

玉郎伞多糖对 A β ₂₅₋₃₅ 诱导 PC12 细胞损伤的保护作用研究^Δ

陈晓宇*, 荣延平, 张士军, 黄仁彬[#](广西医科大学药理学教研室, 南宁 530021)

中图分类号 R285;R749 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)19-1735-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.19.03

摘要 目的:研究玉郎伞多糖(YLSPS)对 A β ₂₅₋₃₅ 诱导 PC12 细胞损伤的保护作用。方法:采用 A β ₂₅₋₃₅ 诱导 PC12 细胞损伤模型。试验分为 6 组,即空白对照(无血清 DMEM 低糖培养基)、模型(10 μ mol/L A β ₂₅₋₃₅ 溶液)、石杉碱甲(1 μ mol/L 石杉碱甲溶液)与 YLSPS 高、中、低浓度(1.0、0.1、0.01 μ g/ml YLSPS 溶液,10 μ mol/L A β ₂₅₋₃₅ 溶液)组。检测细胞培养液与细胞匀浆中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、谷胱甘肽(GSH)、一氧化氮(NO)、一氧化氮合酶(NOS)、丙二醛(MDA)水平。结果:细胞培养液和细胞匀浆中,与模型组比较,YLSPS 高、中、低浓度组 NO、MDA 含量显著减少、NOS 活性显著减弱,SOD、GSH-Px 活性显著增强,GSH 含量显著增加($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结论:YLSPS 对 A β ₂₅₋₃₅ 诱导 PC12 细胞损伤具有较好的抗氧化保护作用。

关键词 玉郎伞多糖;PC12 细胞;A β ₂₅₋₃₅;超氧化物歧化酶;谷胱甘肽过氧化物酶;谷胱甘肽;一氧化氮;一氧化氮合酶;丙二醛

Protective Effects of YLS Polysaccharides on A β ₂₅₋₃₅ Induced PC12 Cells Injury

CHEN Xiao-yu, RONG Yan-ping, ZHANG Shi-jun, HUANG Ren-bin (Dept. of Pharmacology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the antioxidative effect of YLS polysaccharides (YLSPS) on A β ₂₅₋₃₅ induced PC12 cells injury. METHODS: The A β ₂₅₋₃₅ induced PC12 cell injury model. The experiment was divided into 6 groups, blank control (without serum DMEM culture medium with low glucose), model (10 μ mol/L A β ₂₅₋₃₅ solution), huperzine A (1 μ mol/L of huperzine a solution) and YLSPS high, medium, low concentration (1, 0.1, 0.01 μ g/ml YLSPS solution, 10 μ mol/L A β ₂₅₋₃₅ solution) groups. Detection of cell culture supernatant and cell superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), glutathione (GSH), nitric oxide (NO), nitric oxide synthase (NOS), malondialdehyde (MDA) levels. RESULTS: In the cell culture medium and the cell cytoplasm, compared with model group, MDA and NO content decreased significantly, NOS activity decreased significantly, SOD and GSH-Px activity were enhanced significantly, GSH content increased significantly ($P < 0.01$ or $P < 0.05$) in YLSPS high, medium, low concentration groups. CONCLUSIONS: YLSPS efficiently protect PC12 cells from oxidative damage induced by A β ₂₅₋₃₅.

KEY WORDS YLS polysaccharides; PC12 cell; A β ₂₅₋₃₅; SOD; GSH-Px; GSH; NO; NOS; MDA

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)又称早老性痴呆,是以进行性认知功能障碍和记忆损害为特征的原发性中枢神经系统退行性疾病。随着全球人口的老龄化,AD的发病率呈逐年上升趋势。目前,关于AD的发病机制存在多种学说,氧化应激学说的研究近年来得到医学界的广泛关注,越来越多的研究发现,氧化应激在AD发生发展中起关键作用^[1]。早在1956年,Harman就提出氧化损伤可能与衰老有关,后来的研究也证实AD患者的确伴有自由基的大量产生^[2-4]。

自由基生成与清除之间的不平衡是诱发AD神经病理改变的主要原因之一。因此,采用抗氧化药物来治疗AD成为研究开发的一个焦点。

玉郎伞(YLS)是广西壮族习用药材,为蝶形花科植物疏叶崖豆 *Millettia Pulchra* Kurz var. *Laxior* (Dunn) Z Wei 的块根,具有舒筋活络、补虚润肺之功能,民间用于治疗腰腿痛、风湿痛和慢性肝炎,也用于治疗智力减退、消化不良、营养不良和病后

虚弱等。YLS成分复杂,主要活性成分有多糖、黄酮、皂苷等化合物^[5-7]。玉郎伞多糖(YLSPS)是从YLS中提取的主要有效成分之一,由葡萄糖和阿拉伯糖组成^[8]。本课题组前期研究表明,YLSPS具有较强的自由基清除能力^[9],对脑缺血再灌注损伤有保护作用^[10],还可以增加快速老化小鼠(SAMP8)学习记忆与脑组织单胺类神经递质含量^[11]。本课题组过YLSPS自由基清除能力的测定,研究其对A β ₂₅₋₃₅诱导PC12细胞损伤的保护作用。

1 材料

1.1 仪器

371型CO₂细胞培养箱、Multiskan MK3型酶标仪(美国 Thermo 公司);MDF-U73V型超低温冰箱(日本 Sanyo 公司);GZX-GF-101型电热恒温鼓风干燥箱(上海跃进医疗器械厂);HFsafe-900型生物安全柜[力新仪器(上海)有限公司];TDL-5-A型低速离心机(上海安亭科学仪器厂);超声细胞破碎仪(上海之信仪器有限公司);CKX41型倒置相差显微镜、BX51型正置荧光显微镜(日本 Olympus 公司)。

1.2 药品与试剂

YLSPS由广西医科大学药理学教研室提供。DMEM高糖培养基、DMEM低糖培养基(美国 Gibco 公司);A β ₂₅₋₃₅(美国 Sigma 公司);胎牛血清(美国 HyClone 公司);MTT(美国

^Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.30960504);广西科学研究与技术开发计划项目(No.桂科攻0630002-2A)

* 博士研究生。研究方向:抗老年性痴呆药物。E-mail:1534746296@qq.com

[#] 通信作者:教授,博士研究生导师,博士。研究方向:抗老年性痴呆药物和抗糖尿病药物。E-mail:huangrenbin518@163.com

Solarbio Amresco 公司);石杉碱甲(河南太龙药业股份有限公司豫中制药厂,批号:10940156);超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、一氧化氮合酶(NOS)、谷胱甘肽(GSH)、一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA)测试盒均由南京建成生物工程研究所提供,其余试剂均为国产分析纯。

1.3 细胞

PC12细胞购于中国科学院上海生化与细胞所。

2 方法

2.1 细胞的培养

PC12细胞培养于DMEM高糖培养基,内含10%胎牛血清,100 u/ml青霉素,100 u/ml链霉素,置37℃、5%CO₂的培养箱中培养,每48~72 h传代1次,取对数生长期细胞用于试验。

2.2 细胞培养液中SOD、GSH-Px、NOS活性与GSH、NO、MDA含量的测定

取对数生长期的PC12细胞,用含10%胎牛血清的DMEM高糖培养基将细胞稀释,以 2×10^6 ml⁻¹细胞分子浓度接种于96孔培养板,每孔100 μl,置37℃、5%CO₂的培养箱中培养24 h。试验分6组,每组6孔,即空白对照(无血清DMEM低糖培养基,200 μl)、模型(以无血清DMEM低糖培养基制备的终浓度为10 μmol/L的Aβ₂₅₋₃₅溶液,200 μl)、石杉碱甲(以无血清DMEM低糖培养基制备的终浓度为1 μmol/L的石杉碱甲溶液,200 μl)与YLSPS高、中、低浓度(分别加入以无血清DMEM低糖培养基制备的终质量浓度为1.0、0.1、0.01 μg/ml的YLSPS,再加入终浓度为10 μmol/L Aβ₂₅₋₃₅溶液,各孔终体积为200 μl)组。将孔板置于37℃、5%CO₂的培养箱中培养24 h后,分别取各组细胞上清液,按测试盒说明书操作,比色法测定吸光度(A)值并计算其活性。

2.3 细胞匀浆中SOD、GSH-Px、NOS活性与GSH、NO、MDA含量的测定

收集经“2.1”项下处理后的细胞并悬浮于0℃生理盐水中,冰浴中用超声细胞破碎仪完全破碎细胞(功率:80 W,频率:20 kHz)2 min,显微镜下观察,无细胞后分别取100 μl悬液,按测试盒说明书操作,比色法测定A值并计算其活性。

2.4 统计学方法

所有检测结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用SPSS11.0统计软件包统计分析,组间均数比较采用t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 YLSPS对细胞培养液中NOS活性与NO含量的影响

与空白对照组比较,模型组细胞培养液中NOS活性显著增强,NO含量显著增加($P < 0.05$);与模型组比较,YLSPS高、中、低浓度组细胞培养液中NOS活性显著减弱,NO含量显著减少($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。YLSPS对细胞培养液中NOS活性与NO含量的影响见表1。

3.2 YLSPS对细胞匀浆中NOS活性与NO含量的影响

与空白对照组比较,模型组细胞匀浆中NOS活性显著增强,NO含量显著增加($P < 0.05$);与模型组比较,YLSPS高、中、低浓度组细胞匀浆中NOS活性显著减弱,NO含量显著减少($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。YLSPS对细胞匀浆中NOS活性与NO含量的影响见表2。

3.3 YLSPS对细胞培养液中SOD、GSH-Px活性与GSH、MDA含量的影响

表1 YLSPS对细胞培养液中NOS活性与NO含量的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 1 Effect of YLS polysaccharides on activity of NOS and content of NO in culture supernatant($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	NO, μmol/L	NOS, U/ml
空白对照组	39.23 ± 5.33	11.75 ± 1.67
模型组	67.80 ± 4.72*	17.44 ± 2.16*
石杉碱甲组	44.12 ± 6.18**	15.54 ± 2.21*
YLSPS低浓度组	51.90 ± 3.98*	16.40 ± 1.37*
YLSPS中浓度组	44.42 ± 4.15**	15.73 ± 2.01*
YLSPS高浓度组	37.51 ± 5.70**	13.20 ± 1.73**

与空白对照组比较: * $P < 0.05$;与模型组比较: # $P < 0.05$, ** $P < 0.01$
vs. blank control group: * $P < 0.05$; vs. model group: # $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表2 YLSPS对细胞匀浆中NOS活性与NO含量的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 2 Effect of YLS polysaccharides on activity of NOS and content of NO in cell homogenate($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	NO, μmol/L	NOS, U/ml
空白对照组	25.25 ± 3.77	21.39 ± 1.46
模型组	40.64 ± 5.09*	62.76 ± 4.20*
石杉碱甲组	29.40 ± 4.12**	32.68 ± 2.52**
YLSPS低浓度组	34.41 ± 3.54*	39.37 ± 2.41**
YLSPS中浓度组	29.59 ± 4.76**	28.77 ± 2.13**
YLSPS高浓度组	26.61 ± 6.10**	25.50 ± 1.87**

与空白对照组比较: * $P < 0.05$;与模型组比较: # $P < 0.05$, ** $P < 0.01$
vs. blank control group: * $P < 0.05$; vs. model group: # $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

与空白对照组比较,模型组细胞培养液中SOD、GSH-Px活性显著减弱,MDA含量显著增加,GSH含量显著减少($P < 0.05$)。与模型组比较,YLSPS高、中、低浓度组细胞培养液中SOD、GSH-Px活性显著增强,MDA含量显著减少,GSH含量显著增加($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。YLSPS对细胞培养液中SOD、GSH-Px活性与GSH、MDA含量的影响见表3。

表3 YLSPS对细胞培养液中SOD、GSH-Px活性与GSH、MDA含量的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 3 Effect of YLS polysaccharides on activities of SOD and GSH-Px and contents of GSH and MDA in culture supernatant($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	SOD, U/ml	GSH-Px, μmol/(min·ml)	GSH, mg/L	MDA, nmol/ml
空白对照组	14.32 ± 0.46	32.45 ± 3.27	25.41 ± 2.54	0.162 4 ± 0.024 7
模型组	8.67 ± 0.18*	25.52 ± 2.08*	15.22 ± 1.76*	0.305 4 ± 0.033 9*
石杉碱甲组	12.98 ± 0.19**	29.53 ± 2.81**	17.91 ± 1.69*	0.213 1 ± 0.047 9**
YLSPS低浓度组	10.72 ± 0.27*	28.79 ± 3.65*	17.38 ± 1.58*	0.208 1 ± 0.043 3**
YLSPS中浓度组	11.25 ± 0.39**	29.49 ± 2.30**	17.83 ± 2.01*	0.207 0 ± 0.051 2**
YLSPS高浓度组	13.78 ± 0.42**	29.92 ± 4.11**	18.60 ± 1.86**	0.201 0 ± 0.037 6**

与空白对照组比较: * $P < 0.05$;与模型组比较: # $P < 0.05$, ** $P < 0.01$
vs. blank control group: * $P < 0.05$; vs. model group: # $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.4 YLSPS对细胞匀浆中SOD、GSH-Px活性与GSH、MDA含量的影响

与空白对照组比较,模型组细胞匀浆中SOD、GSH-Px活性显著减弱,MDA含量显著增加,GSH含量显著减少($P < 0.05$)。与模型组比较,YLSPS高、中、低浓度组细胞匀浆中SOD、GSH-Px活性显著增强,MDA含量显著减少,GSH含量

显著增加($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。YLSPS对细胞匀浆中SOD、GSH-Px活性与GSH、MDA含量的影响见表4。

表4 YLSPS对细胞匀浆中SOD、GSH-Px活性与GSH、MDA含量的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

Tab 4 Effect of YLS polysaccharides on activities of SOD and GSH-Px, and contents of GSH and MDA in cell homogenate($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	SOD,U·mg	GSH-Px, μ .mol/min·ml	GSH,mg/L	MDA,nmol/ml
空白对照组	187.46±13.23	116.82±14.65	79.58±7.65	24.84±5.32
模型组	84.78±6.87*	89.87±11.12*	49.61±3.29*	162.59±15.77*
石杉碱甲组	145.38±13.87**	103.80±17.79**	56.37±4.36 [†]	90.54±10.26**
YLSPS低浓度组	152.97±9.52**	103.64±12.46**	55.41±3.82 [†]	106.13±11.08**
YLSPS中浓度组	152.41±11.70**	105.11±9.20**	56.87±4.01 [†]	94.84±9.93**
YLSPS高浓度组	129.11±8.16**	108.23±13.23**	59.51±6.54**	80.17±12.46**

与空白对照组比较: * $P<0.05$;与模型组比较: [†] $P<0.05$, ** $P<0.01$
vs.blank control group: * $P<0.05$;vs. model group: [†] $P<0.05$, ** $P<0.01$

4 讨论

氧化应激作用是由于机体内的抗氧化防御系统受到损害而产生过多的自由基,即活性氧簇(Reactive oxygen species, ROS)产生增多。机体内自由基产生过多会对机体造成损害,即毒性作用,如不能及时清除,自由基则与脂质、蛋白以及核酸发生反应,导致细胞功能障碍^[12]。AD典型的神经病理学特征是老年斑(Senior patch, SP)的出现。 β -淀粉样蛋白(Amyloid beta-protein, A β)是老年斑的主要成分,细胞外纤维化的A β 聚集,以及细胞内Tau蛋白纤维化形成神经纤维缠结(Neurofibrinous tangles, NFT),最终形成了老年斑^[13]。体外试验研究表明^[14],氧化应激作用可促进内源性A β 在溶酶体内过度的聚集,导致溶酶体膜通透性增加,促进细胞凋亡,这是AD神经元减少的一个重要机制。此外,患者的尸检报告证明,在NFT形成部位存在蛋白质的氧化产物,羰基和脂质过氧化物增加^[15]。可见,NFT的形成除Tau蛋白异常磷酸化之外,氧化损伤在NFT的形成过程中也有一定作用。综上所述,氧化应激作用存在于AD发病机制的诸多环节,在AD的发生发展过程中起着重要作用。A β 是由 β -淀粉样蛋白前体(Amyloid precursor protein, APP)裂解而成的毒性蛋白,由39~43个氨基酸残基组成,其活性片段主要在第25~35个氨基酸残基(GSNKGAI-IGLM),其在脑内沉积与AD形成密切相关^[16]。PC12细胞是来自大鼠嗜铬细胞瘤的细胞株,系神经嵴源性,具有神经细胞的特点,可传代培养,生长条件稳定^[17]。因此,用A β_{25-35} 直接诱导PC12细胞凋亡以复制AD模型,具有代表性,是体外进行AD研究的理想模型。

在本研究中,采用A β_{25-35} 诱导PC12细胞损伤模型,模型组细胞内与细胞外的MDA含量较空白对照组高($P<0.05$),GSH含量与SOD、GSH-Px活性较空白对照组低($P<0.05$),表明模型组细胞处于氧化应激损伤状态。而无论是细胞内或细胞外,YLSPS各浓度组SOD、GSH-Px活性与GSH含量均较模型组高($P<0.01$ 或 $P<0.05$),MDA含量较模型组降低($P<0.01$),表明YLSPS能提高模型细胞中SOD、GSH-Px活性与GSH含量,降低MDA含量。NO在机体内以L-精氨酸为底物,以还原型辅酶II(NADPH)与黄素腺嘌呤二核苷酸(FMN)等为协助因子,在NOS的作用下生成。NO与O₂产生在同一个生物体系,两者可相互作用,形成氧化能力更强的过氧化亚硝酸

根(ONOO⁻),再分解为·OH自由基和NO₂自由基攻击SOD的巯基使之失活,并诱导脂质过氧化。此外,ONOO⁻具有明显的核苷酸羟化、ADP-核糖基化活性,并影响谷氨酸载体(GT)功能而加剧兴奋性损伤,还可选择性地杀伤胆碱能神经。这些都体现了NO细胞毒性的一面,亦支持了脑衰老NO学说,表明氧自由基与NO自由基在衰老进程中起协同作用^[18-20]。本研究中,模型组NO含量及NOS活性均较空白对照组高,YLSPS各浓度组NO含量及NOS活性均较模型组低。综上所述,YLSPS可能是通过减少脂质过氧化产物的形成、增加抗氧化酶的抗氧化活性,进而增强细胞总的抗氧化活力而发挥抗氧化保护、抗痴呆作用。

参考文献

- Pratico D. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease: a reappraisal[J]. *Trends Pharmac Sci*, 2008, 29(12):609.
- Harman D. Aging a theory based on free radical and radiation chemistry[J]. *J Gerontol*, 1956, 11(3):298.
- Harman D. Free radical theory of aging[J]. *Triangle*, 1973, 12(4):153.
- Nikola Getoff. Anti-aging and aging factors in life. The role of free radicals[J]. *Radiat Phys Chem*, 2007, 76(10):1577.
- 孔晓龙,蒋伟哲,黄仁彬,等.玉郎伞对自发性高血压大鼠和SD大鼠血压的影响[J]. *中草药*, 2001, 32(8):727.
- 蒋伟哲,孔晓龙,段小群,等.玉郎伞对机体氧自由基清除作用的研究[J]. *中国药房*, 2001, 12(8):453.
- 孔晓龙,蒋伟哲,林中.玉郎伞提取物对环磷酸胺所致小鼠免疫功能低下的影响[J]. *中国药房*, 2004, 15(6):335.
- 段小群,焦杨,张士军,等.玉郎伞多糖对肝星状细胞增殖和I型胶原合成的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2008, 18(4):423.
- 陈健,黄媛恒,王乃平,等.玉郎伞多糖和皂苷对氧自由基清除作用研究[J]. *中药药理与临床*, 2007, 23(5):100.
- 陈健,林兴,焦杨,等.玉郎伞多糖对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用及机制初探[J]. *中国新药杂志*, 2008, 17(13):1118.
- 黄忠仕,黄仁彬,李江,等.龙眼参多糖对不同模型拟痴呆小鼠的益智作用[J]. *右江民族医学院学报*, 2004, 26(4):463.
- Chauhan V, Chauhan A. Oxidative stress in Alzheimer's disease[J]. *Pathophysiology*, 2006, 13(3):195.
- Vine HL, Walker LC. Molecular polymorphism of A β in Alzheimer's disease[J]. *Neurobio Aging*, 2010, 31(4):542.
- Zheng L, Kgedal K, Deharin N, et al. Oxidative stress induces macroautophagy of amyloid β -protein and ensuing apoptosis[J]. *Free Radic Biol Med*, 2009, 46(3):422.
- Polidori MC. Oxidative stress and risk factors for Alzheimer's disease: clues to prevention and therapy[J]. *J Alzheimer's Dis*, 2004, 6(2):185.
- Serpell LC. Alzheimer's amyloid fibrils: structure and as-

羟基红花黄色素 A 对抗原诱导 RBL-2H3 细胞活化脱颗粒的影响^Δ

黄 丰^{1*}, 李满萍¹, 吴赛春¹, 涂苑青¹, 曾 静¹, 童晓云² (1. 暨南大学药学院中药药理教研室, 广州 510632; 2. 云南中医学院第一附属医院, 昆明 650021)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)19-1738-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.19.04

摘 要 目的: 研究羟基红花黄色素 A(HYSA) 对抗原诱导大鼠嗜碱性细胞白血病细胞株(Rat basophilic leukemia cell line, RBL-2H3) 细胞脱颗粒的影响。方法: 采用 MTT 法检测 HYSA 对 RBL-2H3 细胞增殖活性的影响; 每孔加入抗 DNP-IgE 单抗(0.25 μg/ml) 与二硝基苯基人血清白蛋白(30 ng/ml) 以复制抗原诱导细胞脱颗粒模型, 研究 HYSA 对抗原诱导 RBL-2H3 细胞活化脱颗粒的抑制作用; 采用 Western blot 法检测 HYSA 对抗原诱导 RBL-2H3 细胞活化脱颗粒丝裂原活化蛋白激酶(MAPK) 蛋白表达的影响。结果: 3~300 μmol/L 的 HYSA 对 RBL-2H3 细胞的增殖无明显影响; 300 μmol/L HYSA 能显著降低 RBL-2H3 细胞脱颗粒程度以及抑制 MAPK 蛋白的表达。结论: HYSA 对抗原诱导 RBL-2H3 细胞活化脱颗粒的炎症反应具有一定的抑制作用, 且其作用可能与抑制 MAPK 蛋白表达有关。

关键词 羟基红花黄色素 A; 大鼠嗜碱性细胞白血病细胞株; 脱颗粒

Effects of Hydroxysafflor Yellow A on Antigen-stimulated Degranulation of Basophilic Cell Leukemia Cell Line in Rats

HUANG Feng¹, LI Man-ping¹, WU Sai-chun¹, TU Yuan-qing¹, ZENG Jing¹, TONG Xiao-yun² (1. Dept. of TCM Pharmacology, College of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 2. The First Affiliated Hospital of Yunnan TCM College, Kunming 650021, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of Hydroxysafflor yellow A (HYSA) on antigen-stimulated degranulation in RBL-2H3 cells. METHODS: MTT assay was performed to establish the effect of HYSA on the RBL-2H3 cells viability; the RBL-2H3 cells were stimulated with 0.25 μg/ml anti-DNP IgE and 30 ng/ml DNP-HSA to establish degranulation model, the inhibitory effect of HYSA on antigen-stimulated degranulation in RBL-2H3 cells was researched; MAPK protein expression after antigen-induced degranulation was examined by the Western blot analysis in RBL-2H3 cells. RESULTS: HYSA (3~300 μmol/L) had no significant effect on RBL-2H3 cells proliferation. HYSA (300 μmol/L) significantly decreased the degranulation and MAPK phosphorylated protein level in RBL-2H3 cells. CONCLUSIONS: HYSA inhibited the inflammation on antigen-stimulated degranulation in RBL-2H3 cells through inhibiting of the MAPK protein phosphorylation.

KEY WORDS Hydroxysafflor yellow A; RBL-2H3 cells; Degranulation

红花是我国常用的一味活血化瘀中药, 其来源为菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L 的干燥花。羟基红花黄色素 A (Hydroxysafflor yellow A, HYSA) 为红花提取物中具有单查尔酮苷结构的水溶性单体成分, 2010 年版《中国药典》就已规定以 HYSA 为红花的代表性活性成分进行含量测定^[1]。HYSA 为红花有效部位红花黄色素的主要有效成分, 其抗血小板聚集、抑

制血栓形成和减轻心脑血管缺血损伤作用^[2]早已广为人知, 随着近几年药理研究的深入, 人们发现 HYSA 还具有抗炎作用^[3-5]。在过敏性鼻炎、哮喘、食物过敏等变态反应性疾病中, 肥大细胞扮演了重要角色, 而活血化瘀类药物具有对抗或治疗其活化脱颗粒的作用。有研究报道, 红花具有稳定致敏大鼠腹腔肥大细胞细胞膜, 抑制细胞脱颗粒的作用^[6], 而其有效成分 HYSA

- sembly[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1502(1): 16.
- [17] Rebois RV, Reynolds EE, Toll L, et al. Storage of dopamine and acetylcholine in granules of PC12, a clonal pheochromocytoma cell line[J]. *Biochemistry*, 1980, 19(6): 1 240.
- [18] Wu MD, Kimura M, Inafuku S, et al. Effect of aging on

- the expression of iNOS and cell death in the mouse cochlear spiral ganglion[J]. *Okajimas Folia Anat Jpn*, 1997, 74(5): 155.
- [19] 李平, 何海蓉, 陈启盛. 褪黑素对衰老小鼠脑组织 NO 和氧自由基生成的作用[J]. *基础医学与临床*, 2002, 22(3): 275.
- [20] 陈俊抛. *痴呆治疗学*[M]. 北京: 人民军医出版社, 2002: 56.

Δ 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81073129)
* 副研究员, 硕士研究生导师, 博士。研究方向: 中药免疫。E-mail: hftxyy@gmail.com

(收稿日期: 2012-06-09 修回日期: 2012-10-27)