

白藜芦醇抑制 C6 及 TJ905 胶质瘤细胞生长的研究

刘宏胜¹, 刘洪利², 王金环¹, 徐新女¹, 祁建滨¹

(1. 天津市第一中心医院, 天津 300192; 2. 天津市药科中等专业学校, 天津 300400)

白藜芦醇是近年来发现的具有预防肿瘤发生的天然植物成分^[1,2], 属于非黄酮类多酚化合物, 广泛存在于种子植物中, 并以新鲜葡萄皮中所含的量为最高 (50~100 $\mu\text{g/g}$), 而在红葡萄酒中也可高达 1.5~3 mg/L。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、抗肿瘤等多种生物学活性和药理作用, 具有很大的药用价值。目前的研究表明, 白藜芦醇对鼠肝细胞瘤、人肝母细胞、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作用的研究国内还未见报道。本实验初步研究白藜芦醇对大鼠 C6 及人脑 TJ905 胶质瘤细胞的生长抑制和杀伤作用。

1 材料与方法

1.1 药品、试剂与仪器: 白藜芦醇购自中国药品生物制品检定所, 批号 11535-200301, 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 1640 培养液、含 10% 小牛血清 DMEM 培养液 (圣东生物科技发展公司); 0.25% 胰酶-0.02% 乙二胺四乙酸二钠 (EDTA)、MTT、青霉素、链霉素、96 孔培养板 (Sigma 公司产品); Clinio Bio128 酶标仪、REVCOLind Berg28804 CO₂ 培养箱等。

1.2 细胞来源: TJ905 属于多形性胶质瘤母细胞瘤体外细胞系, 由天津医科大学总医院建系。C6 细胞是经 *N*-亚硝基甲脲诱发的大鼠胶质瘤细胞, 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: C6 细胞接种于含 10% 小牛血清的 1640 培养液 (含青霉素 100 U/mL、链霉素 100 $\mu\text{g/mL}$); TJ905 细胞接种于含 10% 小牛血清的 DMEM 培养液中 (含青霉素 100 U/mL、链霉素 100 $\mu\text{g/mL}$), 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, C6 按 $1 \times 10^5/\text{mL}$ 、TJ905 按 $2 \times 10^5/\text{mL}$ 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 70% 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 1640 和 DMEM 培养液稀释成不同浓度), 终浓度为 500、250、125、62.5、31.25 $\mu\text{mol/L}$ 。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 1640 或 DMEM 培养液 (含醇量与实验组相等), 置 CO₂ 培养箱 (37 °C) 培养 24、48 和 72 h 后, 加入 MTT (临用前用 PBS 溶解, pH 7.4, 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 Clinio Bio128 酶标仪于 492 nm 波长处测吸光度 (*A*) 值, 作为反映细胞代谢状况的参数。

1.5 统计学方法: 采用 SPSS10.0 统计软件进行方差分析。

2 结果

2.1 白藜芦醇对 C6 和 TJ905 细胞的生长抑制作用: 结果见表 1。可见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, 即对细胞生长的抑制程度与剂量、时间呈依赖性。

2.2 白藜芦醇作用浓度、时间与 C6、TJ905 脑胶质瘤细胞存活率的关系: 见图 1。随着药物浓度的增加、作用时间的延长, 细胞的存活率呈下降趋势。

3 讨论

胶质瘤是常见的原发性颅内肿瘤, 其中恶性胶质瘤约占 60%。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。文献报道, 近 90% 恶性胶质瘤患者的平均生存时间在 1.5 年以内, 是神经外科中难治性疾病之一。近年来, 恶性胶质瘤的治疗效果未能得到明显改善。因此, 开发或研制治疗脑胶质瘤新药、新方法、新途径至关重要。

Jang 等研究结果指出白藜芦醇具有抗癌作用。它可以降低小鼠皮肤癌的发生率达 98%。白藜芦醇

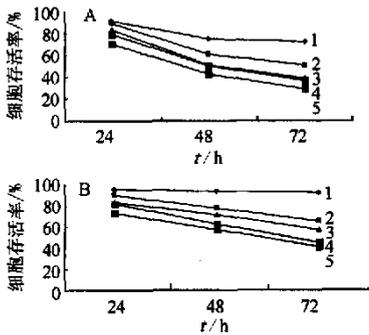
表 1 白藜芦醇对大鼠 C6 和人脑 TJ905 胶质瘤细胞的作用 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Effect of resveratrol on C6 and TJ905 glioma cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	浓度/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	C6 细胞 A_{492}			TJ905 细胞 A_{492}		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
对照	—	0.260 0 ± 0.007 2	0.406 0 ± 0.008 5	0.519 3 ± 0.096 5	0.226 0 ± 0.007 5	0.247 7 ± 0.021 0	0.278 7 ± 0.014 7
白藜芦醇	31.25	0.236 7 ± 0.012 1	0.300 0 ± 0.032 7	0.371 0 ± 0.016 3**	0.214 3 ± 0.090 0	0.231 1 ± 0.003 0	0.253 3 ± 0.013 2**
	62.5	0.231 3 ± 0.013 3**	0.244 7 ± 0.016 1**	0.252 3 ± 0.005 8**	0.202 3 ± 0.015 6**	0.189 7 ± 0.010 5**	0.179 0 ± 0.009 5**
	125	0.216 0 ± 0.009 5**	0.204 0 ± 0.003 6**	0.192 3 ± 0.004 9**	0.188 0 ± 0.007 2**	0.175 3 ± 0.014 5**	0.156 0 ± 0.009 5**
	250	0.204 3 ± 0.006 1**	0.199 7 ± 0.002 6**	0.181 0 ± 0.018 0**	0.184 7 ± 0.005 1**	0.154 0 ± 0.007 2**	0.124 0 ± 0.010 8**
	500	0.182 3 ± 0.005 1**	0.169 0 ± 0.004 9**	0.145 6 ± 0.007 6**	0.165 0 ± 0.009 5**	0.141 3 ± 0.003 5**	0.112 7 ± 0.013 6**

与对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group



1~5-31.25, 62.5, 125, 250, 500 $\mu\text{g/L}$

图 1 白藜芦醇作用浓度及时间与 C6 (A)、TJ905 (B) 细胞存活率的关系

Fig. 1 Relationship between concentration and time of resveratrol treatment and viability of C6 (A) and TJ905 (B) cells

的抗癌作用已引起人们的广泛关注。如对鼠肝细胞癌、人肝母细胞瘤、乳腺癌等多种肿瘤均有抑制作用。但其抗癌机制不太清楚。有学者认为:环氧化物酶 (COX) 能刺激肿瘤细胞生长和抑制免疫监视。

而白藜芦醇可能通过抑制 COX 活性起到抗癌作用^[2~4]。本实验通过观察体外白藜芦醇对大鼠 C6 胶质瘤细胞和 TJ905 人脑恶性肿瘤细胞的抑制作用,探讨白藜芦醇抗胶质瘤的作用。结果表明白藜芦醇具有抑制脑胶质瘤细胞的作用,但其机制有待进一步研究。

References:

- [1] Wolter F, Akoglu B, Clausniter A, et al. Downregulation of the cyclin D1/Cdk4 complex occurs during resveratrol induced cell cycle arrest in colon cancer cell lines [J]. *J Nutr*, 2001, 131(8): 2197-2203.
- [2] Tinhofe I, Bernhard D, Senfter M, et al. Resveratrol, a tumor suppressive compound from grapes, induces apoptosis via a novel mitochondrial pathway controlled by Bcl-2 [J]. *FASEBJ*, 2001, 15(9): 1613-1615.
- [3] Kozuki Y, Miura Y, Yagasaki N, et al. Resveratrol suppresses he-patoma cell invasion independently of its anti-proliferative action [J]. *Cancer Lett*, 2001, 167(2): 151-156.
- [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 A 431 cell [J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(5): 1466-1473.

欢迎订阅《中草药》杂志 2004 年增刊

为了加速中药现代化进程,促进中药产业的技术创新,我部编辑出版了以“新技术在中药现代化中的应用”为主要内容的增刊。该增刊共收载论文 120 篇,总字数约 50 万字,每本定价 60 元,另加 5.00 元邮费。欢迎广大读者直接向《中草药》杂志编辑部订阅,款到寄刊。

编辑部地址:天津市南开区鞍山西道 308 号 邮编:300193 网址:www.tjipr.com
电话:(022) 27474913 23006821 传真:(022) 23006821 E-mail: zcyzjb@tjipr.com