

修复前后 Vero 细胞调控草酸钙晶体生长的差异

姚秀琼 彭 花 谈 金 欧阳健明*

(暨南大学生物矿化与结石病防治研究所, 化学系, 广州 510632)

摘要: 采用扫描电子显微镜(SEM)和流式细胞仪等多种方法研究了降解大豆多糖(SPS)对损伤的非洲绿猴肾上皮细胞(Vero)的修复作用;研究了修复前后 Vero 调控草酸钙(CaOxa)晶体形成的差异。经 H_2O_2 氧化损伤的 Vero 在被 SPS 修复后,其细胞活力、细胞外 SOD 活性及细胞内线粒体膜电位均增加,细胞形态逐渐恢复到接近正常细胞。在诱导草酸钙(CaOxa)晶体生长过程中,修复细胞可以减少棱角尖锐的一水草酸钙(COM)晶体生成,诱导更多的二水草酸钙(COD)晶体。三种状态 Vero 诱导的晶体尺寸从小到大顺序为:正常细胞<修复细胞<损伤细胞。本文结果表明,降解大豆多糖可以修复受损伤的 Vero 细胞,降低肾结石形成的危险性,提示 SPS 有可能是一种潜在的绿色防石药物。

关键词: 草酸钙; 晶体生长; 大豆多糖; 细胞调控; 细胞修复

中图分类号: O614.23¹; R69 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-4861(2012)03-0459-06

Differences on Mediation of Calcium Oxalate Crystal Growth by Vero Cells before and after Repaired

YAO Xiu-Qiong PENG Hua TAN Jin OUYANG Jian-Ming*

(Institute of Biomaterialization and Lithiasis Research, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: The degraded soybean polysaccharides (SPS) were used to repair the injured African green monkey renal epithelial (Vero) cells, which were oxidatively injured by hydrogen peroxide (H_2O_2), by means of scanning electron microscopy (SEM) and flow cytometry etc. The differences on mediation of calcium oxalate (CaOxa) crystal growth by Vero cells before and after repaired were investigated. All the cellular viability, the activity of extracellular SOD and the intracellular mitochondrial membrane potential were increased after the repair by SPS to Vero cells. The morphology of injured Vero cells could be returned to plump state gradually after repaired. The repaired cells could reduce the formation of calcium oxalate monohydrate (COM) crystals with sharp edges and angles and increase the percentage of calcium oxalate dihydrate (COD) crystals. The size of the inductive CaOxa crystals by the three typological cells were as follows: normal cells < repaired cells < injured cells. The results in this study indicated that SPS could repair the injured Vero cells, thus reducing the risk of stone formation, and SPS may be a potential green anti-stone drug.

Key words: calcium oxalate; crystal growth; soybean polysaccharide; cell modulation; cell repair

0 引 言

肾结石的主要组分是草酸钙(CaOxa),至今对其预防尚无十分理想的方法^[1-2]。研究表明,体内 CaOxa

微晶通过肾脏的时间为 5~10 min,晶体通过的尿道管内径为 15~60 μm ,晶体自身在尿液中生长的速率为 1~2 $\mu\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$,因此,在通过肾脏的时间(5~10 min)内,晶体不会生长到足够大的尺寸以堵塞尿

收稿日期:2011-07-02。收修改稿日期:2011-09-03。

国家自然科学基金(No.20971057)资助项目。

*通讯联系人。E-mail: toyjm@jnu.edu.cn

路管道^[3]。微晶只有与受损伤的肾上皮细胞黏附后,才有可能在体内滞留、长大,最终形成结石。因为肾上皮细胞损伤后,在其表面表达透明质酸(HA)、骨桥蛋白(OPN)等带负电荷的分子,这些分子可以促进尿微晶的成核、聚集,特别是促进晶体粘附。即:细胞损伤是肾结石形成的重要条件之一。

然而,当受损伤的细胞被修复后,有可能减弱肾结石形成的危险性^[4]。细胞的修复包括自我修复和外源性修复。外源性的多糖分子可以对损伤细胞进行修复^[5]。多糖分子中含有-OH、-SO₃H和-COOH等负电荷基团,具有减少负电荷丢失、修复电荷屏障等功能。

至今为止,对损伤的肾上皮细胞的研究较多,而对损伤后肾上皮细胞的修复的研究很少。我们的前期研究^[6]发现,具有来源广、价格低廉和无副作用等优点的大豆多糖与尿液中的抑制剂葡胺聚糖(GAGs)结构类似;大豆多糖属于酸性多糖,含有由半乳糖醛酸组成的酸性糖主链和阿拉伯糖基组成的中性糖侧链;并且,大豆多糖具有良好的抗氧化能力,对CaOxa晶体的生长具有抑制作用。然而,天然的大豆多糖分子质量大,分子体积也大,使得其难以跨越多重细胞膜障碍进入生物体内发挥生物学活性,因此,其应用受到很大的限制。相比降解前的大豆多糖,降解后的小分子量大豆多糖(SPS)不但具有更好的水溶性、分散性和乳化性,而且可以跨越多重细胞膜障碍,因此,本文将降解SPS用于对受损伤的非洲绿猴肾上皮细胞(Vero)进行修复,并比较研究了3种不同状态的Vero:正常Vero、损伤Vero和修复后的Vero,在调控CaOxa晶体生长时的差异,期望为进一步探讨肾结石的形成机理、开发防石新药提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

非洲绿猴肾上皮细胞(Vero)(由暨南大学生物医药基地王一飞教授惠赠,购于中科院上海细胞库)。培养液DMEM-F12(Hyclone公司),新生小牛血清(Hyclone公司)。细胞增生分析试剂盒(CCK-8)(日本同仁化学研究所);超氧化物歧化酶试剂盒(南京建成生物工程研究所);96孔细胞培养板(Iwaki,日本)。

日产大豆多糖由暨南大学食品系傅亮教授提供,参照前文^[7]采用过氧化氢(H₂O₂)对其进行降解,降解多糖(SPS)的平均相对分子质量为10 200,羧基

含量约为11.8%,溶解度为40 g·L⁻¹。

X-L型环境扫描电子显微镜(ESEM, Philips);倒置荧光显微镜(IX51)(日本Olympus公司);酶标仪(SafireZ, Tecan, 瑞士);流式细胞仪(Becton Dickinson)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养、损伤和修复

参照文献^[1]在37℃、5% CO₂、饱和湿度的培养箱中进行。将细胞分3组:(1)对照组:只加入无血清培养液。(2)损伤组:加入1 mmol·L⁻¹ H₂O₂的无血清培养液,损伤1 h。(3)修复组:将上述损伤细胞加入不同浓度(0, 0.1, 1, 10 μg·mL⁻¹)的SPS溶液,以损伤1 h后为时间起点($t=0$),在 $t=2$ 时对细胞进行观察和各项指标检测。

1.2.2 细胞活力、超氧化物歧化酶(SOD)活性检测

细胞活力检测:采用CCK-8法在96孔板中进行。向每孔加入10 μL的CCK-8,于37℃下孵育4 h后,用酶标仪在450 nm处测量细胞的吸光值(A),

计算细胞活力(%). 细胞活力(%) = $\frac{A_{\text{损伤组}}}{A_{\text{对照组}}} \times 100\%$ 。

SOD活性检测:采用SOD试剂盒检测细胞中SOD活性。按细胞浓度为 1×10^5 cells·mL⁻¹、500 μL·hole⁻¹将细胞悬液接种于24孔培养板,使细胞同步化后,将细胞分为3组:对照组、损伤组和修复组。损伤或修复完成后,吸取上清液进行SOD测试,严格按照试剂盒说明书操作。

1.2.3 细胞线粒体膜电位测量

按细胞浓度为 2×10^5 cells·mL⁻¹、2 mL·hole⁻¹接种于6孔培养板,加入含10%新生牛血清的DMEM-F12培养液孵育24 h,使细胞汇合成单层,改用无血清DMEM-F12培养液孵育12 h,使细胞同步化。然后将细胞分3组:对照组、损伤组和修复组。达到孵育时间后,吸除上清液,PBS液洗涤2次,用0.25%胰酶消化后,加入含血清的培养液终止消化,吹打细胞,使细胞悬浮,然后离心5 min($1\,500$ r·min⁻¹),吸除上清液,用PBS洗涤一次,重新离心,得到细胞沉积物。再加入200 μL PBS溶液,吹打使之均匀重悬后,移入EP管中,样品用JC-1染料(5,5',6,6'-四氯-1,1',3,3'-四乙基苯并咪唑羧花青碘化物)染色后在流式细胞仪上测试,测试的细胞数量为10 000个。

JC-1是一种广泛用于检测线粒体膜电位的理想荧光探针。当线粒体膜电位较高时,JC-1聚集在线粒体的基质中,形成J-聚合物,产生橘红色荧光;

而当线粒体膜电位较低时,JC-1 为单体,此时产生绿色荧光。因此,常用红/绿荧光的相对比值(R/G 值)来衡量线粒体膜电位的变化。

1.2.4 细胞诱导草酸钙晶体生长实验

吸取细胞悬浮液接种于底部铺有盖玻片的 12 孔板中,细胞浓度为 $1 \times 10^5 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$,每孔 1 mL;孵育 24 h 后,细胞已基本铺满盖玻片。改用无血清 DMEM-F12 孵育 12 h,使细胞同步化。然后将细胞分 3 组:对照组、损伤组和修复组。损伤、修复完成后,吸除细胞上所有培养液,用 D-Hanks 液洗涤细胞 2 次。3 组细胞均加入含 $0.3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaOxa 的无血清培养液,在培养箱中分别孵育 6 h。取出盖玻片,用 D-Hanks 液洗涤细胞 2 次,加入 2.5% 戊二醛固定 24 h,再用 D-Hanks 液洗涤 3 次,梯度乙醇(30%、50%、70%、90%、100%)脱水,CO₂ 临界点干燥后喷金包被。在 SEM 下观察细胞形态和晶体生长情况。

1.3 统计学处理

实验获得的数据用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。实验结果采用 SPSS 13.0 软件统计分析,采用 Tukey 检验分析各实验组与对照组均数间的差异。 $P < 0.05$ 为有统计学意义,表示有显著性差异, $P < 0.01$ 表示有极显著性差异。 $P > 0.05$ 表示无显著性差异。

2 结果与讨论

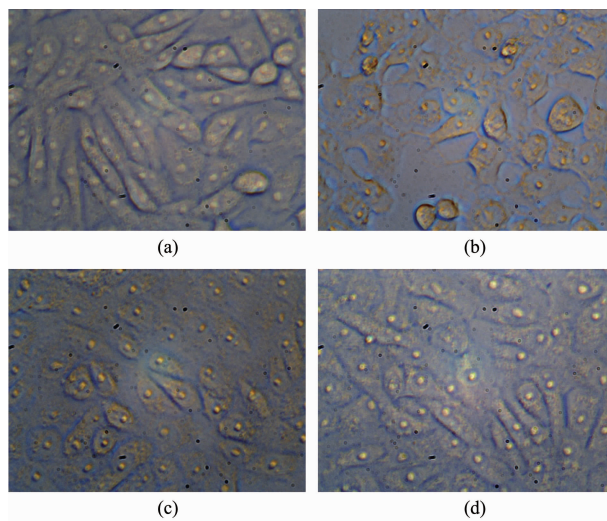
2.1 SPS 修复前后的 Vero 细胞形态变化

采用倒置显微镜(图 1)和 SEM 观察了不同状态 Vero 的形貌。结果如下:

(1) 正常细胞(图 1a):生长良好,大都为长条形,细胞间紧密连接,细胞表面较为平整光滑,形态饱满。

(2) 损伤细胞(图 1b):经 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 H₂O₂ 损伤 1 h 后的细胞失去了正常上皮细胞的长条形形态,细胞轮廓变圆;细胞间的紧密连接被打断,细胞核收缩变圆,细胞表面粗糙,细胞的鞭毛、纤毛和微绒毛断裂和脱落。

(3) 修复细胞:当用 $0.1 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 SPS 修复 2



(a) Normal group; (b) Injury group; (c) Repaired group I, $c_{\text{SPS}} = 0.1 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; (d) Repaired group II, $c_{\text{SPS}} = 10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; Vero damage conditions: $c_{\text{H}_2\text{O}_2} = 1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $t = 1 \text{ h}$; Repairing time: $t = 2 \text{ h}$

图 1 不同状态 Vero 细胞的相貌图

Fig.1 Micrograph of Vero cells in different states

h 后(图 1c),细胞间的间隙明显缩小,细胞的形态逐渐恢复正常,开始向长条形和长梭形变化,但细胞的轮廓不很清晰。说明浓度为 $0.1 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 SPS 对损伤 Vero 不能完全修复。

而用 $10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 SPS 修复 2 h 后(图 1d),细胞形态较为饱满,表面较为光滑平整,与正常 Vero 接近。这说明, $10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 SPS 对损伤 Vero 具有明显的修复作用。

2.2 SPS 修复前后 Vero 细胞活力的变化

采用 CCK-8 法检测 Vero 的活力,结果如表 1 所示。正常 Vero 的活力为 $(100 \pm 6.6)\%$;用浓度为 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 H₂O₂ 损伤 1 h 后,Vero 的活力下降至 $(68.1 \pm 5.1)\%$ ($P < 0.05$),说明 H₂O₂ 已经明显地损伤了 Vero 细胞。

损伤 Vero 经 SPS 修复后,其活力增加;且随着 SPS 浓度由 $0.1 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 增加到 1 、 $10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,Vero 的活力从 $(73.5 \pm 4.5)\%$ 上升到 $(78.1 \pm 5.5)\%$ 、 $(83.5 \pm 4.2)\%$ ($P < 0.05$),逐步接近正常 Vero 细胞的活力(表 1),说明 SPS 对 H₂O₂ 所致的 Vero 细胞增殖活性的

表 1 经不同浓度 SPS 修复 2 h 后损伤 Vero 的活力变化

Table 1 Cell viability changes of injured Vero cells after repaired by various concentration of SPS for 2 h

Vero cell state	Normal group	Injured group*	$c_{\text{SPS}} / \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ of repaired groups		
			0.1	1	10
Cell viability / %	100 ± 6.6	68.1 ± 5.1	73.5 ± 4.5	78.1 ± 5.5	83.5 ± 4.2

* Injury conditions: $c_{\text{H}_2\text{O}_2} = 1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $t = 1 \text{ h}$.

抑制具有良好的修复作用,并具有浓度依赖性。

SPS 能够增强损伤 Vero 细胞的活力,可能与其抗氧化和消炎作用有关:(1) 多糖可使细胞中的转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)降低到正常水平,从而促进细胞的迁移或扩展^[8]。因为 Vero 氧化损伤后,会表达大量的 TGF- β_1 因子,而 TGF- β_1 因子能够加速肾上皮细胞的死亡,并抑制细胞再生因子(EGF)的表达。(2) 多糖通过抑制细胞中活性氧的产生和胞浆磷脂酶 A₂ 的活性来增强膜的转运功能和提高细胞的活力^[9]。(3) 多糖可直接促进 EGF 的活性,从而使细胞增殖^[10],细胞的活力增加。

2.3 SPS 修复前后 Vero 细胞外超氧化物歧化酶(SOD)活性的变化

在正常生理情况下,生物体内的自由基不断地产生,也不断地被一些抗氧化剂所清除,使之维持在一个正常的生理水平,过多或过少的自由基都会给机体造成损伤。SOD 是一种主要的抗氧化酶,它可以把有害的超氧自由基转化为 H₂O₂,并及时修复受损细胞,而产生的 H₂O₂ 会被过氧化氢酶(CAT)分解为水。因此,生物体内 SOD 活性的降低意味着生物体抵抗自由基损伤的能力降低,反映机体受自由基损伤的程度增加。

Vero 经 H₂O₂ 损伤后,其 SOD 活性由对照组的 (11.2±0.3) U·mL⁻¹ 下降至 (8.1±0.3) U·mL⁻¹ (P<0.05) (图 2),表明细胞清除自由基的能力降低。

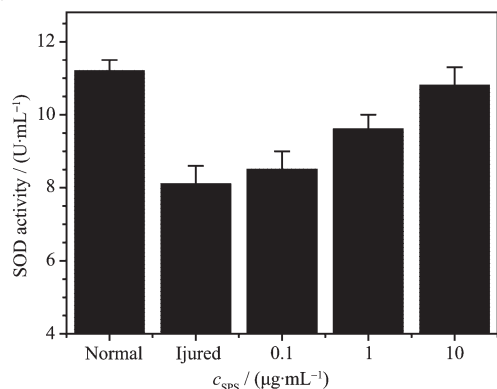


图 2 经不同浓度 SPS 修复 2 h 后损伤 Vero 的 SOD 活性变化

Fig.2 Change of SOD activity of injured Vero after repaired by various concentrations of SPS for 2 h

损伤 Vero 经不同浓度的 SPS 修复 2 h 后,随着 SPS 浓度从 0.1 μg·mL⁻¹ 增加至 1 和 10 μg·mL⁻¹,细胞中 SOD 活性从 (8.5±0.5) U·mL⁻¹ 分别增加至 (9.6±0.4) 和 (10.8±0.5) U·mL⁻¹ (P<0.05)。

SPS 增加细胞外 SOD 的活性归因于以下原因:

(1) SPS 为抗氧化剂,可以清除自由基、抑制细胞脂质过氧化作用和保护细胞膜结构,从而激活 SOD 的活性。(2) 由于 SOD 结构的中心域为 Cu、Zn 结合域,多糖可能增强了铜伴侣蛋白对 Cu 的分配和转运功能,激活 Cu 依赖性的酶的活性^[11]。同时,多糖通过调控细胞对 Zn 的摄取量来调节 SOD 的活性,对 Zn 的摄取量增加,SOD 活性就会增加^[12]。(3) 多糖可与 SOD 中的合成基因结合,从而激活其活性^[13-14]。

2.4 修复前后细胞线粒体膜电位的变化

线粒体膜电位的产生是因为:线粒体在呼吸氧化过程中,由于线粒体膜上钠-钾泵、钙泵等的存在,使线粒体内外维持着不同离子的浓度梯度,线粒体外部的阳离子浓度较高,其产生的能量以电化学能储存于线粒体内膜,称为线粒体膜电位。

采用不同浓度的 SPS 对损伤的 Vero 修复 2 h 后,其膜电位变化如图 3 所示。可以看出:

(1) Vero 受损伤后,绿色荧光增加,其 R/G 值由 0.39±0.03 下降到 0.33±0.04,说明线粒体膜电位降低。

(2) 对受损伤的 Vero 进行修复,随着修复物质 SPS 浓度的增大,R/G 值逐渐增加,表明线粒体膜电位逐渐上升。这说明 SPS 对经 H₂O₂ 损伤的 Vero 具有修复作用。实际上,随着 c_{SPS} 增加,Vero 的 SOD 活力增加后,SOD 能够保护线粒体膜的完整性。

SPS 对线粒体膜电位的改变可能是其激活了蛋白激酶 C 的活性,促进整合素和细胞外基质蛋白(胶原蛋白 IV)的表达,从而促进线粒体功能的恢复和钠离子通道活性,维持线粒体膜电位的稳定性^[15-16]。

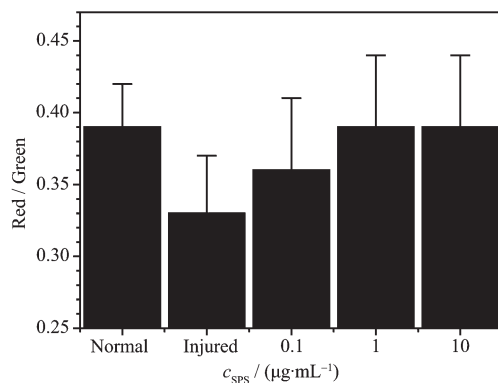


图 3 经不同浓度 SPS 修复 2 h 后损伤 Vero 的线粒体膜电位变化

Fig.3 Change of mitochondrial membrane potential of Vero after repaired by various concentrations of SPS for 2 h

2.5 修复前后 Vero 细胞对草酸钙晶体诱导的差异

图 4 为在 CaOxa 过饱和溶液中 3 种不同状态的 Vero 细胞诱导的 CaOxa 晶体的 SEM; 晶体的数量、尺寸和形貌比较如表 2 所示。可以看出:

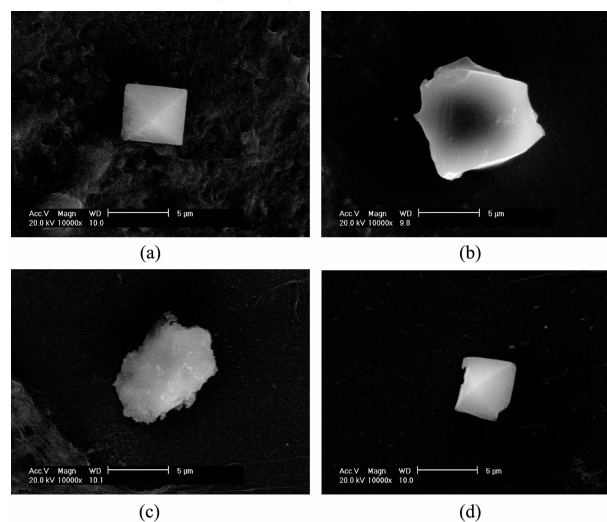
(1) 正常 Vero 诱导的 CaOxa 晶体不但尺寸最小(5 ± 2) μm , 数量最少(12 ± 3) mm^2 , 而且诱导了较大比例的四角双锥形 COD 晶体(图 4a)和棱角圆钝的一水草酸钙(COM)晶体。这说明, 正常 Vero 的表面具有抗晶体生长的功能, 归因于正常细胞膜外侧只存在中性磷脂, 其带负电荷的磷脂 [如磷脂酰丝氨酸(PS)]位于细胞膜的内侧, 此时, 细胞膜中的磷脂存在不对称性, 细胞具有极性, 不易吸引带正电荷的 Ca^{2+} , 因此, 正常 Vero 诱导生成的 CaOxa 晶体尺寸小、数量少。研究表明, 虽然肾结石的主要成分以 COM 为主, 但是, 正常人尿液中存在的无症状 CaOxa 微晶多为 COD 晶体^[17]; 由于 COM 与肾小管细胞表面有更强的结合力^[18], 因此, 选择性诱导 COD 晶体形成可以抑制在肾脏表面成 CaOxa 结石。

(2) 损伤 Vero 诱导的 CaOxa 晶体的尺寸最大(10 ± 6) μm , 数量最多(18 ± 4) mm^2 , 而 COD 晶体的比例却最少。当 Vero 受到氧化性损伤后, 细胞发生凋亡和坏死, 细胞活力大大降低(表 1), 标志着细胞抗氧化能力强弱的 SOD 活性也显著降低(图 2), 细胞的内部的线粒体受到破坏, 发生空泡化、微绒毛密度降低和絮状物质聚集等现象^[19], 从而使线粒体膜的通透性增加, 其膜电位降低; 此外, 细胞膜的表面微结构和极性也发生了显著改变, 如带负电荷的 PS 由细胞膜的内侧转移到外侧, 同时细胞表达了大量的能够吸引钙离子和草酸钙晶体的带负电荷的物质, 如透明质酸(HA)、胶原蛋白、骨桥蛋白(OPN)等, 这些负电荷的物质分布在细胞膜表面后, 成为吸附 Ca^{2+} 离子和带正电荷的 COM 微晶的位点, 从而促进 CaOxa 晶体形成^[20]。损伤 Vero 诱导的 CaOxa 晶体不仅棱角尖锐, 而且形状不规则(图 4b), 这种形貌的晶

体在体内会进一步造成肾上皮细胞的机械性损伤, 从而使细胞进一步表达晶体粘附分子, 增强细胞对晶体的诱导和粘附, 使得尿石形成的危险性增加。

(3) 对于修复后 Vero: 当用 $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 SPS 修复损伤的 Vero 细胞 2 h 后, 细胞活力增加(表 1), SOD 活性和线粒体膜电位也有所增加(图 2、图 3), 说明 $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 SPS 对损伤 Vero 有一定的修复作用, 使得 Vero 的抗晶体生长的功能逐步恢复, 因此, 其诱导的 CaOxa 晶体尺寸相比损伤组明显减小(6 ± 3) μm , 且晶体的棱角重新变得较为圆钝(图 4c)。

当 SPS 浓度增加到 $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 细胞活力, SOD 活性, 线粒体膜电位进一步增加至接近正常 Vero 的水平, 其抗晶体生长的功能也大大提高, 此时的修复 Vero 所诱导的 CaOxa 晶体特征(图 4d)与正常组 Vero 的类似, 不但晶体尺寸较小, 而且 COD 晶体的比例很大[(45 ± 10)%]



(a) Normal group; (b) Injured group; (c) Repaired group I: $c_{\text{SPS}}=0.1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; (d) Repaired group II: $c_{\text{SPS}}=10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; Repairing time: 2 h; Crystallization conditions: $c_{\text{CaOxa}}=0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$; $t=6 \text{ h}$

图 4 不同状态 Vero 诱导的 CaOxa 晶体的 SEM

Fig.4 SEM images of CaOxa crystals induced by Vero in different states

表 2 不同状态 Vero 诱导的 CaOxa 晶体的数量、尺寸和形貌比较

Table 2 Comparison of number and size of CaOxa crystals induced by Vero cells in different states

Vero cell state	Normal group	Injured group	Repaired group I $c_{\text{SPS}}=0.1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	Repaired group II $c_{\text{SPS}}=10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
Crystal size / μm	5 ± 2	10 ± 6	6 ± 3	5 ± 3
Crystal number / mm^2	12 ± 3	18 ± 4	17 ± 3	13 ± 3
COD percentage in crystals / %	52 ± 10	20 ± 10	30 ± 10	45 ± 10
Crystal morphology	Blunt, regular	Sharp, irregular	A little blunt, irregular	Blunt, irregular

总之, 从不同状态 Vero 细胞诱导的 CaOxa 晶体的形状来看, 那些形状不规则, 棱角尖锐的 COM 晶体更容易与细胞发生粘附, 对细胞产生更大的危害, 从而进一步地损伤细胞。而那些尺寸较小、棱角比较圆钝的 COM 晶体或者表面电荷较少的 COD 晶体, 则不易与细胞发生粘附, 且对细胞损伤较小^[2]。因此将损伤 Vero 经 SPS 修复后, 其诱导 CaOxa 晶体的能力和方式与正常 Vero 的接近, 说明了 SPS 对损伤 Vero 具有修复作用, 修复后的细胞可以减缓 CaOxa 晶体的生长。

3 结 论

降解大豆多糖(SPS)对经 H₂O₂ 损伤的 Vero 细胞具有明显的修复作用。修复后的细胞活力和细胞外 SOD 活性均增加, 并提高了线粒体的膜电位。修复细胞的形貌和调控 CaOxa 晶体形成的能力处在正常细胞与损伤细胞之间, 但接近正常细胞。这说明, 肾上皮细胞修复后可以减少肾结石形成的危险性, SPS 有可能是一种潜在的绿色防石药物。

参考文献:

- [1] Ouyang J M, Yao X Q, Tan J, et al. *J. Biol. Inorg. Chem.*, **2011**, **16**(3):405-416
- [2] Chutipongtanate S, Thongboonkerd V. *Chem. Biol. Int.*, **2010**, **188**:421-426
- [3] Tsujihata M. *Int. J. Urol.*, **2008**, **15**:115-120
- [4] Gonzalez J E, DiGeronimo R J, Arthur D'Ann E, et al. *Free Radical Biol. Med.*, **2009**, **47**:1561-1569
- [5] Chen W Y, Yang W B, Wong C H, et al. *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, **18**:8583-8591
- [6] LU Peng(鲁鹏), HOU Shan-Hua(侯善华), OUYANG Jian-Ming(欧阳健明). *Chinese J. Inorg. Chem. (Wuji Huaxue Xuebao)*, **2010**, **26**(1):17-24
- [7] Ouyang J M, Wang M, Lu P, et al. *Mater. Sci. Eng. C*, **2010**, **30**:1022-1029
- [8] Nowak G, Schnellmann R G. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **1997**, **145**:175-183
- [9] Lee S J, Kwon C H, Kim Y K. *J. Physiol. Pharmacol.*, **2009**, **13**:15-22
- [10] Takemura T, Hino S, Okada M, et al. *Kidney Int.*, **2002**, **61**:1968-1979
- [11] Prohaska J R, Gybina A A. *J. Nutrition*, **2004**, **134**(5):1003-1006
- [12] Paik H Y, Joung H, Lee J Y, et al. *Biol. Trace Elem. Res.*, **1999**, **69**(1):45-57
- [13] Tasaki H, Yamashita K, Tsutsui M, et al. *Atherosclerosis*, **2006**, **187**(1):131-138
- [14] Adachi T, Hara H, Yamada H, et al. *Atherosclerosis*, **2001**, **159**(2):307-312
- [15] Gunter T E, Sheu S S. *Biochim. Biophys. Acta*, **2009**, **1787**:1291-1308
- [16] Nony P A, Schnellmann R G. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **2003**, **304**(3):905-912
- [17] Wang T T, Thurgood L A, Grover P K, et al. *BJU Int.*, **2010**, **106**(11):1768-1774
- [18] Mandel N. *J. Am. Soc. Nephrol* 5 (Suppl 1), **1994**:S37-S45
- [19] Hirose M, Tozawa K, Okada A, et al. *Urol Res.*, **2008**, **36**:139-147
- [20] OUYANG Jian-Ming(欧阳健明), YANG Ru-E(杨如娥), TAN Jin(谈金). *Prog. Chem. (Huaxue Jinzhan)*, **2010**, **22**(8):1665-1671
- [21] Lieske J C, Toback F G, Deganello S. *Kidney Int.*, **1998**, **54**:796-803