

## • 药理学 •

## G- CSF 减轻大鼠下肢缺血再灌注致肺功能损伤的实验研究

胡佳乐<sup>1</sup>, 张 川<sup>2</sup>, 苏定冯<sup>2</sup>(1 解放军第 411 医院, 上海 200081; 2 第二军医大学基础部, 上海 200433)

**摘要:** 目的: 研究重组粒细胞集落刺激因子(G- CSF)对大鼠下肢缺血再灌注所致肺功能损伤的治疗作用。方法: 雄性 SD 大鼠随机分 3 组, 手术组及给药组麻醉后开腹解剖腹主动脉, 在肾动脉水平远端阻断 120min, 开放、再灌注 120min; 假手术组不阻断腹主动脉, 余同手术组。3 组均于术前经舌静脉注入伊文氏蓝(Evan's blue dye) 30mg/kg; 给药组术前经尾静脉注入 G- CSF 20 $\mu$ g/kg, 余二组给予生理盐水 1ml。术后取肺组织测定丙二醛(malonyldialdehyde, MDA) 及伊文氏蓝含量。结果: 给药组 MDA 含量为(1.71 $\pm$ 0.34) nmol/mg, 假手术组为(1.73 $\pm$ 0.65) nmol/mg, 均显著低于手术组(2.54 $\pm$ 0.39) nmol/mg。给药组伊文氏蓝含量为(1.50 $\pm$ 0.29)  $\mu$ g/mg, 假手术组为(0.13 $\pm$ 0.07)  $\mu$ g/mg, 均显著低于手术组(3.07 $\pm$ 1.18)  $\mu$ g/mg。结论: G- CSF 有减轻大鼠下肢缺血再灌注所致肺功能损伤的作用。

**关键词:** 重组粒细胞集落刺激因子(G- CSF); 缺血再灌注; 肺功能损伤

中图分类号: R965.1 文献标识码: A 文章编号: 1006- 0111(2001) 01- 0014- 03

## Attenuates pulmonary dysfunction induced by ischaemia- reperfusion of lower extremities in rats

HU Jia-le<sup>1</sup>, ZHANG Chuan<sup>2</sup>, SU Ding-feng<sup>2</sup>( 1. Division of Hygiene, Logistics Department of 37501 troops, Shanghai 200083, China; 2. Department of Pharmacology, Department of Basic Medicine, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE:** To investigate the therapeutic efficacy of Granulocyte colony- stimulating factor (G- CSF) against rat pulmonary dysfunction induced by ischaemia- reperfusion of lower extremities. **METHODS:** Male Spague- Dawley rats were randomised into three group. The operated and G- CSF group underwent laparotomy and clamping of the infrarenal abdominal aorta for 120min followed by 120min of reperfusion; The sham- operated group underwent laparotomy for 240min only; The G- CSF group was pretreated with G- CSF 20 $\mu$ g/kg through iv and the others were given 1ml saline each. All groups received Evan's blue dye 30mg/kg iv, preoperatively. Concentrations of lung malonyldialdehyde (MDA) and Evan's blue dye were measured as marker of lung injury. **RESULTS:** Lung MDA level of G- CSF group was (1.71 $\pm$ 0.34) nmol/mg; Sham- operated group was (1.73 $\pm$ 0.65) nmol/mg, both significantly lower than that of operated group (2.54 $\pm$ 0.39) nmol/mg. Evan's blue dye concentration was significantly higher in operated group (3.07 $\pm$ 1.18)  $\mu$ g/mg than in G- CSF group (1.50 $\pm$ 0.29)  $\mu$ g/mg and sham- operated group (0.13 $\pm$ 0.07)  $\mu$ g/mg. **CONCLUSION:** G- CSF has therapeutic efficacy against pulmonary dysfunction which was induced by ischaemia- reperfusion of lower extremities in rats.

**KEY WORDS:** G- CSF; ischaemia- reperfusion; pulmonary dysfunction

随着外科技术、重症监护技术和基础医学的日益进步, 缺血再灌注损伤造成远位器官(remote organ), 即非缺血区域组织器官损伤的现象日益引起关注。临床常见的有: 下肢缺血再灌注及腹主动脉、腹腔动脉、肠系膜上动脉等阻断、复流后引起的肺、心血管、肝、胃肠道及血液系统的功能障碍。缺血再

灌注作为一种氧应激, 造成炎症反应爆发甚至内环境紊乱, 是其致远位器官功能损伤的病理机制<sup>[1]</sup>。近期研究表明重组粒细胞集落刺激因子(G- CSF)有抗炎、抗休克的作用<sup>[2]</sup>, 本实验旨在观察 G- CSF 能否缓解缺血再灌注所致的大鼠肺损伤。

### 1 材料和方法

1.1 动物及手术过程

雄性 SD 大鼠 30 只,重 200~ 300g(第二军医大学动物研究所提供),随机分成 3 组,每组 10 只。手术组及给药组麻醉(1% 戊巴比妥液 1.5ml/kg 腹腔注射)后,打开腹腔,于腹膜后解剖腹主动脉,在肾动脉水平远端用 Bulldog 钳阻断腹主动脉 120min,开放再灌注 120min 后取肺组织。假手术组麻醉后开腹,不作腹主动脉阻断,240min 后取肺组织。给药组于手术前尾静脉注入 G- CSF(日本中外制药株式会社产品)20μg/kg,余二组给予生理盐水 1ml。三组均于术前经舌静脉注入伊文氏蓝(Evan's blue dye,上海化学试剂公司)30mg/kg。

1.2 肺丙二醛测定

丙二醛(MDA)是氧自由基攻击生物膜中不饱和脂肪酸引发脂质过氧化反应而产生的脂质过氧化物,能间接反映细胞损伤程度。本实验采用南京建成生物工程研究所的 MDA 试剂盒,应用比色法(UV-754 型紫外分光光度计,上海仪器三厂)在波长 532nm 处比色,测定湿肺组织 MDA 含量<sup>[3]</sup>。

1.3 肺伊文氏蓝测定

伊文氏蓝是一种染料,能与白蛋白结合,在肺受损伤而通透性增加时,伊文氏蓝与结合的白蛋白能进入肺泡间质甚至肺泡内,故根据肺组织伊文氏蓝含量可间接观察肺对蛋白质的通透性而提示肺功能的变化。本实验应用比色法(仪器同 1.2),取 100mg 湿肺组织匀浆于 5ml 甲酰胺,经水浴后在波长 620nm 处比色,计算伊文氏蓝含量<sup>[4]</sup>。

1.4 统计学方法

组间 MDA 及伊文氏蓝含量均应用方差分析(S-N-K 法),数据用 SPSS8.0 统计软件处理, P < 0.05 水平接受差异。

2 结果

结果提示给药组肺 MDA 含量显著低于手术组,与假手术组无明显差异,假手术组肺 MDA 也显著低于手术组。手术组肺伊文氏蓝含量显著高于给药组和假手术组。

表 1 G- CSF 对下肢缺血再灌注后大鼠肺 MDA 含量的影响(X ± S)

Group	n	MDA(nmol/mg)	Evan's blue dye(μg/mg)
Operated	10	2.54 ± 0.39	3.07 ± 1.18
Sham-operated	10	1.73 ± 0.65	0.13 ± 0.07*
G- CSF	10	1.71 ± 0.34	1.50 ± 0.29*

\* P < 0.01 vs operated group

3 讨论

医源性缺血再灌注损伤的机会随着医疗技术的进步而增多,传统的抑制缺血再灌注损伤的方法如降低缺血区域组织温度,应用抗氧化剂或输注高张、高渗盐水等能有效改善损伤的程度,但对远位器官的损伤却难以奏效<sup>[5]</sup>或因技术原因无法实施。新近研究表明,缺血再灌注损伤的病理生理基础乃是氧自由基应激及其启动的炎症反应。当应激强度超过机体维持内环境的能力时,则产生炎症爆发继而使局部损伤通过神经-内分泌-免疫调节而扩展至全身,甚至发生全身炎症反应(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)及多器官功能障碍(multiple organ dysfunction syndrome, MODS),其中肺是最常见累及的器官<sup>[6,7]</sup>。研究控制缺血再灌注对远位器官的损伤具有重要的临床意义。

G- CSF 是一种多肽生长因子,能刺激骨髓促进白细胞成熟分化,目前广泛地应用于低白细胞症患者。研究发现 G- CSF 尚有刺激血管内皮移行和增生的作用,并因此维持血管的紧张性,降低内脏动脉阻断性休克(splanchnic artery occlusion shock)的发生率。G- CSF 有抑制 TNF- α 的作用<sup>[8]</sup>,TNF- α 能促进内皮表达细胞间粘附分子(ICAM-1)而增加内皮与白细胞的粘附。G- CSF 通过影响内皮与白细胞的作用以及白细胞的分布而影响炎症反应,有证据表明 G- CSF 能降低肺及空肠组织白细胞的聚集<sup>[2]</sup>。氧自由基与细胞因子的半衰期较短促,而白细胞与内皮粘附,移行至间质产生细胞毒则是缺血再灌注产生远位组织器官损伤的主要原因。G- CSF 改善大鼠下肢缺血再灌注后肺损伤的可能机制就在与此。

丙二醛作为组织过氧化反应的标志物能间接反映组织损伤情况,但特异性不强,而且不能反映组织器官的功能变化,故本实验通过测定肺组织伊文氏蓝含量间接提示肺对蛋白质通透性的变化,从而判断肺功能损伤的程度。如能直接进行肺功能或血气分析,则能更全面地表明缺血再灌注对肺的影响。

本实验中手术组与假手术组肺 MDA 及伊文氏蓝含量水平相差显著,表明实验方法尚可作为缺血再灌注对远位器官损伤的动物模型加以应用。

参考文献:

[1] Vanniasinkam SH, Crinnion JN, Gough MJ, et al. Post- ischaemic organ dysfunction: a review[J]. Eur J Vasc Endovasc Surg, 1997, 14: 195.  
 [2] Squadrito F, Altavilla D, Squadrito G, et al. The effects of recombinant human granulocyte - colony stimulating factor on vascular dysfunction and splanchnic ischaemia - reperfusion injury [J]. Br J Pharmacol, 1997, 120: 333.

## 金丝桃细胞毒作用和抗肿瘤作用研究

项光亚<sup>1</sup>, 杨 瑜<sup>2</sup>, 阮金兰<sup>2</sup>, 周宜开<sup>1</sup>(1. 华中科技大学同济医学院环境医学研究所, 武汉 430030; 2. 华中科技大学同济医学院药学院, 武汉 430030)

**摘要:**目的: 研究金丝桃体外细胞毒作用和体内抗肿瘤作用。方法: MTT 和 SRB 体外实验法和皮下注射给药体内抗肿瘤法。结果: 体外细胞毒研究表明, 提取物 F003、F004、F006 以及化合物金丝桃内酯丙、槲皮素、槲皮苷对不同的癌细胞具有细胞毒作用; 体内皮下注射 20mg/(kg·d) × 10d 剂量的 F003、F004、F005 对小鼠 S<sub>180</sub> 肉瘤的抑制率分别为 20.7%、12.4%、31.4%。结论: 金丝桃在体外实验显示一定的细胞毒作用, 体内实验有抗肿瘤作用, 具有进一步研究开发的价值。

**关键词:** 金丝桃; 细胞毒作用; 抗肿瘤作用

中图分类号: R965.1 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2001)01-0016-03

### Studies of cytotoxic effect and antitumor effect by *Hypericum chinense*

XIANG Guang-ya<sup>1</sup>, YANG Yu<sup>2</sup>, RUAN Jin-lan<sup>2</sup>, ZHOU Yi-kai<sup>1</sup>. (1. Environmental Medical Institute of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Hubei, Wuhan 430030, China; 2. Pharmacy College of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE:** To study the cytotoxic effect in vitro and antitumor effect in vivo of *hypericum chinense*. **METHODS:** MTT and SRB assay method in vitro and antitumor test in vivo were used. **RESULTS:** The extracts F003, F004, F006 and the compounds hyperlacton C, quercetin, quercitrin show cytotoxic effect on different carcinoma cell in vitro; Under the dose of 20.0mg/(kg·d) × 10d, the inhibitory rates of F003, F004, F005 on S<sub>180</sub> in mice were 20.7%, 12.4%, 31.4%. **CONCLUSION:** *Hypericum chinense* show cytotoxic effect in vitro and antitumor effect in vivo and should be studied further.

**KEY WORDS:** *hypericum chinense*; cytotoxic effect; antitumor effect

从植物中寻找抗肿瘤药物, 已成为国内外抗肿瘤药物研究的重要组成部分。金丝桃是藤黄科金丝桃属植物, 具有清热解毒、祛风湿、消肿等功效<sup>[1]</sup>。从该属植物贯叶金丝桃中分离出的金丝桃素, 在体外实验中, 能抑制神经胶质细胞的生长且成剂量依赖关系<sup>[2]</sup>。作者此前研究发现<sup>[3]</sup> 金丝桃对 DNA 损伤有很好的保护作用。本文研究了金丝桃提取物和

从金丝桃中分离得到的化合物的体外细胞毒作用和体内抗肿瘤活性。

#### 1 材料与方法

##### 1.1 材料

1.1.1 实验动物 昆明种小鼠, 体重 18~25g, 雌雄兼有, 由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供。

[3] Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test[J]. Anal Biochem, 1978, 86: 271.

[4] Dumont AE. Interstitial albumin-bound dye concentrations in mice with a protein-rich effusion[J]. Proc Soc Exp Biol Med 1990, 194: 221.

[5] Waagstein LM, Jivegard L, and Waljamae H. Hypertonic saline infusion with or without dextran 70 in the reperfusion phase of experimental acute limb ischaemia[J]. Eur J Vasc Endovasc Surg, 1997, 13: 285.

[6] Groeneveld ABJ, Raijmakers PGHM, Rauwerda JA, et al. The inflammatory

response to vascular surgery-associated ischaemia and reperfusion in man: effect in postoperative pulmonary function[J]. Eur J Vasc Endovasc Surg, 1997, 14: 351.

[7] Baue AE. MOF/MODS, SIRS: an update[J]. Shock, 1996, 6: pp. s1.

[8] Gorgen I, Hartung T, Leist M, et al. Granulocyte colony-stimulating factor treatment protects rodents against ipopolysaccharide-induced toxicity via suppression of systemic tumor necrosis factor[J]. J Immunol, 1992, 149: 918.