

## · 论著 ·

## 蜂斗菜总内酯对动物高原缺氧保护作用的研究

王业晴<sup>1</sup>, 谢曜宇<sup>1</sup>, 张 慧<sup>2</sup>, 吴 弘<sup>3</sup>, 郭美丽<sup>1</sup> (1. 第二军医大学药学院生药学教研室, 上海 200433; 2. 海军医学研究所航空医学研究室, 上海 200433; 3. 第二军医大学附属长海医院心内科, 上海 200433)

**[摘要]** **目的** 探讨蜂斗菜总内酯对动物高原缺氧的保护作用。**方法** 通过建立小鼠急性密闭缺氧模型、小鼠急性减压缺氧模型以及大鼠减压缺氧模型, 观察蜂斗菜总内酯对实验动物存活时间及死亡率的影响, 并检测动物血糖、不同脏器中糖原、三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)、乳酸(lactic acid, LD)、乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)的含量。**结果** 蜂斗菜总内酯能够明显延长小鼠急性密闭缺氧的存活时间, 提高存活时间增加率; 能显著降低小鼠急性减压缺氧的死亡率; 对于减压缺氧大鼠, 能显著降低血糖含量, 显著增加肝脏、骨骼肌、心肌中的糖原含量以及脑、肝脏、骨骼肌、心肌中的ATP含量, 并能显著降低血浆、骨骼肌和心肌中的LD含量, 降低心肌中的LDH含量。**结论** 蜂斗菜总内酯对小鼠急性密闭缺氧、小鼠急性减压缺氧和大鼠减压缺氧均具有明显的保护作用, 其抗高原缺氧作用与其降低血糖含量, 提高脏器中糖原含量、ATP含量, 降低脏器中LD及LDH含量有关。

**[关键词]** 蜂斗菜; 蜂斗菜总内酯; 高原; 抗缺氧; 减压缺氧

**[中图分类号]** R285.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2017)02-0116-06

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.02.005

## Protective effects of the total bakkenolides from *Petasites. tricholobus* on high altitude hypoxia

WANG Yeqing<sup>1</sup>, XIE Yaoyu<sup>1</sup>, ZHANG Hui<sup>2</sup>, WU Hong<sup>3</sup>, GUO Meili<sup>1</sup> (1. Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai, 200433 China; 2. Department of Aerospace Medicine, Naval Medical Research Institute, Shanghai, 200433 China; 3. Department of Cardiology, Changhai Hospital Affiliated to Second Military Medical University, Shanghai, 200433 China)

**[Abstract]** **Objective** To study the protective effects of the total bakkenolides from *P. tricholobus* on high altitude hypoxia. **Method** Normobaric hypoxia model and acute hypobaric hypoxia model in mice, hypobaric hypoxia model in rats were established for this study. Survival time and survival rate of mice were recorded. The level of blood sugar and glycogen, adenosine triphosphate (ATP), lactic acid (LD), lactic dehydrogenase (LDH) were detected in different organs of rats. **Results** The total bakkenolides significantly prolonged the survival time of mice in normobaric hypoxia model and reduced the death rate of mice in acute hypobaric hypoxia model. The total bakkenolides suppressed blood sugar level in rats and increased the glycogen level in rat liver, skeletal muscle and myocardium. It also elevated the ATP content in rat brain, liver, skeletal muscle and myocardium. Meanwhile, the content of LD in plasma, skeletal muscle, myocardium and LDH level in myocardium were reduced. **Conclusion** The total bakkenolides from *P. tricholobus* have protective effect on normobaric hypoxia model and acute hypobaric hypoxia model in mice as well as hypobaric hypoxia model in rats. Its anti-hypoxia efficacy at high altitude may relate to the increased blood sugar, glycogen, and ATP level and reduced LD, LDH level in major organs.

**[Key words]** *P. tricholobus*; total bakkenolides; high altitude; anti-hypoxia; hypobaric hypoxia

菊科蜂斗菜属植物 *Petasites* species (Aster-

aceae)广泛分布于欧洲、亚洲和北美洲。我国共有6个种, 产于东北、华东和西南地区, 分别为: 蜂斗菜 *P. japonicus* (Seib. et Zucc) Maxim、毛裂蜂斗菜 *P. tricholobus* Fanch、掌叶蜂斗菜 *P. tatewakianus* Kitam、盐源蜂斗菜 *P. versipilis* Hand Mazz、长白蜂斗菜 *P. rubellus* (J. F. Gmel.) Toman、台湾蜂斗菜 *P. formasanus* Kitam<sup>[1]</sup>。其根茎具有清热解毒、散瘀消肿的功效, 主要用于治疗咽喉肿痛、痈肿

**[基金项目]** 国家科技重大专项(2009ZX09103-420)

**[作者简介]** 王业晴, 硕士研究生. Tel: (021) 81871312; E-mail: wlyegedydi@163.com

**[通讯作者]** 郭美丽, 教授, 博士生导师. 研究方向: 生药活性物质基础及品质评价. Tel: (021) 81871302; E-mail: mlguo@126.com.

吴 弘, 副教授. E-mail: doctorwh666@126.com

疗毒、毒蛇咬伤、跌打损伤等<sup>[2]</sup>。

本课题组前期对蜂斗菜属植物毛裂蜂斗菜和蜂斗菜的化学成分进行了较为系统的研究,分别从中分离获得了已知的蜂斗菜内酯类化合物以及6个新的蜂斗菜内酯类化合物<sup>[3-7]</sup>。课题组的研究亦表明,蜂斗菜内酯类化合物对组胺导致的离体豚鼠器官片收缩有抑制作用,表明其具有抗炎活性<sup>[3]</sup>;蜂斗菜总内酯能够通过抑制 AKT 和 ERK1/2 的激活以及抑制 NF- $\kappa$ B 通路的激活,有效降低脑梗死体积,保护大脑神经元细胞,产生良好的抗脑缺血和神经保护作用<sup>[8,9]</sup>。但是,蜂斗菜总内酯对高原缺氧是否具有保护作用尚未见报道。为了深入挖掘蜂斗菜总内酯的药用价值,本研究进一步探讨了蜂斗菜总内酯对高原缺氧的保护作用。

## 1 材料

**1.1 药物与试剂** 实验所用蜂斗菜总内酯为自提,经高效液相色谱(HPLC)检测,蜂斗菜总内酯的含量为67.1%,其中蜂斗菜内脂D、B、IVa、IIIa的含量分别为18.5%、37.1%、1.9%、9.6%,结构式及图谱见图1、图2。诺迪康胶囊(四川诺迪康威光制药有限公司,批号:141102)。给药前,均用0.5% CMC-Na溶液配制成一定浓度的溶液。糖元测试盒、三磷酸腺苷(ATP)测试盒、乳酸(LD)测试盒、乳酸脱氢酶(LDH)测试盒均购自南京建成生物工程研究所。

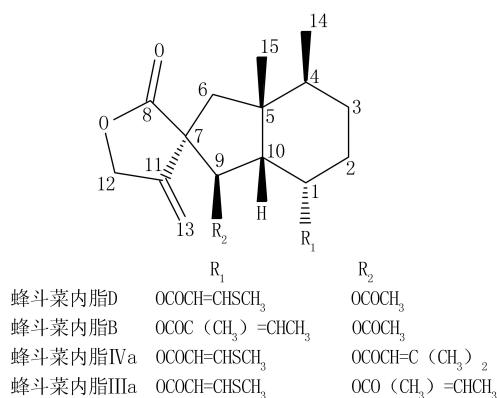


图1 蜂斗菜内脂D、B、IVa、IIIa的结构式

**1.2 仪器与设备** 低气压环境模拟系统(江南造船厂),滑阀式真空泵(浙江真空设备厂),Alpha-1506P型紫外可见分光光度计(上海谱元仪器有限公司),拜安捷2血糖仪(Bayer HealthCare LLC, USA),TGL-16M型离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司),K30型旋涡振荡器(青浦沪西仪器厂),HH-W600型水浴锅(金南仪器制造有限公

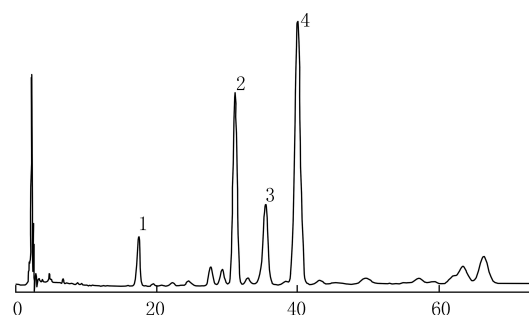


图2 蜂斗菜总内酯 HPLC 图

1. 蜂斗菜内脂D; 2. 蜂斗菜内脂B;  
3. 蜂斗菜内脂IVa; 4. 蜂斗菜内脂IIIa

司), PRO200 型电动匀浆机(FLUKO), Agilent1100 型高效液相色谱仪(Agilent, USA)

**1.3 实验动物** SPF级6周龄ICR小鼠,雌雄各半,体重(20±2)g; SPF级6周龄Wistar大鼠,雌雄各半,体重(200±20)g;实验动物均购自上海斯莱克实验动物有限公司,实验动物许可证号:SCXK(沪)2012-0002。

两种动物均饲养于清洁级动物房,自由进食与饮水,温度:(25±2)℃,湿度:40%~60%,人工照明模拟昼夜变化。本实验方案遵守动物保护、动物福利和伦理原则及相关规定。

## 2 方法

### 2.1 分组与处理

**2.1.1 小鼠急性密闭缺氧实验** 取健康ICR小鼠共100只,雌雄各半,适应性饲养3d后按体重随机分为5组:模型组、诺迪康(阳性对照)组、低剂量组、中剂量组、高剂量组,每组20只。分组后,根据预实验结果确定给药剂量。各组给药剂量分别为诺迪康(阳性对照)组280 mg/kg、低剂量组20 mg/kg、中剂量组40 mg/kg、高剂量组80 mg/kg,模型组给予相同体积的0.5% CMC-Na溶液,给药方式为灌胃。给药1h后,将各组小鼠置于装有5g钠石灰的125 ml广口瓶,每瓶1只,塞紧瓶盖,涂以凡士林,记录各组小鼠的存活时间。

**2.1.2 小鼠急性减压缺氧实验** 取健康ICR小鼠100只,雌雄各半,适应性饲养3d后,按体重随机分为5组:模型组、诺迪康(阳性对照)组、低剂量组、中剂量组、高剂量组,每组20只。各组给药剂量分别为诺迪康(阳性对照)组280 mg/kg、低剂量组20 mg/kg、中剂量组40 mg/kg、高剂量组80 mg/kg,模型组给予相同体积的0.5% CMC-Na溶液,给药方式为灌胃,每日1次,连续7d。最后

1 d灌胃后 1 h,将小鼠放入低压舱,密闭舱门,用真空泵以 10 m/min 的速度减压上升,在海拔高度至 5 000 m和 8 000 m时分别各停 3 min,最终升至 10 000 m,1 h 后以 20 m/s 缓慢降至正常海拔高度,开舱后统计各组动物的死亡率。

**2.1.3 大鼠减压缺氧实验** 取 Wistar 大鼠 48 只,雌雄各半,适应性喂养 3 d 后,随机分为 6 组:常压对照组、模型对照组、诺迪康(阳性对照)组、低剂量组、中剂量组、高剂量组,每组 8 只。各组给药剂量分别为诺迪康(阳性对照)组 196 mg/kg、低剂量组 14 mg/kg、中剂量组 28 mg/kg、高剂量组 56 mg/kg,常压对照组以及模型对照组给予相同体积的 0.5% CMC-Na 溶液,给药方式为灌胃,每日 1 次,连续 7 d。最后 1 d 灌胃后 1 h,将各组大鼠放入密闭低压氧舱内(常压对照组除外),以 10 m/min 的速度减压上升至海拔高度 8 000 m,维持此高度 5 h 后,以 20 m/s 缓慢降至正常海拔高度。打开舱门,对动物迅速取材,收集血液、脑、心脏、肝脏、骨骼肌,检测糖原、ATP、LD 及 LDH 的含量。

## 2.2 检测指标与方法

**2.2.1 小鼠急性密闭缺氧存活时间观察** 小鼠于密闭广口瓶造模后,以呼吸停止为小鼠死亡的观察指标,立即用秒表记录每只小鼠从广口瓶密封开始到死亡为止的时间,统计各组小鼠的存活时间。

存活时间增加率(%) = (药物组平均存活时间 - 模型组平均存活时间) / 模型组平均存活时间 × 100%

**2.2.2 小鼠减压缺氧存活率观察** 小鼠于低压舱造模后,待缓慢降至正常海拔高度,迅速打开舱门,以呼吸停止为小鼠死亡的观察指标,统计各组的死亡率。

**2.2.3 大鼠生化指标检测** 血糖的检测:大鼠减压缺氧造模结束后,迅速用采血针取血,立即用血糖仪检测并记录血糖值。

各组织糖原的检测:肝脏组织各取用 500 mg,骨骼肌、心肌各取用 200 mg,按样本重量(mg):碱液体积( $\mu$ l) = 1:3,一起加入试管中,沸水浴煮 20 min,得糖原水解液,按照试剂盒说明书进行各组织糖原的检测和计算。

ATP、LD、LDH 的检测:取各组织准确称量,按样本重量(mg):体积(ml) = 1:9,加入生理盐水在冰水浴条件下进行机械匀浆,匀浆液在 4 °C,3 000 r/min 的低温离心机内离心 10 min,取上清液,按照试剂盒说明书进行 ATP、LD、LDH 的检测及计算。血浆样本按与生理盐水 1:49 的比例稀释

待测,其余步骤相同。

**2.3 统计学分析** 采用 SPSS 18.0 软件进行数据分析。对于计量资料,有效数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间均数比较采用 ANOVA, Dunnett-*t* test。对于计数资料以百分率(%)表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。

## 3 蜂斗菜总内酯对实验动物相关指标的影响

**3.1 对急性密闭缺氧小鼠存活时间的影响** 蜂斗菜总内酯各剂量组均可明显延长密闭缺氧小鼠的存活时间,与模型组相比,差异有统计学意义( $P < 0.05$ 或  $P < 0.01$ ),并呈一定的剂量依赖性。低剂量组的存活时间及存活时间增加率与诺迪康组相近,见表 1。

表 1 蜂斗菜总内酯对急性密闭缺氧小鼠存活时间及存活时间增加率的影响

组别	动物数量(只)	给药剂量(mg/kg)	存活时间(t/s)	存活时间增加率(%)
模型组	20	—	880.1 ± 166.7	—
诺迪康组	20	280	1 010.5 ± 197.8*	14.8
低剂量组	20	20	994.4 ± 138.2*	13.0
中剂量组	20	40	1 050.4 ± 212.5**	19.4
高剂量组	20	80	1 075.8 ± 73.0**	22.2

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ,与模型组比较

**3.2 对急性减压缺氧小鼠死亡率的影响** 在小鼠急性减压缺氧实验中,模型组、诺迪康组、蜂斗菜总内酯低、中、高剂量组的死亡率分别为 65%、30%、35%、25%和 10%。与模型组相比,诺迪康组能显著降低死亡率( $P < 0.05$ ),蜂斗菜总内酯各剂量组也均可降低死亡率,且随着给药剂量的增加,死亡率逐渐降低,存在剂量依赖关系,且中剂量组和高剂量组与模型组的差异有统计学意义( $P < 0.05$ 或  $P < 0.01$ ),见表 2。

表 2 蜂斗菜总内酯对急性减压缺氧小鼠死亡率的影响

组别	动物数量(只)	给药剂量(mg/kg)	死亡率(%)
模型组	20	—	65
诺迪康组	20	280	30*
低剂量组	20	20	35
中剂量组	20	40	25*
高剂量组	20	80	10**

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ,与模型组比较

### 3.3 对减压缺氧大鼠生化指标的影响

**3.3.1 对减压缺氧大鼠血糖含量的影响** 模型对照组的大鼠血糖含量明显高于常压对照组 ( $P < 0.01$ )。与模型对照组相比,蜂斗菜总内酯各剂量组均有效降低了大鼠的血糖含量 ( $P < 0.01$ ),而诺迪康组与模型组间无显著差异(表3)。

表3 蜂斗菜总内酯对减压缺氧大鼠血糖含量的影响

组别	动物数量 (只)	给药剂量 (mg/kg)	血糖 ( $c_B/mm\text{ol} \cdot L^{-1}$ )
常压对照组	8	—	6.96±0.99
模型对照组	8	—	9.38±1.06**
诺迪康组	8	196	10.40±1.68
低剂量组	8	14	7.11±0.95##
中剂量组	8	28	6.83±0.45##
高剂量组	8	56	6.73±1.34##

\*\*  $P < 0.01$ ,与常压对照组比较;##  $P < 0.01$ ,与模型对照组比较

**3.3.2 对减压缺氧大鼠肝脏、骨骼肌、心肌中糖原含量的影响** 在模型对照组中,大鼠的肝脏、骨骼肌、心肌中的糖原含量均显著低于常压对照组 ( $P < 0.01$ )。在肝脏组织中,与模型对照组相比,蜂斗菜总内酯各剂量组以及诺迪康组的糖原含量均有所升高,且差异均有统计学意义 ( $P < 0.01$ );在骨骼肌和心肌组织中,只有高剂量组与模型对照组的差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),见表4。

**3.3.3 对减压缺氧大鼠脑、肝脏、骨骼肌、心肌中ATP含量的影响** 与常压对照组相比,模型对照组大鼠脑、肝脏、骨骼肌、心肌中的ATP均显著降低 ( $P < 0.01$ ),提示造模成功。与模型对照组比较,在脑组织和肝脏组织中,蜂斗菜总内酯各剂量组以及诺迪康组均可显著增加ATP含量 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );在骨骼肌组织和心肌组织中,高剂量组可显著升高ATP含量 ( $P < 0.05$ ),见表5。

表4 蜂斗菜总内酯对减压缺氧大鼠肝脏、骨骼肌、心肌中糖原含量的影响

组别	动物数量 (只)	给药剂量 (mg/kg)	肝脏 (mg/g)	骨骼肌 (mg/g)	心肌 (mg/g)
常压对照组	8	—	44.84±0.72	13.82±1.32	15.98±2.16
模型对照组	8	—	31.09±1.08**	7.87±1.67**	8.43±1.78**
诺迪康组	8	196	38.08±0.72##	8.87±2.70	9.57±4.05
低剂量组	8	14	37.95±1.29##	9.84±2.13	10.58±2.83
中剂量组	8	28	38.02±1.02##	10.60±1.71	11.27±2.00
高剂量组	8	56	38.13±1.53##	10.96±2.84#	13.73±2.30##

\*\*  $P < 0.01$ ,与常压对照组比较;#  $P < 0.05$ ,##  $P < 0.01$ ,与模型对照组比较

表5 蜂斗菜总内酯对减压缺氧大鼠脑、肝脏、骨骼肌、心肌中ATP含量的影响

组别	动物数量 (只)	给药剂量 (mg/kg)	脑 ( $\mu\text{mol/g prot}$ )	肝脏 ( $\mu\text{mol/g prot}$ )	骨骼肌 ( $\mu\text{mol/g prot}$ )	心肌 ( $\mu\text{mol/g prot}$ )
常压对照组	8	—	730.50±92.16	809.43±113.87	827.77±165.53	1 126.60±236.91
模型对照组	8	—	433.42±50.78**	383.13±118.23**	349.05±142.06**	713.01±176.53**
诺迪康组	8	196	604.90±162.05#	653.36±172.49##	447.87±108.77	794.74±260.92
低剂量组	8	14	616.78±124.57#	614.32±161.44#	450.43±142.02	834.37±245.16
中剂量组	8	28	655.57±170.01##	649.44±206.78##	513.62±90.49	956.00±167.38
高剂量组	8	56	686.99±131.05##	676.75±154.23##	527.59±136.50#	1 040.43±298.13#

\*  $P < 0.05$ ,\*\*  $P < 0.01$ ,与常压对照组比较;#  $P < 0.05$ ,##  $P < 0.01$ ,与模型对照组比较

**3.3.4 对减压缺氧大鼠血浆、骨骼肌、心肌中LD含量的影响** 与常压对照组相比,模型对照组大鼠血浆、骨骼肌、心肌的LD含量均显著升高 ( $P < 0.01$ )。与模型对照组相比,在血浆中,蜂斗菜总内酯各剂量组均可降低血乳酸含量 ( $P < 0.05$ ),而诺迪康组与模型组相比无显著差异;在骨骼肌组织中,蜂斗菜总内酯各剂量组及诺迪康组均明显降低了LD含量 ( $P < 0.01$ );在心肌组织中,蜂斗菜总内酯各剂量组均可显

著降低LD含量 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),而诺迪康组与模型对照组相比,差异无统计学意义,见表6。

**3.3.5 对减压缺氧大鼠心肌LDH含量的影响** 与常压对照组相比,模型对照组大鼠心肌的LDH含量明显升高 ( $P < 0.01$ )。与模型对照组比较,诺迪康组以及蜂斗菜总内酯各剂量组均可降低心肌中LDH含量,且差异有统计学意义 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),见表7。

表6 蜂斗菜总内酯对减压缺氧大鼠血浆、骨骼肌、心肌中LD含量的影响

组别	动物数量 (只)	给药剂量 (mg/kg)	血浆 ( $c_B/\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	骨骼肌 (mmol/g prot)	心肌 (mmol/g prot)
常压对照组	8	—	1.90±0.57	0.51±0.28	0.66±0.21
模型对照组	8	—	3.63±0.65**	1.35±0.31**	1.29±0.30**
诺迪康组	8	196	2.81±0.59	0.86±0.27##	0.98±0.29
低剂量组	8	14	2.61±0.75#	0.89±0.20##	0.88±0.29#
中剂量组	8	28	2.59±0.93#	0.83±0.21##	0.80±0.19##
高剂量组	8	56	2.54±0.95#	0.75±0.16##	0.71±0.27##

\*\*  $P < 0.01$  与常压对照组比较; #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$ , 与模型对照组比较

表7 蜂斗菜总内酯对减压缺氧大鼠心肌LDH含量的影响

组别	动物数量 (只)	给药剂量 (mg/kg)	心肌 (U/g prot)
常压对照组	8	—	2 732.34±553.61
模型对照组	8	—	5 799.34±1 316.62**
诺迪康组	8	196	4 157.31±952.68##
低剂量组	8	14	4 416.11±908.01#
中剂量组	8	28	4 125.66±1 223.69##
高剂量组	8	56	3 764.54±919.73##

\*\*  $P < 0.01$ , 与常压对照组比较; #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$ , 与模型对照组比较

#### 4 讨论

缺氧作为高原病的主要致病因素,时间过长会导致机体能量代谢紊乱,影响机体内环境的稳定,造成高原心脏病、急性高原肺水肿、高原脑昏迷甚至猝死<sup>[10-12]</sup>。在本实验中,采用经典的急性密闭缺氧模型以及急性减压缺氧模型,可以从整体水平考察实验药物对高原缺氧的保护作用。本研究结果表明,蜂斗菜总内酯各剂量组均可明显延长急性密闭缺氧小鼠的存活时间,提高存活时间增加率,并呈一定的剂量依赖性;同时,在急性减压缺氧模型中,蜂斗菜总内酯各剂量组也不同程度的降低了小鼠的死亡率。

在缺氧情况下,糖酵解是机体应对内环境紊乱的主要方式之一,此过程中每分子葡萄糖可以提供2分子ATP,同时产生2分子的丙酮酸。在更为缺氧的情况下,丙酮酸可在LDH的催化下,被还原为乳酸<sup>[13-15]</sup>。本研究通过模拟海拔8 000 m的减压缺氧环境,建立大鼠减压缺氧模型,并测试相应的生化指标。在模型对照组中,大鼠血糖明显升高,肝脏、骨骼肌、心肌中的糖原含量明显降低,表明模拟的高原环境对机体能量方面的需求强烈,整个机体处于应激状态;而脑、肝脏、骨骼肌、心肌中的ATP含量均低于常压对照组,表明在缺氧情况下,各脏器得到的供能明显不足;模型对照组中血浆、骨骼肌、心肌

的LD含量均显著升高,心肌的LDH含量也明显高于常压对照组,表明缺氧诱导机体积极进行无氧呼吸,LD产生积蓄,LDH活跃。缺氧组给予蜂斗菜总内酯后,Wistar大鼠血糖水平降低,而各脏器中的糖原和ATP含量均有所增加,LD和LDH也均不同程度下降。综上所述,本研究结果表明,在缺氧条件下,蜂斗菜总内酯能维持血糖的稳定,提高机体主要脏器中糖原以及ATP的含量,减少LD积蓄以及LDH的活性,减轻高原缺氧损伤,改善机体能量代谢并维持机体内环境的稳态。

本研究为将蜂斗菜总内酯开发成抗高原缺氧的天然药物提供了重要科学依据,其抗高原缺氧的通路机制有待进一步研究。

#### 【参考文献】

- [1] 中科院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 94-100.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 914-916.
- [3] 王玉亮, 郭美丽, 张戈, 等. 毛裂蜂斗菜根茎的化学成分及抗炎活性[J]. 第二军医大学学报, 2006, 27(11): 1210-1213.
- [4] Zhang N, Guo ML, Zhang G, et al. A new neuroprotective bakkenolide from the rhizome of *Petasitricholobus* [J]. Chin Chem Lett, 2008, 19 (7): 841-844.
- [5] Wang YL, Li RP, Guo ML, et al. Bakkenolides from *Petasites tricholobus* and their neuroprotective effects related to antioxidant activities[J]. Planta Med, 2009, 75(3): 230-235.
- [6] 李余先, 王燕, 郭美丽. 蜂斗菜的化学成分研究[J]. 第二军医大学学报, 2010, 31(7): 779-781.
- [7] 谢曜宇, 李余先, 孙一鸣, 等. 蜂斗菜根茎中的一个新倍半萜成分及其抗缺氧活性[J]. 药学学报, 2016, 51(8): 1285-1289.
- [8] Jiang Q, Xia YY, He JM, et al. Total bakkenolides protects neurons against cerebral ischemic injury through inhibition of NF- $\kappa$ B activation[J]. CNS Neurol Disord Drug Targets, 2014, 13(5): 874-884.
- [9] Jiang Q, Li RP, Tang Y, et al. Bakkenolide-III a protects against cerebral damage via inhibiting NF- $\kappa$ B activation[J]. CNS Neurosci Ther, 2015, 21(12): 943-952.

(下转第125页)

质细胞,并且放/化疗后 CD133 表达水平增高的患者无进展生存期 (progression-free-survival, PFS) 明显缩短。

目前多数临床回顾性统计结果表明,错配修复基因缺失的这部分结直肠癌患者,对以 5-Fu 为基础的化疗产生耐药性,但具体机制尚不明确<sup>[16,17]</sup>。本研究发现,HCT-116 细胞稳定表达 MLH1 后,肿瘤干细胞特异性表达标志物 CD133 的表达显著降低,并伴随细胞分化标志物 CK8 和 CK20 表达上调,说明 MLH1 表达降低了 HCT-116 细胞的“肿瘤干细胞样”特性,并抑制了 HCT-116 细胞对 5-Fu 产生的化疗耐受。该结果提示结直肠癌细胞缺失错配修复基因 MLH1 引起 5-Fu 的耐药性可能与其促进肿瘤干细胞样特性密切相关。本研究为阐释错配修复基因缺失结直肠癌患者对化疗药物 5-Fu 的耐药机制提供了理论基础。

#### 【参考文献】

- [1] Brenner H, Kloor M, Pox CP. Colorectal cancer[J]. Lancet, 2014, 383(9927): 1490-1502.
- [2] Chen Q, Liu Z, Cheng L, et al. An analysis of incidence and mortality of colorectal cancer in China, 2003~2007[J]. China Cancer, 2012, 21(3): 179-182.
- [3] Hsieh P, Yamane K. DNA mismatch repair: molecular mechanism, cancer, and ageing[J]. Mech Ageing Dev, 2008, 129(7-8): 391-407.
- [4] Hewish M, Lord CJ, Martin SA, et al. Mismatch repair deficient colorectal cancer in the era of personalized treatment[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2010, 7(4): 197-208.
- [5] Sinicrope FA. DNA mismatch repair and adjuvant chemotherapy in sporadic colon cancer[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2010, 7(3): 174-177.
- [6] Boland GM, Chang GJ, Haynes AB, et al. Association between adherence to National Comprehensive Cancer Network treatment guidelines and improved survival in patients with colon cancer[J]. Cancer, 2013, 119(8): 1593-1601.
- [7] 祝利民, 沈克平, 周浩, 等. 胃肠安及四藤方对人结肠癌细胞

株干细胞 CD133<sup>+</sup>的影响[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2016, 36(2): 161-165.

- [8] Taverna P, Liu L, Hanson AJ, et al. Characterization of MLH1 and MSH2 DNA mismatch repair proteins in cell lines of the NCI anticancer drug screen[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2000, 46(6): 507-516.
- [9] Rosen JM, Jordan CT. The increasing complexity of the cancer stem cell paradigm[J]. Science, 2009, 324(5935): 1670-1673.
- [10] Zeki SS, Graham TA, Wright NA. Stem cells and their implications for colorectal cancer[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2011, 8(2): 90-100.
- [11] O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, et al. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice[J]. Nature, 2007, 445(7123): 106-110.
- [12] Ricci-Vitiani L, Lombardi DG, Pilozzi E, et al. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells[J]. Nature, 2006, 445(7123): 111-115.
- [13] Dallas NA, Xia L, Fan F, et al. Chemoresistant colorectal cancer cells, the cancer stem cell phenotype, and increased sensitivity to insulin-like growth factor-I receptor inhibition[J]. Cancer Res, 2009, 69(5): 1951-1957.
- [14] Ma S, Lee TK, Zheng BJ, et al. CD133<sup>+</sup> HCC cancer stem cells confer chemoresistance by preferential expression of the Akt/PKB survival pathway[J]. Oncogene, 2008, 27(12): 1749-1758.
- [15] Yasuda H, Tanaka K, Saigusa S, et al. Elevated CD133, but not VEGF or EGFR, as a predictive marker of distant recurrence after preoperative chemoradiotherapy in rectal cancer[J]. Oncol Rep, 2009, 22(4): 709-717.
- [16] Sinicrope FA, Mahoney MR, Smyrk TC, et al. Prognostic impact of deficient DNA mismatch repair in patients with stage III colon cancer from a randomized trial of FOLFOX-based adjuvant chemotherapy[J]. J Clin Oncol, 2013, 31(29): 3664-3672.
- [17] Sargent DJ, Marsoni S, Monges G, et al. Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer[J]. J Clin Oncol, 2010, 28(20): 3219-3226.

【收稿日期】 2016-10-28 【修回日期】 2017-01-09

【本文编辑】 李睿旻

(上接第 120 页)

- [10] Netzer N, Strohl K, Faulhaber M, et al. Hypoxia-related altitude illnesses[J]. J Travel Med, 2013, 20(4): 247-255.
- [11] Imray C, Wright A, Subudhi A, et al. Acute mountain sickness: pathophysiology, prevention, and treatment[J]. Prog Cardiovasc Dis, 2010, 52(6): 467-484.
- [12] Collier DJ, Wolff CB, Hedges AM, et al. Benzolamide improves oxygenation and reduces acute mountain sickness during a high-altitude trek and has fewer side effects than acetazolamide at sea level[J]. Pharmacol Res Perspect, 2016, 4(3): 1-12.

- [13] Mirtschink P, Krek W. Hypoxia-driven glycolytic and fructolytic metabolic programs: Pivotal to hypertrophic heart disease[J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 2(11): 1822-1828.

- [14] 马慧萍, 何蕾, 王昕, 等. 藏紫苑总黄酮对模拟高原缺氧小鼠的保护作用[J]. 解放军医药杂志, 2016, 28(6): 1-4.

- [15] 景临林, 马慧萍, 樊鹏程. 矮垂头菊乙醇提取物的体外自由基清除活性及其对高原缺氧小鼠的保护作用研究[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27: 1815-1820.

【收稿日期】 2016-11-14 【修回日期】 2016-12-07

【本文编辑】 李睿旻