

者更大剂量的培养细胞可缩短中性粒细胞缺乏的时间^[7]。研究显示体外培养获得的中性粒细胞是有生理功能的^[8]。“生产”用于增加造血恢复细胞的争论焦点在于是否能“生产”出有益于临床适合数量的细胞。并且,维持这一数量的最佳方法是应该持续地产生成熟的细胞,而不是一次大量地输入成熟细胞。所以,目前人们仍在努力探索提高中性粒细胞“生产”量的方案。本室多年来一直关注中医药,尤其是 TSPG 对血发生的影响,研究表明:TSPG 是人参促进造血的主要成分。对于 TSPG 能否促进 CFU-GM 的增殖,文献报道结论各异。黄干等^[1]认为 TSPG 对小鼠 CFU-GM 的集落产率无明显影响;但王勇等^[9]同样以小鼠为实验对象,却表明 TSPG 对 CFU-GM 的刺激作用与剂量有关,TSPG 在 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时对 CFU-GM 的增殖的影响不明显,而当质量浓度增高到 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,CFU-GM 的集落产率明显提高;高瑞兰等^[10]研究表明,人参皂苷能刺激正常人和再障患者 CFU-GM 增殖;王莎莉等^[3]实验结果表明:在有外源性 HGF (IL-3、Epo、GM-CSF) 存在的条件下,TSPG (20~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 在体外对人骨髓 CFU-GM 的增殖有显著促进作用,经 TSPG (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 诱导制备的人骨髓基质细胞、胸腺细胞、脾细胞、血管内皮细胞、单核细胞培养上清液同样可以促进 CFU-GM 的增殖,并且从调控机制上进行了探讨,推测 TSPG 可通过直接和/或间接途径刺激骨髓细胞合成 GM-CSFR α ,使细胞膜表面的 GM-CSFR α 数量增加,结合更多的 GM-CSF,还可以直接和/或间接地促进 GM-CSFR α 和 Shc 可逆磷酸化,从而调控 GM-CSFR 介导的信号转导过程,最终促进 CFU-GM 的增殖分化。

基于以上的研究基础,直接以分离纯化的人骨髓 CD34⁺ 细胞为靶细胞,探讨 TSPG 对 CD34⁺ 细胞向粒系细胞分化的影响。本研究观察到,TSPG

10~70 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 均可不同程度地提高细胞总数、CFU-GM 扩增倍数及 CD33⁺ 细胞比例,TSPG 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 是液体培养诱导 CD34⁺ 细胞向粒系分化的最佳质量浓度。以甲基纤维素半固体培养法检测不同质量浓度 TSPG 诱导 CD34⁺ HSC/HPC 向 CFU-GM 增殖与分化能力,结果显示 TSPG (10~50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 均能提高 CD34⁺ 细胞形成 CFU-GM 的集落产率,以 TSPG 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 效果最为明显。既往研究及本研究结果表明 TSPG 能够协同其他细胞因子诱导 CD34⁺ HSC/HPC 向粒系细胞分化。

References:

- [1] Huang G, Zhu B D, Zhang S S. The effect of TSPG on hematopoiesis in mice [J]. *Chin J Hematol* (中华血液学杂志), 1990, 11(2): 66-68.
- [2] Wang L, Wang Y P. Experimental study for the effect of TSPG on the expression of IL-3 in hematopoietic stromal cells [J]. *Acta Anat Sin* (解剖学报), 2004, 35(1): 49-54.
- [3] Wang S L, Chen D, Wang Y P, et al. Modulation of expression of human GM-CSF and GM-CSFR α by total saponins of *Panax ginseng* [J]. *Acta Physiol Sin* (生理学报), 2003, 55(4): 487-492.
- [4] Chen D, Wang S L, Wang Y P, et al. Experimental study on expressing GM-CSF from lymphocytes by total saponins of *Panax ginseng* [J]. *Immunol J* (免疫学杂志), 2003, 19(6): 411-414.
- [5] Wang J W, Wang S L, Wang Y P, et al. Separation, purification, and identification of CD34⁺ hematopoietic stem/progenitor cells from bone marrow cells [J]. *Chin J Anat* (解剖学杂志), 2004, 27(3): 328-330.
- [6] Gluck S, Chadderton T, Porter K, et al. Characterization and transfusion of *in vitro* cultivated hematopoietic progenitor cells [J]. *Transfus Sci*, 1995, 16(3): 273-281.
- [7] Williams S F, Lee W J, Bender J G, et al. Selection and expansion of peripheral blood CD34⁺ cells in autologous stem cell transplantation for breast cancer [J]. *Blood*, 1996, 87(5): 1687-1691.
- [8] Hino M, Suzuki K, Yamane T, et al. *Ex vivo* expansion of mature human neutrophils with normal functions from purified peripheral blood CD34⁺ haematopoietic progenitor cells [J]. *Br J Haematol*, 2000, 109(2): 314-321.
- [9] Wang Y, Wang Y P, Zhu B D. The effect of TSPG on proliferation of mouse hematopoietic cells [J]. *Chin J Anat* (解剖学杂志), 1995, 18(2): 153-156.
- [10] Gao R L, Xu C L, Jin J M, et al. The effect of GS on proliferation of hematopoietic progenitor cells from normal human and patients with aplastic anemia [J]. *Chin J Integr Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 1992, 12(5): 285-287.

白藜芦醇对多发性骨髓瘤细胞的体外抗癌作用

孙春艳, 胡 豫, 刘新月, 杨海燕

(华中科技大学同济医学院附属协和医院血液病研究所, 湖北 武汉 430022)

摘要:目的 研究白藜芦醇对多发性骨髓瘤细胞体外抗癌作用,探讨其抗癌作用的分子机制。方法 用 MTT 法检测白藜芦醇对骨髓瘤细胞系 RPMI-8226 和 KM3 增殖的影响;Annexin-V/PI 双标流式细胞术检测白藜芦醇对

收稿日期:2006-04-30

作者简介:孙春艳(1976—),女,黑龙江省佳木斯市人,博士,主治医师,研究方向为恶性肿瘤的发病机制。

Tel: (027) 62766183 E-mail: ayan0618@163.com

RPMI-8226 细胞凋亡的影响;PI 单标流式细胞术测定白藜芦醇对 RPMI-8226、KM3 细胞 DNA 分布的影响;Western-blotting 方法检测白藜芦醇对 RPMI-8226 细胞 Bcl-2、Bax、XIAP、c-IAP-1、c-IAP-2 蛋白表达的影响。**结果** 白藜芦醇对 RPMI-8226 和 KM3 细胞具有明显的增殖抑制作用,其抑制增殖作用呈时效和量效关系。25~100 $\mu\text{mol/L}$ 白藜芦醇作用 24 h 可诱导 RPMI-8226 细胞凋亡,100 $\mu\text{mol/L}$ 作用 24 h 时 KM3 细胞凋亡率达 (26.5 \pm 2.7)%。白藜芦醇处理组 RPMI-8226 及 KM3 细胞周期均发生变化,细胞周期被阻滞于 S 期和 G₀/G₁ 期。白藜芦醇以时间依赖方式下调抗凋亡蛋白 Bcl-2、XIAP、c-IAP-1、c-IAP-2 的表达,并可上调促凋亡蛋白 Bax 的表达,但白藜芦醇对各蛋白作用的动力学不同。**结论** 白藜芦醇可通过调控细胞周期进程、诱导细胞凋亡而有效抑制骨髓瘤细胞增殖,其诱导细胞凋亡与调节 Bcl-2 和 IAP 家族蛋白的表达有关。

关键词:白藜芦醇;多发性骨髓瘤;细胞凋亡;细胞周期

中图分类号:R286.91

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)01-0080-04

Anticancer effect of resveratrol on multiple myeloma cells *in vitro*

SUN Chun-yan, HU Yu, LIU Xin-yue, YANG Hai-yan

(Institute of Hematology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China)

Abstract: Objective To investigate the anticancer activities of resveratrol on human multiple myeloma (MM) cells and their molecular mechanisms involved. **Methods** The effect of resveratrol on the growth of MM cell lines RPMI-8226 and KM3 were studied through MTT assay. The effect of resveratrol on the apoptosis of RPMI-8226 cells were studied by combined Annexin-V protein iodide staining. The effect of resveratrol on the cell cycle of RPMI-8226 and KM3 cells were studied by a propidium iodide method. The effect of resveratrol on the expression of Bcl-2, Bax, XIAP, c-IAP-1, and c-IAP-2 protein was studied by Western blotting analysis. **Results** Resveratrol inhibited the proliferation of RPMI-8226 and KM3 cells in a time- and dose-dependent manner. Treatment with 25—100 $\mu\text{mol/L}$ resveratrol for 24 h induced apoptosis of RPMI-8226 cells and the apoptosis rate reached (26.5 \pm 2.7)% at concentration of 100 $\mu\text{mol/L}$. Flow cytometric analyses showed that RPMI-8226 and KM3 cells treated with resveratrol were accumulated in G₀/G₁ and S phase in the cell cycle, the ratio of cells in G₂/M phase was decreased at 24 h treatment. The expression of Bcl-2, XIAP, c-IAP-1, and c-IAP-2 protein was decreased in a time-dependent manner with different kinetics in MM cells treated with resveratrol, while Bax protein was increased. **Conclusion** Resveratrol is able to inhibit the proliferation of MM cells by regulating the cell cycle and inducing the cell apoptosis. Regulating the expression of Bcl-2 and IAP family members may suggest an involvement in the resveratrol-induced apoptosis.

Key words: resveratrol; multiple myeloma (MM); apoptosis; cell cycle

白藜芦醇属于非黄酮类多酚化合物,是一种广泛存在于植物中的植物补体,以新鲜葡萄皮中的量最高。白藜芦醇具有保护心血管、抗炎、调节血脂、抑制血小板聚集等多种功效,具有很大的药用价值^[1]。近年来国外学者研究证明其具有确切的抗肿瘤作用,被认为是最有希望的天然化学抗癌剂之一,其对肿瘤的起始、促进、发展 3 个阶段均有抑制作用^[2]。已有报道白藜芦醇对结肠癌、乳腺癌、前列腺癌、口腔鳞癌、白血病、肝癌等多种肿瘤细胞均有显著的抑制作用^[3,4],但对其抗肿瘤活性的确切机制尚不清楚。本实验采用 KM3、RPMI-8226 细胞株观察白藜芦醇对多发性骨髓瘤细胞增殖、生长的作用并进一步探索其抗癌机制。

1 材料与方法

1.1 细胞:人类多发性骨髓瘤细胞系 KM3 由上海第二军医大学侯健教授惠赠,RPMI-8226 购自北京

协和医院基础研究所。在含 10% 胎牛血清、青霉素 100 U/mL、链霉素 100 $\mu\text{g/mL}$ 的 RPMI-1640 中 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂ 培养箱常规培养,生长曲线测试倍增时间为 (24 \pm 1) h,1~2 d 传代 1 次。实验前 24 h 半量换液,台盼蓝拒染法鉴定细胞活性在 98% 以上。

1.2 药物及试剂:白藜芦醇,质量分数 99%,购自 Sigma 公司,溶解于二甲基亚砜 (DMSO) 中,配成 20 mmol/L 溶液,等量分装,置于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存,临用前解冻。碘化丙啶 (PI)、RNase 和噻唑蓝 (MTT) 购自 Sigma 公司,anti-Bcl-2、anti-Bax 多克隆兔抗和 anti- β -actin 鼠抗均购自 Santa Cruz 公司,anti-c-IAP-1、anti-c-IAP-2 (凋亡蛋白细胞抑制剂) 和 anti-XIAP (凋亡蛋白性联抑制剂) 多克隆兔抗购自 R&D 公司,辣根过氧化物酶标记的羊抗兔和羊抗鼠二抗购自中山生物公司,Annexin-V-PI 双标流式凋亡检测试剂盒 (BMC306FI) 购自深圳晶

美公司。

1.3 白藜芦醇对细胞增殖的影响:采用 MTT 法检测。将处于对数生长期的 KM3、RPMI-8226 细胞 (2×10^5 /mL) 接种于 96 孔板,每孔 200 μ L,每组设 4 个平行孔,经不同浓度 (6.25~200 μ mol/L) 白藜芦醇处理 12~72 h 后,加入 5 mg/mL MTT 20 μ L,继续孵育 4 h,弃去孔内培养液,加入 150 μ L DMSO,振荡使结晶溶解后于 490 nm 波长处以酶标仪测定各孔吸光度 (A) 值,计算增殖抑制率。

增殖抑制率 = (1 - 实验组 A 值 / 对照组 A 值) \times 100%

1.4 细胞凋亡的检测:采用 Annexin-V-PI 双标流式凋亡检测试剂盒,参照说明书进行操作。Annexin-V-FITC 和 PI 双阴性为活细胞,Annexin-V-FITC 阳性而 PI 阴性为早期凋亡细胞,Annexin-V-FITC 和 PI 双阳性为晚期凋亡细胞,Annexin-V-FITC 阴性而 PI 阳性为坏死细胞。

1.5 细胞周期分析:采用 DNA 倍体分析法检测。白藜芦醇 (6.25~100 μ mol/L) 处理细胞 24 h 后,用 70% 冷乙醇固定 24 h,PBS 缓冲液洗去固定液,1 mg/mL RNase 37 $^{\circ}$ C 水浴 30 min,加入 PI 染色液,4 $^{\circ}$ C 避光 30 min 后上机检测 (BD 公司),用 cell modifit 软件分析细胞周期,流式细胞仪 CV 值纠正于 3% 以下。

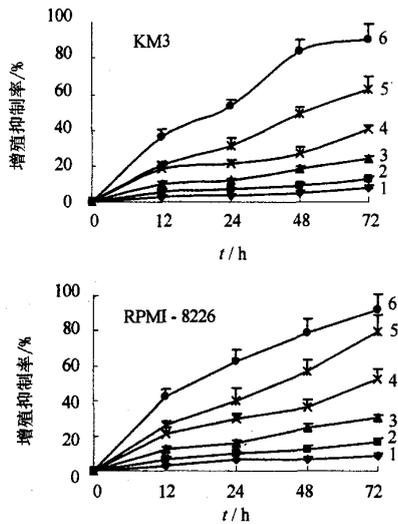
1.6 Western-Blotting 检测白藜芦醇对 RPMI-8226 细胞 Bcl-2、XIAP、c-IAP、Bax 蛋白表达的影响:白藜芦醇 100 μ mol/L 处理细胞不同时间后,收集细胞,以冷 PBS 洗涤 2 次后,加入预冷的细胞裂解液 (50 mmol/L Tris-HCl,pH 8.0, 150 mmol/L NaCl, 1 mmol/L EDTA, 1% Triton-X 100, 1 mg/mL 抑菌肽, 1 mg/mL 亮肽素, 100 μ g/mL PMSF),混匀,置于冰上 30 min,4 $^{\circ}$ C、12 000 \times g 离心 10 min,收集上清液,Bio-Rad 法蛋白定量后调整蛋白浓度一致。加等量的 2 \times SDS 上样缓冲液,94 $^{\circ}$ C 变性 10 min,配制 10% 的聚丙烯酰胺分离胶,每孔上样 30~60 μ g 蛋白,电泳分离蛋白后,转移至硝酸纤维素膜,5% 脱脂牛奶封闭 1 h 后,加入相应的一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,以 β -actin 作内参照。TBS 洗涤 3 次后,加入辣根过氧化物酶标记的相应二抗,37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h,TBS 洗膜后,用 ECL 发光法 (Amersham Biotech) 检测目的条带的表达。

1.7 统计学处理:数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 11.0 软件包进行 t 检验。

2 结果

2.1 白藜芦醇对细胞增殖的影响:结果见图 1。白

藜芦醇对 KM3 细胞增殖抑制作用呈时效和量效关系。100 μ mol/L 白藜芦醇作用 12 h 与作用 48、72 h 相比,其对 KM3 细胞增殖抑制率差异显著 ($P < 0.05$),但与作用 24 h 比较增殖抑制率差异不显著。说明随作用时间延长,药物抑制作用增强。与细胞对照组相比,白藜芦醇 6.25、12.5、25 μ mol/L 对 KM3 细胞增殖抑制作用差异不显著;而 50、100、200 μ mol/L 白藜芦醇对 KM3 细胞增殖抑制作用差异显著 ($P < 0.05, 0.01$)。白藜芦醇对 KM3、RPMI-8226 的增殖抑制作用相似,作用 24 h 时的 IC₅₀分别为 (187 \pm 14) 和 (131 \pm 15) μ mol/L。



1~6-白藜芦醇 6.25、12.5、25、50、100、200 μ mol/L

1—6-resveratrol 6.25, 12.5, 25, 50, 100, and 200 μ mol/L

图 1 白藜芦醇对 KM3 和 RPMI-8226 细胞增殖的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n=4$)

Fig. 1 Inhibition of resveratrol on growth of KM3 and RPMI-8226 cells ($\bar{x} \pm s, n=4$)

2.2 白藜芦醇对细胞凋亡的影响:Annexin-V/PI 双标流式术检测不同浓度白藜芦醇作用 24 h,对 RPMI-8226 细胞凋亡的作用,结果发现随着白藜芦醇浓度的增加,RPMI-8226 细胞凋亡率递增 (见表 1)。同时检测了 100 μ mol/L 白藜芦醇作用不同时间后对 KM3 细胞凋亡的影响 (见图 2),结果显示白藜芦醇以时间依赖方式诱导 KM3 细胞凋亡。

2.3 白藜芦醇对细胞周期分布的影响:流式细胞仪分析不同浓度白藜芦醇作用 24 h 后细胞周期改变,结果见表 2。当白藜芦醇浓度低于 12.5 μ mol/L 时主要使 RPMI-8226 细胞积聚于 S 期,同时 G₂/M 期细胞数减少;而当白藜芦醇浓度高于 25 μ mol/L 时则主要使细胞周期受抑于 G₁/G₀期。白藜芦醇对

表 1 不同浓度白藜芦醇对 RPMI-8226 细胞凋亡的影响
($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Effect of resveratrol at different concentrations on apoptosis of RPMI-8226 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	C/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	凋亡率/%
对照	—	7.3 \pm 0.9
白藜芦醇	25	12.6 \pm 2.2
	50	21.8 \pm 2.9*
	100	36.9 \pm 4.1*

与对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group

KM3 的细胞周期分布呈现相同的调节趋势,但作用动力学不同,当白藜芦醇浓度低于 25 $\mu\text{mol/L}$ 时主要使 KM3 细胞积聚于 S 期,而当白藜芦醇浓度高于 50 $\mu\text{mol/L}$ 时则主要使细胞周期受抑于 G_1/G_0 。

表 2 不同浓度白藜芦醇对 RPMI-8226 及 KM3 细胞周期分布的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Effect of resveratrol at different concentrations on cell cycle distribution of RPMI-8226 and KM3 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

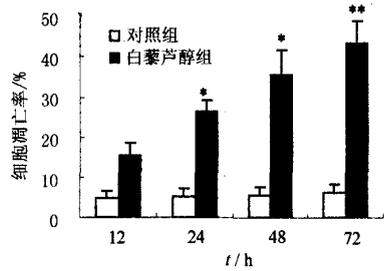
组别	C/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	RPMI-8226 细胞周期分布/%			KM3 细胞周期分布/%		
		G_0/G_1	S	G_2/M	G_0/G_1	S	G_2/M
对照	—	42.70 \pm 3.82	28.41 \pm 4.16	28.89 \pm 3.21	43.19 \pm 3.82	38.10 \pm 4.53	18.71 \pm 2.25
白藜芦醇	6.25	40.45 \pm 4.17	39.27 \pm 3.26	20.28 \pm 2.65	28.94 \pm 3.24	39.27 \pm 3.26	20.28 \pm 2.54
	12.5	44.58 \pm 5.71	34.61 \pm 2.98	20.81 \pm 3.18	28.04 \pm 3.54	51.56 \pm 4.77	20.40 \pm 3.81
	25	48.54 \pm 5.13	30.96 \pm 3.46	20.50 \pm 1.82	33.91 \pm 4.32	48.49 \pm 4.26	17.60 \pm 2.10
	50	52.35 \pm 5.64	27.02 \pm 4.32	20.63 \pm 2.58	42.73 \pm 4.64	41.10 \pm 3.72	16.17 \pm 2.28
	100	49.84 \pm 3.95	26.85 \pm 3.38	23.31 \pm 3.14	49.57 \pm 4.79	36.52 \pm 4.18	13.91 \pm 2.31

期。以上结果显示白藜芦醇可同时诱导细胞 G_1/G_0 和 S 期阻滞。

2.4 白藜芦醇对 RPMI-8226 细胞 Bcl-2、XIAP、c-IAP、Bax 蛋白表达的影响:应用 Western Blotting 检测发现,白藜芦醇 (100 $\mu\text{mol/L}$) 以时间依赖方式下调抗凋亡蛋白 Bcl-2、XIAP、c-IAP 的表达,并可上调促凋亡蛋白 Bax 的表达,但白藜芦醇对各蛋白作用的动力学不同。白藜芦醇作用 6 h 可完全抑制 Bcl-2 和 c-IAP 的表达,而 XIAP 的完全下调需白藜芦醇作用 12 h;白藜芦醇作用 1 h 即可上调 Bax 的表达,6 h 达高峰,作用 12 h 仍可见 Bax 表达上调。结果见图 3,半定量结果见图 4。

3 讨论

白藜芦醇是一种广泛存在于葡萄、花生和虎杖等天然食物或药物中的植物抗癌素,是日本和中国传统中药的重要组成部分^[1,5]。近年来大量流行病学研究表明白藜芦醇可降低心血管疾病和癌症的发生率,成为肿瘤防治的热点^[2,6]。进一步研究发现,白藜芦醇不仅为一种天然的肿瘤化学预防剂,而且对多种肿瘤细胞具有明显的抑制增殖作用^[3,4,7]。其抗肿瘤机制可能与抑制细胞 DNA 合成、干扰相关信号



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

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

图 2 白藜芦醇 (100 $\mu\text{mol/L}$) 作用不同时间后 KM3 细胞凋亡率 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 2 Apoptosis rate of KM3 cells exposed to resveratrol (100 $\mu\text{mol/L}$) for different times ($\bar{x} \pm s, n=3$)

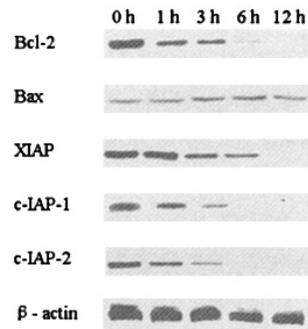


图 3 白藜芦醇对 RPMI-8226 细胞凋亡相关蛋白表达的影响

Fig. 3 Effect of resveratrol on expression of apoptosis-related protein in RPMI-8226 cells

传导通路、阻滞细胞周期、诱导细胞凋亡等有关^[1]。

本实验研究发现,白藜芦醇对骨髓瘤细胞系 KM3 和 RPMI-8226 的增殖均有明显的抑制作用,并呈时间和浓度依赖性,作用 24 h 时的 IC_{50} 分别为 (187 \pm 14) 和 (131 \pm 15) $\mu\text{mol/L}$ 。流式细胞仪分析显示白藜芦醇作用 24 h 后,Annexin-V-FITC 阳性而 PI 阴性的细胞数增加,说明白藜芦醇对骨髓瘤细胞具有诱导凋亡作用。Annexin-V-FITC 阳性而

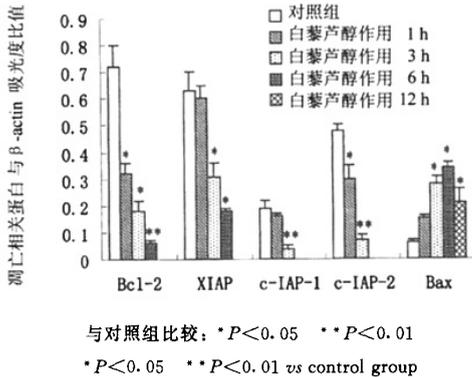


图 4 白藜芦醇对 RPMI-8226 细胞凋亡相关蛋白表达的影响 (半定量结果)

Fig. 4 Effect of resveratrol on expression of apoptosis-related protein in RPMI-8226 cells (semi-quantitative results)

PI 阴性的细胞数随着白藜芦醇浓度的增加而明显增多,提示诱导细胞凋亡是白藜芦醇杀伤骨髓瘤细胞的机制之一。进一步研究发现白藜芦醇可调节细胞周期进程,低浓度白藜芦醇主要使细胞积聚于 S 期,显示白藜芦醇具有调控 S 期监测点的能力;而高浓度白藜芦醇则主要使细胞周期受抑于 G₀/G₁期,表明白藜芦醇同时具有调节 G₀/G₁期监测点的能力。细胞周期的失控在肿瘤发病中处于极其重要的环节,细胞的增殖、凋亡、分化、衰老均是细胞周期依赖性的,抑制细胞周期进展被认为是今后抗肿瘤治疗的新途径之一^[8]。白藜芦醇也可能通过调节细胞周期,诱导 G₁和 S 期阻滞进而抑制骨髓瘤细胞增殖。

细胞凋亡是细胞自身调节的主动性死亡过程,它不引起炎症反应,机体不会因此发生不良反应,是肿瘤治疗研究的一个重要领域。因此,探讨白藜芦醇诱导骨髓瘤细胞凋亡的分子机制具有重要意义。白藜芦醇对凋亡调控蛋白的作用包括下调 Bcl-2、XIAP、c-IAP 等抗凋亡基因产物,同时明显上调 Bax 促凋亡基因产物。Bcl-2 倾向于分布在增殖细胞,Bcl-2 过度表达时可抑制细胞凋亡,而 Bax 则倾向于分布在终末分化细胞、退化细胞,在凋亡的细胞中表达更强,其过度表达可促发细胞凋亡。Bcl-2 与 Bax 的比率与凋亡发生与否有关^[9]。白藜芦醇下调 Bcl-2 的表达同时上调 Bax 的表达,从而使 Bcl-2 与 Bax 的比值下降,这可能是白藜芦醇诱导骨髓瘤细胞凋亡的分子机制之一。IAP 家族蛋白为一类抗凋亡蛋白,可通过抑制 caspase-9、-3、-6、-7 的激活抑制线粒体释放细胞色素 C 诱导的凋亡信号通路。研究表明 XIAP、c-IAP-1、c-IAP-2 表达过高可促进

肿瘤细胞的增殖和化疗抵抗,而降低 IAPs 的表达可明显激活多条信号通路导致细胞周期阻滞^[10,11]。白藜芦醇可明显抑制 XIAP、c-IAP-1、c-IAP-2 的表达,可能通过促进 caspase-9 和 caspase-3 的激活从而诱导骨髓瘤细胞凋亡。以上研究表明在体外条件下,白藜芦醇可能通过调节 Bcl-2 和 IAP 家族蛋白的表达诱导骨髓瘤细胞凋亡,这为阐明白藜芦醇诱导骨髓瘤细胞凋亡的分子机制提供了初步的实验依据,有关白藜芦醇诱导骨髓细胞凋亡的确切机制,有待进一步探讨。

本研究表明白藜芦醇可通过调控细胞周期进程、诱导细胞凋亡而有效抑制骨髓瘤细胞增殖,其诱导细胞凋亡与调节 Bcl-2 和 IAP 家族蛋白的表达有关。最新研究表明白藜芦醇具有安全的药理作用,不良反应少,是一种高效、低毒、经济的中药^[7,12]。因此,白藜芦醇在多发骨髓瘤的临床治疗方面具有潜在的应用前景。

References:

- [1] Wu Z G, Zao R Z. Recent advances in anti-tumor mechanisms of resveratrol [J]. *Cent South Pharm* (中 南 药 学), 2004, 2(3): 167-169.
- [2] Jang M, Cai L, Udeani G O, et al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes [J]. *Science*, 1997, 275: 218-220.
- [3] Gao X H, Xu Y X, Divine G, et al. Disparate *in vitro* and *in vivo* antileukemic effects of resveratrol, a natural polyphenolic compound found in grapes [J]. *J Nutr*, 2002, 132: 2076-2081.
- [4] Kang J H, Park Y H, Choi S W, et al. Resveratrol derivatives potently induce apoptosis in human promyelocytic leukemia cells [J]. *Exp Mol Med*, 2003, 35: 467-474.
- [5] Su J L, Lin M T, Hong C C, et al. Resveratrol induces Fas L-related apoptosis through Cdc42 activation of ASK1/JNK-dependent signaling pathway in human leukemia HL-60 cells [J]. *Carcinogenesis*, 2005, 26(1): 1-10.
- [6] Fremont L. Biological effects of resveratrol [J]. *Life Sci*, 2000, 66: 663-673.
- [7] Dörrie J, Gerauer H, Wachter Y, et al. Resveratrol induces extensive apoptosis by depolarizing mitochondrial membranes and activating caspase-9 in acute lymphoblastic leukemia cells [J]. *Cancer Res*, 2001, 61: 4731-4739.
- [8] Collins K, Jacks T, Paveltich N P. The cell cycle and cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 2776-2778.
- [9] Li Y, Bhuiyan M, Mohammad R M, et al. Induction of apoptosis in breast cancer cells by TPA [J]. *Oncogene*, 1998, 17: 2915-2920.
- [10] Devereaux Q L, Roy N, Stennicke H R, et al. IAPs block apoptotic events induced by caspase-8 and cytochrome c by direct inhibition of distinct caspases [J]. *EMBO J*, 1998, 17: 2215-2223.
- [11] Roy N, Devereaux Q L, Takahashi R, et al. The c-IAP-1 and c-IAP-2 proteins are direct inhibitors of specific caspases [J]. *EMBO J*, 1997, 16: 6914-6925.
- [12] Aggarwal B B, Bhardwaj A, Aggarwal R S, et al. Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies [J]. *Anticancer Res*, 2004, 24 (5A): 2783-2840.