

牛蒡子苷对小鼠原代骨骼肌细胞磷酸二酯酶活性及细胞生长的影响

谷金妮, 陈武, 姜代勋, 于同泉, 路苹, 穆祥, 张冰, 刘婕

(兽医学(中医药)北京市重点实验室/北京农学院动物科学系/农业应用新技术北京市重点实验室, 北京 102206)

摘要: 【目的】以茶碱为参照, 观察中药成分牛蒡子苷对原代骨骼肌细胞磷酸二酯酶 (Phosphodiesterase, PDE) 活性及蛋白质合成的影响, 探讨中药通过抑制 PDE 促进肌肉生长的作用及机理。【方法】分离 1~3 日龄 ICR 小鼠四肢肌肉用于骨骼肌原代细胞培养, 在培养至第 5~6 天时向培养基中添加不同浓度的牛蒡子苷和茶碱, 以不含牛蒡子苷和茶碱的培养基为阴性对照, 继续培养 24 h, 采用 HPLC、ELISA 以及考马斯亮蓝法分别测定骨骼肌细胞 cAMP PDE 的活性、细胞内 cAMP 水平以及细胞总蛋白质合成。【结果】牛蒡子苷终浓度达到 $2.5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 、茶碱终浓度为 $20 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 时均能极显著抑制原代培养骨骼肌细胞 cAMP PDE 的活性 ($P < 0.01$), 显著提高细胞内 cAMP 水平 ($P < 0.05$), 极显著促进肌细胞总蛋白质的合成 ($P < 0.01$)。【结论】中药成分牛蒡子苷具有通过调节骨骼肌细胞内 PDE 的活性和 cAMP 水平, 增加肌细胞蛋白质合成, 促进骨骼肌细胞生长的作用。结果提示对 PDE 有抑制作用的中药有望成为促进动物生长的新型饲料添加剂。

关键词: 磷酸二酯酶; 环磷酸腺苷; 牛蒡子苷; 茶碱; 骨骼肌细胞

Effects of Arctiin on Phosphodiesterase Activity and Cell Growth in Mouse Primary Cultured Myocytes

GU Jin-ni, CHEN Wu, JIANG Dai-xun, YU Tong-quan, LU Ping, MU Xiang, ZHANG Bing, LIU Jie

(Beijing Key Laboratory of Veterinary Medicine (Traditional Chinese Medicine and Pharmacology)/Department of Animal Science and Technology /Key Laboratory of New Technology in Agriculture Application, Beijing College of Agriculture Beijing 102206)

Abstract: 【Objective】To understand the mechanism of Chinese herbs' medicinal effect on increasing growth of muscle by inhibiting phosphodiesterase (PDE), the effects of arctiin on PDE activity and protein synthesis of primary cultured myocytes was investigated using theophylline as reference. 【Method】Myoblasts were isolated from 1-3-day-old newborn ICR mice limbs for culture of primary skeletal muscle cells. The medium containing different concentration of arctiin and theophylline was added into cultured myocytes on the 5-6th day. After 24 hours' incubation, cyclic adenosine 3', 5'- monophosphate (cAMP) PDE activity, intracellular cAMP and cell total protein were assessed by HPLC, ELISA and Coomassie brilliant blue G-250-binding method, respectively. 【Result】cAMP PDE activity was significantly inhibited ($P < 0.01$), intracellular cAMP level ($P < 0.05$) and amount of cell total protein was markedly increased ($P < 0.01$) with arctiin and theophylline concentration of $2.5\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ and $20\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ respectively in medium. 【Conclusion】These results suggest that arctiin which is a main component of *Fructus Arctii* increase skeletal muscle growth by inhibiting the activity of myocytes PDE to regulate the intracellular cAMP level and enhance protein synthesis. In addition, Chinese herbal medicine which inhibits PDE may become a new type of agent for increase of animal growth rate.

Key words: Phosphodiesterase; Cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate; Arctiin; Theophylline; Myocytes

收稿日期: 2006-12-22; 接受日期: 2007-06-20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30270978), 北京市科技新星项目 (9558100500), 北京市教育委员会科技发展计划面上项目 (01KJ-081), 农业应用新技术北京市重点实验室资助

作者简介: 谷金妮 (1978-), 女, 北京人, 博士研究生, 研究方向为中西医结合基础研究。Tel: 010-80799434; E-mail: jinni_gu@hotmail.com。
通讯作者陈武 (1966-), 男, 陕西周至人, 教授, 博士, 研究方向为中西兽医结合基础与临床研究。Tel: 010-80799434; E-mail: tcvmchenwu@hotmail.com

0 引言

【研究意义】自磷酸二酯酶（phosphodiesterase, PDE）发现以来，PDE 抑制剂的选择与应用已被进行了深入的研究。在中药范围内筛选 PDE 抑制剂并将其用于动物生产中将是一个全新的尝试。【前人研究进展】环核苷酸（cAMP/cGMP）作为含氮激素第二信使，在哺乳类动物细胞的生长、分化和功能活动中具有至关重要的作用^[1,2]。细胞内环核苷酸的水平不仅受到其合成酶—核苷酸环化酶的调节，还受到其水解酶 PDE 的调节。研究发现，环核苷酸的水解速度是合成速度的 9~600 倍^[3]，说明 PDE 在调节其细胞内水平中具有关键性作用。研究表明，环磷酸腺苷（cAMP）通过介导细胞外活性物质如 β -肾上腺素受体激动剂，对骨骼肌的生长发育等生理过程具有调节作用，但 PDE 在骨骼肌组织及细胞中的功能研究报道较少。【本研究切入点】鉴于 PDE 对细胞内环核苷酸的关键性调节作用，筛选 cAMP PDE 抑制剂，提高骨骼肌细胞内环核苷酸水平，可能促进肌肉生长。【拟解决的关键问题】通过观察部分中药粗提物对 PDE 活性的影响，从中筛选出对骨骼肌 PDE 具有抑制作用的中药，检测其对原代培养骨骼肌细胞 cAMP PDE 的活性及细胞蛋白质合成的影响，以验证验证通过抑制 PDE 活性，升高 cAMP 水平，促进动物骨骼肌细胞生长的可行性，为新型中草药饲料添加剂的研究积累资料。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

Hank's 平衡盐缓冲液、胶原酶 II（Sigma），胰酶、DMEM 培养基、胎牛血清（Gibco），牛血清白蛋白（Amersco），cAMP 测定试剂盒（R&D Systems），牛蒡子苷（中国药品生物制品检定研究所），茶碱（Alexis）。

1.2 细胞培养

取 1~3 d 新生 ICR 小鼠，用 75% 酒精对体表进行充分消毒，脱颈处死后，剥皮取四肢肌肉，用 Hank's 平衡盐缓冲液清洗 3 次。剪碎肌组织后以 0.1%（w : v）胶原酶 II 和 0.2%（w : v）胰酶 37℃ 消化 30 min，加等量含 15% 胎牛血清（FCS）的 DMEM 培养基终止消化，1 000 r/min（200×g）离心 10 min，弃上清。加入含血清培养基，用 5 ml 移液管将细胞团块吹散，使细胞重新悬浮，用 100 μ m 尼龙网过滤细胞至 60 mm 培养皿中，37℃，含 5% CO₂ 饱和湿度二氧化碳培养

箱预培养 60 min。然后，对细胞进行计数，以 2~3.5×10⁵ 的细胞浓度接种到铺有 0.1%（w : v）明胶的 24 孔培养板中。培养 48 h 后，更换含 10% FCS 的 DMEM 培养基，第 4 天，为进一步促进肌细胞分化融合，更换为含 5% 胎牛血清的培养基。给药试验在第 5~6 天时进行。

1.3 分组给药

牛蒡子苷和茶碱用无血清 DMEM 培养基稀释、过滤除菌以备用。将 24 孔培养板的骨骼肌细胞分为 4 组，每组 6 孔作为重复，每组骨骼肌细胞分别加入终浓度为 4、2.5、1 μ g·ml⁻¹ 牛蒡子苷和终浓度为 30、20、10 μ g·ml⁻¹ 茶碱的培养基 1 ml，以不含牛蒡子苷和茶碱的基础培养基作为对照。继续培养 24 h，进行后续实验。

1.4 高效液相色谱法（HPLC）测定骨骼肌细胞 cAMP PDE 活性

吸去培养板中的培养基，用 4℃ 钙镁 PBS 清洗骨骼肌细胞 3 次，以尽量除去残余的培养基，但不把细胞洗掉。最后每孔加入 30 μ l 钙镁 PBS 置 -80℃ 冰箱反复冻融数次，至骨骼肌细胞裂解。吸取 10 μ l 细胞裂解液作为 PDE 酶样品，以浓度为 25 μ mol·L⁻¹ 的 cAMP 为底物，在 35℃ 振荡培养箱中以 60 r/min 反应 30 min，终止反应，沸水浴 3 min，使酶灭活。4℃ 15 000 r/min 离心 20 min，取上清，用纯水做 10 倍稀释，吸取 10 μ l 作为检测样品，测定 PDE 反应活性。

PDE 活性（%）=（空白管 cAMP 峰面积 - 对照管或给药管 cAMP 峰面积）/ 空白管 cAMP 峰面积 × 100

1.5 酶联免疫吸附法（ELISA）测定骨骼肌细胞内 cAMP

按照试剂盒（R&D Systems）的使用说明，用 4℃ PBS 对骨骼肌细胞进行洗涤，共 3 次。用细胞裂解液使细胞裂解，离心除去细胞碎片，取上清液做两倍稀释，用于检测骨骼肌细胞内 cAMP 的含量。

1.6 考马斯亮蓝法检测骨骼肌细胞总蛋白

去除培养基后，用室温 PBS 清洗细胞 3 次，加 0.5 ml 0.3 mmol·L⁻¹ NaOH 于培养板的各孔中，置 100℃ 水浴 5 min，使细胞裂解。取细胞裂解液 100 μ l 和 1.0 ml 新配制的考马斯亮蓝液混合，静置 10 min，在可见分光光度计上以考马斯亮蓝染液进行空白调零，595 nm 波长测吸光值，以牛血清白蛋白（1~60 μ g）作为标准品，根据标准曲线推算出样品中蛋白含量。

1.7 统计学分析

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示，统计学分析采用 T-test。

2 结果与分析

2.1 骨骼肌细胞原代培养

骨骼肌原代培养细胞在培养初期 (48 h) 处于细胞增殖阶段, 在这段时间里一部分细胞开始分化成梭形肌细胞, 并不断增长 (图 1)。当细胞达到一定数量时, 细胞不再增殖, 而是趋于分化。分化好的肌细胞之间发生接触并融合, 形成具有多个细胞核的肌管, 随着时间的推移, 肌管不断变长增粗 (5~6 d) (图 2)。形成肌管后的肌细胞具有类似于出生后骨骼肌组织的性质, 即细胞数量不再发生改变, 只是体积不断增大, 并具有“自主收缩”的能力 (7~8 d) (图 3)。

2.2 牛蒡子苷和茶碱对骨骼肌细胞内 cAMP PDE 活性的影响

结果见表 1。牛蒡子苷浓度为 $2.5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 、茶碱浓

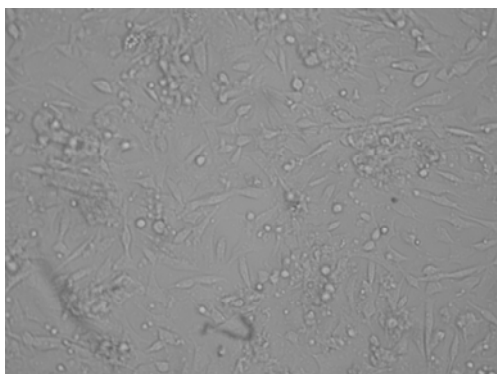


图 1 48 h 的原代培养骨骼肌细胞 (100×)

Fig. 1 Primary cultured myocytes after 48 h (100×)

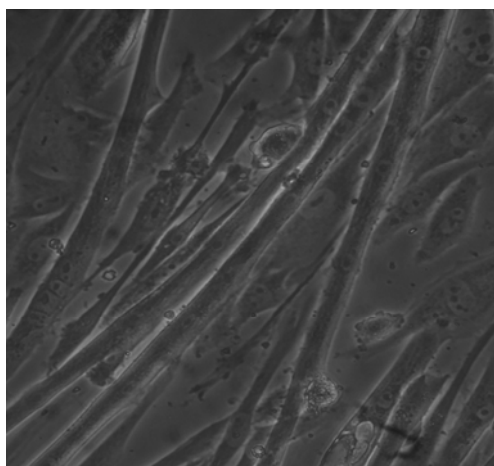


图 2 5~6 d 的原代培养骨骼肌细胞 (400×)

Fig. 2 Primary cultured myocytes after 5-6 d (400×)

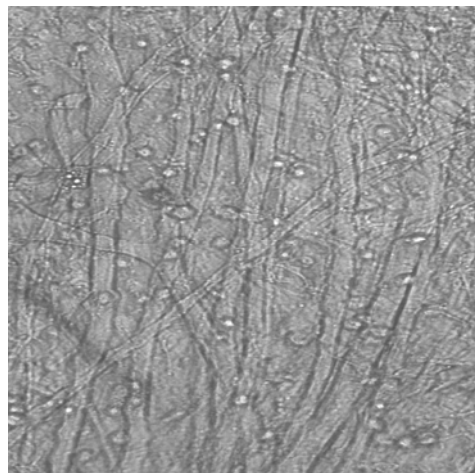


图 3 7~8 d 的原代培养骨骼肌细胞 (200×)

Fig. 3 Primary cultured myocytes after 7-8 d (200×)

度为 $20 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 时, 骨骼肌细胞内 cAMP PDE 活性极显著降低 ($P<0.01$); 牛蒡子苷浓度为 $1 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 时, 酶活性显著降低 ($P<0.05$); 牛蒡子苷浓度为 $4 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 、茶碱浓度分别为 30 、 $10 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 时, 酶活性虽有一定程度降低, 但差异不显著 ($P>0.05$)。

表 1 牛蒡子苷和茶碱对骨骼肌细胞 cAMP PDE 活性的影响

Table 1 Effects of arctiin and theophylline on activity of cAMP PDE in myocytes (n=6)

组别 Group	浓度 Concentration ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)	酶活性 Activity (%)
牛蒡子苷 Arctiin	对照 Control	47.54±10.69
	1	33.62±6.49a
	2.5	27.85±6.24b
	4	33.65±11.81
茶碱 Theophylline	对照 Control	41.36±9.34
	10	35.98±2.76
	20	24.85±4.34b
	30	32.61±3.39

试验组与对照组相比较, a: $P<0.05$, b: $P<0.01$ 。下同

Treatment group compared with the control. a: $P<0.05$, b: $P<0.01$. The same as below

2.3 牛蒡子苷和茶碱对骨骼肌细胞内 cAMP 含量的影响

结果见表 2。3 个浓度的牛蒡子苷和茶碱对骨骼肌细胞内 cAMP 的含量均具有提高作用, 牛蒡子苷浓度为 $2.5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 、茶碱浓度为 $20 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 时表现为显著性差异 ($P<0.05$); 另外, 在茶碱浓度为 $10 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 时,

差异极显著 ($P < 0.01$), 但增加幅度较浓度为 $20 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 时小。

表 2 牛蒡子苷和茶碱对骨骼肌细胞内 cAMP 含量的影响
Table 2 Effects of arctiin and theophylline on intracellular cAMP in myocytes (n=6)

组别 Group	浓度 Concentration ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)	cAMP ($\text{p mol}\cdot\text{ml}^{-1}$)
牛蒡子苷 Arctiin	对照 Control	7.26±1.58
	1	7.75±1.60
	2.5	9.48±1.07a
	4	8.64±0.76
茶碱 Theophylline	对照 Control	8.43±0.58
	10	9.68±0.36b
	20	10.87±1.36a
	30	9.31±0.75

2.4 牛蒡子苷和茶碱对骨骼肌细胞总蛋白合成的影响

结果见表 3。牛蒡子苷终浓度为 $2.5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 、茶碱终浓度为 $20 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 时, 骨骼肌细胞内总蛋白含量极显著增加 ($P < 0.01$); 牛蒡子苷终浓度为 4 和 $1 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 、茶碱终浓度为 30 和 $10 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 时, 总蛋白含量略有增加, 但差异不显著 ($P > 0.05$)。

表 3 牛蒡子苷和茶碱对骨骼肌细胞总蛋白合成的影响
Table 3 Effects of arctiin and theophylline on total protein synthesis in myocytes (n=6)

组别 Group	浓度 Concentration ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)	总蛋白含量 Total protein ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)
牛蒡子苷 Arctiin	对照 Control	25.84±2.82
	1	26.11±7.32
	2.5	34.20±3.00b
	4	26.88±6.92
茶碱 Theophylline	对照 Control	22.28±3.62
	10	26.30±5.33
	20	33.17±6.90b
	30	24.52±3.16

3 讨论

增加动物体重和肌肉的质量是提高动物生产性能的一个重要方面。骨骼肌的生长速度取决于骨骼肌细胞的数量、肌细胞蛋白质合成速度和降解速度。动物出生后肌细胞的数目不发生明显的改变^[4], 只是体积逐渐增大, 所以促进肌细胞蛋白质的合成和抑制蛋白

质的降解是提高骨骼肌的生长速度、增加肌肉重量的关键。骨骼肌细胞体外培养, 为研究外源性物质对动物肌肉促生长作用提供了有效而直观的方法。增加细胞内 cAMP 和 cGMP 的水平, 分别抑制和促进骨骼肌细胞内蛋白质的水解、丙氨酸和谷氨酰胺的生成和释放, 而丙氨酸和谷氨酰胺的生成和释放是蛋白质水解的标志^[5-10]。因此, 增加细胞内 cAMP 的含量, 能够促进细胞蛋白质的积累, 从而促进骨骼肌的生长。

自 PDE 在 1962 年被首次发现以来一直受到广泛的关注, 在生化药理学特性以及对抑制剂的敏感性等方面得到了深入的研究。根据 PDE 对底物的专一性, 可以把它们分为三大类, 即 cAMP 专一性 PDE, cGMP 专一性 PDE 和既水解 cAMP 又水解 cGMP 的 PDE。以 PDE 为靶点的 PDE 抑制剂作为药物在临床上的应用也取得了良好的治疗效果^[11]。

PDE 广泛存在于哺乳动物组织细胞中^[12-16]。在笔者以往的试验中发现多种 PDE 在骨骼肌组织和细胞中广泛分布^[17], 但在其基因表达水平上存在较大差异, 而且水解 cAMP 的 PDE 表达程度较高, 水解 cGMP 的 PDE 表达程度相对较低, 这个结果与 cAMP 主要分布于肌肉组织, 而 cGMP 在肌肉组织含量最少的结果吻合^[18]。由此可以看出, cAMP PDE 可能对骨骼肌的生长具有重要的调节作用。

牛蒡子苷是一种牛蒡子苷元木脂素, 在牛蒡子中含量丰富, 有研究表明其具有抗肿瘤促进^[19], 抗突变活性^[20], 肝保护^[21]和神经保护作用^[22], 还具有降低体外培养前列腺癌 PC-3 细胞数量的作用^[23]。在本试验中, 观察了不同浓度的牛蒡子苷和茶碱对原代培养骨骼肌细胞 cAMP PDE 活性、细胞内 cAMP 水平以及对蛋白质合成的影响。当牛蒡子苷浓度达到 $2.5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 时, 能够极显著抑制 cAMP PDE 的活性, 显著升高了细胞内 cAMP 的水平, 同时还极显著提高了细胞内总蛋白的含量。当浓度分别为 1 和 $4 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 时, 虽然未表现出显著差异, 但也能够在不同程度上抑制 cAMP PDE 活性, 提高 cAMP 水平, 促进蛋白质合成。有报道显示, 牛蒡子苷对 37°C 条件下培养的 pGL105/C3H 细胞具有促进蛋白质合成的作用^[24], 由此推测, 可能与其调节 pGL105/C3H 细胞 PDE 活性有关。

茶碱作为非选择性 PDE 抑制剂, 当其浓度达到 $20 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 时, 与牛蒡子苷浓度为 $2.5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 时具有相同的作用趋势。虽然茶碱浓度为 $10 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 时, 极显著地增加了骨骼肌细胞内 cAMP 的含量, 但增加幅度

不及 $20 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 。

以上结果说明,在一定程度上抑制 cAMP PDE 的活性,能够促进骨骼肌细胞蛋白质合成的增加,即能够促进骨骼肌细胞的生长。而且,中等浓度的中药成分牛蒡子苷抑制 PDE 活性和升高 cAMP 水平及增加蛋白合成作用最显著,说明以骨骼肌特异性 PDE 为靶点选择适当用量的 PDE 活性抑制剂,就有可能获取新型动物生长促进剂。

目前,通过抑制组织细胞中 PDE 活性或表达来治疗各种疾病的药物已经广泛用于临床,但主要以化学合成物为主,它们在治疗主要症状的同时也具有严重的副作用,如呕吐、恶心等,使之在临床中的应用受到限制,这就使得开发毒副作用小的新型 PDE 抑制剂具有更加深远的意义。

中药一直被视为安全、有效、毒副作用小的制剂,但常常因其成分复杂,作用机制不明确而受到化学合成药的排挤,得不到世界范围内的承认。本试验不仅证明了牛蒡子苷通过抑制骨骼肌细胞 PDE 活性而促进蛋白质合成的作用,同时从中药中筛选对 PDE 具有抑制作用的有效成分,扩大了 PDE 抑制剂选择的范围。

4 结论

牛蒡子苷通过抑制骨骼肌原代培养细胞 cAMP PDE 活性,提高细胞内 cAMP 水平,促进了肌细胞蛋白质的合成,因此,对骨骼肌 cAMP PDE 具有抑制作用的牛蒡子苷以及其它中药或有效成分有望作为新型动物生长促进剂应用于动物生产之中。

References

- [1] Dumont J E, Jauniaux J C, Roger P P. The cyclic AMP-mediated stimulation of cell proliferation. *Trends in Biochemical Sciences*, 1989, 14(2): 67-71.
- [2] Shaulsky G, Fuller D, Loomis W F A. cAMP- phosphodiesterase controls PKA-dependent differentiation. *Development*, 1998, 125: 691-699.
- [3] Richter W, Dettmer D, Glander H J. Detection of mRNA transcripts of cyclic nucleotide phosphodiesterase subtypes in ejaculated human spermatozoa. *Molecular Human Reproduction*, 1999, 6: 732-736.
- [4] Wigmore P M, Stickland N C. Muscle development in large and small pig fetuses. *Journal of Anatomy*, 1983, 137(Pt 2): 235-245.
- [5] Garber A J, Karl I E, Kipnis D M. Alanine and glutamine synthesis and release from skeletal muscle. IV. β -adrenergic inhibition of amino acid release. *The Journal of Biological Chemistry*, 1976, 251: 851-857.
- [6] Garber A J. The regulation of skeletal muscle alanine and glutamine formation and release in experimental chronic uremia in the rat: subsensitivity of adenylate cyclase and amino acid release to epinephrine and serotonin. *The Journal of Clinical Investigation*, 1978, 62: 633-641.
- [7] Garber A J. Inhibition of serotonin of amino acid release and protein degradation in skeletal muscle. *Molecular Pharmacology*, 1977, 13: 640-651.
- [8] Garber A J, Harari Y, Entman M L. Cholinergic stimulation of alanine and glutamine formation and release from skeletal muscle. *The Journal of Biological Chemistry*, 1978, 253: 7918-7923.
- [9] Garber A J, Entman M L, Birnbaumer L. Cholinergic stimulation of skeletal muscle alanine and glutamine formation and release. Evidence for mediation by a nicotinic cholinergic receptor and guanosine 3':5'-monophosphate. *The Journal of Biological Chemistry*, 1978, 253: 7924-7930.
- [10] Navegantes L C, Resano N M, Migliorini R H, Kettelhut I C. Role of adrenoceptors and cAMP on the catecholamine-induced inhibition of proteolysis in rat skeletal muscle. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism*, 2000, 279: 663-668.
- [11] Boswell-Smith V, Spina D, Page C P. Phosphodiesterase inhibitors. *British Journal of Pharmacology*, 2006, 147(Suppl 1): 252-257.
- [12] Beavo J A. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications of multiple isoforms. *Physiological Reviews*, 1995, 75: 725-748.
- [13] Fawcett L, Baxendale R, Stacey P, McGrouther C, Harrow I, Soderling S, Hetman J, Beavo J A, Phillips S C. Molecular cloning and characterization of a distinct human phosphodiesterase gene family: PDE11A. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 97: 3702-3707.
- [14] Hetman J M, Soderling S H, Glavas N A, Beavo J A. Cloning and characterization of PDE7B, a cAMP-specific phosphodiesterase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 97(1): 472-476.
- [15] Sasaki T, Kotera J, Yuasa K, Omori K. Identification of human PDE7B, a cAMP-specific phosphodiesterase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2000, 271: 575-583.
- [16] Soderling S H, Beavo J A. Regulation of cAMP and cGMP signaling: new phosphodiesterases and new functions. *Current Opinion in Cell Biology*, 2000, 12(2): 174-179.
- [17] 谷金妮, 许剑琴, 陈武, 于同泉. 磷酸二酯酶基因在小型猪骨骼

- 肌组织的表达. 畜牧兽医学报, 2005, 36: 434-439.
- Gu J N, Xu J Q, Chen W, Yu T Q. Expression of phosphodiesterase genes of skeletal muscle tissue in miniature pig. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2005, 36: 434-439. (in Chinese)
- [18] 管林森, 吕金印, 马志科. 内源性 CNT 在动物血液及组织中的变化与分布. 核农学报, 1999, 13: 343-346.
- Zan L S, Lü J Y, Ma Z K. Distribution of endogenous CNT in animal. *Journal of Nuclear Agricultural Science*, 1999, 13: 343-346. (in Chinese)
- [19] Hirose M, Yamaguchi T, Lin C, Kimoto N, Futakuchi M, Kono T, Nishibe S, Shirai T. Effects of arctiin on PhIP-induced mammary, colon and pancreatic carcinogenesis in female Sprague-Dawley rats and MeIQx-induced hepatocarcinogenesis in male F344 rats. *Cancer Letters*, 2000, 155(1): 79-88.
- [20] Takasaki M, Konoshima T, Komatsu K, Tokuda H, Nishino H. Anti-tumor-promoting activity of lignans from the aerial part of *Saussurea medusa*. *Cancer Letters*, 2000, 158(1): 53-59.
- [21] Lin S C, Lin C H, Lin C C, Lin Y H, Chen C F, Chen I C, Wang L Y. Hepatoprotective effects of *Arctium lappa* Linné on liver injuries induced by chronic ethanol consumption and potentiated by carbon tetrachloride. *Journal of Biomedical Science*, 2002, 9: 401-409.
- [22] Jang Y P, Kim S R, Kim Y C. Neuroprotective dibenzylbutyrolactone lignans of *Torreya nucifera*. *Planta Medica*, 2001, 67: 470-472.
- [23] Huang D M, Guh J H, Chueh S C, Teng C M. Modulation of anti-adhesion molecule MUC-1 is associated with arctiin-induced growth inhibition in PC-3 cells. *The Prostate*, 2004, 59: 260-267.
- [24] Ishihara K, Yamagishi N, Saito Y, Takasaki M, Konoshima T, Hatayama T. Arctigenin from *Fructus Arctii* is a novel suppressor of heat shock response in mammalian cells. *Cell Stress and Chaperones*, 2006, 11(2): 154-161.

(责任编辑 高 雨, 林鉴非)