

桉椰子醇提物对急性腹膜炎模型小鼠的改善作用及机制研究[△]

李凤金^{1*}, 王博¹, 霍金海¹, 黄璐琦^{2#}, 王伟明^{1#b} (1. 黑龙江省中医药科学院中药研究所, 哈尔滨 150036; 2. 中国中医科学院中药资源中心, 北京 100700)

中图分类号 R284.2; R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)23-3217-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.23.11

摘要 目的: 探讨桉椰子醇提物对急性腹膜炎模型小鼠的改善作用及机制。方法: 将小鼠按体质量随机分为空白对照组(蒸馏水)、模型对照组(蒸馏水)、阳性对照组(洛索洛芬钠片 0.023 g/kg)和桉椰子醇提物高、中、低剂量组(6.5、3.25、1.625 g/kg, 以提取物量计), 每组 24 只, 灌胃给予相应药物, 连续给药 3 d。末次给药 30 min 后, 除空白对照组外, 其余各组小鼠均腹腔注射酵母多糖溶液复制急性腹膜炎模型。腹腔注射酵母多糖溶液 4 h 内, 观察各组小鼠的活动情况、反应状态和排泄情况; 造模后每组取 12 只小鼠, 立即尾静脉注射伊文思蓝染色液, 收集腹腔灌洗液, 观察各组小鼠腹腔毛细血管的通透性; 腹腔注射酵母多糖溶液 4 h 后每组取剩余小鼠计数腹腔灌洗液中白细胞总数, 采用酶联免疫吸附法检测各组小鼠腹腔灌洗液中炎症因子[白细胞介素 1 β (IL-1 β)、IL-6、IL-10、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和髓过氧化物酶(MPO)]的含量。结果: 与空白对照组比较, 模型对照组小鼠出现明显的扭体、腹部凹陷、蜷缩和腹泻等现象, 腹腔毛细血管通透性明显增加($P < 0.01$), 腹腔灌洗液中白细胞总数和 IL-1 β 、IL-6、IL-10、TNF- α 、MPO 含量均明显增加($P < 0.01$)。与模型对照组比较, 阳性对照组和桉椰子醇提物高、中、低剂量组小鼠上述现象仅偶有发生, 腹腔毛细血管通透性明显降低($P < 0.01$), 腹腔灌洗液中白细胞总数和 IL-1 β 、TNF- α 含量均明显减少($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), IL-10 含量明显增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 桉椰子醇提物高、中剂量组小鼠腹腔灌洗液中 IL-6、MPO 含量均明显减少($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且上述指标变化程度均与桉椰子醇提物呈剂量依赖性。结论: 桉椰子醇提物对小鼠急性腹膜炎具有改善作用, 其作用机制可能与降低腹腔毛细血管通透性、抑制炎症细胞浸润和调节腹腔中炎症因子分泌有关。

关键词 桉椰子醇提物; 急性腹膜炎; 炎症因子; 炎症细胞浸润; 小鼠

Study on the Improvement Effect and Mechanism of Ethanol Extract of *Arenga pinnata* on Acute Peritonitis Model Mice

LI Fengjin¹, WANG Bo¹, HUO Jinghai¹, HUANG Luqi², WANG Weiming¹ (1. Institute of TCM Research, Heilongjiang Academy of TCM, Harbin 150036, China; 2. National Resource Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To investigate the improvement effect and mechanism of ethanol extract of *Arenga pinnata* on acute peritonitis model mice. **METHODS:** The mice were randomly divided into blank control group (distilled water), model control group (distilled water), positive control group (Loxoprofen sodium tablets 0.023 g/kg) and ethanol extract of *A. pinnata* high-dose, medium-dose and low-dose groups (6.5, 3.25, 1.625 g/kg, by the amount of extract) according to body weight, with 24 mice in each group. They were given relevant medicine intragastrically for consecutive 3 d. 30 min after last administration, except for blank control group, other groups were given zymosan solution intraperitoneally to induce acute peritonitis model. The activity, response and excretion of mice were observed within 4 h after intraperitoneal injection of zymosan solution. 12 mice of each group were given Evans blue staining solution immediately after modeling. Peritoneal fluid was collected to observe the permeability of abdominal capillary in mice. Within 4 h after intraperitoneal injection of zymosan solution, total number of white blood cells in residual mice was counted in each group. ELISA assay was adopted to determine the contents of inflammatory factors (IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , MPO). **RESULTS:** Compared with blank control group, model control group suffered from significant writhing, abdominal retraction, crouch and diarrhea; peritoneal capillary permeability increased significantly ($P < 0.01$). The total number of leukocyte and the contents of IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α and MPO in peritoneal fluid were increased significantly ($P < 0.01$). Compared with model control group, above phenomena of mice occurred occasionally in positive control group, ethanol extract of *A. pinnata* high-dose, medium-dose and low-dose groups, and peritoneal capillary permeability decreased significantly ($P < 0.01$). Total number of leukocyte and the contents of IL-1 β and TNF- α in

[△] 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81371045); 中央本级重大增减支项目(No.2060302)

* 助理研究员, 博士。研究方向: 中药药效物质基础及药理作用。电话: 0451-55653086。E-mail: 375708578@qq.com

#a 通信作者: 教授, 院士, 博士生导师。研究方向: 中药资源及分子生药学。电话: 010-64014411。E-mail: huangluqi01@126.com

#b 通信作者: 研究员, 教授, 博士生导师。研究方向: 中药新药研发。电话: 0451-55665478。E-mail: zyyjy@163.com

peritoneal fluid were decreased significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$), while IL-10 content was increased significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$). The contents of IL-6 and MPO in peritoneal fluid were decreased significantly in ethanol extract of *A. pinnata* high-dose and medium-dose groups ($P<0.05$ or $P<0.01$), in dose-dependent manner. CONCLUSIONS: Ethanol extract of *A. pinnata* has improvement effect on acute peritonitis mice, the mechanism of which may be associated with reducing the permeability of abdominal capillaries, inhibiting inflammatory cell infiltration and regulating the secretion of inflammatory factors in abdominal cavity.

KEYWORDS Ethanol extract of *Arenga pinnata*; Acute peritonitis; Inflammatory factor; Inflammatory cell infiltration; Mice

桃榔[*Arenga pinnata*(Wurmb.) Merr.]别名姑榔、铁木、面木,为棕榈科桃榔属高达常绿乔木,主要分布在我国广东、广西、福建、海南,云南等地及东南亚、新几内亚和澳大利亚北部一带^[1]。桃榔子是桃榔的果实,冬季果熟时采收,是我国民间广泛应用的传统中药,具有祛瘀破积、止痛的功效^[2]。关于桃榔子的记载始于宋代的《开宝本草》,其中记载:“味苦,性平,无毒,主宿血”;明代的《本草汇言》也记有:“味苦,气温,无毒,破宿血、积血,治妇人产后儿枕血瘀诸疼”^[3]。

目前,国内外文献几乎没有关于桃榔子药理活性相关的研究报道。本实验拟通过建立酵母多糖诱导的急性腹膜炎小鼠模型,观察桃榔子醇提物对模型小鼠行为活动、腹腔毛细血管通透性、炎性细胞浸润和炎症因子分泌的影响,探讨桃榔子醇提物对急性腹膜炎模型小鼠的改善作用及机制,以期为其药理活性研究、临床应用及药用资源的进一步开发利用提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

iMark™全自动酶标仪(美国Bio-Rad公司);320R冷冻离心机(德国Hettich公司);XS-800i全自动血液分析仪[希森美康医用电子(上海)有限公司]。

1.2 药品与试剂

桃榔子新鲜果实产地为广西北海市,于2017年7月采摘,经黑龙江省中医药科学院王伟明教授鉴定为真品;洛索洛芬钠片[第一三共制药(上海)有限公司,批号:SS032LA,规格:60 mg/片];生理盐水(哈尔滨三联药业股份有限公司,批号:161104D12);酵母多糖(美国Sigma公司,批号:BCBT7244);伊文思蓝染色液(北京博奥拓达科技有限公司,批号:314-13-6);小鼠白细胞介素1 β (IL-1 β)、IL-6、IL-10、髓过氧化物酶(MPO)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)酶联免疫吸附(ELISA)检测试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司,批号:1161362712、13213-63712、1371359712、5891321712、2411364712)。

1.3 动物

SPF级ICR小鼠, δ ,体质量为18~25 g,购于哈尔滨医科大学实验动物中心,实验动物生产许可证号:SCXK(黑)2013-001。所有动物实验均经黑龙江省中医药科学院实验动物伦理委员会同意后实施。

2 方法

2.1 桃榔子醇提物的制备

取桃榔子新鲜果实17.5 kg,粉碎后,加2倍量的95%乙醇浸泡24 h,10倍量的95%乙醇渗漉,收集渗漉液,60℃减压回收乙醇,得提取物800 g,其中白屈菜酸盐含量在10%~12%之间。

2.2 分组

采用随机区组设计法,将144只ICR小鼠按照体质量分为6组:空白对照组、模型对照组、阳性对照组和桃榔子醇提物高、中、低剂量组,每组24只,

2.3 给药与造模

阳性对照组小鼠灌胃0.023 g/kg(根据体表面积换算法,为人临床等效剂量的2倍)的洛索洛芬钠片;桃榔子醇提物高、中、低剂量组小鼠分别灌胃以提取物量计为6.5、3.25、1.625 g/kg(小鼠最大耐受剂量的1/4、1/8、1/16)的桃榔子醇提物;空白对照组和模型对照组小鼠灌胃等体积蒸馏水。每组小鼠每天给药1次,连续给药3 d。末次给药30 min后,除空白对照组外,其余各组小鼠腹腔注射2 mg/mL新鲜配制的酵母多糖生理盐水溶液,每只0.5 mL,复制急性腹膜炎小鼠模型^[4]。

2.4 小鼠活动状态观察

腹腔注射酵母多糖后,观察4 h内各组小鼠的活动情况、反应状态和排便情况。

2.5 腹腔毛细血管通透性的测定

参考文献[5]中方法测定小鼠腹腔毛细血管通透性。腹腔注射酵母多糖后,每组取12只小鼠,称体质量后立即尾静脉注射10 mg/mL伊文思蓝生理盐水溶液(0.1 mL/10 g),30 min后,脱颈椎处死小鼠,再腹腔注射2 mL预冷的磷酸盐缓冲液(PBS),轻轻按揉腹部2 min后,打开腹腔,吸取腹腔灌洗液,3 000 r/min离心10 min,取上清液,用全自动酶标仪在590 nm波长处测定光密度(OD)。

2.6 腹腔灌洗液中白细胞计数与炎症因子含量的测定

腹腔注射酵母多糖4 h后,将每组剩余的12只小鼠脱颈椎处死,腹腔注射3 mL预冷的PBS,轻轻按揉腹部2 min后,打开腹腔,吸取腹腔灌洗液,3 000 r/min离心10 min,用400 μ L生理盐水重悬细胞沉淀,用全自动血液分析仪计数白细胞总数;取离心上清液,采用ELISA

法检测腹腔灌洗液中IL-1 β 、IL-6、IL-10、TNF- α 和MPO含量,具体操作按试剂盒说明书进行。

2.7 统计学方法

所有计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 16.0软件进行单因素方差分析和组间差异性分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组小鼠活动状态

与空白对照组比较,模型对照组小鼠均出现明显的扭体、腹部凹陷、蜷缩和腹泻现象,说明有腹部炎症反应发生,表明急性腹膜炎小鼠模型造模成功。与模型对照组比较,阳性对照组和桉椰子醇提取物高、中、低剂量组小鼠虽活动缓慢,但扭体、腹部凹陷、蜷缩和腹泻现象仅偶有发生。

3.2 各组小鼠腹腔毛细血管通透性测定

与空白对照组比较,模型对照组小鼠腹腔灌洗液OD值明显增加($P < 0.01$)。与模型对照组比较,阳性对照组和桉椰子醇提取物高、中、低剂量组小鼠腹腔灌洗液OD值均明显降低($P < 0.01$)。与桉椰子醇提取物低剂量组比较,桉椰子醇提取物高剂量组小鼠腹腔灌洗液OD值明显降低($P < 0.01$)。模型对照组小鼠较空白对照组小鼠的腹腔毛细血管通透性明显增加,桉椰子醇提取物各剂量组小鼠较模型对照组小鼠的腹腔毛细血管通透性明显降低,且上述指标变化程度与桉椰子醇提取物呈剂量依赖性。各组小鼠腹腔毛细血管通透性的测定结果见表1。

表1 各组小鼠腹腔毛细血管通透性的测定结果($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 The permeability of abdominal capillary in mice of each group($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量,g/kg	OD值
空白对照组	10		0.20 \pm 0.02
模型对照组	9		1.16 \pm 0.18**
桉椰子醇提取物高剂量组	9	6.5	0.71 \pm 0.15*** ^{△△}
桉椰子醇提取物中剂量组	9	3.25	0.84 \pm 0.23**
桉椰子醇提取物低剂量组	9	1.625	0.99 \pm 0.21**
阳性对照组	9	0.023	0.69 \pm 0.17**

注:与空白对照组比较,** $P < 0.01$;与模型对照组比较,** $P < 0.01$;与桉椰子醇提取物低剂量组比较,^{△△} $P < 0.01$

Note: vs. normal control group, ** $P < 0.01$; vs. model control group, ** $P < 0.01$; vs. ethanol extract of *A. pinnata* low-dose group, ^{△△} $P < 0.01$

3.3 各组小鼠腹腔灌洗液中白细胞总数测定

与空白对照组比较,模型对照组小鼠腹腔灌洗液中白细胞总数明显增加($P < 0.01$)。与模型对照组比较,阳性对照组和桉椰子醇提取物高、中、低剂量组小鼠腹腔灌洗液中白细胞总数明显减少($P < 0.01$),但均高于空白对照组。桉椰子醇提取物各剂量组间小鼠腹腔灌洗液中白细胞总数差异均无统计学意义($P > 0.05$)。各组小

鼠腹腔灌洗液中白细胞总数的测定结果见表2。

表2 各组小鼠腹腔灌洗液中白细胞总数的测定结果($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 2 Total number of leukocytes in peritoneal fluid of mice in each group($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量,g/kg	白细胞总数, $\times 10^6$ 个
空白对照组		6.44 \pm 1.99
模型对照组		48.57 \pm 11.26**
桉椰子醇提取物高剂量组	6.5	23.65 \pm 11.06**
桉椰子醇提取物中剂量组	3.25	27.21 \pm 9.89**
桉椰子醇提取物低剂量组	1.625	34.52 \pm 10.07**
阳性对照组	0.023	14.31 \pm 6.66**

注:与空白对照组比较,** $P < 0.01$;与模型对照组比较,** $P < 0.01$

Note: vs. normal control group, ** $P < 0.01$; vs. model control group, ** $P < 0.01$

3.4 各组小鼠腹腔炎症因子含量测定

与空白对照组比较,模型对照组小鼠腹腔灌洗液中IL-1 β 、IL-6、IL-10、TNF- α 和MPO含量均明显增加($P < 0.01$)。与模型对照组比较,阳性对照组和桉椰子醇提取物高、中剂量组小鼠腹腔灌洗液中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和MPO含量均明显减少($P < 0.01$),IL-10含量明显增加($P < 0.01$);桉椰子醇提取物低剂量组小鼠腹腔灌洗液中IL-1 β 、TNF- α 含量均明显减少($P < 0.01$),IL-10含量明显增加($P < 0.05$),其余因子含量差异无统计学意义($P > 0.05$)。与桉椰子醇提取物低剂量组比较,桉椰子醇提取物高剂量组小鼠腹腔灌洗液中IL-1 β 、TNF- α 、MPO含量均明显减少($P < 0.01$),桉椰子醇提取物中剂量组小鼠腹腔灌洗液中MPO含量明显减少($P < 0.01$);桉椰子醇提取物高、中剂量组小鼠腹腔灌洗液中IL-10含量明显增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与桉椰子醇提取物中剂量组比较,桉椰子醇提取物高剂量组小鼠腹腔灌洗液中TNF- α 含量明显增加($P < 0.05$)。说明桉椰子醇提取物各剂量组较模型对照组小鼠腹腔炎症因子含量明显减少,且炎症因子含量与桉椰子醇提取物呈剂量依赖性。各组小鼠腹腔灌洗液中炎症因子含量的测定结果见表3。

4 讨论

整个实验过程中,由于实验动物个体差异和实验误差,每组小鼠数量以实际为准。

炎症反应是机体组织抵御伤害性刺激所做出的一种复杂的病理过程,包括血管舒张、毛细血管壁通透性增加、炎细胞浸润和炎症介质释放等,最终可引起局部组织水肿、发热、疼痛,甚至是组织损伤的发生^[6]。酵母多糖是从酵母真菌的细胞壁中提取的多糖类成分,其腹腔注射诱发的小鼠急性腹膜炎是一种常用的急性炎症动物模型,被广泛用于评价抗炎药物的抗炎活性及抗炎机制研究^[7]。酵母多糖可作用于腹腔巨噬细胞Toll样受体2(Toll like receptor 2),激活核转录因子 κ B(Nuclear

表3 各组小鼠腹腔灌洗液中炎症因子含量的测定结果($\bar{x} \pm s, n=10, \text{pg/mL}$)Tab 3 The contents of inflammatory factors in peritoneal fluid of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=10, \text{pg/mL}$)

组别	剂量,g/kg	IL-1 β	IL-6	IL-10	TNF- α	MPO
空白对照组		71.61 \pm 11.02	60.29 \pm 12.47	31.01 \pm 5.57	6.50 \pm 1.43	451.72 \pm 61.08
模型对照组		930.90 \pm 176.98**	3 906.83 \pm 725.88**	73.74 \pm 17.94**	519.14 \pm 88.57**	13 670.74 \pm 2170.20**
桉椰子醇提取物高剂量组	6.5	529.41 \pm 87.82 ^{###}	2 474.75 \pm 716.62 ^{##}	149.15 \pm 22.07 ^{##}	182.37 \pm 31.81 ^{###}	10 440.36 \pm 1726.38 ^{###}
桉椰子醇提取物中剂量组	3.25	639.18 \pm 130.13 ^{##}	2 747.69 \pm 936.58 ^{##}	139.99 \pm 22.92 ^{###}	249.19 \pm 47.57 ^{##}	10 670.00 \pm 1524.94 ^{###}
桉椰子醇提取物低剂量组	1.625	714.97 \pm 157.67 ^{##}	3 047.12 \pm 836.64	104.44 \pm 31.84 [*]	281.54 \pm 66.26 ^{##}	12 638.79 \pm 1541.50
阳性对照组	0.023	333.36 \pm 61.18 ^{##}	1 906.57 \pm 600.96 ^{##}	146.18 \pm 27.21 ^{##}	155.45 \pm 34.61 ^{##}	8 766.29 \pm 1931.33 ^{##}

注:与空白对照组比较,** $P<0.01$;与模型对照组比较,^{*} $P<0.05$,^{##} $P<0.01$;与桉椰子醇提取物低剂量组比较,[^] $P<0.05$,^{^^} $P<0.01$,与桉椰子醇提取物中剂量组比较,[^] $P<0.05$

Note: vs. normal control group, ** $P<0.01$; vs. model control group, ^{*} $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$; vs. ethanol extract of *A. pinnata* low-dose group, [^] $P<0.05$, ^{^^} $P<0.01$; vs. ethanol extract of *A. pinnata* medium-dose group, [^] $P<0.05$

factor- κ B)炎症信号传导通路,引起炎症因子的分泌,导致炎症损伤,即扭体、腹部凹陷、腹泻、蜷缩现象的发生^[8]。本研究发现,模型对照组小鼠扭体、腹部凹陷、蜷缩、腹泻现象明显。而各给药组小鼠虽然活动缓慢,但上述病态现象仅偶有发生,表明桉椰子醇提取物对酵母多糖引起的炎性损伤具有一定的改善作用。

IL-1 β 是由巨噬细胞、淋巴细胞或肥大细胞产生的促炎因子,参与募集白细胞、增加毛细血管壁通透性等病理过程。此外,IL-1 β 还可刺激环氧合酶的表达,进而促进前列腺素的分泌,最终导致炎症疼痛的发生^[9]。TNF- α 是由巨噬细胞产生的极强的内源性促炎因子,不仅可介导炎症反应,还可通过诱导IL-1 β 和IL-6的产生,加重局部炎症反应和痛觉过敏的发生^[10]。IL-6是具有广泛活性的细胞因子,主要参与调节免疫和炎症反应。IL-10是由淋巴细胞、单核细胞、巨噬细胞或肥大细胞产生的抗炎因子,可通过抑制促炎因子的产生减轻炎症反应程度^[11]。本研究发现,与模型对照组比较,桉椰子醇提取物可显著抑制IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的产生,并促进IL-10的产生,由此表明,桉椰子醇提取物抗炎作用与调节炎症因子的分泌有关。

炎细胞浸润是指白细胞通过迁移,聚集在炎症病灶部位的过程,是炎症反应最主要的特征之一^[12]。腹腔注射酵母多糖诱导小鼠急性腹膜炎反应,可导致大量白细胞游离出血管,聚集于小鼠腹腔^[13]。嗜中性粒细胞是含量最多的一种白细胞,是炎细胞浸润最主要的白细胞。MPO存在于嗜中性粒细胞嗜天青颗粒中,其含量变化是嗜中性粒细胞浸润功能的主要反映指标^[14]。本研究发现,与模型对照组比较,桉椰子醇提取物可显著减少腹膜炎小鼠腹腔灌洗液中白细胞数量及MPO含量,表明桉椰子醇提取物抗炎作用与抑制炎细胞浸润有关。

毛细血管壁通透性变化是急性炎症发展过程中主要的血管病理性改变,是由局部组织巨噬细胞、肥大细胞激活释放组胺、前列腺素或白细胞三烯引起^[15]。由于血管壁通透性的升高,尾静脉注射伊文思蓝染液会随血

浆渗出血管后进入到腹腔当中。因此,可通过检测腹腔灌洗液的OD值来反映毛细血管壁通透性升高的程度。本研究发现,与模型对照组比较,桉椰子醇提取物可显著降低腹膜炎小鼠腹腔灌洗液中OD值,表明桉椰子醇提取物抗炎作用与抑制毛细血管壁通透性有关。

综上所述,桉椰子醇提取物对急性腹膜炎小鼠炎症损伤具有保护作用,作用机制与降低腹腔毛细血管通透性、抑制炎细胞浸润和调节腹腔中炎症因子分泌有关。

参考文献

- [1] CHANTARABOON A, BURIKAM I, PAMPASIT S, et al. Method for the economic recovery of Sugar-palm (Tao) (*Arenga westerhoutii* Griff.) community forests[J]. *Songklanakarin J Sci Technol*, 2010, 32(4): 357-362.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典: 下册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 1778-1779.
- [3] 胡振兴, 杨洋, 袁经权, 等. 桉椰子草考证[J]. *中药材*, 2014, 37(12): 2300-2303.
- [4] PAN Q, CAI J, PENG Y, et al. Protective effect of a novel antibody against TLR2 on zymosan-induced acute peritonitis in NF- κ B transgenic mice[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(2): 692-699.
- [5] 张莹, 朱志杰, 李萍, 等. 壮骨伸筋胶囊的抗炎镇痛作用研究[J]. *中国药房*, 2016, 27(1): 35-37.
- [6] 杨欢, 程笑, 王月华, 等. 秦皮甲素对角叉菜胶致小鼠足肿胀及炎症的作用[J]. *中药新药杂志*, 2016, 25(20): 2319-2322.
- [7] 陈浩, 范霞, 孙宇, 等. 吴茱萸碱对酵母多糖诱导急性腹膜炎小鼠的保护作用[J]. *第三军医大学学报*, 2017, 39(2): 163-168.
- [8] LEITE JA, ALVES AK, GALVAO JG, et al. Ouabain modulates zymosan-induced peritonitis in mice[J]. *Mediat Inflamm*, 2015. DOI: 10.1155/2015/265798.
- [9] DINARELLO CA. Interleukin 1 as mediator of the acute-phase response[J]. *Sur Immunol Res*, 1984, 3(1): 29-33.
- [10] WOOLF CJ, ALLCHORNE A, SAFIEH-GARABEDIAN B, et al. Cytokines, nerve growth factor and inflammatory

新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物对 CT-26.WT 原位移植瘤模型小鼠的抑瘤作用及机制研究[△]

郭萍萍^{1*}, 李伟², 张海英^{1,2#} (1.新疆医科大学中医学院, 乌鲁木齐 830000; 2.新疆医科大学附属中医医院药理学部, 乌鲁木齐 830000)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)23-3221-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.23.12

摘要 目的:研究新疆阿魏乙酸乙酯部位对 CT-26.WT 原位移植瘤模型小鼠的抑瘤作用,并探讨其作用机制。方法:将小鼠随机分为假手术组[溶剂(聚山梨酯 80 和食用油)]、模型组(溶剂)、顺铂对照组(5 mg/kg)和新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物低、中、高剂量组(0.375、0.75、1.5 g/kg,以新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物计),每组 12 只。除假手术组外其余各组小鼠建立 CT-26.WT 原位移植瘤模型,手术 1 周后灌胃给予相应药物,每隔 2 d 给药 1 次,连续给药 10 d 后,观察各组小鼠的体质量、瘤质量、肿瘤病理切片、脾指数,计算抑瘤率。采用流式细胞磁珠微阵列法(CBA)检测小鼠血清中白细胞介素 12p70(IL-12p70)、干扰素 γ (IFN- γ)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、IL-6、单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1)、IL-10 的水平。结果:与假手术组比较,其余各组小鼠成功建立原位移植瘤模型,体质量均明显降低($P < 0.05$),模型组小鼠血清中 TNF- α 、MCP-1、IL-6 水平明显增加($P < 0.05$),IFN- γ 和 IL-10 水平明显降低($P < 0.05$)。与模型组比较,顺铂对照组和新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物低、中、高剂量组小鼠瘤质量明显降低($P < 0.05$),其抑瘤率分别为(62.96 \pm 12.54)%、(40.74 \pm 17.34)%、(45.93 \pm 16.74)%、(57.05 \pm 14.28)%,且肿瘤细胞排列松散,有丝分裂现象及肿瘤细胞的浸润减少,顺铂对照组和新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物中、高剂量组小鼠的脾指数明显增加($P < 0.05$),所有给药组小鼠血清中 IL-12p70、TNF- α 、MCP-1、IL-10 因子水平均明显增加($P < 0.05$),IL-6 因子水平明显降低($P < 0.05$),仅新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物高剂量组小鼠血清中 IFN- γ 因子水平明显增加($P < 0.05$)。结论:新疆阿魏乙酸乙酯部位提取物对 CT-26.WT 原位移植瘤模型小鼠具有抑瘤作用,其机制可能与增加 IL-12p70、TNF- α 、IFN- γ 、MCP-1、IL-10 水平和降低 IL-6 水平有关。

关键词 新疆阿魏;乙酸乙酯部位;结肠癌;原位移植瘤;流式细胞磁珠微阵列法;小鼠;细胞因子;抑瘤率

Anti-tumor Effects of Ethyl Acetate Extract in *Ferula sinkiangensis* on CT-26.WT Orthotopic Transplantation Tumor Model Mice and Its Mechanism Study

GUO Pingping¹, LI Wei², ZHANG Haiying^{1,2} (1.College of TCM, Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China; 2.Dept. of Pharmacy, the Affiliated TCM Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the anti-tumor effects of ethyl acetate extract of *Ferula sinkiangensis* on CT-26.WT orthotopic transplanted tumor model mice and investigate its related mechanism. METHODS: The mice were randomly divided

hyperalgesia; the contribution of tumour necrosis factor alpha[J]. *Brit J Pharmacol*, 1997, 121(3):417-424.

[11] JOHANSSON AC, HANSSON AS, NANDAKUMAR KS, et al. IL-10-deficient B10.Q mice develop more severe collagen-induced arthritis, but are protected from arthritis induced with anti-type II collagen antibodies[J]. *J Immunol*, 2001, 167(6):3505-3512.

[12] 郭坤坤. 鼠妇镇痛抗炎作用、物质基础及质量控制的实验

[△]基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81660657);全国中药特色技术传承人才培训项目(No.国中医药人教函[2015]168号)

* 硕士研究生。研究方向:中药民族药药理学。电话:0991-5853365。E-mail:2363986515@qq.com

通信作者:主任中药师,副教授,博士。研究方向:中药民族药药理学。电话:0991-5853365。E-mail:1030737878@qq.com

研究[D].广州:南方医科大学,2013.

[13] 张俊艳. 一种新的萜酚类衍生物 1-羟基-2-萜甲酸甲酯的抗炎作用及其作用机制的研究[D].广州:南方医科大学,2012.

[14] TALREJA D, SINGH P K, KUMAR A. In vivo role of TLR2 and MyD88 signaling in eliciting innate immune responses in staphylococcal endophthalmitis[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56(3):1719-1732.

[15] KOLACZKOWSKA E. Shedding light on vascular permeability during peritonitis: role of mast cell histamine versus macrophage cysteinyl leukotrienes[J]. *Inflamm Res*, 2002, 51(11):519-521.

(收稿日期:2018-06-14 修回日期:2018-10-15)

(编辑:邹丽娟)