

- ease; a systematic review[J]. *Anaesthesia*, 2007, 62(1): 34-42.
- [23] Nie M, Kobayashi H, Sugawara M, et al. Helium inhalation enhances vasodilator effect of inhaled nitric oxide on pulmonary vessels in hypoxic dogs[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001, 280(4): 1875-1881.
- [24] Kim IK, Phrampus E, Venkataraman S, et al. Helium/oxygen-driven albuterol nebulization in the treatment of children with moderate to severe asthma exacerbations: a randomized, controlled trial[J]. *Pediatrics*, 2005, 116(5): 1127-1133.
- [25] Rivera ML, Kim TY, Stewart GM, et al. Albuterol nebulized in heliox in the initial ED treatment of pediatric asthma: a blinded, randomized controlled trial[J]. *Am J Emerg Med*, 2006, 24(1): 38-42.
- [26] Sessler DI. Long-term consequences of anesthetic management[J]. *Anesthesiology*, 2009, 111(1): 1-4.
- [27] Shen MY, Huang IP, Chen WS, et al. Influence of pneumoperitoneum on tumor growth and pattern of intra-abdominal tumor spreading; in vivo study of a murine model[J]. *Hepatogastroenterology*, 2008, 55(84): 947-951.
- [28] Gutt CN, Gessmann T, Schemmer P, et al. The impact of carbon dioxide and helium insufflation on experimental liver metastases, macrophages, and cell adhesion molecules[J]. *Surg Endosc*, 2003, 17(10): 1628-1631.
- [29] Wong YT, Shah PC, Birkett DH, et al. Peritoneal pH during laparoscopy is dependent on ambient gas environment: helium and nitrous oxide do not cause peritoneal acidosis[J]. *Surg Endosc*, 2005, 19(1): 60-64.
- [30] Rosch R, Junge K, Binnebel M, et al. Improved abdominal wall wound healing by helium pneumoperitoneum[J]. *Surg Endosc*, 2006, 20(12): 1892-1896.
- [31] Lucchinetti E, Wacker J, Maurer C, et al. Helium breathing provides modest antiinflammatory, but no endothelial protection against ischemia-reperfusion injury in humans in vivo[J]. *Anesth Analg*, 2009, 109(1): 101-108.
- [32] Pagel PS. Cardioprotection by noble gases[J]. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 2010, 24(1): 143-163.
- [33] Kneyber MC, van Heerde M, Twisk JW, et al. Heliox reduces respiratory system resistance in respiratory syncytial virus induced respiratory failure[J]. *Critical Care Med*, 2009, 13(3): R71.
- [34] Szczapa T, Gadzinowski J. Use of heliox in the management of neonates with meconium aspiration syndrome[J]. *Neonatology*, 2011, 100(3): 265-270.
- [35] Colnaghi M, Pierro M, Migliori C, et al. Nasal continuous positive airway pressure with heliox in preterm infants with respiratory distress syndrome[J]. *Pediatrics*, 2012, 129(2): 333-338.

(收稿日期: 2013-10-03 修回日期: 2013-11-28)

红花多糖提取工艺及抑癌药理作用研究进展*

马新博 综述, 宫汝飞[△] 审校

(广西科技大学医学院, 广西柳州 545005)

关键词: 多糖类; 红花; 抑癌药理; 综述

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2014.03.042

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)03-0364-03

红花(Safflower)又称草红花、红蓝花^[1],为双子叶植物、菊科红花的干燥管状花。红花性温,味辛,具活血通经、散瘀止痛之功效,其为药用始载于宋代的药籍《本草图经》^[2]。红花在我国 25 个省市(自治区)均有分布,其中新疆、河南、四川和浙江等地为红花的主要产区^[3]。现代药理学研究显示,红花中主要含有红花多糖(Safflower polysaccharide)、红花黄色素(Safflor yellow)、红花苷(Carthamin)、黄酮类(Flavone)、有机酸(Organic acid)、红花红色素(Carthamin)等成分^[4-9]。实验表明红花的主要有效成分红花多糖具有抗凝血、抗氧化、降血压、抗癌、免疫调节等多种药理活性^[10],而且具有资源丰富,药理毒性低,易于工业化生产、制备等优点^[11],因此学界对红花多糖的研究越来越深入。本文主要对红花多糖的提取工艺及抑癌药理作用研究进展进行综述。

1 红花多糖的提取与分离研究

实验研究显示红花多糖具有良好的抗肿瘤作用,目前主要采用水提醇沉法从红花药材中提取并用紫外分光光度法测定

其含量^[12]。张晓莉等^[13]采用水提醇沉法制取红花粗多糖,并通过冻融除杂、sevage 法清除蛋白质、双氧水脱色,再经无水乙醇、丙酮、无水乙醚脱脂纯化,得精制多糖;多糖质量分数为 96.05%,实验结果显示此方法灵敏度高且简便可靠。徐永良等^[14]研究红花多糖提取纯化工艺,通过对不同的液料比、提取时间及提取次数等实验,及对粗多糖纯化的研究,确立提取因素条件为:提取时间是 1 h,液料比是 30:1,提取 4 次,采用 Sevage、无水乙醇、丙酮、乙醚纯化,红花粗多糖得率是 6.5%,纯化后的多糖得率为 4.7%,测定提取粗多糖中多糖含量为 70.315%,纯化后多糖的含量为 76.05%。王艳艳等^[15]用乙醇提取红花多糖时,应用正交实验,经考察得,红花粗多糖提取最佳工艺条件是:提取时间每次为 1.5 h,料液比为 1:20,提取温度为 80℃,提取 3 次,在该工艺条件下红花粗多糖得率为 10.19%。

近年来树脂吸附法与超声波法也广泛用于各类植物的多糖类物质提取纯化,从而提高多糖成分的提取浓度。邹义芳

* 基金项目:广西教育厅立项科研项目(201204LX551);柳州医学高等专科学校校级科研项目(2011YB03)。作者简介:马新博(1980-),副教授,硕士,主要从事中药提取物抗肿瘤机制的研究。△ 通讯作者, E-mqil:27857266@qq.com。

等^[16]研究发现应用 HPD-100 大孔吸附树脂对红花多糖的脱色率和保留率较为理想,其最佳提取工艺条件是:温度为 40℃,pH 值为 4,多糖浓度为 5 mg/mL,流速为 1 mL/min,洗脱剂采用 pH4 的蒸馏水。在该条件下色素的吸附率可达 86.71%,多糖保留率为 72.10%。杨炫露等^[17]采用超声波法提取红花多糖,经过工艺验证,确定超声波法提取红花多糖的最佳因素是:料液比 1:25,温度 65℃,功率 80%,时间 55 min,粗多糖提取率是:20.35%,经考察超声波法的提取率明显高于传统的水提醇沉法。

2 红花多糖的抑癌药理作用及免疫调节机制等研究

实验研究显示红花多糖具有抗凝血、抗氧化、抗癌、免疫调节等多种药理作用^[18],尤其是红花多糖的抑癌作用得到越来越多的关注和研究。

2.1 红花多糖对荷瘤鼠的抑癌作用机制 何素芳等^[19]研究发现红花多糖对 H22 荷瘤小鼠有一定的抑癌作用,红花多糖能明显提高 H22 荷瘤小鼠胸腺和脾脏指数以增强机体免疫功能,且红花多糖可以下调荷瘤鼠体内 VEGF、Ki67 表达水平,说明红花多糖具有调节肿瘤细胞相关因子的分泌,增强机体抗肿瘤作用,且红花多糖抗肿瘤作用呈现量效关系。石学魁等^[20]实验结果显示红花多糖对小鼠 S180 肉瘤的抑制作用明显,40 mg/kg 的红花多糖抑癌率为 51.33% ($P < 0.01$);红花多糖对小鼠 LA795 肺癌也有抑制作用,红花多糖能使小鼠肿瘤体积明显减小,且能明显提高荷瘤小鼠脾脏 CTL 细胞、NK 细胞的免疫杀伤活性。梁颖^[21]研究发现红花多糖能明显抑制 S180 荷瘤鼠肿瘤生长 ($P < 0.05$)、降低荷瘤鼠血清白细胞介素 10(IL-10)、提高荷瘤鼠血清 IL-12 及肿瘤坏死因子- α 等,通过正向调节荷瘤鼠细胞免疫应答水平起到抑制肿瘤生长的作用。以上实验说明红花多糖对多种荷瘤鼠肿瘤生长均有抑制作用,该作用可能是通过正向调节肿瘤细胞相关因子的分泌、促进细胞免疫应答功能从而起到抗肿瘤作用。

2.2 红花多糖对人肝癌的抑制作用机制 梁颖等^[22]通过 MTT 法及 Annexin-V/PI 双染流式细胞仪检测发现,红花多糖具有抑制人肝癌 SMMC-7721 细胞生长的作用,并可诱导人肝癌 SMMC-7721 细胞凋亡,且该作用具有明显的时间依赖性和剂量依赖性。张晓莉等^[23]研究发现红花多糖对体外培养的人肝癌 SMMC-7721 细胞具有明显抑制增殖作用,且红花多糖作用后人肝癌细胞内 Bcl-2 蛋白和 mRNA 表达水平均降低, Bax 蛋白和 mRNA 的表达水平均升高;而且 Bcl-2/Bax 比值随红花多糖作用时间的延长呈显著降低变化。说明红花多糖能通过调节 Bax、Bcl-2 基因的表达,从而对人肝癌 SMMC-7721 细胞起到抑制与诱导凋亡作用。

2.3 红花多糖对人乳腺癌的抑制作用机制 陶冀^[24]通过吖啶橙染色、MTT 比色等方法发现红花多糖对体外培养的人乳腺癌 MCF-7 细胞具有明显的抑制作用 ($P < 0.05$),且该作用在一定浓度范围内随着药物浓度的升高、时间的延长而作用增强。通过实时荧光定量 PCR 测得,红花多糖作用于乳腺癌细胞 MCF-7 细胞后,可上调 nm23-H1 mRNA 的表达,下调 MMP-9 mRNA 的表达,且具有一定浓度依赖性;通过 Western blot 法测得,红花多糖作用后,MCF-7 细胞的 MMP-9 蛋白表达水平逐渐降低,而 nm23-H1 蛋白表达水平逐渐升高。说明红花多糖可能是在 mRNA 与蛋白质水平下调细胞内 MMP-9 的表达,上调 nm23-H1 的表达从而起到抑制人乳腺癌作用。

2.4 红花多糖对人胃癌的抑制作用机制 马新博等^[25]通过显微镜观察、吖啶橙核染色等检测发现红花多糖能够明显抑制体外培养的人胃癌 SGC-7901 细胞的增殖,并且可诱导人胃癌

SGC-7901 细胞凋亡,该作用呈一定的时间与剂量依赖。有学者实验结果证明红花多糖对体外培养的人胃癌 SGC-7901 细胞具有明显抑制增殖作用^[26],且红花多糖作用后人胃癌细胞内 Bcl-2 mRNA 转录与蛋白表达水平均降低, Bax mRNA 转录与蛋白的表达水平均升高;而且 Bcl-2/Bax 比值随红花多糖作用时间的延长呈显著降低变化。说明红花多糖能通过调节 Bax、Bcl-2 mRNA 转录与蛋白表达从而对人胃癌 SGC-7901 细胞起到增殖抑制与诱导凋亡作用。

2.5 红花多糖的免疫调节作用机制 有实验证明红花多糖有刺激溶血空斑(PFC)的作用,且能显著对抗可的松抑制溶血空斑,该促进作用随剂量增加而明显加强,说明红花多糖对免疫功能具有正向调节作用。石学魁等^[27]研究发现红花多糖可促进人外周血单个核细胞增殖,同时能促进单核细胞 IFN- γ 、IL-2 的分泌量,具有抗肿瘤免疫调节作用。林小琪等^[28]研究发现红花等中药中的多糖类成分能通过“IFN-IL-NKC”网络,诱导生成干扰素;通过调节细胞因子网络、T 细胞网络、机体内分泌-免疫网络,从而增强机体的免疫功能。因此,红花多糖可作为免疫调节剂而用于免疫相关疾病治疗。

2.6 红花多糖的抗氧化、抗凝血等作用 周剑等^[29]研究证明红花多糖有对 4 5-腺苷二磷酸二钠盐(ADP)诱导的血小板聚集有明显的抑制作用,其作用强度随着红花剂量的增加而增强,48 mg/mL 的红花多糖对血小板聚集抑制率达到 48.95%,说明红花多糖具有明显的抗凝血作用。有学者研究发现红花中多糖、黄色素等成分对实验动物有降压和抑制心脏的作用,同时可清除轻自由基并具有抑制实验鼠肝匀浆脂质过氧化作用。

3 展 望

综上所述,红花多糖资源丰富、价格相对低廉、毒性低,且其抗癌与免疫调节药理作用明显。但是细胞癌变是一个受多种理化因素和机体内环境作用的极其复杂的过程,其中关键的因素是组织细胞内各种癌与抑癌基因表达变化的影响作用,目前研究显示红花多糖的主要抗癌作用也是通过调节细胞内一系列癌相关基因与机体组织内各种免疫物质相互作用的结果。目前,关于红花多糖抗癌作用机制的实验研究,由于受到药物分离纯化技术、动物荷瘤模型、肿瘤细胞培养技术等因素的限制,还存在一定局限性。首先,红花多糖类化合物成分较复杂,很难确定其主要有效成分及进行单体提纯;其次,实验研究中使用的癌细胞株,都是体外培养或者是体外试验,这与机体内细胞癌变的发生、发展环境差距较大。所以学界应进一步提纯红花多糖或是分离其各种单体,研究其不同环境及各种浓度下的抗癌作用机制,为红花多糖临床抗癌治疗提供实验和理论依据。

参考文献:

- [1] 李时珍.本草纲目(校点本)[M].北京:人民卫生出版社,1996:966.
- [2] 曹学勤.红花与藏红花[J].内蒙古中医药,2009,28(23):46-47.
- [3] 王慧琴,谢明勇,杨妙峰,等.不同产地红花中微量元素的因子分析和聚类分析[J].厦门大学学报:自然科学版,2006,45(1):72-75.
- [4] 陈梦,赵丕文,孙艳玲,等.红花及其主要成分的药理作用研究进展[J].环球中医药,2012,5(7):556-560.
- [5] Hang LJ, Tang YX. Study on the chemical component of *Carthamus tinctorius* [J]. Mod Appl Harm, 1995, 12

- (2):19-21.
- [6] Wm C, Jin M, Wu W, et al. The antagonistic effects of flavones of *Carthamus tinctorios* against platelet activation induced by platelet activating factor[J]. *Acta PharmSin*, 2001, 36(12):851-885.
- [7] 金鸣, 王玉芹, 李家实, 等. 红花中黄酮醇类成分的分离和鉴定[J]. *中草药*, 2003, 34(4):306-307.
- [8] 尹宏斌, 何直升, 叶阳. 红花化学成分的研究[J]. *中草药*, 2001, 32(9):776-778.
- [9] 霍贤, 梁忠岩, 张雅君, 等. 红花水溶性多糖 CTP 的结构研究[J]. *高等学校化学学报*, 2005, 26(9):1656-1658.
- [10] 宫汝飞, 周丹, 马新博. 红花、柿叶等抗癌中药药理研究进展[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2012, 33(14):1915-1916.
- [11] 赵钢, 王安虎. 红花的资源及药用价值[J]. *中国野生植物资源*, 2004, 23(3):24-25.
- [12] 郭美丽, 付立波, 张芝玉, 等. UV, HPLC 测定红花中黄色素, 多糖和腺苷的含量[J]. *药品质量及检验*, 1999, 34(8):550-552.
- [13] 张晓莉, 李玉婷, 王亚贤, 等. 红花多糖的提取与含量测定[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(7):19-21.
- [14] 徐永良, 王得利, 石学魁. 红花多糖提取纯化方法研究[J]. *微量元素与健康研究*, 2012, 29(3):17-19, 23.
- [15] 王艳艳, 王团结. 红花多糖提取工艺优化研究[J]. *现代中药研究与实践*, 2010, 24(6):56-58.
- [16] 邹义芳, 任爱农, 姚苗苗, 等. 大孔吸附树脂对红花多糖脱色工艺的影响研究[J]. *中国药房*, 2011, 22(15):1380-1382.
- [17] 杨炫露, 温静雅, 卢运超. 超声波法提取红花多糖工艺研究[J]. *求医问药:学术版*, 2012, 10(9):526.
- [18] 何素芳. 红花多糖的初步研究[D]. 镇江:江苏大学, 2009.
- [19] 何素芳, 王志刚, 任爱农, 等. 红花多糖对 H22 荷瘤小鼠的抑瘤作用及瘤细胞 VEGF, Ki67 表达的影响[J]. *中国中药杂志*, 2009, 34(6):795-797.
- [20] 石学魁, 阮殿清, 王亚贤, 等. 红花多糖抗肿瘤活性及对 T739 肺癌鼠 CTL, NK 细胞杀伤活性的影响[J]. *中国中药杂志*, 2010, 35(2):215-218.
- [21] 梁颖. 红花多糖对肿瘤转移相关基因表达影响的实验研究[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学, 2012.
- [22] 梁颖, 张晓莉, 陶冀, 等. 红花多糖对人肝癌 SMMC-7721 细胞增殖的抑制作用[J]. *中医药学报*, 2011, 39(5):32-35.
- [23] 张晓莉, 程翔, 刘洋, 等. 红花多糖对人肝癌 SMMC-7721 细胞 Bcl-2 与 Bax 基因转录及蛋白表达的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(14):239-244.
- [24] 陶冀. 红花多糖抑制人乳腺癌细胞 MCF-7 增殖及其转移能力的影响[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学, 2012.
- [25] 马新博, 周振座, 宫汝飞, 等. 红花多糖对人胃癌 SGC-7901 细胞抑制作用的初步研究[J]. *广西医学*, 2012, 34(11):1444-1446.
- [26] 马新博, 杨婧, 陈丽, 等. 红花多糖对人胃癌 SGC-7901 细胞凋亡相关基因 Bcl-2 和 Bax 表达的影响[J]. *广东医学*, 2012, 33(24):3698-3700.
- [27] 石学魁, 阮殿清, 陶冀, 等. 红花多糖对人 PBMC 增殖活性及分泌细胞因子的影响[J]. *天津中医药*, 2010, 27(4):337-339.
- [28] 林小琪, 王爱平, 靳洪涛, 等. 免疫增强中药的研究[J]. *吉林中医药*, 2009, 29(2):160-162.
- [29] 周剑, 刘荣华, 李祥. 红花对 ADP 给药家兔血小板聚集率的影响[J]. *亚太传统医药*, 2008, 4(3):50-51.

(收稿日期:2013-09-08 修回日期:2013-11-22)

脐带血间充质干细胞向神经细胞诱导分化及应用*

杨军政 综述, 李永海[△], 李 萌, 林俊堂 审校

(新乡医学院生命科学技术学院干细胞与生物治疗技术研究中心, 河南新乡 453003)

关键词: 脐带血; 间质干细胞; 神经元; 神经系统疾病; 诱导分化

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.03.043

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)03-0366-04

自 2000 年 Erices 等^[1]报道脐带血中含有丰富的造血干细胞和间充质干细胞以来, 因脐带血间充质干细胞的多向分化潜能, 免疫调节作用和无伦理问题等优点, 备受研究者的关注。随后, 有学者分别报道了脐带血间充质干细胞在体外可诱导表达神经元标志物和神经胶质细胞标志物^[2-3]。目前人们已经可以成功地体外分离培养脐带血间充质干细胞, 并且对其生物学特性、表面标志和免疫原性有了进一步的了解。近年来成功地诱导脐带血间充质干细胞分化为骨、脂肪、软骨、肝脏及神经等成体细胞, 展示了脐带血间充质干细胞的无限分化潜能和广阔的应用前景。从而为体外诱导脐带血间充质干细胞分化各种

成体细胞和各种疾病的治疗提供了新的思路。

1 脐带血间充质干细胞的特性及诱导分化

1.1 脐带血间充质干细胞的分离与培养 脐带血间充质干细胞的分离主要有以下几种方法^[4]: 密度梯度离心法、贴壁细胞分离法、流式细胞分离法和免疫磁珠法等。目前采用最多的是密度梯度离心法, 但分离的纯度不高。流式细胞分离法和免疫磁珠法都是通过脐带血间充质干细胞表面的特殊标志对细胞进行筛选, 分离的细胞纯度较高, 但成本较高。

目前在脐带血间充质干细胞培养方面没有统一的标准。常用的培养基有 DMEM/F12、DMEM、IMEM 和 MesencultTM

* 基金项目: 新乡医学院重点领域招标课题(ZD2011-24); 新乡医学院高学历人才科研启动项目; 新乡医学院研究生科研创新支持计划项目(YJSCX201209Z)。作者简介: 杨军政(1988-), 在读硕士, 主要从事干细胞分化研究。△ 通讯作者, E-mail: yonghaili@126.com。