

## 黄芪多糖对小鼠肝脾细胞核酸代谢的影响

王道苑 杨蔚怡 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

**提要** APS能使小鼠肝、脾细胞 RNA 含量增加, 而 $[^3\text{H}]$ UR 参入 RNA 的量显著地降低. 在体外实验中 APS (0.5, 1 mg/ml) 与脾细胞在培养液中共同培养, 对 $[^3\text{H}]$ UR 参入到 RNA 的量无下降趋势. 给小鼠 ip APS 对肝、脾亚细胞部份如: 核、浆、核糖体皆有抑制 $[^3\text{H}]$ UR 参入到 RNA 的作用. 由 APS 中分离到 APS 1 和 APS 2, 二者的作用与 APS 相似. 给小鼠 ip 3 种多糖皆能使肝、脾细胞中碱性 RNase 活力呈显著性下降, 导致组织中 RNA 含量累积, 从而 RNA 的合成代谢降低.

**关键词** 黄芪; 多糖;  $[^3\text{H}]$ 尿嘧啶核苷; 碱性核糖核酸酶

黄芪多糖 APS 系由 APS 1 和 APS 2 为主的混合体, 有关的化学和生物活性已有报道<sup>(1)</sup>. 我们曾观察到它对核酸代谢有显著的影响<sup>(2)</sup>. 本文从体内, 体外和亚细胞部位的角度来研究 APS 对 RNA 代谢及蛋白质代谢的影响.

### 实 验

**体内实验** C57-BL ♂ 小鼠, 体重 15-20

---

1981年1月2日收稿 1982年3月20日修回

Table 1. Effects of ip APS (qd×7 d) on RNA metabolism of spleen and liver of mice. Number of mice in parentheses.

Daily dose (mg/kg)	RNA (μg/mg wet tissue)		[ <sup>3</sup> H]UR (dpm·10 <sup>-3</sup> /mg RNA)	
	Spleen	Liver	Spleen	Liver
0	12.9±1.8	15.3±1.1	210±37	71±21
	(22)	(8)	(22)	(8)
200	15.2±2.6***	17.6±2.6**	39±12***	15±8***
	(25)	(7)	(25)	(7)

\* P>0.05, \*\* P<0.05, \*\*\* P<0.01. Same in the following tables.

g, ip APS 200 mg/kg (以下实验剂量皆同) qd×7 d, 停药次日 ip [<sup>3</sup>H]UR 20 μCi/鼠, 4 h 后解剖, 测定 RNA<sup>(3)</sup> 和比放射性, 由表 1 可见, 肝、脾组织中 RNA 含量显著增加, 而 [<sup>3</sup>H]UR 参入到 RNA 的比放射强度皆显著性下降。

**体外实验** 在无茵条件下取出小鼠的脾脏, 参考文献<sup>(4)</sup>的方法制备脾细胞并悬浮于 1640 培养液中。培养管中脾细胞数为 4-5×10<sup>6</sup>, APS 浓度为 0.5 和 1 mg/ml, 青霉素 100 U 和链霉素 100 μg 皆溶于 1640 中最终体积为 1 ml。将培养管置于含 5%CO<sub>2</sub> 空气中, 在 37℃ 培养 44 h, 然后每管加入 [<sup>3</sup>H]UR 1 μCi, 继续培养 2 h, 离心去上清液, 洗去脾细胞中游离的放射性, 测定 RNA 和比放射强度。APS 与等剂量的葡萄糖对照比较皆未观察到 [<sup>3</sup>H]UR 参入下降的趋势。

**体内体外结合实验** 2 组小鼠分别 ip APS 和葡萄糖 qd×2 d, 第 3 d 解剖取脾, 按前述体外实验条件与 [<sup>3</sup>H]UR 培养, 观察指标同上。共进行了 2 次实验, 样品数分别为 2 和 4, APS 能减少 [<sup>3</sup>H]UR 参入到 RNA 的量分别下降 58 和 52%。说明 APS 是通过体内代谢而起作用。

**对亚细胞部份的影响** 给对照组和 APS 组小鼠 ip 3 d, 第 5 d ip [<sup>3</sup>H]UR 20 μCi/鼠, 4 h 后给小鼠放血, 解剖, 取肝脏置于预冷 0.25 M 蔗糖 25 mM Tris 缓冲液 (pH 7.6) 中冲洗 1 次, 实验操作皆在冰浴中进行, 匀浆后分离细胞浆, 参考文献<sup>(5)</sup>的条件分离细胞核。核的分离要求核膜完整, 核内容物不能渗出, 而核外物洗脱净, 因此在磨匀浆过程中必须进行显微镜的检查, 同时每次测定核内 RNA/DNA 的比值以检查分离质量的好坏。肝细胞核的分离加入 Ca<sup>++</sup>。参考文献<sup>(6)</sup>分离核糖体。测定肝脏总匀浆、细胞浆、细胞核和核糖体中 [<sup>3</sup>H]UR 参入 RNA 的量与对照组比较分别下降 64, 67, 43, 57%。测定脾脏总匀浆、细胞浆、细胞核中比放射强度, 下降%分别为 70, 52, 40。

**APS 1 和 APS 2 的生物活性** APS 经化学分离得二个部分: APS 1 系由葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖所组成, 分子量 36300; APS 2 只有葡萄糖 1 种组分, 分子量 12300。二者皆使脾脏增大, 其强度以 APS 1 为大。测定肝、脾中的比放射强度 cpm/mg RNA, 由表 2 中可见肝、脾 RNA 中 [<sup>3</sup>H]UR 的参入三者皆有类似作用, 以 APS 2 的作用为强, 肝和脾的参入率分别降低了 63 和 80%。

观察 APS 1 和 APS 2 对蛋白质代谢影响, 给小鼠 ip APS 1 和 APS 2 100 mg/kg dq×7 d, 第 8 d ip [<sup>3</sup>H]Leu 10 μCi/鼠, 4 h 后解剖。测定蛋白质含量和比放射强度。蛋白质含量以 mg/g 湿重为单位, 比放射强度以 cpm/mg 蛋白质为单位, APS 1 和 APS 2 皆与葡萄糖对照比较, 对蛋白质代谢无明显影响。给小鼠 ip APS 200 mg/kg qd×3 d 第 4 d 解剖, 制备的脾细胞悬液与 [<sup>14</sup>C]Gly 1 μCi/ml 培养 2 h 所得的结果与对照组比较也无明显影响。

**对 RNase 活力的影响** 采用 ICR 小鼠, ♂ 性, 断奶后 1 周左右, 体重 14-18 g, ip 200 mg/kg qd×3 d, 第 4 d 解剖, 取脾和肝, 100 mg 用 0.25 M (pH 7.2) 蔗糖溶液制备成 10%

Table 2. Effects of APS 1 and APS 2 (ip 200 mg/kg qd × 7 d) on incorporation of [<sup>3</sup>H]UR into RNA of liver and spleen of mice

	[ <sup>3</sup> H]UR (cpm·10 <sup>-3</sup> /mg RNA)	
	Liver	Spleen
Glucose	9 ± 4 (7)	41 ± 26 (4)
APS	3.2 ± 0.9*** (7)	9 ± 5** (5)
APS 1	4.3 ± 1.6* (5)	23 ± 13* (5)
APS 2	3.1 ± 0.9*** (6)	8 ± 4** (5)

匀浆。参考文献<sup>(7)</sup>的方法测定 RNase 活力,反应管中加入 0.2 M Tris-HCl(pH 7.66) 缓冲液 0.35 ml, 测定样品 50 μl, 置于 37°C 水浴 10 min, 加入 RNA 100 μl(5 mg/ml), 温育 15 min 后立即置冰浴中, 加入等容量预冷的 12% HClO<sub>4</sub>, 于 4°C 离心, 取上清液 200 μl, 加水到 3 ml, 260 nm 测光密度(OD)。每个样品皆有空白对照管。酶的活力以 ΔOD<sub>260</sub>(测定管 OD 值 - 空白管 OD 值) / min/g 湿重表示。由表 3 可见 APS 和 APS 2 使脾脏 RNase 活力(ΔOD/min/g 湿重)由正常 23 ± (SD)4 分别降低到 10.5 ± 2.6 和 10.0 ± 2.8(P < 0.01); 肝脏 RNase 活力由 6.8 ± 2.6 降低到 4.4 ± 2.3(P = 0.1)和 3.6 ± 2.2(P < 0.05)。

Table 3. Effects of APS and APS 2 (ip 200 mg/kg × 3 d) on alkaline RNase activity (OD<sub>260</sub>/min/g wet wt) in mice.

	Liver	Spleen
Control	6.8 ± 2.6 (12)	23 ± 4 (12)
APS	4.4 ± 2.3* (5)	10.5 ± 2.6*** (6)
APS 2	3.6 ± 2.2** (4)	10.0 ± 2.8*** (5)

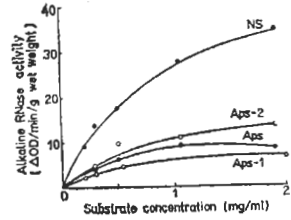


Fig 1. Inhibition of alkaline RNase in mice by *Astragalus polysaccharides* 200 mg/kg qd × 3 d, 5 mg wet sample/reaction.

测定不同底物浓度时酶反应的速度, 利用二者成曲线关系, 比较不同多糖组分对酶活力的影响。按上述条件分别给小鼠 ip APS, APS 1, APS 2 制备脾组织匀浆。测定酶活力。每管样品 50 μl, 底物(用 0.2 M Tris-HCl 溶解)浓度按等比级数选 4-5 管, 加 Tris-HCl 使最终容量为 0.5 ml。根据底物浓度的变化, 每个样品皆有空白对照管。以底物浓度作横座标, 酶活力为纵坐标, 见图 1。由脾脏 RNase 与底物反应图可见三个多糖皆有抑制 RNase 作用, 抑制程度 APS 1 > APS > APS 2。三个多糖组的脾重(mg/g 体重)分别为 11 ± 2, 9 ± 2 和 8 ± 1, 对照组为 6 ± 1。多糖引起脾重增加和对碱性 RNase 的抑制程度成正相关。

## 讨 论

脾细胞与 APS 体外培养时 [<sup>3</sup>H]UR 参入 RNA 的量无明显变化, 有两种可能性, 一是药物必须通过体内代谢方有作用, 另一可能性即培养方法是否适合脾细胞的生存, 根据本实验室观察其脾细胞成活率在 70% 以上, 药物的作用应能反应出来。体外无作用说明 APS 无直接作用的结果。体内给药后取脾细胞与 [<sup>3</sup>H]UR 培养仍得阳性结果, 进一步证明 APS 必须通过体内代谢环节。

APS 能引起脾脏增大, 细胞内粗面内质网增生, RNA 含量增加, 而 RNA 中前体的参入量降低, 这个现象在网状内皮系统皆存在, 虽然 RNA 含量增加, 转录作用并未增强, 同样也未使翻译作用加强, 有可能是 RNA 的分

解代谢降低所致. RNase 活力降低是可能因素之一, 已知碱性 RNase 主要作用于 r-RNA, 这与电镜下所观察到 APS 致粗面内质网增生的结果也相吻合. 多糖类对 RNA 代谢和 RNase 作用皆有类似之处, 具有普遍性意义. 在中医临床应用中认为黄芪对肾炎有明显疗效能使蛋白尿好转, APS 具有抑制 RNase 的功效有可能对肾炎具有治疗的功效, 因为在尿毒症患者血清中 RNase 活力显著上升<sup>(8)</sup>.

目前 RNase 活力指标尚未统一, 本实验采用  $\Delta OD/min/g$  湿重进行比较. 如以整个脏器为单位比较 RNase 活力时, 由于 APS 引起脾重增加, 脾细胞数相应地增多, 因此 RNase 活力/脾仍呈下降趋势. 肝重不受多糖的影响, 仍呈显著性降低.

**致谢** 高怡生教授指导, 孙玉昆付教授提供宝贵建议, 庞大伟同志给予技术协助.

*Acta Pharmacologica Sinica* 1982 Sep; 3 (3) : 204—207

## EFFECT OF *ASTRAGALUS* POLYSACCHARIDES ON RIBONUCLEIC ACID METABOLISM OF SPLEEN AND LIVER CELLS OF MICE

WANG Dao-Yuan, YANG Wei-yi

(Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

**ABSTRACT** *Astragalus* polysaccharides (APS) is a mixture of mainly 2 polysaccharides extracted from *Astragalus mongolicus*. APS 200 mg/kg ip to mice caused an increase of RNA in spleen and liver but a slowing of incorporation of [<sup>3</sup>H]UR into RNA. When splenic cells were incubated in the medium containing APS 0.5 or 1.0 mg/ml, no significant changes in the RNA metabolism were observed. APS inhibited the incorporation of

[<sup>3</sup>H]UR into the RNA of spleen or liver cell nuclei, plasma and liver ribosome.

It is concluded that the accumulation of RNA and the slowing of incorporation of [<sup>3</sup>H]UR into the RNA are due to a decrease in alkaline RNase activity. APS 2 is stronger than APS 1 on the effects of RNA metabolism.

**KEY WORDS** *Astragalus mongolicus*; polysaccharides; [<sup>3</sup>H]UR; alkaline RNase

### 参 考 文 献

- 1 中国科学院上海药物研究所, 上海第二医学院病理解剖教研组电镜室. 科学通报 1979 年 8 月 30 日; 24 (16):764
- 2 王道苑、杨蔚怡、翟世康、沈美玲. 生物化学与生物物理学报 1980 年 12 月; 12 (4):57
- 3 Volkin E, Cohn WE. Estimation of nucleic acids. In: Glick D, ed. *Methods of biochemical analysis*, vol 1. NY: Interscience, 1950:290
- 4 张宗梁、王珏、王球达、姚鑫. 实验生物学报 1979 年 3 月; 12 (1):13
- 5 Iijima M, Higashi T, Sanada S, Shoji J. *Chem Pharm Bull* 1976 Oct; 24 (10):2400
- 6 Eschenfeldt WH, Patterson RJ. *Prep Biochem* 1975; 5 (3):247
- 7 Drake WP, Kopyta LP, Levy CC, Mardiney MR. *Cancer Res* 1975 Feb; 35 (2):322
- 8 Reddi KK. *Clin Biochem* 1978; 11 (4):133