

白藜芦醇抑制 A172 脑胶质瘤细胞生长的研究

刘宏胜, 戚爱棣

天津中医药大学 中药学院, 天津 300192

摘要 目的: 研究白藜芦醇对 A172 脑胶质瘤细胞的生长抑制作用。方法: 将 A172 细胞接种于 96 孔板上, 每孔加入不同浓度的白藜芦醇, 放入 CO₂ 培养箱 (37 °C), 培养 24 h、48 h 和 72 h, 用 MTT (噻唑蓝) 检测细胞的增殖活性。结果: 白藜芦醇对 A172 脑胶质瘤细胞生长有抑制作用, 且呈时间与剂量依赖性。结论: 白藜芦醇对脑胶质瘤细胞的生长具有抑制作用, 为临床进一步探讨脑胶质瘤的发病机制及应用中医药治疗脑胶质瘤提供了依据。

关键词 A172; 脑胶质瘤细胞; 白藜芦醇

中图分类号: R739.41 R979.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2009)02-0121-02

白藜芦醇是近年来发现的具有预防肿瘤发生作用的天然植物成分, 它广泛存在于自然界中, 如虎杖、藜芦、葡萄中都含有此成分。据有关报道^[1-2], 藜芦醇对人体具有调节脂质代谢、抑制血小板聚集、保护心血管、抗炎、抗肿瘤等多种生物学活性和药理作用, 具有很大的药用价值。

目前的研究表明^[3-4], 白藜芦醇对鼠肝细胞癌、人肝母细胞癌、乳腺癌等多种肿瘤细胞均有显著抑制作用。但白藜芦醇对脑胶质瘤的研究作用国内还少见报道。本实验将就白藜芦醇对 A172 脑胶质瘤细胞的生长抑制、杀伤作用做初步的研究。

1 材料与方法

1.1 材料

白藜芦醇 (resveratrol, Res), 购自中国药品生物制品检定所, 批号: 11535-200801, 质量分数 100%。二甲基亚砜 (DMSO, Sigma 公司产品), 无水乙醇, 含 10% 小牛血清 DMEM 培养液 (圣东生物科技发展有限公司), 0.25% 胰酶-0.02% 乙二胺四乙酸二钠 (EDTA), MTT (噻唑蓝, Sigma 公司产品), 青霉素, 链霉素, 96 孔培养板 (Sigma 公司产品), Boitek 酶标仪 (基因有限公司), AE2405 电子分析天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司), RC03000TVBB CO₂ 培养箱 (美国 Revco) 及 DJ-CJ-2N 型净化工作台等。

1.2 细胞来源

A172 脑胶质瘤细胞购自天津赛尔生物技术有限公司。该细胞经一系列体外和体内培养传代生长稳定。

1.3 细胞培养

A172 细胞于含 10% 小牛血清的 DMEM 培养液中 (含青霉素 100 U/mL、链霉素 100 μg/mL), 放入 CO₂ 培养箱 (37 °C) 培养, 隔日用 0.25% 胰酶-0.02% EDTA 消化传代。

1.4 白藜芦醇对细胞生长的抑制作用

分别取对数生长期细胞, 用胰酶-EDTA 消化并计数, A172 细胞按 2×10^5 将 90 μL 的细胞混悬液分别接种于 96 孔培养板的各孔中。24 h 后, 待细胞融合达 75% 左右时, 分别加入不同浓度的白藜芦醇 (白藜芦醇先用无水乙醇溶解再用 DMEM 培养液稀释成不同浓度), 使含 A172 细胞溶液的终浓度分别为 44、88、176 μmol/L。每孔分别加入 10 μL 白藜芦醇, 每个浓度设 3 个复孔。对照组加 DMEM 培养液 (含醇量与实验组等量), 置 CO₂ 培养箱 (37 °C) 培养 24 h、48 h 和 72 h 后, 加入 MTT (临用前用 PBS 溶解, pH7.4, 浓度为 5 g/L) 振荡均匀, 置 37 °C 培养箱培养 4 h 后, 弃去液体每孔加入 100 μL DMSO, 室温振荡 10 min, 用 Biotek 酶标仪在 492 nm 处测吸光度 (*A*) 值, 作为反应细胞代谢状况的参数。

1.5 统计学方法 采用 SPSS10.0 进行方差分析。

2 结果

2.1 白藜芦醇对 A172 细胞的作用

结果见表 1, 随着白藜芦醇浓度的增加、作用时间的延长, 细胞的 *A* 值在减少, 即细胞生长的抑制程度与剂量、时间呈依赖性。

收稿日期: 2009-08-12

基金项目: 高等学校博士学科点专项科研基金, 20070063003。

作者简介: 刘宏胜 (1966—), 副主任药师, 主要从事有关中药肿瘤分子生物学研究。E-mail: lhwmg@sina.com

表 1 白藜芦醇对 A172 脑胶质瘤细胞的作用 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 1 Effect of Res. on A172 glioma cell ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	浓度/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	A		
		24 h	48 h	72 h
白藜芦醇	44	0.1959 $\pm$ 0.0148*	0.1866 $\pm$ 0.0351*	0.1732 $\pm$ 0.0668*
	88	0.1886 $\pm$ 0.0220*	0.1786 $\pm$ 0.0430*	0.1656 $\pm$ 0.0743*
	176	0.1805 $\pm$ 0.0301*	0.1648 $\pm$ 0.0538*	0.1572 $\pm$ 0.0826*
对照组	—	0.2098 $\pm$ 0.0623	0.2208 $\pm$ 0.0516	0.2391 $\pm$ 0.0513

与对照组比较: * $P<0.01$
* $P<0.01$ vs control group

2.2 白藜芦醇与 A172 脑胶质瘤细胞生长率的关系
随着药物浓度的增加,作用时间的延长,A172 的存活率呈下降趋势。且与时间、剂量呈依赖性。

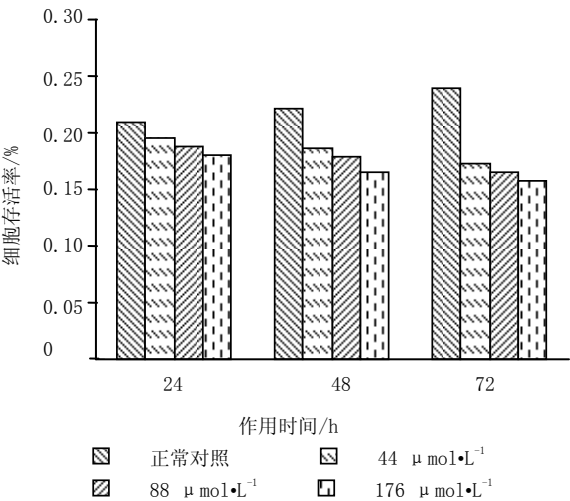


图 1 白藜芦醇对 A172 脑胶质瘤细胞生长的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Fig.1 Inhibition of Res. on growth of A172 glioma cell ($\bar{x} \pm s, n=3$)

3 讨论

脑胶质瘤病是一种常见的中枢神经系统性病
变,其发病率极高,属于神经外科难治性疾病之一。
近 30 年来,恶性胶质细胞瘤的治疗效果未能得到明
显改善,其传统的治疗方式(手术治疗、化学疗法、
放射疗法)疗效很不理想。因此,开发研制治疗脑
胶质瘤新药、新方法、新途径具有十分重要的临床
意义。
白藜芦醇广泛地存在于药、食两用植物中。白
藜芦醇是植物在遇到真菌感染、紫外线照射不利条
件时所产生的植物补体,对植物本身起保护作用。

同时对人体也具有调节脂质代谢、抑制血小板聚集
保护心血管、抗炎、抗肿瘤等多种生物活性和药理
作用,具有很大的药用价值^[5]。

本实验通过体外研究白藜芦醇对大鼠 A172 胶
质瘤细胞的抑制作用,揭示白藜芦醇对 A172 胶质瘤
细胞具有抑制、杀伤作用,并呈时间-剂量依赖性。
本实验只是初步研究,白藜芦醇对 A172 脑胶质瘤的
作用机制还有待进一步研究。

参考文献:

[1] Wolter F, Koglu B, Lausniter A, *et al.* Downregulation of the cyclin DI/Cdk4 complex occurs during resveratrol induced cell cycle arrest in colon cancer cell lines[J]. *J Nutr*, 2001, 131(8): 2197-2203.

[2] Tinhofer I, Bernhard D, Senfter M, *et al.* Resveratrol, a tumorsuppressive compound from grapes, induces apoptosis via a novel mitochondrial pathway controlled by Bcl-2[J]. *FASEB J*, 2001, 15(9):1613-1615.

[3] Kozuki Y, Miura Y, Yagasaki. Resveratrol suppresses hepatoma cell invasion independently of its anti-proliferative action [J]. *Cancer lett*, 2001, 167(2):51-156.

[4] Ahmad N, Adhami V M, Afaq F, *et al.* Resveratrol causes WAF-1/P21-mediated G(1)-phase arrest of cell cycle and induction of apoptosis in human epidermoid carcinoma A431 cell [J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(5):1466-1473.

[5] 王广秀, 浦佩玉, 康春生, 等. 白藜芦醇对 U251 人胶质瘤细胞抑制生长作用的研究. *中华实验外科杂志*, 2006, 23(3): 376.