20 min 后采用流式细胞仪检测,计算各组血清作用的细胞凋亡率。

2.5 检测 Bcl-2/Bax 基因 mRNA 表达 根据 Bcl-2 和 Bax 在 GenBank 登录序列,采用引物设计软件设计引物: Bcl-2-Forward: $5' \text{-AGAGGCAGGCG AT-GAGTTT-3'}$, Reverse: $5' \text{-GTTCTCCTGGTAGCAA TG-GTG-3'}$,其扩增产物长度为 517 bp ; Bax-Forward: $5' \text{-TGCTTCAGGGTTTCATCC-3'}$, Reverse: $5' \text{-ACGGC}$

GGCAATCCTCTG-3' ,其扩增产物长度为 172 bp ;内参基因 GAPDH-Forward: $5' \text{-TGAACGGGAAGCT-CACTGG-3'}$, Reverse: $5' \text{-TCCACCACCCTGTTGCTG-GA-3'}$,其扩增产物长度为 307 bp 。引物由宝生物(大连)工程有限公司合成。应用 Image J 软件条带分析,以 Bcl-2/GAPDH, Bax/GAPDH 比值作为 mRNA 表达的相对量,各组相对量均与正常血清组相对量比较,作为各组间相互比较的参数。

以对数生长期密度为 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 细胞于接种于6孔培养板中。分组与和采用药物血清培养液与2.3相同。待细胞贴壁后弃上清,分别加入各组血清培养液干预细胞,培养24 h 弃上清,用消化液消化细胞并用 PBS 离心洗涤2次,收集沉淀细胞用总 RNA 抽提试剂盒抽提总 RAN,于分光光度计上测定 280 nm 及 260 nm 处的吸光度(A)。以 Oligo (dT) 18 为引物进行反转录合成 cDNA。用 PCR 检测各组含药血清对 SW-480 细胞 Bcl-2/Bax 基因表达影响。PCR 反应体系为: $2 \times \text{TaqPCR Master Mix}$: $12.5 \text{ }\mu\text{L}$; cDNA 产物: $1.5 \text{ }\mu\text{L}$; 无菌水: $9.5 \text{ }\mu\text{L}$, 上下游引物各 $0.75 \text{ }\mu\text{L}$ 。采用 $25 \text{ }\mu\text{L}$ 反应体系,混合液于 PCR 仪上进行扩增,产物在 1% 琼脂糖凝胶上电泳,用 Bio-Rad Quantity One 软件对电泳条带进行分析,以 Bcl-2/GAPDH, Bax/GAPDH 比值作为 mRNA 表达的相对量,各组相对量均与正常血清组相对量比较,作为各组间相互比较的参数。

2.6 统计学分析 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析。采用单因素方差分析 LSD 法 (Least-significant difference, 最小显著性差异法), $P < 0.05$ 为有显著性差异。

3 结果

3.1 含药血清对人系直肠癌细胞增殖抑制作用 含药血清处理直肠癌 SW-480 细胞,观察20,40,60 h 对癌细胞 MTT 实验的影响,3个时间点下不同剂量的皂角刺含药血清对 SW-480 细胞增殖有明显的抑制作用,其 A 明显低于空白血清对照组 ($P < 0.01$),抑制效果呈现药物剂量依赖性,见表1。

3.2 细胞凋亡率和凋亡相关蛋白 Bax 和 Bcl-2 的 mRNA 表达检测 与空白对照组血清比较,不同剂量的皂角刺含药血清组细胞凋亡率均显著高于空白对照组血清 ($P < 0.01$),诱导细胞凋亡呈现药物剂量依赖性。见表2。

与空白血清对照组比较,不同剂量皂角刺含药血清组的 Bcl-2 基因表达明显低于空白对照组 ($P <$

0.01), Bcl-2 基因表达随着药物剂量增加而减少;而不同剂量皂角刺含药血清组的 Bax 基因表达明显高

于空白对照组 ($P < 0.01$), Bax 基因表达随着药物剂量增加而增加,见表 2。

表 1 皂角刺 10% 含药血清对 SW-480 细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	终质量浓度 /g·L ⁻¹	20 h		40 h		60 h	
		A	IR/%	A	IR/%	A	IR/%
空白血清对照	-	0.370 ± 0.005	0.00	0.624 ± 0.008	0.00	1.078 ± 0.038	0.00
皂角刺含药血清	4.0	0.195 ± 0.002 ^{1,2)}	47.30	0.238 ± 0.007 ^{1,2)}	61.86	0.231 ± 0.006 ¹⁾	78.57
	2.0	0.256 ± 0.032 ¹⁾	30.81	0.297 ± 0.003 ¹⁾	52.40	0.264 ± 0.003 ¹⁾	75.51
	1.0	0.303 ± 0.006 ^{1,2)}	18.11	0.319 ± 0.004 ^{1,2)}	48.88	0.301 ± 0.004 ¹⁾	72.08
环磷酸胺含药血清	0.01	0.253 ± 0.003 ¹⁾	31.62	0.297 ± 0.005 ¹⁾	52.40	0.264 ± 0.004 ¹⁾	75.51

注:与空白血清组比较¹⁾ $P < 0.01$;与环磷酸胺含药血清组比较²⁾ $P < 0.01$ (表 2 同);IR:抑制率。

表 2 皂角刺 10% 含药血清对 SW-480 凋亡的作用及其对细胞 Bcl-2, Bax mRNA 相对表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	终质量浓度 /g·L ⁻¹	凋亡率/%	Bcl-2/GAPDH	Bax/GAPDH
空白血清对照	-	5.04 ± 0.38	0.936 ± 0.047	1.260 ± 0.029
皂角刺含药血清	4.0	37.39 ± 0.16 ^{1,2)}	0.258 ± 0.037 ^{1,2)}	1.946 ± 0.017 ^{1,2)}
	2.0	35.83 ± 0.09 ¹⁾	0.442 ± 0.024 ¹⁾	1.810 ± 0.023 ¹⁾
	1.0	27.57 ± 1.19 ^{1,2)}	0.652 ± 0.072 ^{1,2)}	1.724 ± 0.028 ¹⁾
环磷酸胺含药血清	0.01	35.71 ± 0.93 ¹⁾	0.444 ± 0.011 ¹⁾	1.790 ± 0.023 ¹⁾

4 讨论

目前,皂角刺的抗肿瘤作用研究越来越受到重视,随着对其化学成分的生物活性和抗肿瘤机制研究的不断深入,皂角刺已经广泛应用于医药学领域。研究证实皂角刺具有抑制肿瘤增殖和诱导细胞凋亡的作用,李青旺等研究皂角刺醇提物作用小鼠宫颈癌 U14 时发现,皂角刺醇提物对 U14 细胞生长有明显的抑制作用^[9]。张长城等研究发现皂角刺皂苷对前列腺癌 PC-3 细胞具有抑制增殖和诱导凋亡的作用^[10]。本研究以不同剂量的皂角刺含药血清在体外作用于直肠癌细胞 SW-480 发现,皂角刺含药血清能抑制人系直肠癌细胞的增殖,且不同浓度的皂角刺含药血清均可诱导直肠癌细胞凋亡,并呈皂角刺含药血清的依赖关系。

本研究选择 Bcl-2 和 Bax 作为研究对象,Bcl-2 和 Bax 在 Bcl-2 家族中是一对相互抑制的成员,两者具有 21% 同源性,Bax 是较强的促细胞凋亡因子,而 Bcl-2 能够抑制细胞凋亡,Bax 与 Bcl-2 的表达产物可形成异源二聚体来抑制 Bcl-2 而诱发细胞凋亡^[11-12]。Bax 的异常表达与结直肠癌有着密切相关^[13-14]。本研究应用 RT-PCR 法检测 Bax 基因的表达随皂角刺含药血清浓度增加而增加,而 Bcl-2 的表达随含药血清浓度增加反而减少,这一结果提示

皂角刺含药血清诱导直肠癌细胞凋亡可能通过抑制抗凋亡基因 Bcl-2 表达和促进促凋亡基因 Bax 的表达来实现的。

总之,本研究初步阐明了皂角刺对直肠癌 SW-480 细胞具有明显的生长抑制和促进凋亡作用,而凋亡的机制可能与 Bcl-2 蛋白表达减少与 Bax 基因表达增加有关,这为临床运用皂角刺治疗直肠癌提供了实验依据。

[参考文献]

- [1] 陈国平. 中国抗癌中草药[M]. 上海:上海科学技术出版社,1984.
- [2] 曾元范,颜克海. 814 针剂对移植性肿瘤的抑制实验[J]. 暨南大学学报:医学版,1994,15(4):105.
- [3] 张娟. 肺积方治疗肺癌体会[J]. 山东中医杂志,2006,25(8):531.
- [4] 熊燕子. 中西医结合治疗中晚期肺癌 32 例疗效观察[J]. 湖南中医杂志,2006,22(3):15.
- [5] 徐哲,赵晓,王漪檬,等. 皂角刺抗肿瘤活性成分的分选鉴定与活性测定[J]. 沈阳药科大学学报,2008,25(2):108.
- [6] 冯泳,孟庆华,何前松,等. 小半夏加茯苓颗粒含药血清对肝癌细胞凋亡及其 Bcl-2 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(16):99.

醒脑益智胶囊不同配比 对阿尔茨海默病大鼠行为学的影响

张晓平, 侯林, 张龙霏, 聂克, 张召宝, 田景振*
(山东中医药大学, 济南 250355)

[摘要] 目的: 观察醒脑益智胶囊各组成药物有效部位不同配比对阿尔茨海默病大鼠(AD)行为学的影响, 寻找药物最佳配伍比例。方法: 雄性 Wistar 大鼠随机分为假模型组、模型组、阳性药对照组(石杉碱甲 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、醒脑益智胶囊全方组及 8 种不同配比药物组。大鼠常规饲养 3 d 后, Morris 水迷宫训练 7 d, 进行 1.25% D-半乳糖腹腔注射($4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$), 连续 6 周, 联合 $A\beta_{1-40}$ 海马内注射 $2 \mu\text{L}$ ($5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 复合造模, 造模 1 周后, 连续 ig 给药 30 d, 采用 Morris 水迷宫实验观察不同配比药物改善学习记忆的作用。结果: 与模型组比较, 各给药组大鼠空间学习能力显著提高, 定向航行试验中搜索平台潜伏期缩短, 空间探索实验中跨台次数增加, 与模型组比较均有显著性差异 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。其中 4 组即冰片: 淫羊藿苷: 远志总皂苷: 三七总皂苷 45: 6.8: 32.6: 0 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 影响较为明显。结论: 醒脑益智胶囊各组成药物有效部位不同配比均具有改善大鼠空间学习记忆的能力, 但作用效果存在差异。

[关键词] 醒脑益智胶囊; 阿尔茨海默病; 行为学; Morris 水迷宫试验

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0221-04

[doi] 10.11653/syfj2013190221

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130807.1120.003.html>

[网络出版时间] 2013-08-07 11:20

Effect of Xingnao Yizhi Capsule with Different Proportions on Learning and Memory Abilities in Alzheimer's Disease Rats

ZHANG Xiao-ping, HOU Lin, ZHANG Long-fei, NIE Ke, ZHANG Zhao-bao, TIAN Jing-zhen*
(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

[收稿日期] 20130313(003)

[基金项目] 国家重大新药创制专项(2011ZX09102-003-06)

[第一作者] 张晓平, 硕士在读, 从事中药制剂研究, Tel: 0531-89628597, E-mail: xia_opingzhang@126.com

[通讯作者] * 田景振, 博士, 教授, 从事中药制剂研究, Tel: 0531-89628597, E-mail: tianjingzhen@163.com

- [7] 季旭明, 欧阳兵, 吴智春, 等. 温下方含药血清诱导 A549/DDP 细胞凋亡及对 Bcl-2, Bax, p53 蛋白表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 123.
- [8] 陈武, 陈鹏英, 刘鹏, 等. 巴豆生物碱对人肝癌 SMMC-7721 细胞凋亡及 Bax, Bcl-2 蛋白表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 17(11): 199.
- [9] 龙玲, 耿果霞, 李青旺, 等. 皂角刺抑制小鼠宫颈癌 U14 的生长及对增殖细胞核抗原和 p53 表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(2): 150.
- [10] 袁丁, 熊正国, 张长城, 等. 皂角刺皂苷对前列腺癌 PC-3 细胞增殖抑制作用的研究[J]. 天津医药, 2008, 36(4): 280.
- [11] Oltvai Z N, Milliman C L, Korsmeyer S J. Bcl-2 heterodimerizes *in vivo* with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death[J]. Cell, 1993, 74(4): 609.
- [12] 吕鸿燕. Bcl-2 家族与脑缺血/再灌注后神经细胞凋亡[J]. 中国现代医药杂志, 2008, 10(5): 141.
- [13] Craig R W. MCL1 provides a window on the role of the BCL2 family in cell proliferation, differentiation and tumorigenesis[J]. Leukemia, 2002, 16(4): 444.
- [14] Cole K A, Konhn E C. Calcium-mediated signal transduction: biology, biochemistry, and therapy[J]. Cancer Metastasis Rev, 1994, 13(1): 33.

[责任编辑 聂淑琴]