

智脑胶囊对小鼠骨髓细胞核酸蛋白质合成代谢的影响*

杨文明¹, 韩明向¹, 周宜轩¹, 王艳昕¹, 黄雨初²

(1 安徽中医学院第一附院, 合肥 230031; 2 中国科学技术大学生命科学学院, 合肥 230035)

摘要: 采用放射性同位素前体掺入法观察智脑胶囊对小鼠骨髓细胞核酸、蛋白质合成代谢的影响。结果表明: 智脑胶囊对正常成年小鼠骨髓细胞核酸、蛋白质合成代谢无明显促进作用, 但对老年小鼠骨髓细胞核酸、蛋白质低下的合成能力有较好的提升作用, 且有一定的量效关系, 对⁶⁰Co- γ 射线辐射造成的小鼠核酸、蛋白质合成受损动物模型有较好的调节和抗辐射损伤的作用。

关键词: 智脑胶囊; 骨髓细胞; 放射性前体掺入法; 核酸和蛋白质; 合成代谢

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9003(2000)05-0029-04

Effect of Zhinao Capsule on Anabolism of Nucleic Acid and Protein in the Narrow Cells of Mice

YANG Wen-ming, HAN Ming-xiang, ZHOU Yi-xuan, WANG Yan-xin
HUANG Yu-chu

(1st Affiliated Hospital of Anhui College of TCM, Hefei, 230031;

School of Life Science, University of Science and Technology of China, Hefei, 230035)

Abstract: The effect of zhinao capsule on anabolism of nucleic acid and protein in the narrow cells of mice was studied with the method of radioisotope precursor incorporation. The results showed that zhinao capsule could not obviously promote the anabolism of nucleic acid and protein in the narrow cells of normal adult mice, but could markedly enhance the lower synthetic ability of nucleic acid and protein in the narrow cells of senile mice and there was certainly dose-effect relationship among three groups, in addition, the capsule had the regulation and antiradiation effect on the model mice of damage to nucleic acid and protein resulted from ⁶⁰Co- γ ray.

Key words: zhinao capsule(智脑胶囊), narrow cell, radioisotope precursor incorporation method, nucleic acid and protein, anabolism.

智脑胶囊是由党参、黄精、石菖蒲、川芎等中药精制而成的复方制剂。临床应用表明, 该药可有效改善老年人的思维、记忆能力, 提高智能, 改善体质, 益寿延年。为进一步探讨其机理, 我们从实验角度依据中医“肾主骨生

髓充脑”之理论, 观察智脑胶囊对小鼠骨髓细胞核酸及蛋白质合成代谢的影响。为智脑胶囊的临床应用提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 动物 选用昆明种成年小鼠, 体重 20~24g, 昆明种老年小鼠, 体重 32~40g(16月龄。由安徽省医学科学研究所动物中心提供。合格证号: 皖医动准第 01 号。

1.2 药物 智脑胶囊由合肥神鹿药业有限

收稿日期: 1999-11-09

* 基金项目: 安徽省教育委员会自然科学基金项目, NO: 99JLZC138

公司生产,每粒含生药 1.3g,实验时稀释至所需浓度。

1.3 试剂 ^3H -胸腺嘧啶核苷(^3H -TdR):放射性浓度 1mCi/ml,购自中国原子能科学研究院同位素研究所; ^3H -尿嘧啶核苷(^3H -UR):放射性浓度 0.8mCi/ml; ^3H -亮氨酸(^3H -Leu):放射性浓度 1mCi/ml,购自中国科学院上海原子核研究所;骨髓细胞培养液:美国产 RPMI-1640 粉,加适量肝素,临用时加适量小牛血清制成含 10% 小牛血清的细胞培养液,每 ml 含青霉素 100u 和链霉素 100 μg ,调整 pH 值在 7 \pm ;闪烁液:二甲苯闪烁液配方:2,5-二苯基恶唑(PPO) 8.25g,1,4-2,2[5-苯基恶唑基-2]-苯(POPOP) 0.15g,二甲苯 1000ml。

1.4 分组给药 实验用鼠依体重、月龄而分成成年和老年两组,每组设空白对照组和智脑胶囊低、中、高三剂量组,每组用鼠 11 只,空白对照组灌服生理盐水,每日 1 次,剂量为 22.5ml/kg 体重/d,智脑胶囊低、中、高三剂量组分别灌胃智脑胶囊 12.5g/kg 体重/d、25g/kg 体重/d、50g/kg 体重/d(按所含生药量折算,依次为临床用量的 5 倍、10 倍、20 倍),连续灌胃 15d,次日取骨髓细胞作管内掺入实验。

1.5 骨髓细胞悬液制备^[1,2] 注意无菌操作,杀鼠,取出两根股骨,剪除两端骨髓,用结核菌素注射器将 1ml 细胞培养液注入骨髓腔,冲出骨髓,再用此悬液冲出另一股骨的骨髓。然后用滴管吸取骨髓,再注回培养液。取制得的细胞悬液一滴,在血细胞计数盘上计数,用细胞培养液稀释细胞至 $1.0 \times 10^7/\text{ml}$,用台盼兰染色法测定细胞死亡率。选细胞死亡率不超过 6% 者作实验。

1.6 细胞培养 取 10ml 刻度离心管 2 支,制备平行标本 2 份,每支加细胞培养液 0.8ml,骨髓细胞悬液 0.1ml(含骨髓细胞 1.0×10^6),加入 ^3H -标记物 0.1ml(含放射性标记前体 1.0 μCi),观察 DNA 合成用 ^3H -

TdR, RNA 用 ^3H -UR,蛋白质用 ^3H -Leu,使培养液总体积为 1ml,混匀后置 37 $^{\circ}\text{C}$ 温箱中培养 4h 后,用 49 型国产玻璃纤维滤膜抽滤,经 2.5ml 生理盐水,5% 三氯醋酸及无水乙醇反复抽洗,膜片置 70 $^{\circ}\text{C}$ 烘干 1h,冷却后置 5ml 闪烁液中,经暗适应后测定其每分钟脉冲数(cpm)值,减去本底(B),再将测定效率及猝灭校正后转换成 dpm 及 μCi 数,最后折合成 n mol,其中 $\text{dpm} = \frac{\text{cpm} - B}{\eta P}$ (η 为测定效率, P 为猝灭率)^[3]。因管中含有 1.0×10^6 个骨髓细胞,故最终结果应以 n mol/ 1.0×10^6 细胞为单位表示放射性同位素前体掺入的量。

1.7 ^{60}Co - γ 线照射小鼠造成骨髓细胞核酸、蛋白质合成受损动物模型 取 20-24g 成年雄性小鼠,分空白对照组、放射对照组、智脑胶囊低、中、高三剂量组计 5 组,每组 8 只,空白对照组、放射对照组均灌服等量的生理盐水,智脑胶囊低、中、高三剂量组灌药同前。连续灌胃 4 天,每天 1 次,于次日辐照前 1h 再灌胃 1 次,1h 后,全身辐照 ^{60}Co - γ 线 600rad,腹腔内注射放射性前体标记物,观察蛋白质合成用 ^3H -Leu, DNA 合成用 ^3H -TdR, RNA 合成用 ^3H -UR。辐照后 72h 测上述指标观察智脑胶囊对受损的造血干细胞核酸、蛋白质合成代谢的调节作用。

2 结果

2.1 智脑胶囊对成年小鼠骨髓细胞核酸、蛋白质合成代谢的影响 智脑胶囊低、中、高三剂量组似有促进成年小鼠骨髓细胞内核酸、蛋白质合成,但和对照组比较,无显著差异。表明智脑胶囊对正常成年小鼠骨髓细胞核酸、蛋白质合成代谢无明显影响(见表 1)。

2.2 智脑胶囊对老年小鼠骨髓细胞核酸、蛋白质合成代谢的影响 老年小鼠骨髓细胞内核酸及蛋白质合成代谢较成年小鼠明显下降,智脑胶囊三个不同剂量组均可提高老年小鼠骨髓细胞核酸、蛋白质合成代谢,有显著

的统计学差异,且三剂量组间有一定的量效关系(见表2)。

2.3 智脑胶囊对⁶⁰Co- γ 线照射造成小鼠骨髓细胞核酸、蛋白质合成受损动物模型的影响

智脑胶囊能明显提高由⁶⁰Co- γ 线照射而引起的小鼠骨髓细胞核酸、蛋白质合成代谢的下降,与放射对照组相比,差异显著或非常显著(见表3)。

表1 智脑胶囊对成年小鼠骨髓细胞核酸、蛋白质合成的影响(nmol/10⁶cell, n=11)

组别	给药剂量	³ H-TdR 掺入量	³ H-UR 掺入量	³ H-Leu 掺入量
空白对照组	NS(等容积)	18.36±4.55	6.53±1.17	0.81±0.06
智脑低剂组	12.5g/kg	18.37±4.12	6.58±1.09	0.81±0.06
智脑中剂组	25.0g/kg	18.47±3.85	6.72±1.14	0.84±0.05
智脑高剂组	50.0g/kg	20.16±4.36	6.78±1.13	0.82±0.05

表2 智脑胶囊对老年小鼠骨髓细胞核酸、蛋白质合成的影响(nmol/10⁶cell, n=11)

组别	给药剂量	³ H-TdR 掺入量	³ H-UR 掺入量	³ H-Leu 掺入量
老年对照组	NS(等容积)	8.26±1.65	2.17±0.25	0.42±0.03
成年对照组	NS(等容积)	18.26±4.53	6.51±1.12	0.80±0.04
智脑低剂组	12.5g/kg	10.23±2.41*	4.52±0.41*	0.54±0.05
智脑中剂组	25.0g/kg	12.16±2.65**	5.03±0.49**	0.61±0.03*
智脑高剂组	50.0g/kg	14.70±3.89***	6.59±0.75***	0.75±0.04**

注:与老年对照组相比* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001(下同)

表3 智脑胶囊对⁶⁰Co- γ 线照射小鼠骨髓细胞核酸、蛋白质合成的影响(nmol/10⁶cell, n=8)

组别	给药剂量	³ H-TdR 掺入量	³ H-UR 掺入量	³ H-Leu 掺入量
空白对照组	NS(等容积)	16.52±3.84	6.35±1.23	0.74±0.04
放射对照组	NS(等容积)	4.26±0.56	1.28±0.16	0.20±0.03
智脑低剂组	12.5g/kg	6.24±0.82*	2.12±0.36*	0.38±0.05*
智脑中剂组	25.0g/kg	9.25±2.01**	3.15±0.41**	0.45±0.04**
智脑高剂组	50.0g/kg	13.68±2.35***	5.14±1.15***	0.70±0.05***

注:与放射对照组相比

3 讨论

小鼠骨髓细胞是人体代谢最为活跃的细胞之一,对药物的反应较为敏感。本实验选用小鼠骨髓细胞作为靶细胞,采用体内给服智脑胶囊,体内或体外掺入同位素前体,观察药物在体内综合作用下,其对骨髓细胞核酸、蛋白质合成代谢的影响的研究方法,此类方法较之体外给药体外掺入等方法更具可靠性和特异性,更符合临床状态^[3,4]。

大量的研究表明,人体核酸和蛋白质合成能力随增龄而降低,本文观察到的哺乳动物老年小鼠的骨髓细胞核酸、蛋白质合成能

力下降与上述结论吻合。

中医认为,肾主骨藏精,生髓充脑,“脑为元神之府”、“灵机记忆在脑不在心”,表明思维、学习记忆等重要脑功能与“肾”、“骨”、“精”、“髓”关系十分密切。智脑胶囊有益气养阴、健脾补肾、填精益髓、豁痰化浊,强体益智,改善脑功能之作用,其对正常成年小鼠骨髓细胞核酸、蛋白质合成代谢无显著作用而对老年小鼠、辐射损伤小鼠核酸、蛋白质合成代谢作用有影响之原因可能与智脑胶囊的整体调节作用有关,而加速了造血组织DNA等的合成则是其抗辐射损伤的主要机理。

参考文献:

- [1] 徐叔云, 卞如濂, 陈修, 药理实验方法学[M]. 第二版, 北京: 人民卫生出版社, 1994. 1103.
- [2] 生物化学编写组. 生物化学实验指导[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1987. 63.
- [3] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991. 219~ 220.
- [4] 周丹, 张伟, 霍玉书, 等. 放射性前体掺入法测定小鼠骨髓细胞核酸与蛋白质代谢及其在抗衰老药研究中的应用[J]. 老年学杂志, 1988, 8(6): 362.