

吸收,这同时也可以解释女贞子组的粪钙排泄减少。另外,各组间 CaBP-9k 表达无显著差异,这与实验用饲料含钙量较高有关,说明在高钙饮食情况下,女贞子对小肠钙结合蛋白的表达没有影响,但是,女贞子是否对低钙饮食动物小肠 CaBP-9k 的表达有作用,这需要作进一步研究。

女贞子对肾钙排泄的抑制作用与其可以提高肾脏 CaBP-9k 及 CaBP-28k 的表达有关,因为在肾脏 CaBP-28k 主要负责钙的重吸收^[7],CaBP-9k 负责肾钙重吸收时的转运^[8],此两种钙结合蛋白表达升高,使得肾钙排泄减少,重吸收增加,因此女贞子组的尿钙水平下降。当然,还有其他调控肾钙代谢的影响因素,包括骨转换,肾小球滤过率以及其他基因的表达^[9]。因此,今后的研究重点可考察女贞子是否对其他涉及调控肾钙代谢的因素有作用。

本实验结果表明女贞子可通过上调小肠 VDR 表达而提高肠钙吸收,通过上调肾脏钙结合蛋白而加强肾钙重吸收。因此,女贞子对于维持体内钙稳态,改善绝经后骨质疏松症具有重要意义,值得进一步研究开发。

References:

[1] Kaplan B, Hirsch M. Current approach to fracture preven-

tion in postmenopausal osteoporosis [J]. *Clin Exp Obstet Gynecol*, 2004, 31: 251-255.
 [2] Tuck S P, Francis R M. Osteoporosis [J]. *Postgrad Med J*, 2002, 78: 526-532.
 [3] Hao S C, Bi P, Yu K. *et al.* Electron microscopic studies on the effect of a Chinese medicine *Fructus Ligustri Lucidi* on the corticotrophs of rats hypophyses [J]. *J Tianjin Normal Univ: Nat Sci* (天津师范大学学报:自然科学版), 1997, 17: 49-52.
 [4] Fujita T. Calcium intake, calcium absorption, and osteoporosis [J]. *Calcif Tissue Int*, 1996, 58: 215.
 [5] Nordin B E C, Frep M D. Calcium and osteoporosis [J]. *Nutrition*, 1997, 13: 664-686.
 [6] Monique van A, Joost G J H, Annemiete W C M, *et al.* Regulation of the epithelial Ca²⁺ channels in small intestine as studied by quantitative mRNA detection [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2003, 285: G78-G85.
 [7] Bouhtiauy I, Lajeunesse D, Christakos S, *et al.* Two vitamin D₃-dependent calcium binding proteins increase calcium reabsorption by different mechanisms. I. Effect of CaBP 28K [J]. *Kidney Int*, 1994, 45: 461-468.
 [8] Bouhtiauy I, Lajeunesse D, Christakos S, *et al.* Two vitamin D₃-dependent calcium binding proteins increase calcium reabsorption by different mechanisms. I. Effect of CaBP 9K [J]. *Kidney Int*, 1994, 45: 469-474.
 [9] Li Y C, Merry J G B, Cao L P, *et al.* Effects of vitamin D receptor inactivation on the expression of calbindins and calcium metabolism [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001, 281: E558-E564.

脂质体-姜黄素水溶制剂抗肝癌效应的稳定性研究

李瀚旻, 晏雪生, 明安萍, 彭亚琴, 桂文甲

(湖北中医学院附属医院肝病研究所, 湖北 武汉 430061)

摘要:目的 研究脂质体-姜黄素水溶制剂抗肝癌效应的稳定性。方法 MTT 法观察脂质体-姜黄素水溶制剂(放置 1、2、4、8、12 个月)对 Bel-7402 细胞增殖的抑制作用。原位末端标记方法(TUNEL 技术)观察脂质体-姜黄素水溶制剂放置 12 个月诱导 Bel-7402 细胞凋亡的作用。免疫组织化学染色(SABC)法检测脂质体-姜黄素水溶制剂放置 12 个月对 Bax、Bcl-2 和 P53 蛋白表达的影响。结果 姜黄素水溶制剂随着放置时间的延长,抑制 Bel-7402 细胞增殖和诱导凋亡的作用均显著减弱。脂质体-姜黄素随放置时间的延长,抑制 Bel-7402 细胞增殖和诱导凋亡的作用无明显衰减现象,至放置 12 个月后脂质体-姜黄素 10、5 及 0.25 μg/mL 3 个剂量对 Bel-7402 细胞增殖仍有显著抑制作用,与同质量浓度的姜黄素比较,差异显著(P<0.01),抑制作用随药物质量浓度增高而有加强趋势,最高抑制率可达 43.90%,且呈量效关系,3 个剂量组间差异有显著性(P<0.01),同质量浓度的脂质体-姜黄素的抑制率显著高于姜黄素的抑制率(P<0.01)。姜黄素-脂质体放置 12 个月,Bel-7402 细胞凋亡率达 63.7%。**结论** 脂质体能显著提高姜黄素对 Bel-7402 细胞增殖的抑制和诱导凋亡作用。脂质体-姜黄素水溶制剂放置 12 个月对 P53 表达有显著影响,但对 Bax 和 Bcl-2 的表达无显著影响。

关键词:姜黄素; 脂质体; Bel-7402 细胞; 细胞凋亡; Bcl-2 基因家族

中图分类号:R286.91

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2006)04-0561-05

收稿日期:2005-09-01

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30271562, 30371787); 国家科技部重大基础研究资助项目(2002CCC00300); 湖北省自然科学基金资助项目(2001ABB171); 湖北省教育厅“十五”重大项目(2002D00003); 湖北省“十五”攻关项目(2002AA301C08)

作者简介:李瀚旻(1956—),男,湖北省利川市人,博士,主任医师,研究生导师,湖北中医学院附属医院肝病研究所副所长,国家中医药科研 II 级实验室主任,主要研究方向为中医药治疗慢性肝病,在该领域已发表论文 40 余篇,出版专著 6 部,获省部级科技进步奖 4 项,申报专利 2 项,转让科研成果 1 项。Tel: (027) 88929180 E-mail: lihanmin69@126.com

Stability of anti-liver cancer efficacy by liposome-curcumin in water solution

LI Han-min, YAN Xue-sheng, MING An-ping, PENG Ya-qin, GUI Wen-jia

(Hepatopathy Institute, Affiliated Hospital of Hubei College of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061, China)

Abstract: Objective To study the stability of anti-liver cancer effects by liposome-curcumin in water solution. **Methods** Inhibition of liposome-curcumin in water solution (exposed for 1, 2, 4, 8, 12 months) on proliferation of Bel-7402 cells was observed by MTT assay, the effect of inducing Bel-7402 apoptosis of liposome-curcumin in water solution for 12 months was observed by end labeling method *in situ* (TUNEL technique), and the effect of liposome-curcumin in water solution for 12 months on protein expression of apoptosis related gene Bax, Bcl-2, and P53 was observed by immunohistochemical staining (Strep Avidin-Biotin-enzyme Complex, SABC method). **Results** Both the effects of inhibited hyperplasia and introduced apoptosis to Bel-7402 cell by curcumin in water solution were apparently weakened with the time lasting, while the effect had no obvious weakening when it came to liposome-curcumin in water solution, and the three different dosages of liposome-curcumin (10, 5, and 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$) could also cause remarkable effect on inhibition of the proliferation of Bel-7402 even if exposing for 12 months. It differed significantly from the curcumin in water solution in the same density ($P < 0.01$), and the effect on inhibition of multiplication had the tendency to strengthen with the density increasing of the medicine. The top inhibitory rate could be up to 43.90% and present amount-result relation differences among the groups of different dosage, which were significant ($P < 0.01$), the inhibitory rate of liposome-curcumin was significantly higher than curcumin at the same concentration ($P < 0.01$). When exposed for 12 months, the apoptosis rate of Bel-7402 was up to 63.7%. **Conclusion** Liposome can significantly improve the effect of curcumin on inhibiting the Bel-7402 multiplication and inducing its apoptosis. Liposome-curcumin in water solution for 12 months has notable influence on the expression of P53, but has no notable influence on the expression of Bax and Bcl-2.

Key words: curcumin; liposome; Bel-7402 cells; apoptosis; Bcl-2 gene family

姜黄素的抗癌(包括肝癌)等多种生物学效应已得到广大学者和临床研究工作者的证实,但姜黄素口服吸收较差(生物利用度低)、难溶于水且极不稳定的“瓶颈问题”严重阻碍着 I 类新药的开发^[1~3]。为进一步提高姜黄素防治肝癌的生物学效应,前期研究证实,采用德国宝灵曼公司的脂质体,利用姜黄素的亲脂性与脂质体所带脂肪酸的尾结合形成脂质体-姜黄素复合物,通过融合、内吞等方式将所携带的姜黄素送入人肝癌细胞 Bel-7402 内,在减少姜黄药用量的同时,可显著增加其抗肝癌的生物学效应^[4]。本研究进一步观察脂质体-姜黄素水溶液剂抗肝癌效应的长期(放置 12 个月后)稳定性。

1 材料

姜黄素(中国药品生物制品检定所提供,批号 0823-9802)。脂质体购自德国宝灵曼公司。姜黄素溶于不含血清的 RPMI-1640 培养液中,分为 2 份,其中 1 份加入用同样方法稀释的脂质体,两者混匀(体积比为 1:1),使之形成脂质体-姜黄素复合物,于 4℃ 冰箱分别放置 1、2、4、8、12 个月后,用于实验。RPMI-1640 培养基及胎牛血清为 Gibco 公司产品。注射用盐酸阿霉素,浙江海正药业股份有限公司

生产。阿霉素分别溶于不含血清的 RPMI-1640 培养液中,作为实验的阳性对照药。原位凋亡(荧光素)检测试剂盒为德国 Boeringer Mannheim 公司产品。Bax、Bcl-2 和 P53 一抗为美国 Santa Cruz 公司产品。人肝癌细胞株 Bel-7402 由武汉大学生命科学院中国典型培养物保藏中心提供。

2 方法

2.1 细胞培养:人肝癌细胞株 Bel-7402 接种于含 10% 胎牛血清、适量 HEPES、抗生素(100 U/mL 青霉素和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 链霉素)的 RPMI-1640 培养液中,置培养箱于 5% CO_2 、37℃ 充分湿化条件下培养传代。细胞换液时间为 2~3 d, 3~5 d 传代,0.25% 胰蛋白酶消化后 1:2 传代。采用 MTT 法检测细胞增殖,在酶联免疫检测仪上于 490 nm 波长处测定吸光度(A)值。计算细胞增殖抑制率[抑制率=(1-实验组 A 值/对照组 A 值)×100%]。采用原位末端标记(TUNEL)技术检测细胞凋亡,24 孔培养板每孔置入一块无菌玻片。取对数生长期 Bel-7402 细胞,消化制备细胞悬液,调整细胞浓度为 $1 \times 10^5/\text{mL}$,接种于 24 孔板内,每孔 1 mL。置于 CO_2 培养箱内常规培养,5% CO_2 ,相对湿度为 95%,

温度为 37 ℃。

2.2 给药处理:置培养箱 24 h 后,药物组加入姜黄素或脂质体-姜黄素复合物,终质量浓度分别为 10、5、2.5 μg/mL,阳性对照组分别加入阿霉素 (10 μmol/L),无药对照组仅加培养液。以上各组均平行 8 孔 (细胞增殖抑制实验) 或 6 孔 (细胞凋亡及 Bax、Bcl-2、P53 表达),继续培养 48 h 后,取出爬满细胞的玻片,用 PBS 漂洗两遍,经 4% 多聚甲醛固定 30 min, PBS 洗涤后自然风干, -20 ℃ 保存待测。

2.3 观察指标:检测结果在荧光显微镜下观察,将细胞分为 3 类:活细胞 (VC),核被荧光素染成亮绿色并呈正常结构;早期凋亡细胞 (AC),细胞膜完整,核染色质被荧光素和姜黄素染成黄绿色并呈固缩状或圆珠状;膜受损细胞 (MD),包括晚期凋亡与坏死细胞,姜黄素大量透入,核被染成桔黄色。分类计数 100 个细胞,计算凋亡率 [凋亡率 = (AC + MD) / (AC + MD + VC) × 100%]。采用免疫组织化学 (SABC) 染色法检测 Bax、Bcl-2 和 P53 表达,胞浆和/或胞膜被染成棕褐色判为 Bax、Bcl-2 和 P53 表达阳性细胞。显微镜下每张切片随机选 5 个高倍

视野 (×400),观察不少于 500 个肿瘤细胞,计数阳性细胞占全部观察肿瘤细胞的比例作为 Bax、Bcl-2 和 P53 阳性细胞率。实验资料 (A 值、阳性细胞率) 以 $\bar{x} \pm s$ 表示,均数间比较采用 *t* 检验,两变量间相互关系采用直线相关分析。

3 结果

3.1 脂质体-姜黄素抑制肝癌细胞增殖的稳定性:姜黄素的水溶制剂随着放置时间的延长,对 Bel-7402 细胞增殖的抑制作用显著减弱,其减弱的速度呈现开始较快,1 个月后速度放慢,至 12 个月后的抑制作用虽已很弱,但仍有一定抑制作用,与无药对照组比较,差异具有显著性 ($P < 0.05$)。脂质体-姜黄素随放置时间的延长,对 Bel-7402 细胞增殖的抑制作用无明显衰减现象,至放置 12 个月后脂质体-姜黄素 10.5 及 0.25 μg/mL 3 个剂量对 Bel-7402 细胞增殖仍均有显著抑制作用 ($P < 0.01$),抑制作用随药物质量浓度增高而有加强趋势,最高抑制率可达 43.90%,且呈量效关系,3 个剂量组间差异显著 ($P < 0.01$),同质量浓度的脂质体-姜黄素的抑制率显著高于姜黄素的抑制率 ($P < 0.01$)。结果见表 1。

表 1 脂质体-姜黄素放置不同时间对肝癌细胞 Bel-7402 增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effect of liposome-curcumin on inhibiting proliferation of Bel-7402 cells at different times ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量	抑制率/%				
		1 个月	2 个月	4 个月	8 个月	12 个月
对照	--	0	0	0	0	0
脂质体-姜黄素	10 μg · mL ⁻¹	42.25 ± 4.5**	37.93 ± 5.1**	45.57 ± 3.5**	40.80 ± 6.6**	43.90 ± 4.2**
	5 μg · mL ⁻¹	26.76 ± 5.5**	28.74 ± 4.3**	25.32 ± 6.1**	27.63 ± 3.8**	28.05 ± 2.9**△
	2.5 μg · mL ⁻¹	18.31 ± 2.6**	18.39 ± 3.2**▲▲	16.46 ± 2.8**▲▲	17.11 ± 3.4**▲▲	13.42 ± 2.9**▲▲
姜黄素	10 μg · mL ⁻¹	11.27 ± 3.6**△	9.20 ± 2.5**	7.60 ± 3.8**	2.43 ± 2.7*	3.66 ± 1.8*
	5 μg · mL ⁻¹	7.04 ± 2.1▲▲	6.90 ± 2.3*	6.33 ± 3.0	5.26 ± 2.8	2.43 ± 2.4
	2.5 μg · mL ⁻¹	1.41 ± 1.5	4.60 ± 2.50	2.53 ± 1.8	2.63 ± 1.3	1.22 ± 1.1
阿霉素	10 μmol · L ⁻¹	46.47 ± 6.5**	40.23 ± 5.9**	43.04 ± 7.3**	36.84 ± 4.6**	41.46 ± 6.8**

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与 10 μg/mL 脂质体-姜黄素组比较: △ $P < 0.01$

与 10 或 5 μg/mL 脂质体-姜黄素组比较: ▲▲ $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; △ $P < 0.01$ vs 10 μg/mL liposome-curcumin group

▲▲ $P < 0.01$ vs 10 or 5 μg/mL liposome-curcumin group

3.2 脂质体-姜黄素诱导 Bel-7402 细胞凋亡的稳定性:荧光显微镜下,凋亡细胞核被染成黄绿色或桔黄色并呈固缩状或圆珠状,部分细胞核碎裂,呈大小不等、形态不规则的碎片,或呈梅花状细胞核。随着放置时间的延长,姜黄素水溶制剂诱导 Bel-7402 细胞凋亡的作用逐渐减弱,开始速度较快,1 个月后速度放慢,至 12 个月时,其诱导凋亡的作用虽已很弱,但仍有一定作用,与无药对照组比较,差异显著 ($P < 0.05$)。在放置 1、2、4、8、12 个月的观察时间内,随放置时间的延长,脂质体-姜黄素诱导 Bel-7402 细胞凋亡的作用无显著减弱,至 12 个月,Bel-

7402 细胞凋亡率达 63.7%,与 10 μmol/L 阿霉素组比较,差异无显著性 ($P > 0.05$)。脂质体-姜黄素组细胞凋亡率高于姜黄素组,差异显著 ($P < 0.01$)。结果见表 2。

3.3 脂质体-姜黄素对 Bax、Bcl-2 和 P53 蛋白表达的影响:Bax、Bcl-2 和 P53 蛋白主要定位于细胞浆,亦可见于胞膜,染色阳性信号呈棕褐色。脂质体-姜黄素放置 12 个月后对 Bax、Bcl-2 的表达无影响,与无药对照组比较,差异不显著 ($P > 0.05$)。P53 的阳性表达与无药对照组比较,差异显著 ($P < 0.01$); P53 的阳性细胞率随脂质体-姜黄素用药剂量的增

加而上升,呈显著的量效关系 ($P < 0.01$)。结果见表 3。

表 2 脂质体-姜黄素放置 12 个月对 Bel-7402 细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Effect of liposome-curcumin on apoptosis of Bel-7402 cell for 12 months ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量	凋亡率/%
脂质体-姜黄素	10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	63.7 \pm 7.2**
	5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	40.9 \pm 6.7**
	2.5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	28.5 \pm 5.4** Δ
姜黄素	10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	9.2 \pm 3.5*
	5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	5.2 \pm 3.3
	2.5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	5.9 \pm 3.4
阿霉素	10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	70.2 \pm 11.5
对照	—	4.2 \pm 3.2

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

与 10 和 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 脂质体-姜黄素组比较: $\Delta P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

$\Delta P < 0.01$ vs 10 and 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ liposome-curcumin group

表 3 脂质体-姜黄素放置 12 个月对 Bax、Bcl-2 和 P53 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 3 Effect of liposome-curcumin on expression of protein Bax, Bcl-2, and P53 of Bel-7402 cell for 12 months ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量	Bax 阳性	Bcl-2 阳性	P53 阳性
		细胞率/%	细胞率/%	细胞率/%
脂质体-姜黄素	10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	26.34 \pm 4.05	40.11 \pm 4.32	38.65 \pm 3.12**
	5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	22.11 \pm 2.85	39.65 \pm 4.34	30.32 \pm 2.23 Δ
	2.5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	23.69 \pm 3.76	42.38 \pm 6.55	25.95 \pm 3.24
阿霉素	10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	30.66 \pm 4.57**	31.99 \pm 3.59**	36.62 \pm 2.42
对照	—	22.23 \pm 2.21	38.78 \pm 4.78	18.52 \pm 1.53

与对照组比较: ** $P < 0.01$

与 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 脂质体-姜黄素组比较: $\Delta P < 0.05$

** $P < 0.01$ vs control group

$\Delta P < 0.05$ vs 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ liposome-curcumin group

3.4 脂质体-姜黄素诱导 Bel-7402 细胞凋亡与 Bax、Bcl-2 和 P53 表达的相关性: 放置 12 个月后的脂质体-姜黄素 (10、5、2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 作用 Bel-7402 细胞 48 h, Bax 及 Bcl-2 表达水平无显著性变化。直线相关分析显示, Bax 和 Bcl-2 表达水平与凋亡率不存在相互关系 ($r=0.886, r=0.346$), 无显著性差异 ($P > 0.05$)。P53 的表达水平与凋亡率呈显著的正相关, P53 阳性表达率越高, 凋亡细胞越多 ($r=0.999, P < 0.05$)。

4 讨论

脂质体是一种定向药物载体, 属于靶向给药系统 (targeting drug delivery system) 的一种新剂型, 具有靶向性、稳定性、长效性、降低药物毒性等优点。本研究采用脂质体-姜黄素的水溶制剂分别放置

1、2、4、8、12 个月用于体外细胞实验, 以观察脂质体-姜黄素水溶制剂抑制 Bel-7402 细胞增殖和诱导其细胞凋亡作用的稳定性, 并探讨其作用机制。实验结果表明, 脂质体-姜黄素水溶制剂具有很强的稳定性, 除外观始终保持均匀透明 (没有结晶析出) 和原有的淡黄色外, 更重要的是, 在观察的时间以内, 该制剂抑制人肝癌细胞增殖和诱导其凋亡的生物学效应基本保持不变。2.5、5 和 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 脂质体-姜黄素放置 1、2、4、8、12 个月后抑制 Bel-7402 细胞增殖和诱导其凋亡的作用无显著变化。10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 脂质体-姜黄素放置 1、2、4、8、12 个月后对 Bel-7402 细胞的抑制率分别为 42.25%、37.93%、45.57%、40.80%、43.90%, 各时间点的抑制率差异无显著性。2.5、5 和 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 脂质体-姜黄素放置 12 个月后对 Bel-7402 仍具有诱导凋亡的作用, 其凋亡率分别为 28.5%、40.9%、63.7%, 与放置 3 h (26.9%、43.4%、68.9%) 比较, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。而姜黄素的水溶性制剂在观察时间 (1、2、4、8、12 个月) 内随着放置时间的延长, 其抑制 Bel-7402 增殖和诱导凋亡的作用迅速减弱。脂质体-姜黄素水溶制剂不仅比单纯姜黄素水溶制剂具有更强的抑制人肝癌细胞增殖和诱导凋亡的作用, 而且稳定性很好, 从而为解决姜黄素难溶于水 and 稳定性差的问题提供了新的有效解决方法, 为进一步开发姜黄素水溶制剂的新药提供了新的研究思路与方法。

前期研究结果提示脂质体-姜黄素不是通过影响 Bax 和 Bcl-2 表达水平而诱导 Bel-7402 细胞凋亡的^[4]。本研究将放置 12 个月后的脂质体-姜黄素重复上述实验, 结果同样是对 Bax 和 Bcl-2 表达水平无显著影响。为探讨可能存在其他的诱导凋亡的路径和机制, 本研究观察了脂质体-姜黄素对 P53 蛋白表达的影响。实验结果表明, P53 蛋白的表达水平与凋亡率存在相互关系, 经脂质体-姜黄素 (放置 3 h 和 12 个月) 作用 48 h 后, P53 阳性表达率越高, 凋亡细胞越多, 呈显著的正相关 ($r=0.993, r=0.999, P < 0.05$)。提示脂质体-姜黄素诱导人肝癌细胞凋亡作用机制之一可能是通过上调促凋亡基因 P53 的表达实现的。

References:

[1] Jin L, Yang S Y. Advances in the studies on curcumin [J]. *Foreign Med Sci; Tradit Chin Med* (国外医学: 中医中药分册), 1997, 19(3): 49-52.
 [2] Xue Y, Xia T, Zhao J B. Advances in the studies on anti-cancer mechanism of curcumin [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*

(中草药), 2000, 31(2): 150-152.

[3] Xu J H, Zhao R, Ke D R. Anticancer effects of curcumin on human tumor cell lines *in vitro* and the stability of curcumin in water solution [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 1998, 14(5): 415-418.

[4] Li H M, Yan X S, Ming A P, *et al.* The effect of liposome-curcumin on inhibiting Bel-7402 cell proliferation and inducing apoptosis [J]. *Chin J Integr Tradit West Med Liver Dis* (中西医结合肝病杂志), 2005, 15(4): 214-217.

平律复方对大鼠心肌缺血-再灌注心律失常的影响

安 薇¹, 杨 静^{1*}, 张建忠², 汪俊军², 刘茂南²

(1. 武汉大学医学院 药理学系, 湖北 武汉 430071; 2. 武汉市新洲区人民医院, 湖北 武汉 430400)

摘要:目的 研究平律复方对大鼠心肌缺血-再灌注心律失常的影响。方法 采用结扎冠状动脉左前降支 15 min, 再灌注 45 min 造成大鼠心肌缺血-再灌注模型, 监测标准 I 导联心电图变化, 测定心肌细胞膜 Ca²⁺-ATP 酶、Mg²⁺-ATP 酶及 Na⁺, K⁺-ATP 酶的活力, 采用 RP-HPLC 法检测心肌组织 ATP 水平、腺苷酸池 (TAN) 水平和能量负荷值 (EC)。结果 平律复方 (ig, 0.04、0.20、1.00 g/kg) 能有效降低大鼠心肌缺血-再灌注心律失常的发生率, 显著缩短室性心律失常的持续时间, 能对抗缺血-再灌注心肌 ATP 酶活力的异常变化; 各剂量组心肌组织 ATP 水平恢复为正常对照组的 58%、68% 和 86%, TAN 水平和 EC 值比模型对照组分别增加了 25%、49%、66% 和 24%、27%、29%。结论 平律复方具有抗大鼠心肌缺血-再灌注心律失常的作用, 其机制可能与改善心肌组织的能量代谢有关。

关键词:平律复方; 心肌缺血-再灌注; 心律失常; 能量代谢

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)04-0565-04

Effect of Pinglü Formula on arrhythmia of myocardial ischemia-reperfusion in rats

AN Wei¹, YANG Jing¹, ZHANG Jian-zhong², WANG Jun-jun², LIU Mao-nan²

(1. Department of Pharmacology, Medical College of Wuhan University, Wuhan 430071, China;

2. Wuhan Xinzhou People's Hospital, Wuhan 430400, China)

Abstract: Objective To study the effect of Pinglü Formula (PL) on the arrhythmia of myocardial ischemia-reperfusion in rats. **Methods** Rat arrhythmia models were established by occlusion of the LAD coronary artery for 15 min and thereafter reperfusion for 45 min. At the same time, the changes were observed on lead I dynamic ECG. The activities of Ca²⁺-ATPase, Mg²⁺-ATPase, and Na⁺, K⁺-ATPase were determined, respectively. The levels of ATP, total adenine nucleotides (TAN), and energy charge (EC) of the myocardial organized energy state were analyzed by RP-HPLC. **Results** PL (ig 0.04, 0.20, and 1.00 g/kg) showed to decrease the incidence of arrhythmia induced by ischemia-reperfusion, shorten the duration of ventricular arrhythmia and eliminate the incidence of ventricular fibrillation. The activities of Ca²⁺-ATPase, Mg²⁺-ATPase, and Na⁺, K⁺-ATPase were increased by PL. In the PL (0.04, 0.20, and 1.00 g/kg) groups, ATP levels recovered to 58%, 68%, and 86% as compared with normal group, simul-taneously, TAN values were enhanced to 25%, 49%, and 66% and EC values to 24%, 27%, and 29%, respectively. **Conclusion** PL has obvious antiarrhythmic effect on rat, the protective action is related to the improvement of energy metabolism.

Key words: Pinglü Formula (PL); myocardial ischemia-reperfusion; arrhythmia; energy metabolism

心肌缺血-再灌注是一种复杂的病理生理过程, 再灌注心律失常是目前临床冠脉搭桥术、血管成形术及溶栓术等心脏介入性治疗中常见的严重并发

症^[1]。平律复方 (以下简称 PL) 是结合中医理论研制的复方中药制剂, 主要由苦参、豆根、黄芩、麦冬、甘草、五味子、党参、射干等组成, 多年临床实践表

收稿日期: 2005-07-28

基金项目: 湖北省武汉市科技局科学技术计划项目 (Z20036002009)

作者简介: 安 薇 (1980—), 女, 苗族, 湖北恩施土家族苗族自治州人, 硕士研究生, 主要从事分子药理与新药研究。Tel: (027) 68759727

E-mail: weier0713@hotmail.com

* 通讯作者 杨 静 Tel: (027) 68759727 E-mail: yangjingliu@yahoo.com.cn