

/ 巨噬细胞产生的多肽细胞因子,是诱导炎症瀑布反应的初始介质,而 TNF $\alpha$  生成后,其本身又可刺激单核/巨噬细胞生成一系列介质形成瀑布效应,TNF $\alpha$  发挥活性作用表现为对 LPS 的依赖或协同作用,是 LPS 血症和脓毒症中介导组织器官损害的主要介质之一,TNF $\alpha$  浓度的高低与脓毒症的严重性和后果一致。尽管 IL-6 在脓毒症中的作用不十分明确,但它与脓毒症的严重性和后果相比其细胞因子更为密切,IL-6 可做为炎症反应的一个标志,反映机体炎症反应的严重程度<sup>[3]</sup>。

PMB 是一种环形阳离子多肽,被认为是惟一具有抗 LPS 作用的抗生素,通过破坏细菌外膜磷脂、与 Lipid A 的 SO $_4^{2-}$  结合,发挥杀菌和中和 LPS 双重作用。Tsuzuki 等报道,PMB 的治疗作用可能与降低 TNF $\alpha$ 、IL-6 有关,TNF $\alpha$ 、IL-6 的降低,一方面是由于 PMB 对 LPS 的中和作用;另一方面也可能与其对 LPS 活化的 PBMC 信号转导通路 NF- $\kappa$ B 的下调有关,具体机制不清<sup>[4]</sup>。本实验研究结果显示,PMB 具有直接灭活 LPS 作用,IC $_{50}$  为 4.35  $\pm$  0.91  $\mu$ mol  $\cdot$  L $^{-1}$ ,显示了较强的中和 LPS 能力,RT-PCR 结果显示 PMB 能够显著的抑制 Toll $_4$ 、TNF $\alpha$ 、IL-6mRNA 的表

达。具体的机理可能是,一方面 PMB 对 LPS 的中和作用,降低了 LPS 对巨噬细胞的刺激水平,下调了 Toll $_4$ 、TNF $\alpha$ 、IL-6mRNA 的表达。另一方面,由于 Toll $_4$  受体的表达的下调,又进一步抑制了 TNF $\alpha$ 、IL-6mRNA 的表达。

#### 参考文献:

- [1] Hoshino K,Takeuchi O,Kawai T, *et al* . Cutting edge: Toll - like receptor 4 (TLR4) - deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the Lps gene product [J]. *J Immunol* , 1999 ,162 (7) :3749
- [2] O'Reilly M,Newcomb DE,Remick D, *et al* . Endotoxin sepsis ,and the primrose path[J]. *Shock* ,1999 ,12 (6) :411
- [3] Waage A,Brandtzaeg A,Halstensen P, *et al* . The complex pattern of cytokines in serum from patients with meningococcal septic shock; association between interleukin 6 ,interleukin 1 and fatal outcome [J]. *J Exp Med* ,1989 ,169 (1) :333
- [4] Tsuzuki H,Tani T,Ueyama H, *et al* . Lipopolysaccharide :Neutralization by polymyxin B shuts down the signaling pathway of nuclear factor  $\kappa$ B in peripheral blood mononuclear cell ,Even during activation [J]. *J Surg Res* ,2001 ,100 (1) :127

(收稿日期:2003 - 11 - 17;修回日期:2004 - 04 - 06)

(本文编辑 梁爱君)

文章编号:1008 - 9926(2004)03 - 0169 - 03 中图分类号:R931.5 文献标识码:A

## 六种金丝桃属植物叶中分泌结构的研究

赵晶,赵益斌,徐帆,李景秀,高玮

(中国人民解放军成都军区昆明总医院 云南 昆明 650032; 中科院昆明植物研究所 云南 昆明 650032)

**摘要:**目的 寻找金丝桃属中,草本植物含金丝桃素而木本不含的形态学及组织化学依据,为该属植物资源的开发利用提供依据。方法 对金丝桃属中 6 种植物叶片进行解剖学研究:观察透明材料,组织化学实验和观察石蜡切片。研究分泌结构在各种植物叶片中的分布和结构特征。结果 存在分泌细胞团和分泌囊(道)二类形态结构特点不同的分泌结构,草本植物中两者都有,而木本植物中只有分泌囊(道)。金丝桃素储存于分泌细胞团内。结论 金丝桃属中,只有草本植物含金丝桃素。**关键词:**黄花香;西南金丝桃;近无柄金丝桃;遍地金;地耳草;短柄小连翘;分泌结构;金丝桃素;金丝桃属

## Studies on Secretory Structures in Leaves of Six Species of *Hypericum*

ZHAO Jing ,ZHAO Yi-Bin ,XU Fan ,LI Jing-Xiu ,GAO Wei

( Kunming Military General Hospital ,Kunming 650032 ,Yunnan China)

( Kunming Institute of Academia Sinica ,Kunming 650032 ,Yunnan China)

**ABSTRACT:****Aim** To find the basis in morphology that herbs have hypericin while xylophyta have not hypericin in *Hypericum* L. ,and to provide the basis for developing plant resources in *Hypericum* . **Methods** Anatomical researches into the leaves of six species of *Hypericum* including transparent material ,tissue chemistry experiment and paraffin section

作者简介:赵晶(1952 - ),女,山西古县人,理学博士,副主任药师。研究方向:天然药物结构修饰及活性研究。Tel: (0871)4074773

to study the distribution and structure of secretory structures. **Results** There are secretory nodule and secretory cavity (canal), two secretory structures different in the character of morphology, in herbs, but there is only secretory cavity (canal) in xylophyta. Hypericin is stored in secretory nodule. **Conclusion** In *Hypericum*, only herbs have hypericin.

**KEY WORDS:** *Hypericum beanii*; *Hypericum henryi* subsp. *henryi*; *Hypericum subsessile*; *Hypericum wightianum*; *Hypericum japonicum*; *Hypericum petiolulatum* subsp. *Petiolum*; Secretory structures; Hypericin; St. - John's - wort

金丝桃属 (*Hypericum* L.) 植物我国有 55 种 8 亚种<sup>[1]</sup>, 其中的金丝桃素具有抗精神忧郁<sup>[2]</sup>, 抑制中枢神经, 增强免疫功能, 抗逆转录病毒, 抑制 HIV 活性和抗肿瘤等功能<sup>[3]</sup>。赵晶等曾系统研究过金丝桃素<sup>[4]</sup>, 并发现该属的草本植物中有金丝桃素, 而木本植物中无。为寻找形态学上的依据, 我们研究了六种金丝桃属植物叶中的分泌结构, 因为产生和储存金丝桃素的分泌结构主要存在于叶中<sup>[5,6]</sup>。曾报道金丝桃属中的密腺小连翘 *H. seniawinii* Maxim.<sup>[5]</sup>、贯叶连翘 *H. perforatum*<sup>[6]</sup> 和 *H. belearicum*<sup>[6]</sup> 的解剖研究, 但该属的其它种类, 仅见分类特征描述中简要提到, 未见分泌结构的报道。

## 1 材料和方法

**1.1 试验材料** 木本植物黄花香 *H. beanii*, 西南金丝桃 *H. henryi* subsp. *henryi*, 近无柄金丝桃 *H. subsessile* 和草本植物遍地金 *H. wightianum*, 地耳草 *H. japonicum*, 短柄小连翘 *H. petiolulatum* subsp. *petiolulatum* 共 6 个种的植株采自云南省丽江地区, 由中科院昆明植物研究所李景秀老师鉴定并移植栽于植物所的植物园中。

**1.2 仪器** BX51 OLYMPUS 显微镜 (日本 OLYMPUS 株式会社), LEICA RM 2015 轮转式切片机 (德国努斯洛赫显微系统有限公司)。

**1.3 透明材料的观察** 采摘植株中部无病斑的成熟叶片, 放入足量的 5% NaOH 水溶液中, 60℃ 温箱中透明 1.8h。蒸馏水泡 2h。显微镜观察并摄影。

**1.4 组织化学试验** 胡萝卜夹持新鲜叶片的徒手切片放入 50% 乙醇中 10s, 56℃ 5% NaOH 水溶液中 30min, 50% 乙醇中 30s, 蒸馏水洗 1min。显微镜观察并摄影。

**1.5 石蜡切片的观察** 叶片剪为 0.5~1cm 的小块, FAA 固定 2d, 取部分样品剪为 0.2~0.5cm 小块, 酒精系列脱水, 透明, 浸蜡 3d, 石蜡包埋, 切片厚度 6 $\mu$ m, 番红—固绿染色, 中性加拿大树胶封片。显微镜观察并摄影。

## 2 实验结果

观察 6 个种的叶片发现, 金丝桃属中草本植物有分泌囊、道和分泌细胞团, 而木本植物只有分泌囊、道。分泌囊在透明材料和切片中呈近圆形或圆形, 中央腔体由上皮细胞包围, 之外又有鞘细胞包围。分泌道在石蜡切片中呈透明的管道, 存在于叶脉的韧皮部内, 维管束的薄壁组织内。分泌细胞团为一团圆形的分泌细胞, 外有鞘细胞包围。在透明材料中分泌细胞团呈红黑色腺点, 组织化学实验中呈墨绿色, 而分泌囊在 NaOH 溶液中与在透明材料中相同。表明分泌细胞团中产生和储存金丝桃素类物质。各个种的分泌囊、道和分泌细胞团的分布和结构如下:

**2.1 遍地金 (草本)** 叶片内存在二类分泌结构 (图 1-6、7、12)。分泌囊在透明材料中呈透明的腺点, 散生于整个叶片, 分布密度为 13.8~16.8 个/ $\text{mm}^2$ , 直径为 37.5~150.0 $\mu$ m, 在石蜡切片中上皮细胞 8~12 个, 鞘细胞 0~2 层。分泌道在石蜡切片中直径为 8.8~15.0 $\mu$ m, 上皮细胞 3~5 个, 无鞘细胞。分泌细胞团在透明材料和组织化学实验中分布在叶缘的海绵组织内 (个别生于叶中部), 间距为 0.36~0.50mm, 直径为 62.5~100.0 $\mu$ m, 在石蜡切片中鞘细胞 1~2 层。

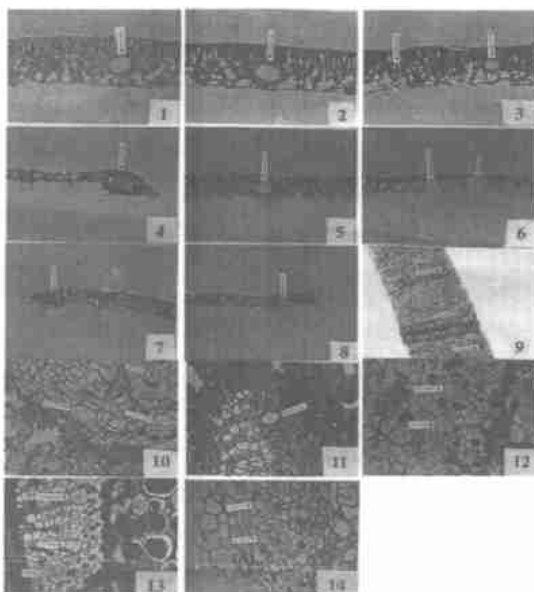
**2.2 近无柄金丝桃 (木本)** 叶片内只有分泌囊和分泌道。(图 1-3、13) 分泌囊在透明材料中呈黑色腺点, 散生于整个叶片, 分布密度为 18.6~24.0 个/ $\text{mm}^2$ , 直径为 25.0~75.0 $\mu$ m, 在石蜡切片中上皮细胞 7~16 个, 鞘细胞 1~2 层。分泌道在石蜡切片中直径 7.5~12.5 $\mu$ m, 上皮细胞 4~7 个, 无鞘细胞。

**2.3 黄花香 (木本)** 叶片内只有分泌囊和分泌道。(图 1-1、10) 分泌囊在透明材料中呈有黑圈的透明腺点, 很圆, 散生于整个叶片, 分布密度为 11.4~16.8 个/ $\text{mm}^2$ , 直径为 25.0~75.0 $\mu$ m, 在石蜡切片中上皮细胞 8~14 个, 鞘细胞 1~2 层。分泌道在石蜡切片中直径为 8.8~27.5 $\mu$ m, 上皮细胞 3~6 个, 无鞘细胞。

2.4 西南金丝桃(木本) 叶片内只有分泌囊和分泌道。(图 1-2、11)分泌囊在透明材料中呈有黑圈的透明腺点,很圆,散生于整个叶片,分布密度为 5.4~6.0 个/mm<sup>2</sup>,直径为 15.0~25.0μm,在石蜡切片中上皮细胞 7~12 个,鞘细胞 1~2 层。分泌道在石蜡切片中直径为 11.3~21.3μm,上皮细胞 4~6 个,无鞘细胞。

2.5 短柄小连翘(草本):叶片内存在二类分泌结构。(图 1-4、5、14)分泌囊在透明材料中呈透明的腺点,散生于整个叶片,分布密度为 2.6~6.1 个/mm<sup>2</sup>,直径为 56.3~119.0μm,在石蜡切片中上皮细胞 7~13 个,鞘细胞 1~2 层。分泌道在石蜡切片中直径为 6.3~15.0μm,上皮细胞 3~6 个,无鞘细胞。分泌细胞团在透明材料和组织化学实验中分布在叶缘的海绵组织内(个别生于叶中部),间距为 0.75~1.00mm,直径为 125.0~213.0μm,在石蜡切片中鞘细胞 1~2 层。

2.6 地耳草(草本) 叶片内存在二类分泌结构。(图 1-8、9)分泌囊在透明材料中呈有黑圈的透明腺点,很圆,散生于整个叶片,分布密度为 12.8~19.6 个/mm<sup>2</sup>,直径为 6.3~12.5μm,在石蜡切片中上皮细胞 7~15 个,鞘细胞 0~2 层。无分泌道。



1 黄花香的分泌囊 2 西南金丝桃的分泌囊 3 近无柄金丝桃的分泌囊 4 短柄小连翘的分泌细胞团 5 短柄小连翘的分泌囊 6 遍地金的分泌囊 7 遍地金的分泌细胞团 8 地耳草的分泌囊 9 地耳草的分泌细胞团 10 黄花香的分泌道 11 西南金丝桃的分泌道 12 遍地金的分泌道 13 近无柄金丝桃的分泌道 14 短柄小连翘的分泌道

图1 六种金丝桃属植物叶中的分泌结构

Fig 1 Secretory structures in leaves of six species of *Hypericum*

分泌细胞团在透明材料和组织化学实验中散生于整个叶片,分布密度为 4.2~6.0 个/mm<sup>2</sup>,直径为 6.3~43.8μm。

### 3 讨论

据观察,金丝桃属植物叶上的分泌结构分为分泌囊、道和分泌细胞团二类。据报道<sup>[7]</sup>,金丝桃素主要由分泌细胞团产生和储存。组织化学实验<sup>[8]</sup>也表明,分泌细胞团中储存萘并二萜酮类物质,与另一报道<sup>[5]</sup>一致。而本实验所研究的木本植物中未见分泌细胞团,草本植物中均有分泌细胞团,因此,木本植物中应无金丝桃素,草本植物中应有金丝桃素,这与赵晶等先前做的薄层层析实验结果一致。这样找到了后者的形态学上的依据,也给金丝桃属植物的分类学提供证据。

目前,金丝桃素的原料植物为贯叶连翘,对该属其它种类缺乏研究开发。本研究可为金丝桃属植物进一步开发利用金丝桃素的新资源提供一定的科学依据。

致谢:本研究在中国科学院昆明植物研究所生物多样性与生物地理学开放研究实验室完成,感谢中国科学院昆明植物研究所分类室梁汉兴、彭华、李璐、马海英课题组提供实验条件和必要的实验指导技术。

### 参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1990. 2~14
- [2] 刘一兵. 贯叶金丝桃研究进展 I—原植物、采收、制剂和化学成分[J]. 国外医药—植物药分册, 1998, 13(3): 99
- [3] 朱晓薇. 贯叶金丝桃研究进展 II—药代动力学、药效学和临床应用(续)[J]. 国外医药—植物药分册, 1998, 13(5): 210
- [4] 赵晶, 陈鸿珊, 张致平, 等. 金丝桃素与乙基金丝桃素的全合成及对人免疫缺陷病毒逆转录酶的抑制活性[J]. 药学学报, 1998, 33(1): 67
- [5] 吕洪飞, 刘文哲, 胡正海, 等. 密腺小连翘的分泌结构研究[J]. 中草药, 1999, 30(4): 290
- [6] Curtis JD, Lersten N. R. Internal secretory structure in *Hypericum* (Clusiaceae): *Hypericum perforatum* L. and *Hypericum balearicum* L.[J]. *New Phytol*, 1990, 114(4): 571
- [7] Cellarova E, Daxnerova. Z, kimakova. K, et al. The variability of the hypericin content in the regenerants of *Hypericum perforatum*[J]. *Acta Biotechnol.*, 1994, 14(3): 267
- [8] 肖崇厚, 陆蕴入, 凌罗庆, 等. 中药化学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997. 145~146

(收稿日期: 2002-09-03; 修回日期: 2002-11-18)

(本文编辑 梁爱君)