

# 异常黑胆质成熟剂及清除剂对氧化应激诱导的淋巴细胞损伤及基因表达影响的比较研究

李林, 哈木拉提·吾甫尔\*, 姬艳丽, 陈艳, 赵学信, 武贵臻

(新疆地方病分子生物学重点实验室/新疆医科大学基础医学院生物化学教研室, 新疆 乌鲁木齐 830054)

[摘要] 目的: 以  $H_2O_2$  诱导淋巴细胞的氧化应激模型, 观察研究异常黑胆质成熟剂及清除剂对活性氧诱导的细胞损伤和 Bcl-2 蛋白表达的作用效应的差异。方法: 用“彗星实验”(SCGE) 和 MTT 法观察异常黑胆质成熟剂及清除剂对氧化应激的淋巴细胞 DNA 损伤和细胞生长活性的影响; 并采用 western blot 研究淋巴细胞 Bcl-2 蛋白的表达。结果: 异常黑胆质成熟剂对氧化应激诱导的淋巴细胞 DNA 和细胞损伤有保护性作用, 而清除剂的作用明显不同; 异常黑胆质成熟剂能上调 Bcl-2 蛋白的表达, 而清除剂能下调该蛋白的表达, 二者的作用相反。结论: 异常黑胆质成熟剂及清除剂对氧化应激的淋巴细胞损伤以及细胞凋亡相关基因表达的作用明显不同。

[关键词] 异常黑胆质成熟剂及清除剂; 淋巴细胞损伤; 氧化应激; 彗星实验; B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)10-0045-05

## The Influence of Abnormal Savda Munziq and Mushil on Oxidative Stress Induced Damage and Bcl-2 Expression in Lymphocyte

LI Lin, HARMURAT Upur\*, JI Yan-li, CHEN Yan, ZHAO Xue-xin, WU Gui-zheng

(Department of Biochemistry, Xinjiang Medical University,

Xinjiang Endemic Diseases Molecular Biology Key Laboratory, Urumqi 830054, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Abnormal Savda Munziq and Mushil on  $H_2O_2$ -induced lymphocyte DNA and cell damage, and Bcl-2 protein expression. **Method:** The DNA damage of lymphocytes was detected by Comet Assay and after treatment of Abnormal Savda Munziq and Mushil on  $H_2O_2$  induced lymphocyte cultures. Western blot was employed to determine the expression of Bcl-2 proteins in different treatment lymphocyte groups. **Results:** Abnormal Savda Munziq has protective effect against  $H_2O_2$ -induced DNA damage. By comparison the activity and toxicity of Abnormal Savda Munziq with Mushil, these two medicine are obviously different. The Abnormal Savda Munziq also shows obviously upregulation upon lymphocyte Bcl-2 protein expression. Contrast to Abnormal Savda Munziq, the Abnormal Savda Munshil shows the opposite effect that can inhibit the lymphocyte Bcl-2 protein expression. **Conclusion:** The effects of Abnormal Savda Munziq and Mushil the Bcl-2 protein expression and apoptosis induced by oxidative stress in lymphocyte are distinct.

[Key words] abnormal savda munziq and mushil; lymphocyte damage; oxidative stress; comet assay; Bcl-2

[收稿日期] 2007-02-13

[基金项目] 国家自然科学基金(30360127)

[通讯作者] \* 哈木拉提·吾甫尔, Tel: (0991) 4362206;

E-mail: halmurat@163.net

异常黑胆质论及其成熟剂和清除剂的应用是维吾尔医药学特有的理论体系。维吾尔医学认为异常黑胆质是胆液质、血液质、粘液质及黑胆质本身的质或量的变化引起的一种异常体液, 导致的疾病最为顽固难治, 如肿瘤、高血压、糖尿病和重症哮喘等疾

病。异常黑胆质性疾病的主要表现为失眠多梦、尿色发白且静置易沉淀、体表皮肤黑且粗糙无光、灰色舌苔、舌干、晨起时口苦涩、面部稍黑而无光暗淡、眼部发青深陷、脉细缓等特点,其治疗原则是根据引起疾病的异常体液的性质,先使用成熟剂,而后使用清除剂清除已成熟的异常黑胆质,继而恢复损伤器官的功能使气质复原,体液平衡、疾病恢复,并为本脏的治疗奠定基础<sup>[1]</sup>。维吾尔医在异常黑胆质性疾病治疗中强调成熟剂的使用“宜长、宜足量”而清除剂的使用“宜短、宜少量”。

以往的研究表明,异常黑胆质成熟剂及清除剂复方及复方中的主要单味药对氧自由基有不同程度的清除作用<sup>[2,3]</sup>,电子显微镜观察显示异常黑胆质成熟剂及清除剂对氧化诱导的细胞线粒体损伤有保护作用<sup>[3,4]</sup>,提示二者的抗氧化应激(oxidative stress, OS)作用可能是其对异常黑胆质性疾病治疗有效性的机理之一。

鉴于在临床上预防、治疗包括肿瘤、哮喘、糖尿病等异常黑胆质性疾病的有效性和临床应用的特点,本研究用体外建立的 OS 人外周血淋巴细胞 DNA 和细胞损伤模型,研究比较异常黑胆质成熟剂及清除剂对 OS 诱导的细胞损伤作用的差异。并通过异常黑胆质成熟剂及清除剂以及二者对氧化应激的淋巴细胞 Bcl-2 表达的作用比较来初步探讨其临床有效的科学内涵,以提高和发展维吾尔医药学。

## 1 材料

**1.1 药物及制备** 异常黑胆质成熟剂:由破布木果、红枣、牛舌草、蜜蜂花、甘草根、薰衣草、铁线蕨、小茴香、地锦草、刺糖 10 味药组成。除刺糖外其它药材适当粉碎,加 1 000 mL 水,加热煎煮 10 min 后,浸泡,静置 12 h,再用小火加热煎煮 2 h。过滤,滤液趁热加刺糖搅拌溶解,再过滤,用旋转蒸发仪 60 °C 水浴浓缩,样品相当于生药材 1.033 g·mL<sup>-1</sup>。异常黑胆质清除剂:由清泻山扁豆、玫瑰花、菟丝草、诃子、西青果、欧亚水龙骨、甘草根、破布木果、牛舌草、蜜蜂花、薰衣草、铁线蕨、小茴香、地锦草、刺糖、天山堇菜、睡莲花、葡萄干、玫瑰花糖浆、巴旦仁、番泻叶 21 味药组成。以上 21 味药材,除番泻叶、玫瑰花、菟丝草、薰衣草、天山堇菜、睡莲花、清泻山扁豆、刺糖外的其它药材适当粉碎,加 2 000 mL 水,加热煎煮 10 min 后停止加热,浸泡,静置 12 h。第 2 天,菟丝草装入布袋内浸泡于药液中,用小火加热煎煮 1 h,

加入薰衣草,再加热煎煮 1 h,过滤前 5 min 加入番泻叶、玫瑰花、天山堇菜、睡莲花炖煎 5 min,过滤,滤液趁热加刺糖和玫瑰花糖膏搅拌浸泡过滤,得滤液。清泻山扁豆另外浸泡于 80 °C 热水中,静置 12 h,过滤,并与前述滤液合并,用旋转蒸发仪 60 °C 水浴浓缩,样品相当于生药材 1.72 g·mL<sup>-1</sup>。

**1.2 主要试剂** 正常人新鲜血由乌市中心血站提供;淋巴细胞分离液为天津中国医学科学院生物医学工程研究所产品;RPMI1640 培养基为 GIBCO 公司产品;胎牛血清为杭州四季青公司产品;30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 为西安化学试剂厂分析纯试剂;MTT 及低熔点琼脂糖为 BBI 公司产品;DMSO 及 TritonX-100 为 AMRESCO 分装产品;Hybond<sup>TM</sup>-C 硝纤膜购自 Hyclone 公司;兔抗人多克隆抗体 Bcl-2,羊抗兔多克隆抗体 IgG HRP,化学发光检测 ECM Kit(兔 IgG)均为武汉博士德生物工程有限公司产品;HEPES、EGTA、DIT、丽春红 S,考马斯亮蓝 R-250 均购自上海生工公司,其余均为国产分析纯试剂。

**1.3 仪器设备** Bio-Rad 公司电泳仪和 MINI 水平及转移电泳槽, GL-16G-A 型高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂), Bio-Rad 凝胶成像仪, P<sup>H</sup>S-3C 型酸度计(上海第二分析仪器厂), X 射线摄影暗盒, 水平电泳仪(LKB-2197 型), 电热恒温水浴锅(DK-S24 型), 荧光显微镜(Olympus BH-2 型), Heraeus CO<sub>2</sub> 培养箱。医用 X 射线胶片-TX 为 AERMEI 产品。

## 2 方法

**2.1 外周血单核细胞的分离与鉴定** 按通常的单核细胞的分离方法进行。同时取少量细胞悬液涂片,用 Wright-Gimsa 法染色,根据细胞形态及细胞内颗粒判断,所分离的细胞中 95% 以上为淋巴细胞。

**2.2 淋巴细胞培养** 以含 100 μ·mL<sup>-1</sup> 青霉素, 100 μg·mL<sup>-1</sup> 链霉素, 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基悬浮细胞, 10<sup>6</sup>·mL<sup>-1</sup> 细胞浓度植入培养瓶中,培养一段时间后,分组进行干预。

**2.3 异常黑胆质成熟剂及清除剂对氧化应激的淋巴细胞 DNA 和细胞损伤的影响**

**2.3.1 实验分组及干预** 干预组的淋巴细胞培养液中加入设定终浓度的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(新鲜配制), 37 °C 孵育 12 h; 异常黑胆质成熟剂及清除剂干预组在加入 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 之前, 分别使用设定终浓度的异常黑胆质成熟剂及清除剂孵育淋巴细胞 4 h, 再加入 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 继续作用 12 h; 而空白对照组则加入等量的培养基于

37 ℃, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中孵育相同时间。各组细胞随即作以下处理。

**2.3.2 单细胞凝胶电泳(彗星实验)** 按 Collins<sup>[5]</sup> 的方法进行。

**2.3.3 图像分析** 用 EB 染色的玻片在 530 nm 激发光的荧光显微镜下进行观察。本实验采用国际通用的 Collins 记分法计数细胞, 每张载玻片随意选择 100 个细胞, 根据细胞损伤程度(彗星头部与尾部大小、比例)将 DNA 损伤分为 0、1、2、3、4 逐级加重的五级(见图 1), 总分值范围为 0~400。未受损的细胞表现为一圆形荧光, 即只有彗星头部; 而受损细胞则由于 DNA 断裂从核团中拖出, 向阳极方向伸出一慧尾, 随 DNA 单链断裂由轻到重, 慧尾逐渐变长变大, 并在一定程度上仅有荧光强度的增加而无明显的大小变化, 同时头部逐渐变小, 荧光强度也逐渐变暗。拍照记录。

**2.3.4 MTT 方法测定淋巴细胞活性** 将分组的细胞培养物接种于 96 孔细胞培养板中, 培养一定时间: 将待测细胞每孔培养液中加入 MTT 液(四氮甲基唑蓝用 pH7.2 的 PBS 配成 5 g·L<sup>-1</sup>) 10 μL, 37 ℃, 孵育 4 h; 在普通光学显微镜下观察可见紫蓝色针状结晶; 弃上清液, 每孔加入 100 μL 二甲基亚砷(DMSO); 用 ELISA 读数仪于波长 550 nm 读取 OD 值。

**2.4 Bcl-2 蛋白质的检测**

**2.4.1 提取胞浆蛋白质** 各组细胞培养物经 3 000 r·min<sup>-1</sup>, 离心 15 min 收集细胞。预冷 PBS 洗涤 2 次后, 1.0 × 10<sup>7</sup> 细胞加入 0.6 mL, 冰上裂解 30 min。4 ℃, 15 000 × g 离心 15 min, 取上清进行蛋白质定量(Bardford 法)。

**2.4.2 SDS-PAGE** 12% 分离胶, 5% 成层胶, 成层胶, 30 V, 1.5 h; 分离胶, 60 V, 2 h。

**2.4.3 Western blot** 电转移, 30 V, 4 ℃电转移 10 h 至硝酸纤维素膜上。丽春红 S 染色 10 min 以确定样品电泳带蛋白质分子量。封闭, 质量分数为 3% BSA

(含 0.05% Tween-20) 封闭液 4 ℃封闭过夜。一抗, TBST 洗涤 30 min, 加入用 TBS 稀释的抗 Bcl-2 多抗(1:50) 4 ℃孵育 8 h。二抗, TBST 洗涤 30 min, 然后与结合有辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 抗体(1:6 000) 室温孵育 2 h, TBST 洗涤 40 min。

**2.4.4 ECM 化学发光底物法检测印记膜, 凝胶成像仪成像。**

**2.5 统计学处理** 分析采用 x<sup>2</sup> 检验, P < 0.05 为差异有统计学意义。

**3 结果**

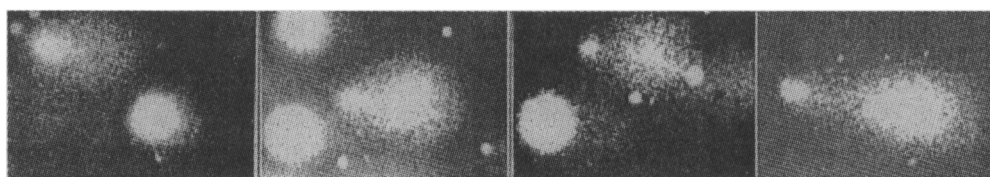
**3.1 异常黑胆质成熟剂及清除剂对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 DNA 损伤的影响** 见表 1, 图 1。

表 1 成熟剂、清除剂处理对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的人淋巴细胞

SCGE 实验的各级频数分布

| 组别                                     | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub><br>(Hmol·mL <sup>-1</sup> ) | 药物浓度<br>(μg·mL <sup>-1</sup> ) | 淋巴细胞 DNA 损伤分级 |    |    |    |    |
|--|---|--------------------------------|---------------|----|----|----|----|
|  |   |                                | 0             | 1  | 2  | 3  | 4  |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 损伤组      | 800   | 0                              | 0             | 3  | 19 | 47 | 31 |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 损伤+ 成熟剂组 | 800   | 100                            | 0             | 49 | 37 | 14 | 0  |
|  |   | 1 000                          | 10            | 45 | 28 | 17 | 10 |
|  |   | 10 000                         | 12            | 71 | 27 | 0  | 0  |
|  |   | 50 000                         | 40            | 58 | 2  | 0  | 0  |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 损伤+ 清除剂组 | 800   | 100                            | 2             | 29 | 50 | 19 | 0  |
|  |   | 1 000                          | 3             | 19 | 47 | 24 | 0  |
|  |   | 10 000                         | 0             | 0  | 37 | 47 | 16 |
|  |   | 50 000                         | 0             | 4  | 33 | 42 | 21 |
| 空白对照组                                  | 0   | 0                              | 81            | 19 | 0  | 0  | 0  |

随着成熟剂浓度的增加其对氧化应激诱导的 DNA 链断裂的损伤明显减轻, 保护作用增强, 在高浓度时, 氧化应激的 DNA 损伤显著降低。清除剂在低浓度(100 μg·mL<sup>-1</sup>) 时, 氧化应激 DNA 链断裂损伤分值较低, 而随着清除剂浓度的增加, DNA 链断裂损伤的分值明显提高, DNA 链断裂损伤加重。以上的“彗星实验”中成熟剂和清除剂在相同的浓度范围内, 对氧化应激诱导的淋巴细胞 DNA 链断裂的效应中, 二者的结果比较有较大差别(见表 1)。



1级: 0级      0级: 2级      0级: 3级      4级

图 1 彗星实验 DNA 损伤分级照片

### 3.2 成熟剂和清除剂对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的淋巴细胞活性的影响见表 2。

表 2 异常黑胆质成熟剂、清除剂对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导淋巴细胞活性的影响( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

| 实验分组                                | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub><br>( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) | 药物浓度<br>( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) | OD <sub>550</sub>             |
|-------------------------------------|--|---|-------------------------------|
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 干预组   | 800  | —   | 0.345 ± 0.087                 |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 成熟剂 | 800  | 100                                       | 0.627 ± 0.020 <sup>1,2)</sup> |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 成熟剂 | 800  | 1 000                                     | 0.424 ± 0.045                 |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 成熟剂 | 800  | 10 000                                    | 0.443 ± 0.111 <sup>1)</sup>   |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 成熟剂 | 800  | 50 000                                    | 0.736 ± 0.041 <sup>1,2)</sup> |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 清除剂 | 800  | 100                                       | 0.360 ± 0.070                 |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 清除剂 | 800  | 1 000                                     | 0.374 ± 0.014                 |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 清除剂 | 800  | 10 000                                    | 0.325 ± 0.035                 |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 清除剂 | 800  | 50 000                                    | 0.431 ± 0.078                 |
| 空白对照                                | 0  | —   | 0.442 ± 0.024                 |

注:与空白对照比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ;与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 干预组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$

人外周血淋巴细胞在 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 OS 后生长活性降低,成熟剂对 OS 的细胞活性下降有明显的保护作用,但是,这种保护作用未显示出浓度依赖关系。其中 100  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和 50 000  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度组细胞活性显著高于空白对照组。而清除剂在与成熟剂相同实验浓度范围内,未显示出明显的对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理诱导的细胞活性下降的保护作用(表 2)。

### 3.3 淋巴细胞 Bcl-2 蛋白的表达

用兔抗人 Bcl-2 多克隆抗体与不同实验组淋巴细胞的胞浆提取物的 SDS-PAGE 电泳蛋白转移到 NC 膜上进行免疫印迹后,再用标记了辣根过氧化物酶羊抗兔多克隆抗体标记一抗,用 ECM 光化学自显影后 X 光胶片经凝胶成像的结果见图 2。

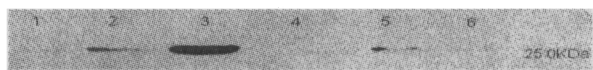


图 2 不同处理的人外周血淋巴细胞的 Bcl-2 蛋白的表达

1. 空白对照; 2. 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6 h; 3. 成熟剂 1 000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  4 h+ 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6 h; 4. 清除剂 1 000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  4 h+ 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6 h; 5. 成熟剂 1 000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  4 h; 6. 清除剂 1 000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  4 h

图 2 的结果显示,在前期用本实验条件下诱导的淋巴细胞氧化应激状态下有 Bcl-2 蛋白的低水平表达(泳道 2),成熟剂 1 000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  促进了氧化应激的淋巴细胞 Bcl-2 蛋白的表达水平(泳道 3),单独用成熟剂的淋巴细胞与空白组细胞相比 Bcl-2 蛋白

的表达水平要高(泳道 1, 5),成熟剂能上调 Bcl-2 蛋白的表达水平。单独用清除剂(泳道 6)和氧化应激后用清除剂(泳道 4)的淋巴细胞中均未检测到 Bcl-2 蛋白的表达,清除剂能使淋巴细胞 Bcl-2 蛋白的表达抑制。

### 4 讨论

维吾尔医体液论是维医疾病诊断和治疗的主要依据之一。对体液失调所致的疾病首先作体液分型,然后根据异常体液的性质,先后使用相应的成熟剂和清除剂使异常体液成熟和排出体外,达到平衡体液的目的,为本脏的治疗奠定基础,然后对疾病作针对性治疗。因此,疾病的异常体液分型是维医达到临床疗效的关键步骤,也是维医的特点之一。维医的体液分型将人的体液分为粘液质、血液质、胆液质、黑胆质。其中以异常黑胆质导致的疾病最为顽固难治。临床实践中,异常黑胆质成熟剂和清除剂在肿瘤、哮喘、银屑病、动脉硬化等疾病的治疗中取得了较好的效果<sup>[6-12]</sup>。

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 是在许多细胞内生理过程中产生的活性氧的主要成份,也是众所周知的遗传毒物,能产生多种氧化损伤,包括 DNA 的氧化损伤,如 DNA 链断裂和碱基修饰,在本研究中采用的“彗星实验”灵敏、可靠,在单细胞水平上检测 DNA 链断裂。随着成熟剂浓度的增加其对 OS 诱导的 DNA 链断裂的损伤明显减轻,保护性作用增强,在高浓度时,OS 诱导的 DNA 损伤显著降低。而随着清除剂浓度的增加, DNA 链断裂损伤加重。另外淋巴细胞在 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 OS 后细胞生长活性降低,成熟剂对 OS 的细胞活性下降有明显的保护作用。在用 100  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和 50 000  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度成熟剂处理的 OS 状态细胞活性甚至显著高于未诱导 OS 的细胞。以上的“彗星实验”和淋巴细胞活性实验中成熟剂和清除剂在相同的浓度下,对 OS 诱导的淋巴细胞 DNA 链断裂和细胞生长活性的影响效应有较大差别。提示两者对 ROS 的作用中具有不同的方式。在本研究中采用相对单一和简单的培养人外周血淋巴细胞进行药理研究,是尝试建立获得复杂的复方维药或中药的客观、多重、立体和实时快速的生物效应信息。

在体外用电子自旋共振等现代技术研究异常黑胆质成熟剂及清除剂<sup>[2,4]</sup>发现二者能有效的保护 OH·引发的 DNA 氧化损伤。5 种维吾尔单味药地锦草、琉璃苣、番泻叶、西青果及阿里红对 OH·有不同

程度的清除作用。在“彗星实验”和 MTT 研究结果均提示异常黑胆质成熟剂、清除剂对 OS 诱导的 DNA 链断裂和细胞生长的作用中明显不同。

机体内的 OS 可在许多生理和病理情况下存在, 可以导致细胞凋亡已在许多研究中证实, Bcl-2 蛋白的上调表达可以对抗细胞的凋亡<sup>[13]</sup>, 在氧化诱导细胞凋亡的调节中, Bcl-2 发挥了重要作用。在目前已知的与凋亡有关的基因中, 与氧化关系最密切的是 Bcl-2 基因。有文献提示 Bcl-2 基因通过与线粒体 SOD 的作用而抑制凋亡<sup>[14]</sup>。Bcl-2 通过抗氧化作用而阻止细胞凋亡的假说已被许多实验所证实。氧化诱导的细胞凋亡与多种疾病密切相关, 具有重要的临床意义。在诸如衰老、肿瘤、放射损伤、某些退行性疾病, 都有活性氧的堆积, 在 HIV 感染过程中, 细胞内抗氧化物质减少。在上述疾病过程中, 细胞凋亡作为重要特征的病理生理过程是经常存在的。

在本研究的实验结果中, 异常黑胆质成熟剂能上调 Bcl-2 蛋白的表达水平, 另外, 成熟剂还能大大提高 OS 诱导的 Bcl-2 蛋白的表达水平。异常黑胆质清除剂能显著下调 OS 诱导的淋巴细胞 Bcl-2 蛋白的表达水平, 在单独用异常黑胆质清除剂的人外周血淋巴细胞中未检测到 Bcl-2 蛋白的表达, 根据这些结果, 我们初步推论认为异常黑胆质清除剂能显著下调人外周血淋巴细胞 Bcl-2 蛋白的表达水平。在本研究中异常黑胆质成熟剂和异常黑胆质清除剂对人外周血淋巴细胞的 Bcl-2 蛋白(与细胞增殖和凋亡关系最密切的基因之一)的表达合成显示出完全不同的、相反的作用模式。提示着两者在对细胞的最基本的生物学行为—增殖和凋亡的调节过程有着不同的作用特点和作用方式, 这两种药是它们对细胞的活性氧代谢平衡与细胞的增殖与凋亡的调节及其相关基因的表达方面有着特定的模式, 随着有关技术的进步, 值得进一步探讨。

#### [参考文献]

[1] 阿吉·阿布里米提·玉素甫. 维吾尔医学基础理论[M].

乌鲁木齐: 新疆人民出版社, 1988. 114-144.

- [2] 阿不都热依木, 哈木拉提. 异常黑胆质成熟剂和清除剂抗氧化作用的 ESR 研究[J]. 中药新药与临床药理, 2001, 12(6): 420-422.
- [3] 哈木拉提, 阿不都热依木, 阿不都艾尼. 维吾尔医成熟剂和清除剂抗活性氧的作用研究[J]. 中国民族医药杂志, 2000, 6(3): 30-32.
- [4] 阿不都艾尼, 阿不都热依木, 哈木拉提. 异常黑胆质成熟剂和清除剂对 OH·引发的 DNA 损伤的保护作用[J]. 中药药理与临床, 2000, 16(3): 34-36.
- [5] Collins AR, Ma AG Duthie SJ. The kinetics of repair of oxidative DNA damage in human cells[J]. Mutat Res, 1995, 336(1): 69-77.
- [6] 阿斯尔·吾甫尔, 伊里亚斯·贾帕, 艾合买提·马木提等. 动脉硬化病人气质变化及其成熟和清除疗法的研究[J]. 维吾尔医药杂志, 1998, 3: 1-2.
- [7] 伊巴代提·阿塔吾拉. 治疗 125 例脑动脉硬化患者的临床结果总结[J]. 维吾尔医药杂志, 1998, 4: 30-33.
- [8] 迪里夏提·斯依提, 迪里夏提·艾尼瓦尔. 异常黑胆质性心肌梗塞病人 16 例治疗的临床报道[J]. 维吾尔医药杂志, 1998, 4: 33-35.
- [9] 铁木尔·阿不都热依木. 成熟剂和清除剂治疗银屑病的作用临床观察[J]. 维吾尔医药杂志, 1998, 2: 15-16.
- [10] 艾孜则·阿不里米提. 名老维医艾沙·阿吉的治疗哮喘的经验[J]. 维吾尔医药杂志, 1998, 2: 19-20.
- [11] 哈木拉提·吾甫尔, 阿不都艾尼, 阿不都热依木. 维吾尔族哮喘患者的维吾尔医分型及其治疗[J]. 维吾尔医药杂志, 1998, 2: 1-5.
- [12] 朴拉提·孜亚旦. 肿瘤的病因及其治疗[J]. 维吾尔医药杂志, 1995, 3: 15-17.
- [13] Marangolo M, McGee MM, Tipton KF, et al. Oxidative stress induces apoptosis in C6 glioma cells: involvement of nitroger activated protein kinesis and nuclear factor kappa B [J]. Neurotox Res, 2001, 3(4): 397-409.
- [14] Kane DJ, Sarafian TA, Anton R, et al. Bcl-2 inhibition of neural death: decreased generation of reactive oxygen species [J]. Science, 1993, 262(5137): 1274-1277.