

β -细辛醚对小鼠脑组织基因表达谱的影响

方永奇 李 翎 吴启端

(广州中医药大学第一附属医院, 广州 510405)

摘要 目的:应用基因芯片技术,观察 β -细辛醚对 BALB/c 小鼠脑组织基因表达谱的影响。方法:将 β -细辛醚用药组与空白对照组小鼠脑组织的 mRNA 分别用 cy5、cy3 荧光标记,混合后与 4000 条基因杂交于 MGEC-40S 小鼠表达谱芯片上,重复制作二张片,Genepix 400B 扫描仪扫描杂交信号荧光强度,Genepix Pro3.0 图象处理软件分析扫描结果。结果:在 4000 条基因中,二张片中两组都出现差异表达且比值大于 1.9 或小于 0.59 的基因共 15 条。 β -细辛醚组有 4 条基因表达上调,11 条基因表达下调。表达上调的 4 条基因主要与离子通道、细胞的跨膜物质交换、钙依赖性蛋白激酶调节、减少细胞凋亡等功能有关。而表达下调的 11 条基因主要与脑内兴奋性氨基酸的代谢、T 淋巴细胞的趋化作用、细胞基因表达调控、药物代谢等功能有关。结论: β -细辛醚对脑组织多个靶基因有作用。

关键词 β -细辛醚 基因芯片 脑

石菖蒲有开窍豁痰、醒神益智的功效,临床上既治疗昏迷、又有镇惊疗痫的作用。 β -细辛醚是石菖蒲的最主要成分,其药理作用主要表现在对中枢神经系统的影响。本文应用基因芯片技术,观察 β -细辛醚对 BALB/c 小鼠脑组织基因表达谱的影响。

1 材料和方法

1.1 动物 BALB/c 小鼠 12 只,体重 18~22 g,雌雄各半,购自广州中医药大学实验动物中心,合格证号 2000A025。

1.2 药液制备 石菖蒲购于广州中医药大学第一附属医院药房。经广州中医药大学中药鉴定教研室黄海波老师鉴定为天南星科植物石菖蒲 *Acorus tatarinowii* Schott 的干燥根茎。实验用药液由本实验中心制备。石菖蒲加 8 倍量水,按《中国药典》一部附录挥发油提取法甲法提取 24 h,收集挥发油。精制得到 β -细辛醚,经 GC-MS 检测纯度为 99.32%。取 β -细辛醚用水配成 0.34%(含吐温-80 1.25 ml/100 ml),供实验用。

1.3 分组与给药 12 只小鼠随机分为 2 组,每组 6 只。 β -细辛醚组灌胃给予 β -细辛醚 4.24 mg/100 g/d,给药 3 天;空白对照组灌胃给予等容积水,连续 3 天。

1.4 实验方法 用药组与空白对照组小鼠的脑组织样本在取材时间、部位、处理条件等方面保持一致,所取样本离体后,迅速置于液氮中,并保证在实验前始终处于 -80°C 以下,以减少 mRNA 的降解损失。每组小鼠脑组织提取 mRNA 后等量混合,对照组使用 cy3 荧光标记,实验组使用 cy5 荧光标记,制作 cDNA 探针,混合后与表达谱基因芯片(MGEC-40S 小鼠表达谱芯片,4000 条基因,购自上海博星基因芯片有限责任公司)杂交。为了保证实验的可靠

性,重复制作了二张片,Genepix 400B 扫描仪扫描杂交信号荧光强度,Genepix Pro3.0 图像处理软件分析扫描结果。Y 值与 X 值的比值在 0.59 至 1.9 之间,属非差异表达;比值在 0.59 至 1.9 范围之外者,被认为属于表达差异。

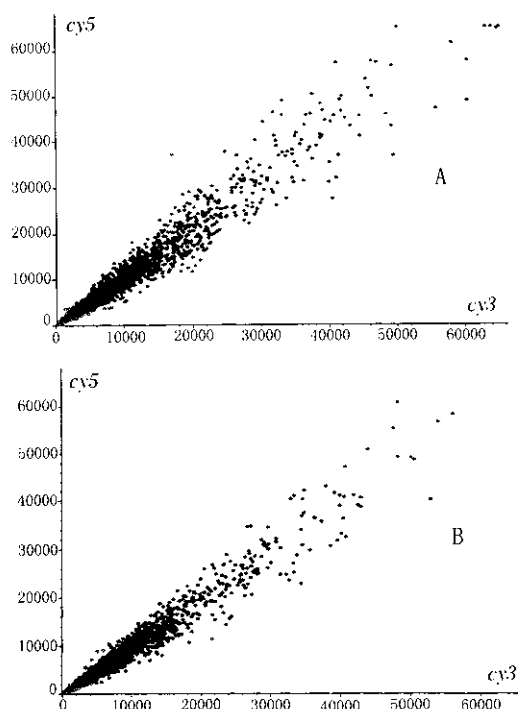


图 2 杂交信号强度散点图

A. 对照组 B. 实验组

2 结果

β -细辛醚对小鼠脑组织基因表达谱的影响:二张片的杂交信号强度扫描结果见散点图。在 4000 条基因中,筛选出在二张片中两组都出现差异表达且比值大于 1.9 或小于 0.59 的基因共 15 条,这些基因在与两种探针杂交时表现出较大的差异,且上

下调趋势一致,程度相似。 β -细辛醚组有4条基因表达上调,11条基因表达下调。表达上调的4条基因主要与离子通道、细胞的跨膜物质变换、钙依赖性蛋白激酶调节、减少细胞凋亡等功能有关。而表达下调的11条基因主要与脑内兴奋性氨基酸的代谢、T淋巴细胞的趋化作用、细胞基因表达调控、药物代谢等功能有关。

3 讨论

本文观察 β -细辛醚对BALB/c小鼠脑组织基因表达谱的影响,并将研究结果与整体药理实验结果进行参照,试图更全面地了解石菖蒲的药理作用,并对进一步的研究提供思路。结果表明, β -细辛醚对脑组织多个靶基因有作用。表达上调的4条基因中,有类似ATP酶质子通道(ATPase-like vacuolar proton channel)的相关基因,在细胞的跨膜物质变换、蛋白质处理过程、受体介导的细胞内吞作用、调节细胞质pH等方面起重要作用^[1]。另一上调的基因,钙依赖性蛋白激酶II(CaMK II)基因,其表达物有调节并促进c-FLIP(细胞内Fas抑制蛋白)的表达和磷酸化的作用,从而节制了细胞内Fas介导的信号,减少细胞凋亡^[2]。这与我们曾报道 β -细辛醚对缺血再灌注脑损伤大鼠有调节大脑兴奋性、减轻脑水肿作用^[3], β -细辛醚能抑制大鼠神经细胞凋亡,抑制BAX基因表达而增强BCL-XL基因表达^[4]相符合。表达下调的11条基因中,有小鼠线粒体中支链氨基酸转移酶II Eca40 mRNA(Bcat2),该酶促进支链氨基酸如谷氨酸发生转氨,生成谷氨酸盐和 α -酮酸,这一过程在脑内兴奋性氨基酸的代谢中有重要作用^[5,6]。在药理实验中也观察到, β -细辛醚能调节中枢神经系统兴奋性^[7],并有保护脑皮质细胞,减轻由NMDA或谷氨酸引起的神经毒性作用^[8]。另一下调的基因,小鼠可介导小细胞因子A21a(亮氨酸)mRNA,其功能为对细胞的趋化作用,特别是选择性地刺激对T淋巴细胞的趋化作用^[9]。提示 β -细辛醚在免疫调节和炎症过程中有一定的作用。还有一下调的基因,小鼠N-乙酰基转移酶II基因,其表达的酶涉及广泛的生理过程,包括神经生理、细胞基因表达调控、药物代谢等。胆固醇酰基转移酶与小肠部位胆固醇的吸收、肝脏部位胆固醇的排除

和动脉管壁部位胆固醇酯的蓄积有很密切的关系,其抑制剂能降低血浆总胆固醇及低密度脂蛋白胆固醇水平,同时阻止胆固醇酯化,减少胆固醇在动脉壁的蓄积,防止动脉粥样硬化的形成及发展^[10]。已有报道细辛醚能降低血脂、抗血小板聚集、抗血栓形成^[11]。

参 考 文 献

- 1 Philippe JM, et al. Functional expression of V-ATPases in the plasma membrane of glial cells. *Glia* 2002, 37(4): 365
- 2 Yang BF, et al. Calcium/Calmodulin-dependent Protein Kinase II Regulation of c-FLIP Expression and Phosphorylation in Modulation of Fas-mediated Signaling in Malignant Glioma Cells. *J Biol Chem*, 2003, 278(9): 7043
- 3 方永奇,等. 石菖蒲对缺血再灌注脑损伤大鼠脑电图和脑水肿的影响. *中国中医急症* 2003, 12(1): 554
- 4 方永奇,等. 石菖蒲组分对缺血再灌注脑损伤大鼠神经细胞凋亡的影响. *现代中西医结合杂志*, 2002, 11(17): 1647
- 5 Susan M. Hutson, et al. Function of Leucine in Excitatory Neurotransmitter Metabolism in the Central Nervous System. *Journal of Nutrition*, 2001, 131: 846
- 6 Bixel M, et al. Distribution of key enzymes of branched-chain amino acid metabolism in glial and neuronal cells in culture. *J Histochem Cytochem*, 2001, 49(3): 407
- 7 吴启端,等. 石菖蒲对中枢神经系统兴奋性的有效部位研究. *医药导报* 2002, 21(7): 399
- 8 Cho J, et al. Protection of cultured rat cortical neurons from excitotoxicity by asarone, a major essential oil component in the rhizomes of *Acorus gramineus*. *Life Sci* 2002, 71(5): 591
- 9 Hromas R, et al. Isolation and characterization of Exodus-2, a novel C-C chemokine with a unique 37-amino acid carboxyl-terminal extension. *J Immunol* 1997, 159(6): 2554
- 10 颜廷仁,等. 酰基辅酶A-胆固醇酰基转移酶抑制剂. *国外医学·药学分册* 2000, 27(4): 231
- 11 Poplawski J, et al. Synthesis and hypolipidemic and antiplatelet activities of alpha-asarone isomers in humans (in vitro), mice (in vivo), and rats (in vivo). *J Med Chem*, 2000, 43(20): 3671

(2003-04-14 收稿)

Effects of β -asarone on Gene Expression in Mouse Brain

Fang Yongqi, Li Ling, Wu Qiduan

(The First Affiliated Hospital, Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405)

Abstract Objective: To observe effects of β -asarone on gene expression in BALB/c mouse brain by gene chip. Methods: The mRNA of mouse brain samples of experiment group and control group was marked with cy5, cy3 fluorescence separately, and hybridized with 4000 genes on MGEC-40S gene chip after mix. Fluorescence intensity was scanned with Genepix 400 B scanner and analysed

with Genepix Pro3.0 soft. Results :Among 4000 genes ,there are 15 genes with difference expression(the ratio >1.9 or <0.59) in two groups. In β -asaron group ,4 genes expression raised relating to ion channels ,substance transform through membrane ,calcium-dependent protein kinase regulation ,apoptosis ,11 genes expression declined relating to excitatory neurotransmitter metabolism in the CNS ,T lymphocyte tend ,genes expression regulation and drug metabolism. Conclusion β -asaron has effects on multi-target genes in mouse brain.

Key words β -asaron ; Gene chip ; Brain

淡豆豉对去卵巢大鼠脂代谢的影响

王鑫国 葛喜珍 白 霞 宋翠森 牛丽颖 徐华洲
(河北医科大学中医学院 ,石家庄 050091)

摘要 目的 探讨淡豆豉抗动脉硬化机制。方法 采用大鼠去卵巢的方法建立脂代谢紊乱模型 ,观察血脂、脂蛋白、脂质过氧化物的变化。结果 淡豆豉治疗 12 周后 ,甘油三酯(TG)、氧化低密度脂蛋白(OX-LDL)和丙二醛(MDA)明显较去卵巢组降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$) ,高密度脂蛋白(HDL-c)、载脂蛋白(apo-A I)和超氧化物歧化酶(SOD)活力明显较去卵巢组升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论 淡豆豉抗动脉硬化机制与其调节血脂、抗氧化有关。

关键词 淡豆豉 去卵巢 血脂 脂蛋白

淡豆豉是由豆科植物大豆 *Glycine max*(L.) Merr. 的成熟种子和青蒿、桑叶等中药经发酵加工而成 ,其中的主要成分之一大豆异黄酮是一类植物雌激素 ,具有广泛的生物学活性 ,我们早期研究发现大豆异黄酮对去卵巢大鼠脂代谢紊乱有明显的调整作用^[1] ,为扩展中药淡豆豉的应用范围 ,进一步研究淡豆豉抗动脉硬化机制 ,为其防治妇女绝经后动脉硬化提供药理学依据 ,本实验采用大鼠去卵巢模型 ,观察淡豆豉对血脂、脂蛋白和抗氧化作用的影响 ,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 动物 SD 雌性大鼠 ,体重 300 ± 30 g ,河北医科大学实验动物学部提供 ,合格证号为医动字第 04057 号。

1.2 药物与试剂 淡豆豉 ,购于石家庄乐仁堂药店 ,经河北医科大学中医学院药植鉴定教研组鉴定 ,常规水煎、浓缩至 4 g 生药/ml ,冰箱保存备用 ;总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)测定试剂盒 ,均为北京中生生物技术有限公司产品 ;低密度脂蛋白胆固醇测定试剂盒

(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇测定试剂盒(HDL-C)、氧化低密度脂蛋白测定试剂盒(OX-LDL) ,均为上海荣盛生物技术有限公司产品 ,载脂蛋白 A(apo-A I)、载脂蛋白 B(apo-B) ,均为南京聚力生物医学工程研究所产品。

1.3 分组与给药 将 48 只大鼠随机分为假手术组 ,去卵巢模型组 ,淡豆豉小剂量组(1.0 g 生药/kg)、中剂量组(2.0 g 生药/kg)、大剂量组(4.0 g 生药/kg)。实验时除假手术组外其余各组以 35 mg/kg 戊巴比妥钠溶液腹腔注射麻醉 ,固定四肢 ,无菌条件下手术切除双侧卵巢后缝合 ,假手术组大鼠做同样操作去除卵巢周围小块脂肪但不切除卵巢。手术 2 周后开始灌胃给药 ,假手术组和去卵巢组灌胃给予等体积的蒸馏水 ,其余各组灌胃给予相应药液 ,每天灌胃一次 ,连续 12 周。末次给药后禁食 24 h (不禁水) ,断头处死大鼠 ,取血清测定。

1.4 统计学分析 所得数据用 SPSS 软件包(Version 10.0)统计 ,组间比较用 t 检验 ,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

表 1		对大鼠血清血脂水平的影响($\bar{x} \pm s$)				
组别	n	剂量(g/kg)	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	LDL-c(mmol/L)	HDL-c(mmol/L)
假手术组	10	—	1.53 ± 0.16	0.23 ± 0.16	0.78 ± 0.21	1.07 ± 0.14
去卵巢组	10	—	1.83 ± 0.16	$0.42 \pm 0.12^{\Delta\Delta}$	0.81 ± 0.21	$0.72 \pm 0.24^{\Delta\Delta}$
淡豆豉组	9	1.0	1.72 ± 0.09	$0.29 \pm 0.13^{**}$	0.78 ± 0.14	$0.90 \pm 0.02^{*}$
	10	2.0	1.69 ± 0.24	$0.22 \pm 0.07^{**}$	0.77 ± 0.02	$1.01 \pm 0.20^{**}$
	10	4.0	1.60 ± 0.11	$0.28 \pm 0.10^{**}$	0.79 ± 0.22	$0.99 \pm 0.17^{**}$

与假手术组比较 , $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$;与去卵巢组比较 , $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$,下同

β -细辛醚对小鼠脑组织基因表达谱的影响

作者: 方永奇, 李翎, 吴启端
作者单位: 广州中医药大学第一附属医院, 广州, 510405
刊名: 中药材 
英文刊名: JOURNAL OF CHINESE MEDICINAL MATERIALS
年, 卷(期): 2003, 26 (9)
被引用次数: 12次

参考文献(11条)

1. Philippe JM [Functional expression of V-ATPases in the plasma membrane of glial cells](#) 2002 (04)
2. Yang BF [Calcium/Calmodulin-dependent Protein Kinase II Regulation of c-FLIP Expression and Phosphorylation in Modulation of Fas-mediated Signaling in Malignant Glioma Cells](#) 2003 (09)
3. 方永奇 [石菖蒲对缺血-再灌注脑损伤大鼠脑电图和脑水肿的影响](#) [期刊论文]-[中国中医急症](#) 2003 (01)
4. 方永奇 [石菖蒲对缺血再灌注脑损伤大鼠神经细胞凋亡的影响](#) [期刊论文]-[现代中西医结合杂志](#) 2002 (17)
5. Susan M. Hutson [Function of Leucine in Excitatory Neurotransmitter Metabolism in the Central Nervous System](#) 2001
6. Bixel M [Distribution of key enzymes of branched-chain amino acid metabolism in glial and neuronal cells in culture](#) 2001 (03)
7. 吴启端 [石菖蒲对中枢神经系统兴奋性的有效部位研究](#) [期刊论文]-[医药导报](#) 2002 (07)
8. Cho J [Protection of cultured rat cortical neurons from excitotoxicity by asarone, a major essential oil component in the rhizomes of Acorus gramineus](#) 2002 (05)
9. Hromas R [Isolation and characterization of Exodus-2, a novel C-C chemokine with a unique 37-amino acid carboxyl-terminal extension](#) 1997 (06)
10. 颜廷仁 [酰基辅酶A-胆固醇酰基转移酶抑制剂](#) [期刊论文]-[国外医学\(药学分册\)](#) 2000 (04)
11. Poplawski J [Synthesis and hypolipidemic and antiplatelet activities of alpha-asarone isomers in humans \(in vitro\), mice \(in vivo\), and rats \(in vivo\)](#) 2000 (20)

引证文献(12条)

1. 刘晓鸿, 张明生 [\$\beta\$ -细辛醚的药代及药理作用研究进展](#) [期刊论文]-[医学理论与实践](#) 2009 (5)
2. 陈乐真, 屠凌岚 [石菖蒲的化学成分与药理研究进展](#) [期刊论文]-[浙江实用医学](#) 2008 (3)
3. 陈艳艳, 才丽平, 王浩, 蒋宁, 曲怡, 夏淑杰, 林庶茹 [芳香开窍类中药含药脑脊液对星形胶质细胞水通道-4表达的影响](#) [期刊论文]-[现代中西医结合杂志](#) 2008 (12)
4. 江湧, 方永奇, 李小兵, 李翎, 蒋红兰 [\$\beta\$ -细辛醚对AD大鼠海马神经元蛋白质组图谱的影响](#) [期刊论文]-[现代生物医学进展](#) 2007 (9)
5. 江湧, 何玉萍, 邹衍衍, 方永奇 [\$\beta\$ -细辛醚对痴呆小鼠皮质神经元细胞内钙离子浓度的影响](#) [期刊论文]-[中国康复医学杂志](#) 2007 (6)
6. 石琛, 方永奇 [细辛醚的研究进展](#) [期刊论文]-[中医药学刊](#) 2006 (7)
7. 江湧, 方永奇, 何玉萍 [石菖蒲有效成分配伍对A \$\beta\$ 损伤PC12细胞的保护作用](#) [期刊论文]-[中药新药与临床药理](#) 2006 (5)
8. 张惠君, 陈鸿英 [现代生物学技术在中药药效研究中的应用](#) [期刊论文]-[天津药学](#) 2006 (1)
9. 石琛, 方永奇 [\$\beta\$ -细辛醚平喘作用的药效学研究](#) [期刊论文]-[时珍国医国药](#) 2006 (9)

10. [吕刚](#), [李婷婷](#) [石菖蒲的研究进展](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#) 2006(7)
11. [魏莉](#), [谢佐福](#) [基因芯片技术在中医药现代化研究中的应用](#)[期刊论文]-[福建中医药](#) 2006(1)
12. [魏刚](#), [方永奇](#), [柯雪红](#), [林双峰](#), [吴启端](#) [石菖蒲开窍醒神物质基础的药学系列研究](#)[期刊论文]-[中国中医药信息杂志](#) 2005(8)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zyc200309020.aspx

授权使用: 曹周华(caozh), 授权号: 0c6d7168-5326-47ca-8a9c-9e52008a8fb0

下载时间: 2010年12月20日