

• 药理与临床 •

冬凌草甲素抑制人肝癌 BEL-7402 细胞生长及
诱导细胞凋亡的机制研究张俊峰¹, 刘加军², 陆敏强¹, 李 华¹, 陈规划^{1*}

(1. 中山大学附属第三医院 肝移植中心, 广东 广州 510630; 2. 中山大学附属第三医院 血液科, 广东 广州 510630)

摘要:目的 探讨冬凌草甲素体外对肝癌 BEL-7402 细胞生长抑制作用及诱导细胞凋亡作用机制。方法 以 8、16、24、32 $\mu\text{mol/L}$ 冬凌草甲素作用于体外培养的 BEL-7402 细胞, MTT 法检测细胞生长抑制率, 应用流式细胞仪检测细胞凋亡, Hoechst 33258 荧光染色法和 DNA 凝胶电泳观察细胞凋亡时的形态学变化。应用 Western blotting 观察 caspase-3、Bcl-2、Bax 蛋白表达变化。结果 冬凌草甲素可显著地抑制 BEL-7402 细胞的生长, 诱导细胞发生凋亡, 并呈现出明显的量-效与时-效关系。冬凌草甲素作用 60 h 后, 在 Hoechst 33258 荧光染色图片上可见核浓缩及核碎裂等典型的细胞凋亡特征, 同时 Western blotting 显示 32 000 的 caspase-3 酶原蛋白的激活, 出现 20 000 的亚单位, 凋亡过程中伴有 Bcl-2 蛋白表达的降低和 Bax 蛋白上调。结论 冬凌草甲素能通过降低 Bcl-2 蛋白表达和上调 Bax 蛋白诱导细胞发生凋亡, 抑制 BEL-7402 细胞的生长; 冬凌草甲素可能成为一种潜在的抗肝癌药物。

关键词:冬凌草甲素; 肝癌; 细胞凋亡; caspase-3; Bcl-2; Bax

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)10-1517-05

**Mechanisms of growth inhibition and apoptosis inducement of oridonin
on human hepatic carcinoma BEL-7402 cells**ZHANG Jun-feng¹, LIU Jia-jun², LU Min-qiang¹, LI Hua¹, CHEN Gui-hua¹

(1. Department of Liver Transplantation, The Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University,

Guangzhou 510630, China; 2. Department of Hematology, The Third Affiliated

Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China)

Abstract: **Objective** To investigate the mechanism of cell growth inhibition and apoptosis inducement of oridonin on human hepatocellular carcinoma BEL-7402 cells. **Methods** BEL-7402 cells in cultural medium *in vitro* were given 8, 16, 24, and 32 $\mu\text{mol/L}$ oridonin. The inhibitory rate of cells was measured by MTT assay, cell apoptotic rate was detected by flow cytometry (FCM), morphology of cell apoptosis was observed by Hoechst 33258 fluorescent staining and DNA gel electrophoresis. caspase-3, Bcl-2 and Bax protein expressions were detected by Western blotting. **Results** Oridonin could inhibit the growth of BEL-7402 cells and cause apoptosis significantly, the suppression was both in a time- and dose-dependent manner. Marked morphological changes of cell apoptosis were observed very clearly by Hoechst 33258 fluorescent staining as well as DNA gel electrophoresis analysis after the cells exposed to oridonin for 60 h; Western blotting showed cleavage of the caspase-3 zymogen protein (32 000) with the appearance of its 20 000 subunit. Along with the apoptotic process Bcl-2 protein expression was down-regulated and Bax protein expression up-regulated concurrently observed by Western blotting. **Conclusion** Oridonin can inhibit cell growth by induction of apoptosis in BEL-7402 cells via activation of caspase-3 as well as down-regulation of Bcl-2 and up-regulation of Bax protein expression, the results indicate that oridonin may be an important potential anti-hepatocellular carcinoma reagents.

Key words: oridonin; hepatic carcinoma; apoptosis; caspase-3; Bcl-2; Bax冬凌草甲素是从冬凌草 *Rabdosia rubescens* (Hemsl.) Hara 中提取出来的一种以贝壳杉烯

收稿日期: 2006-02-06

基金项目: 国家重点发展研究计划 (973) 资助项目 (2003CB515507)

作者简介: 张俊峰 (1972—), 男, 山东省东明县人, 临床医学博士, 主要从事肝胆外科、肝移植基础与临床研究。

E-mail: drzhangj@126.com

* 通讯作者 陈规划

(ent-kaurene) 为骨架的四环二萜类化合物^[1,2]。大量资料证明^[1,3], 冬凌草甲素对 EAC、HAC、S₁₈₀ 及 L₁₂₁₀ 等多种移植性肿瘤均具有明显的抑制作用, 其对实体瘤的治疗作用目前已广泛地应用于临床, 常用于食道癌、胃癌等多种实体瘤的治疗, 并且均取得了明显的临床疗效。冬凌草甲素对肝癌的作用目前尚未见资料报道, 为了探讨其在肝癌中的治疗作用及其作用机制, 本研究以人肝癌细胞株 BEL-7402 为研究对象, 观察了不同浓度的冬凌草甲素对 BEL-7402 细胞的生长抑制及诱导凋亡作用, 并检测了 caspase-3、Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的变化。旨在探讨冬凌草甲素对 BEL-7402 细胞的生长抑制及诱导凋亡机制, 为冬凌草甲素进一步应用于临床治疗肝癌提供有力的实验依据。

1 材料

1.1 细胞系: 人肝癌细胞株 BEL-7402 细胞购自中国科学院细胞库(上海)。

1.2 药物: 冬凌草甲素由山东大学医学院潘祥林教授提取并提供, 其提取方法参照文献报道^[4], 冬凌草甲素的质量分数在 95% 以上。

1.3 主要试剂: RPMI-1640, 美国 Gibco 公司产品。小牛血清, 杭州四季青生物制品厂产品。Hoechst 33258 染液由中山大学药学院提供。caspase-3、Bcl-2、Bax 抗体购自 Pharmingen 公司。

1.4 主要仪器及设备: 超净工作台(杭州产), CO₂ 细胞培养箱、普通及倒置显微镜(日本 Olympus 产品), 平板离心机(上海产)、96 孔培养板(Deta, 美国), FACScan 型流式细胞仪(Becton Dickinson, 美国), 普通及超低温冰箱、电热恒温干燥箱、微量移液器等。

2 方法

2.1 细胞培养: 将 BEL-7402 细胞接种于含 10% 灭活小牛血清的 RPMI-1640 培养液中, 在 37℃、5% CO₂、饱和湿度下培养, 2~3 d 换液 1 次, 取对数生长期的细胞进行实验, 分别用各种浓度的冬凌草甲素处理细胞, 未加药组为对照组。

2.2 细胞生长抑制率的测定: 采用噻唑蓝(MTT)还原法进行检测。取对数生长期的 BEL-7402 细胞, 调整细胞浓度为 2×10^5 /mL, 将 BEL-7402 细胞分装于数个 25 mL 培养瓶中, 每瓶 3 mL, 分别加入 2.5 mmol/mL 冬凌草甲素储存液, 使冬凌草甲素的终浓度分别为 0、8、16、24、32 μ mol/L。取 96 孔板数个, 每孔加入上述细胞悬液 100 μ L, 每种药物浓度为 1 组, 每组设 6 个平行孔, 每组细胞培养 12、24、

48、60、72 h 后从培养箱中取出, 然后每孔加入 MTT (5 mg/mL) 10 μ L, 再继续培养 4~6 h 后取出, 离心后吸去上清液, 每孔加入 DMSO 100 μ L, 再将培养板震荡均匀 5 min 左右, 显微镜下观察着色颗粒消失后, 在 20 min 内以 570 nm 为测试波长, 630 nm 为参考波长, 读取吸光度(A)值, 计算细胞生长率。

细胞生长抑制率 = (对照组 A 值 - 实验组 A 值) / 对照组 A 值 $\times 100\%$

2.3 流式细胞仪检测细胞凋亡率: 收集以不同浓度药物处理不同时间后的 BEL-7402 细胞, 以 PBS 缓冲液清洗 2 次, 将细胞沉淀充分混匀, 用 70% 冷乙醇 4℃ 固定 24 h 以上。离心去除乙醇固定液, 用 PBS 清洗 1 次后, 加入质量浓度为 200 μ g/mL 的 RNA 酶, 流式细胞仪分析含不同量 DNA 的细胞分布。应用 Modifit L TL 1.00 (MAC) 分析系统进行数据处理, 低于 G₁ 期的细胞(亚 G₁ 期)为凋亡细胞, 其占细胞总数的比例为凋亡细胞比例, 即细胞凋亡率。

2.4 Hoechst 33258 荧光染色法观察细胞凋亡: 先在倒置显微镜下观察不同浓度药物对细胞形态学的影响, 然后采用 Hoechst 33258 DNA 荧光染色法观察细胞凋亡时的形态学变化。具体方法为: 用胰酶消化后, 收集以不同浓度的药物处理 60 h 后的 BEL-7402 细胞, 3 000 r/min 离心, 3 min 后将细胞吹打均匀, 涂片并干燥后, 用甲醛液(40 g/L)固定 10 min, 然后用蒸馏水洗 2 次, 室温下待干; 然后用 Hoechst 33258 (5 mg/L) 染色 5 min, 用蒸馏水洗 2 次, 室温下晾干, 在荧光显微镜(检测波长 360 nm, 参比波长 450 nm)下观察, 并随机拍照。

2.5 DNA 凝胶电泳: 冬凌草甲素处理 BEL-7402 细胞 60 h 后, 收集 2×10^6 个细胞, 经冷 PBS 洗涤后, 加入 50 μ L 细胞裂解液(1% NP-40, 0.5 mol/L EATA, 1 mol/L Tris-HCl pH7.5), 充分混匀后, 50℃ 水浴 1 h, 离心, 取上清液, 加入 RNase A 至终质量浓度为 10 μ g/mL, 37℃ 水浴 1 h, 加入蛋白酶 K 至终质量浓度为 20 μ g/mL, 37℃ 水浴 1 h。乙醇沉淀获取 DNA。1.2% 琼脂糖凝胶电泳观察并摄像。

2.6 Western blotting 分析: 收集 2×10^6 个细胞, 用冻的 PBS 洗 2 次, 在 4℃ 裂解 30 min, 离心 15 min, 用 10% SDS-PAGE 分离, 转到尼龙滤膜上, 加入 1:1 000 单抗 2 h 后 PBS 和 TBST 各洗 2 次, 1:1 000 辣根过氧化物酶标记的二抗 IgG 孵育 1 h, TBST 洗 2 次, 应用 ECL Western blotting 检

测系统测定。

2.7 统计学分析:每次试验重复 3 次,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,实验结果采用 SAS 6.12 统计软件进行方差分析,并对各组之间进行两两比较。

3 结果

3.1 冬凌草甲素对 BEL-7402 细胞生长抑制率的测定:结果见图 1。可见 $8 \mu\text{mol/L}$ 冬凌草甲素对细胞生长无明显的抑制作用,16、24、 $32 \mu\text{mol/L}$ 冬凌草甲素随药物作用时间的延长,细胞生长抑制率逐渐升高, $32 \mu\text{mol/L}$ 冬凌草甲素引起的生长抑制率明显高于其他浓度药物的抑制率 ($P < 0.01$),抑制率最高可达 70% 以上。

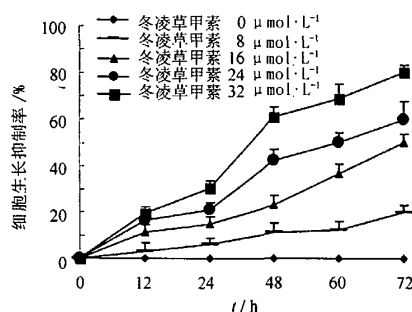


图 1 冬凌草甲素对 BEL-7402 细胞的生长抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 1 Inhibition of oridonin on growth of BEL-7402 cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)

3.2 细胞凋亡率的变化:结果见图 2。 $8 \mu\text{mol/L}$ 冬凌草甲素对细胞无明显的诱导凋亡作用,而 16、24、 $32 \mu\text{mol/L}$ 冬凌草甲素均可诱导细胞发生凋亡,细胞凋亡率随作用时间的延长而逐渐增加。24、 $32 \mu\text{mol/L}$ 的药物作用 60 h 后凋亡细胞数量达高峰 (凋亡率 >

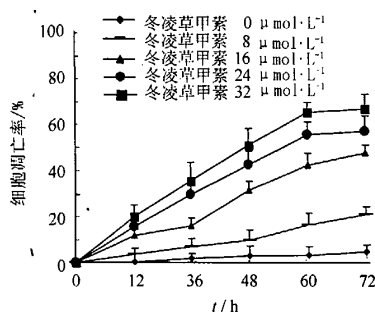
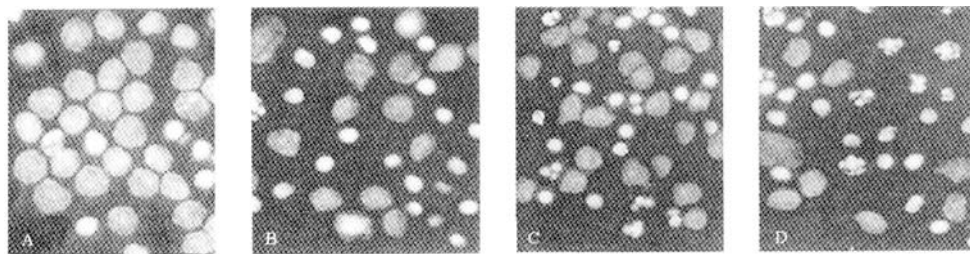


图 2 冬凌草甲素诱导 BEL-7402 细胞凋亡 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 2 Apoptosis of BEL-7402 cells induced by oridonin ($\bar{x} \pm s, n=3$)

50%),明显高于其他浓度药物的凋亡率 ($P < 0.01$)。

3.3 细胞形态学的变化:药物作用后细胞的体积、形态及细胞内的结构均发生了明显的变化,随着作用时间的延长,细胞的死亡数量增加,显微镜下可见大量的细胞碎片。部分细胞核内染色质开始浓缩,染色质逐渐形成块状,有些染色质块聚集在核膜边缘或近贴核膜,随着药物作用时间的延长,染色质逐渐发生断裂,部分核膜逐渐崩解,染色质呈分叶状或形成粗细不均匀的碎块并相互分离,不均匀地分散于细胞浆中,有些细胞的胞浆中出现空泡。呈现出细胞凋亡的典型变化即核碎裂及凋亡小体形成,hoechst 荧光染色可见细胞核 DNA 凋亡时的典型变化 (见图 3)。结果可见, $8 \mu\text{mol/L}$ 冬凌草甲素作用 60 h 后发生细胞凋亡细胞较少,而 16、24、 $32 \mu\text{mol/L}$ 冬凌草甲素作用 60 h 后,细胞出现典型的凋亡改变,凋亡细胞可达 50%~60%,而且凋亡细胞的数量随着药物浓度的升高而增加,凋亡细胞主要表现为细胞核浓缩及细胞核碎裂等典型改变。



A~D-0、16、24、 $32 \mu\text{mol/L}$ 冬凌草甲素

A~D-0, 16, 24, and $32 \mu\text{mol/L}$ oridonin

图 3 冬凌草甲素作用 60 h 后 BEL-7402 细胞凋亡 (Hoechst 33258 染色)

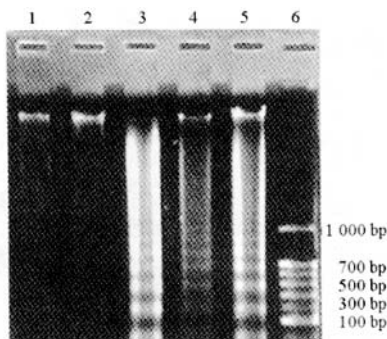
Fig. 3 Apoptosis of BEL-7402 cells treated with oridonin for 60 h (Hoechst 33258 staining)

3.4 DNA 凝胶电泳结果:16、24、 $32 \mu\text{mol/L}$ 冬凌草甲素作用 BEL-7402 细胞 60 h,DNA 片段表现出典型的“梯形”条带,DNA 片段长度约 180~200 bp

(图 4)。

3.5 Western blotting 分析结果:当 BEL-7402 细胞经冬凌草甲素作用 48 h,caspase-3 酶原活化,通

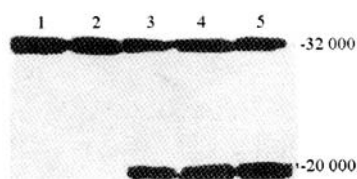
过 caspase-3 蛋白酶丢失 (32 000), 裂解为 20 000 亚单位 (图 5), Bcl-2 蛋白表达降低和 Bax 蛋白表达上调 (图 6)。



1-对照 2~5-8, 16, 24, 32 $\mu\text{mol/L}$ 冬凌草甲素 6-Marker
1-control 2~5-8, 16, 24, and 32 $\mu\text{mol/L}$ oridonin 6-Marker

图 4 冬凌草甲素作用 60 h 后 BEL-7402 细胞 DNA 片段分析

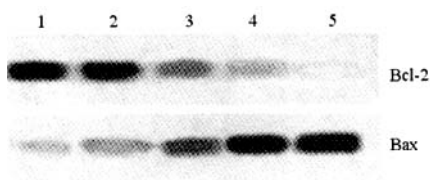
Fig. 4 DNA Fragmentation analysis of BEL-7402 cells treated with oridonin for 60 h



1-对照组 2~5-8, 16, 24, 32 $\mu\text{mol/L}$ 冬凌草甲素
1-control 2~5-8, 16, 24, and 32 $\mu\text{mol/L}$ oridonin

图 5 冬凌草甲素作用 48 h 后 BEL-7402 细胞 caspase-3 Western blotting 分析

Fig. 5 Western blotting analysis of caspase-3 of BEL-7402 cells treated with oridonin for 48 h



1-对照 2~5-8, 16, 24, 32 $\mu\text{mol/L}$ 冬凌草甲素
1-control 2~5-8, 16, 24, and 32 $\mu\text{mol/L}$ oridonin

图 6 冬凌草甲素作用 48 h 后 BEL-7402 细胞 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达 Western blotting 分析

Fig. 6 Western blotting analysis of Bcl-2 and Bax protein expression of BEL-7402 cells treated with oridonin for 48 h

4 讨论

最近研究证实冬凌草甲素有广泛的抗肿瘤作用^[4], 前期研究结果表明^[5~8], 冬凌草甲素对实体瘤

如肺癌 SPC-A-1 细胞株, 白血病细胞株如 K562 细胞、NB4 细胞, B 淋巴细胞白血病细胞株 Raji 细胞等均有明显的生长抑制作用, 冬凌草甲素对这些细胞株的体外增殖抑制作用, 诱导细胞发生凋亡可能为其重要的抗癌作用机制之一。本研究结果发现冬凌草甲素能抑制 BEL-7402 细胞增殖及诱导细胞发生凋亡, 表现为时间-效应和剂量-效应关系。16、24、32 $\mu\text{mol/L}$ 冬凌草甲素随药物作用时间的延长, 细胞生长抑制率逐渐升高, 32 $\mu\text{mol/L}$ 冬凌草甲素引起的生长抑制率明显高于其他浓度药物的抑制率 ($P < 0.01$), 抑制率最高可达 70% 以上。Hoechst 33258 染色和 DNA 片段分析观察到典型的凋亡形态学变化。同时 Western blotting 分析显示 32 000 caspase-3 蛋白酶原的激活, 出现 20 000 的亚单位, 凋亡过程中伴有 Bcl-2 蛋白表达的降低和 Bax 蛋白表达上调。推断冬凌草甲素能通过 Bcl-2 蛋白表达的降低和 Bax 蛋白表达的的上调诱导细胞发生凋亡, 抑制 BEL-7402 细胞的生长。

研究表明在细胞凋亡的信号传递中, caspase 家族居于重要地位, 激活的 caspase 可以水解包括细胞调节、细胞信号转导、DNA 修复等环节中重要的蛋白, 从而使细胞表现为凋亡特有的形态学及生化特征: 细胞皱缩、断裂, 染色质聚集和 DNA 降解等。Caspase 处于凋亡诱导信号传递、caspase 级联反应、下游效应因子作用这一凋亡过程中的中心位置^[9]。Caspase 可分为两大类: 启动子 caspase, 包括 caspase-8、caspase-9、caspase-10, 可与死亡信号转导通路中的分子结合, 而后形成二聚体, 通过自身催化而激活; 效应子 caspase, 能分解细胞蛋白, 起凋亡执行器的作用, 为启动子 caspase 的下游酶, 能被启动子 caspase 成员酶解激活。Caspase-3 即作为一种效应子 caspase, 处于细胞凋亡的下游。经典的细胞凋亡途径有两条, 细胞表面死亡受体途径和线粒体引发途径。两种途径都间接或直接激活 caspase-3 及其他下游的 caspase。激活的 caspase-3 能裂解大量底物使细胞凋亡^[10]。有证据表明, 细胞凋亡的某些特征性标志, 如染色体凝聚和 DNA 片段化等均与 caspase-3 有着直接的关系^[11]。最近研究表明细胞凋亡, 尤其 caspase 介导的细胞凋亡在肝癌的病因、发生及治疗中起重要作用, 而且大部分抗肝癌药物是建立在诱导细胞凋亡的基础上^[12]。

Bcl-2 即细胞凋亡抑制基因, 是目前发现的与凋亡关系密切的原癌基因之一。Bcl-2 基因家族成员分为两类: Bcl-2 类, 是凋亡抑制因子, 包括 Bcl-2、Bcl-

xl、Bcl-w 等;Bax 类,为凋亡促进因子,包括 Bax、Bak、Box 等。Bcl-2 可阻断 Ca^{2+} 从内质网释出,使依赖于 Ca^{2+} 的核酸内切酶活性降低,从而阻断 DNA 消化和细胞凋亡^[13];Bcl-2 作用于线粒体与核孔复合体上的信号分子,控制细胞信号传导来延长细胞生存^[14];Bcl-2 蛋白还可以和 Bax 蛋白相结合,从而抑制细胞凋亡。Bcl-2 与 Bax 的比值决定了细胞接受凋亡信号后细胞的存活与否,如果 Bax 占优势,细胞死亡,而 Bcl-2 占优势时,细胞存活^[15]。在应用反义蛋白激酶 AR1 α (Rial-pha) 对前列腺进行生长抑制诱导实验中,促进凋亡蛋白 Bax、Bak 表达增多,提示 Bax 与肿瘤细胞的生长抑制与凋亡有关。Bcl-2 与 Bax 的比值是决定凋亡与否的主要因素,一方面,Bcl-2 不仅可能通过抑制细胞色素 C 等从线粒体的释放调控着线粒体渗透性转换孔的开启,从而抑制 caspase-3 的活化,还可能参与抑制 caspase-3 的合成。另一方面,Bcl-2 又是 caspase-3 的直接底物,caspase-3 是 Bcl-2 的生理性蛋白酶,Bcl-2 蛋白的环区可被 caspase-3 在 Asp34 处剪切^[16]。本研究结果首次表明,冬凌草甲素能够通过诱导人肝癌 BEL-7402 细胞发生凋亡而发挥体外抗肝癌作用;上调 Bax 蛋白水平和下调 Bcl-2 蛋白水平以及活化 caspase-3 可能是冬凌草甲素体外诱导人肝癌 BEL-7402 细胞发生凋亡的重要作用机制之一,冬凌草甲素可能是一种潜在的抗肝癌药物;这为进一步的动物实验及其进一步的临床应用提供了实验依据。

References:

- [1] Han Q B, Li M L, Li S H, et al. Ent-kaurane diterpenoids from *Isodon rubescens* var. *lushanensis* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2003, 51(7): 790-793.
- [2] Zhang J X, Han Q B, Zhao A H, et al. Diterpenoids from *Isodon japonica* [J]. *Fitoterapia*, 2003, 74(5): 435-438.
- [3] Yang S L, Han S Y, Zhang Q, et al. Study on the antitumor of oridonin [J]. *Carcinog Teratog Mutag* (癌变·畸变·突变), 2001, 13(1): 8-10.
- [4] Liu J J, Huang R W, Lin D J, et al. Antiproliferation effects of oridonin on HPB-ALL cells and its mechanisms of action [J]. *Am J Hematol*, 2006, 81(2): 86-94.
- [5] Liu J J, Huang R W, Lin D J, et al. Anti-proliferative effects of oridonin on SPCA-1 cells and its mechanism of action [J]. *J Int Med Res*, 2004, 32(6): 617-626.
- [6] Liu J J, Huang R W, Lin D J, et al. Oridonin-induced apoptosis in leukemia K562 cells and its mechanism [J]. *Neoplasma*, 2005, 52(3): 225-230.
- [7] Liu J J, Li Q, Pan X L, et al. Apoptotic effect of oridonin on NB4 cells and its mechanism [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(8): 1188-1193.
- [8] Liu J J, Pan X L, Wu X Y, et al. Inhibitory effect and mechanism of oridonin on Raji cells proliferation [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(7): 774-777.
- [9] Nicholson D W, Thornberry N A. Caspase: killer proteases [J]. *Trends Biochem Sci*, 1997, 22(8): 299-306.
- [10] Liu J J, Huang R W, Lin D J, et al. Ponocidin, an ent-kaurane diterpenoid derived from a constituent of the herbal supplement PC-SPEC, *Rabdosia rubescens*, induces apoptosis by activation of caspase-3 and mitochondrial events in lung cancer cells *in vitro*. [J]. *Cancer Invest*, 2006, 24(2): 136-148.
- [11] Porter A G, Janicke R U. Emerging roles of caspase-3 in apoptosis [J]. *Cell Death Differ*, 1999, 6(2): 99-104.
- [12] Huether A, Hopfner M, Sutter A P, et al. Erlotinib induces cell cycle arrest and apoptosis in hepatocellular cancer cells and enhances chemosensitivity towards cytostatics [J]. *J Hepatol*, 2005, 43(4): 661-669.
- [13] Hockenbery D M, Oltvai Z N, Yin X M, et al. Bcl-2 functions in an antioxidant pathway to prevent apoptosis [J]. *Cell*, 1993, 75(2): 241-251.
- [14] Farrow S N, White J H, Martinou I, et al. Cloning of a bcl-2 homologue by interaction with adenovirus E1B 19K [J]. *Nature*, 1995, 374(6524): 731-733.
- [15] Krajewski S, Krajewska M, Shabalik A, et al. Immunohistochemical determination of *in vivo* distribution of Bax, a dominant inhibitor of Bcl-2 [J]. *Am J Pathol*, 1994, 145(6): 1323-1336.
- [16] Zhu X F, Liu Z C, Xie B F, et al. Involvement of caspase-3 activation in squamocin-induced apoptosis in leukemia cell line HL-60 [J]. *Life Sci*, 2002, 70(11): 1259-1169.

小檗碱体内外对人鼻咽癌细胞 CNE-2 生长的抑制作用

蔡于琛^{1,2}, 洗励坚^{1,2*}

(1. 华南肿瘤生物学国家重点实验室, 广东 广州 510060; 2. 中山大学肿瘤防治中心实验研究部, 广东 广州 510060)

摘要:目的 观察小檗碱体内外对人鼻咽癌 CNE-2 细胞生长的影响, 探讨小檗碱的抗肿瘤作用机制。方法 MTT 法测定小檗碱对 CNE-2 细胞生长的抑制作用; 流式细胞仪检测小檗碱对 CNE-2 细胞凋亡和周期的影响; 透射电镜观察 CNE-2 细胞经小檗碱处理后凋亡形态变化; Western blotting 法检测小檗碱对 CNE-2 细胞的细胞周

收稿日期: 2006-02-25

作者简介: 蔡于琛(1977—), 女, 广东省潮州市人, 助理研究员, 硕士, 在职博士生, 研究方向为抗癌药物筛选、减毒增效及其机制研究。

Tel: (020) 87343187 Fax: (020) 87343170 E-mail: edentry@163.com

* 通讯作者 洗励坚 Tel: (020) 87343187 E-mail: Lj_xian@yahoo.com