

本研究结果显示,0.23 mg/mL 的肝力注射液(即 910 μ mol/L 苦参碱和 227 μ mol/L 盐酸川芎嗪联合作用),对人肝癌 5-Fu 获得性多药耐药细胞株 BEL-7402/5-Fu 的增殖抑制率小于 10%,该质量浓度作用于耐药细胞 72 h 仍未见明显的细胞形态学改变,提示 0.23 mg/mL 质量浓度以下的肝力注射液符合逆转剂的浓度要求,可以用于逆转 MDR 的研究。MTT 结果表明,910、227 μ mol/L 以下的苦参碱与盐酸川芎嗪联合作用人肝癌 BLE-7402/5-Fu 耐药细胞株 72 h 能部分逆转该细胞株对 5-Fu 的获得性耐药,而且逆转作用呈浓度依赖性。流式细胞术进一步发现该质量浓度范围的肝力注射液能增强耐药细胞摄取阿霉素的能力,提高耐药细胞内阿霉素 38.61%,提示肝力注射液可能是通过抑制细胞膜载体蛋白的药物外排功能而发挥逆转 MDR 的作用。本研究初步从体外观察了肝力注射液逆转人肝癌细胞获得性多药耐药的作用,至于调整肝力注射液中盐酸川芎嗪与苦参碱的比例是否有助于提高其逆转 MDR 的效能,以及肝力注射液在体内的逆转作用及其确切的作用机制有待于进一步研究。

References:

- [1] Huang M, Liu G T. The study of innate drug resistance of human hepatocellular carcinoma Bel7402 cell line [J]. *Cancer Lett*, 1999, 135: 97-105.
- [2] Henry S H, Bosch F X, Bowers J C. Aflatoxin, hepatitis and worldwide liver cancer risks [J]. *Med Biol*, 2002, 504: 229-233.
- [3] Yuan Y F, Pan Y H, Hu J H, et al. Determination of matrine and tetramethyl-pyrazine hydrochloride in Ganli Injection by HPLC [J]. *West China J Pharm Sci* (华西药科学杂志), 2003, 18(5): 367-369.
- [4] Ling C Q. Problems in cancer treatment and major research of integrative medicine [J]. *J Chin Integr Med* (中西医结合学报), 2003, 1(3): 168-170.
- [5] Gu W, Zhang Y N, Li B, et al. Establishment of a multidrug-resistant cell line BEL-7402/5-FU of human hepatocellular carcinoma and its biological characteristics [J]. *J Chin Integr Med* (中西医结合学报), 2006, 4(3): 265-270.
- [6] Denizot F, Lang R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival, Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability [J]. *J Immunol Methods*, 1986, 89: 271-277.
- [7] Zhang H X, Liu Y, Wang Z M, et al. Studies on the confrontation of thermo-chemotherapy of ADM on human multidrug-resistant hepatocellular carcinoma cell line [J]. *Cancer Res Prev Treat* (肿瘤防治研究), 2001, 28(3): 170-172.
- [8] Moskatelo D, Benjak A, Laketa V, et al. Cytotoxic effect of diazenes ontumor cells in vitro [J]. *Chemotherapy*, 2002, 48(1): 36-42.
- [9] Hu Y P, Lin J, Wang Q D, et al. Reversal of adriamycin resistance by verapamil and ligustrazini in mouse ehrlich ascites cancer [J]. *Acta Pharm Sin*, 1993, 28(7): 75-78.
- [10] Mei Y, Shi Y J, Zuo G Q, et al. Study on ligustrazini in reversing multidrug-resistance of HepG2/ADM cell in vitro [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2004, 29(10): 970-973.
- [11] Zhong T, Niu J Q, Wang Z M, et al. Effects of matrine on proliferation and apoptosis of human renal cell carcinoma cell line grc-1 [J]. *J Chin Integr Med* (中西医结合学报), 2006, 4(4): 388-391.
- [12] Zhang L P, Jiang J K, Tam J W, et al. Effects of matrine on proliferation and differentiation in K562 cells [J]. *Leuk Res*, 2001, 25(9): 793-800.
- [13] Chen H Y, Wang C, Yu X Y, et al. Inhibitory effect of 5 chemotherapeutic agents on KBV200 cell line and reverse effect on multidrug resistance of matrine [J]. *Acta Acad Med Mil Tert* (第三军医大学学报), 2006, 28(11): 1231-1233.
- [14] Li G H, Wang M, Sun F J, et al. Study of matrine's use on the reversion of obtained multidrug resistance of mice S180 tumour cell [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2006, 29(1): 40-42.

染料木素诱导人胃癌 BGC-823 细胞凋亡及其分子机制的研究

苏文¹, 刘艳平^{1*}, 李忠魁¹, 张树冰¹, 郑杰¹, 吴丽萍¹, 李宇晟²

(1. 中南大学生物科学与技术学院 细胞生物学系, 湖南长沙 410013;

2. 中南大学湘雅医学院, 湖南长沙 410013)

摘要:目的 探讨染料木素 (genistein) 体外抑制人胃癌 BGC-823 细胞生长及诱导其凋亡的作用机制。方法 采用四甲基偶氮唑盐 (MTT) 法检测染料木素对人胃癌 BGC-823 细胞的增殖抑制效应; DAPI 荧光染色观察细胞凋亡形态; 流式细胞仪检测染料木素作用 24 h 后 BGC-823 细胞的周期分布和凋亡率; RT-PCR 方法检测环氧合酶-2 (COX-2) 在 mRNA 水平的表达; 进一步采用 Western blotting 法检测 COX-2 在蛋白质水平的表达。结果 染料木素对 BGC-823 细胞具有增殖抑制效应, 并有时间及浓度依赖性。染料木素作用 24、48、72 h 的半数抑制浓度

收稿日期: 2006-12-01

基金项目: 湖南省科学技术厅基金资助项目 (03ssy3091)

作者简介: 苏文 (1979—), 男, 湖南省长沙市人, 中南大学 2004 级硕士研究生, 主要从事细胞周期与细胞凋亡的研究。

Tel: (0731) 2650418 E-mail: wensu@mail.csu.edu.cn

* 通讯作者 刘艳平 Tel: (0731) 2650418 E-mail: ypliu@xysm.net

(IC₅₀) 分别为 (81.04±1.03)、(31.85±2.26)、(20.73±2.11) μg/mL。10~80 μg/mL 染料木素作用 24 h 后, BGC-823 细胞出现核碎裂, 呈现典型的凋亡特征, 细胞被阻滞于 G₂/M 期, 随药物质量浓度的增加, 细胞凋亡率逐渐增加, 细胞内 COX-2 表达在 mRNA 水平和蛋白质水平均下调。结论 染料木素对人 BGC-823 细胞有较强的抑制增殖和诱导凋亡作用, 其机制可能与抑制 COX-2 表达有关。

关键词: 染料木素; BGC-823 细胞; 增殖; 环氧合酶-2; 凋亡

中图分类号: R286.91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)06-0874-05

Apoptosis induced by genistein in human gastric cancer BGC-823 cells and its molecular mechanisms

SU Wen¹, LIU Yan-ping¹, LI Zhong-kui¹, ZHANG Shu-bing¹, ZHENG Jie¹,
WU Li-ping¹, LI Yu-sheng²

(1. Department of Cell Biology, College of Bioscience and Technology, Central South University, Changsha 410013, China; 2. Xiangya School of Medicine, Central South University, Changsha 410013, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of genistein on COX-2 expression in human gastric cancer BGC-823 cells and to explore its potential mechanisms of inhibiting proliferation and inducing apoptosis. **Methods** MTT Assay was used to observe the effect of genistein after 24 h on proliferation of BGC-823 cells. Cell cycle and apoptosis were analyzed by flow cytometry (FCM) and DAPI staining. Transcription level of COX-2 was detected by RT-PCR and protein level of COX-2 was detected by Western blotting. **Results** Genistein significantly inhibited the proliferation of BGC-823 cells in dose- and time-dependent manners, the IC₅₀ value of genistein at 24, 48, and 72 h were (81.04±1.03), (31.85±2.26), and (20.73±2.11) μg/mL, respectively. When treated with 10—80 μg/mL genistein for 24 h, BGC-823 cells were arrested at G₂/M phase, and the apoptotic rate was increased along with the increase of genistein concentration, meanwhile, COX-2 expression at transcription and protein level was decreased. **Conclusion** Genistein has a stronger inhibition on proliferation and induction on apoptosis of BGC-823 cells through inhibiting COX-2 expression.

Key words: genistein; BGC-823 cells; proliferation; cyclooxygenase-2 (COX-2); apoptosis

染料木素 (genistein) 属于黄酮类化合物, 广泛存在于豆类作物和齿状植物中, 从染料木 (金雀花), 广豆根, 槐实, 红车轴草, 黄羽扁豆根、花, 高丽槐心, 黄花木茎, 野葛花等多种中药中均能提取到。其具有雌激素、抗氧化、调血脂等功能, 可预防骨质疏松症、阿尔茨海默氏病、动脉硬化以及乳腺癌、前列腺癌等肿瘤疾病^[1]; 近年来研究发现染料木素对多种肿瘤细胞系具有生长抑制、细胞毒性和诱导凋亡的作用^[2], 但其抗肿瘤的作用机制尚不十分清楚。本研究以环氧合酶-2 (COX-2) 为肿瘤细胞凋亡的作用靶点, 进一步探讨染料木素抗癌的分子作用机制。

1 材料

人胃癌细胞株 BGC-823 细胞由中南大学细胞中心保种使用。RPMI-1640 粉末购自 Gibco 公司; 小牛血清购自北京鼎国公司; 染料木素购自南京青泽医药科技开发有限公司 (质量分数≥98%, 用 DMSO 溶解, 调整 DMSO 终体积分数为 0.06%); 碘化丙啶 (PI) 染料购自 Sigma 公司; 四甲基偶氮唑盐 (MTT) 和 DMSO 购自 Amresco 公司。兔抗人 COX-2 单克隆抗体购自 Cayman Chemical 公

司。小鼠抗人 β-actin 单克隆抗体购自 Sigma 公司。辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 抗体和辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠 IgG 抗体及 ECL 化学发光试剂均购自 Kirkegaard Perry Laboratories 公司。Olympus 倒置显微镜、Olympus BX-60 荧光显微镜为日本奥林巴斯公司产品; BIO-RAD 550 酶标仪为 Biorad 公司产品; EPICS 流式细胞仪及 Mcycle 分析软件为 Coulter 公司产品。

2 方法

2.1 细胞培养: 人胃癌 BGC-823 细胞用含 10% 小牛血清的 RPMI-1640 培养基, 置 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养, 取对数生长期细胞进行实验。

2.2 MTT 实验: 细胞用 RPMI-1640 培养液稀释, 将细胞制成 1×10⁵/mL 的单细胞悬液, 接种于 96 孔板, 每孔 100 μL, 于 37℃、5% CO₂ 及饱和湿度条件下培养 24 h。对照组换上 100 μL 新鲜培养液, 药物组换上 100 μL 含不同质量浓度 (10、20、40、60、80 μg/mL) 染料木素的培养液。分别培养 24、48、72 h 后, 每孔加入 MTT 20 μL, 继续培养 4 h, 吸去上清液, 加 DMSO 120 μL, 振荡 10 min, 使结晶充分

溶解,在酶标仪上读取 570 nm 处吸光度(A)值。计算细胞增殖抑制率,采用 Bliss 法计算半数抑制浓度(IC₅₀)。

抑制率=(对照组 A₅₇₀-药物组 A₅₇₀)/对照组 A₅₇₀×100%

2.3 荧光染色观察细胞凋亡的形态:选用不同质量浓度(0、10、20、40、60、80 μg/mL)染料木素作用于 BGC-823 细胞,培养 24 h 后,收获细胞用 PBS 洗 3 次后,0.4% 多聚甲醛(pH 7.4,PBS 配制)室温下固定 30 min,弃去固定液,并用 PBS 洗 2 次,用 1% TritonX-100 作用 4 min,加入适量的 0.5 mg/L 4,6-脒脒-2-苯基吡啶(DAPI)荧光染色 60 min,用 PBS 冲洗 3 次,取 10 μL 滴片干燥,荧光显微镜观察并拍照。

2.4 流式细胞仪检测细胞的周期分布和凋亡率:选用不同质量浓度(0、10、20、40、60、80 μg/mL)染料木素作用于 BGC-823 细胞,培养 24 h 后,收集各组细胞各 1×10⁶个,加入 70% 冷乙醇 1 mL,4℃ 固定过夜。染色前 1 000 r/min,离心 5 min,除去固定液,0.01 mmol/L PBS 洗 3 次,加 500 μL PBS 重悬细胞,加入 RNaseA 和 PI(PI 终质量浓度 5.0 μg/mL,RNaseA 终质量浓度 20 μg/mL),37℃ 避光水浴 30 min,流式细胞仪检测细胞周期各个阶段细胞的百分率和凋亡细胞百分率,并用 Modfitlt2.0 软件分析。

2.5 RT-PCR 法检测 BGC-823 细胞 COX-2 mRNA 表达:分别收集以 0、10、20、40、60、80 μg/mL 染料木素处理 24 h 的细胞 1×10⁷个,以一步法提取总 RNA,定量后按试剂盒进行逆转录总 cDNA,逆转录产物进行聚合酶链反应。COX-2 引物:上游为 5'-GAATGGGGTGATGAGCAGTT-3',下游为 5'-CAGAAGGGCAGGATACAGC-3',扩增片段 561 bp;β-actin 引物:上游为 5'-ATCATGTTTGAGACCTTCAACACC-3',下游为 5'-CATGGTGGTGCCGACAG-3',扩增片段 552 bp。取 PCR 产物 10 μL 电泳,凝胶成像系统下观察并摄影分析。实验重复 3 次。

2.6 Western blotting 检测 BGC-823 细胞 COX-2 蛋白表达:分别收集以 0、10、20、40、60、80 μg/mL 染料木素处理 24 h 的细胞 5×10⁶个,PBS 洗 3 次,加入 5×变性裂解液[60 mmol/L Tris-HCl(pH 6.8)、2.5% 甘油、2% SDS、0.05% 2-巯基乙醇、0.1% 溴酚蓝]80 μL,将细胞刮下,100℃ 变性,取上清测量蛋白浓度。以 SDS-PAGE 电泳,电转移至

PVDF 膜,封闭后分别加一抗(兔抗人 COX-2 单克隆抗体、小鼠抗人 β-actin 单克隆抗体)孵育 1 h,漂洗后加入二抗(辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 抗体和辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠 IgG 抗体)孵育 1 h,再次漂洗后加入 ECL 化学发光试剂显色,曝光。结果以 β-actin 为内对照,分析 COX-2 蛋白表达。实验重复 3 次。

2.7 统计学分析:所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS12.0 统计软件进行分析。

3 结果

3.1 染料木素对 BGC-823 细胞增殖的影响:MTT 检测结果表明染料木素对 BGC-823 细胞具有增殖抑制作用,并呈剂量和时间依赖性。随药物质量浓度的增加和作用时间的延长,细胞增殖抑制作用明显加强,见图 1。当染料木素的质量浓度增加为 80 μg/mL 时,BGC-823 细胞增殖受到严重抑制。染料木素作用 24、48、72 h 的 IC₅₀ 分别为 (81.04±1.03)、(31.85±2.26)、(20.73±2.11) μg/mL。

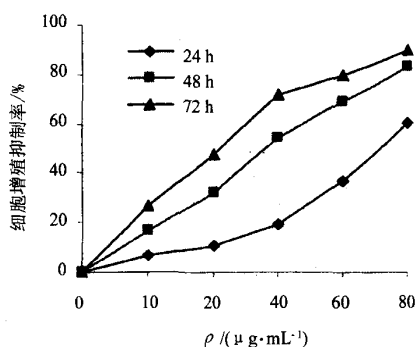


图 1 染料木素对 BGC-823 细胞增殖的抑制作用
($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 1 Inhibition of genistein on proliferation of BGC-823 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

3.2 荧光染色观察细胞凋亡的形态:对照组和药物组经 DAPI 染色后,在荧光显微镜下可见:对照组细胞呈均匀蓝色,核膜完整,细胞结构正常,表示对照组细胞为生长状态良好的活细胞;而药物组细胞细胞核出现断裂的颗粒和片状荧光,染色质周边化,月牙状;表明染料木素能诱导 BGC-823 细胞发生凋亡。

3.3 流式细胞仪测定结果:不同质量浓度染料木素作用 24 h 后,随着药物质量浓度的增加,G₀/G₁期细胞比例逐渐下降,而 G₂/M 期细胞比例上升,细胞凋亡率逐渐增加。见表 1。

3.4 染料木素对 BGC-823 细胞 COX-2 mRNA 表达的影响:琼脂糖凝胶电泳结果表明,不同质量浓度染料木素作用 24 h 后,随着药物质量浓度的增加,

COX-2 的 PCR 扩增条带亮度明显逐渐减弱,说明染料木素在 mRNA 水平可以使 COX-2 基因表达下调。见图 2。

3.5 染料木素对 BGC-823 细胞 COX-2 蛋白表达的影响: Western blotting 结果表明,不同质量浓度染料木素作用 24 h 后,随着药物质量浓度的增加,COX-2 蛋白表达逐渐减弱,见图 3。

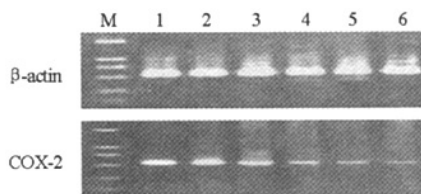
表 1 染料木素作用 BGC-823 细胞 24 h 细胞周期和凋亡率的变化 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 1 Changes of cell cycle and cell apoptosis rate of BGC-823 cells treated with genistein for 24 h ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	$\rho/$ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	细胞周期分布/%			凋亡率/%
		G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M	
对照	—	63.0 $\pm$ 2.00	30.8 $\pm$ 1.96	6.0 $\pm$ 3.10	1.92 $\pm$ 0.12
染料木素	10	59.8 $\pm$ 2.26	31.4 $\pm$ 2.08	8.5 $\pm$ 1.68	9.92 $\pm$ 1.12*
	20	41.9 $\pm$ 2.78	34.4 $\pm$ 1.59	13.7 $\pm$ 1.76*	12.40 $\pm$ 0.78*
	40	34.3 $\pm$ 2.54	38.0 $\pm$ 2.47	27.3 $\pm$ 3.04*	38.10 $\pm$ 0.66*
	60	33.2 $\pm$ 1.29	37.2 $\pm$ 2.48	29.3 $\pm$ 4.33*	62.60 $\pm$ 1.13*
	80	26.0 $\pm$ 1.99	30.6 $\pm$ 3.26	33.7 $\pm$ 1.02*	85.80 $\pm$ 0.21*

与对照组比较: * $P<0.05$

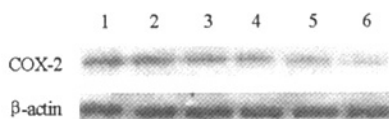
* $P<0.05$ vs control group



M-Maker 1~6-0,10,20,40,60,80 $\mu\text{g/mL}$ 染料木素
M-Marker 1~6-0, 10, 20, 40, 60, and 80 $\mu\text{g/mL}$ genistein

图 2 染料木素对 BGC-823 细胞 COX-2 mRNA 表达的影响

Fig. 2 Effect of genistein on COX-2 mRNA expression in BGC-823 cell



1~6-0,10,20,40,60,80 $\mu\text{g/mL}$ 染料木素
1~6-0, 10, 20, 40, 60, and 80 $\mu\text{g/mL}$ genistein

图 3 染料木素对 BGC-823 细胞 COX-2 蛋白表达的影响

Fig. 3 Effect of genistein on COX-2 protein expression in BGC-823 cells

4 讨论

染料木素抗肿瘤活性最早是《神农本草经》记载的大豆,生大豆,味甘平,涂肿痛。近年发现染料木素具有较强的抗癌活性,对乳腺癌、前列腺癌、肝癌、胃癌、大肠癌等多种肿瘤细胞具有杀伤和诱导凋亡作

用^[2]。本实验用染料木素对人胃癌 BGC-823 细胞进行处理,发现染料木素对 BGC-823 细胞有显著的增殖抑制作用,并呈时间和浓度依赖性;荧光显微镜下可见细胞核变小,出现断裂的颗粒和片状荧光,呈现明显的凋亡形态;进一步流式细胞仪分析显示,随染料木素质量浓度的增加,G₀/G₁期细胞逐渐减少,G₂/M 期细胞增多,出现 G₂/M 期阻滞,凋亡细胞显著增多;说明染料木素对 BGC-823 细胞有显著增殖抑制和诱导凋亡的作用。

细胞凋亡是一个多基因参与的、复杂的生命过程,特异性诱导肿瘤细胞凋亡,已成为肿瘤治疗研究的靶点之一^[3],近年来研究发现环氧合酶(Cyclooxygenase, COX)是诱导肿瘤细胞凋亡的重要作用靶点,COX 主要作用为催化花生四烯酸产生一组化学性质各异的前列腺素(PGs),包括 PGE₂、PGI₂、PGF_{2α}等。目前已明确其有两种异构体 COX-1 和 COX-2。COX-1 是管家基因,而 COX-2 在多数正常组织中并不表达,在炎症及各种癌组织中如结肠癌、胃癌及胰腺癌中均有升高,众多实验证据表明 COX-2 在癌症的发生过程中起重要的作用^[4,5]。研究表明 COX-2 促进癌症发生的机制主要通过增加 PGE₂水平、抑制凋亡等参与肿瘤的形成^[6],研究证实 COX-2 催化产生的 PGs 可增强肿瘤细胞的生长^[7],其中 PGE₂可通过诱导 BCL-2 的表达而抑制细胞凋亡^[8],COX-2 特异性抑制剂和非特异性抑制剂对多种肿瘤细胞均可引起凋亡^[9,10]。然而以抑制 COX-2 表达为肿瘤细胞凋亡的作用靶点的药物主要是非甾体类抗炎药(NSAIDs)等化学药物^[11],而不良反应少的中药及其有效成分以抑制 COX-2 诱导肿瘤细胞凋亡研究较少,本实验从 mRNA 水平和蛋白质水平证明染料木素抑制 COX-2 的表达,从而诱导 BGC-823 细胞凋亡。

综上所述,本实验研究发现染料木素对 BGC-823 细胞有显著增殖抑制作用,从细胞周期阻滞和抑制凋亡基因 COX-2 的表达方面,证实了染料木素诱导 BGC-823 细胞凋亡的可能作用机制,为中药有效成分寻找新的抗肿瘤靶点提供实验依据,其具体的作用机制值得进一步研究。

References:

- [1] Li L, Qian Z M. Progress of the research on pharmacological actions and health functions of soybean isoflavones [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2002, 37(10): 724-726.
- [2] Tian L, Wang Y P, Zhang Z. Progress of the research on anti-tumor effect of soybean isoflavones [J]. *West China Med J* (华西医学), 2004, 19(2): 336-337.
- [3] Kerr J F, Winterford C M, Hrmon B V. Apoptosis: Its

- significance in cancer and cancer therapy [J]. *Cancer*, 1994, 73(8): 2013-2026.
- [4] Vane J R, Bakhle Y S, Botting R M. Cyclooxygenases 1 and 2 [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1998, 38: 97-120.
- [5] Dubois R N, Abramson S B, Crofford L, et al. Cyclooxygenase in biology and disease [J]. *FASEB J*, 1998, 12: 1063-1073.
- [6] Xu X C. COX-2 inhibitors in cancer treatment and prevention, a recent development [J]. *Anticancer Drugs*, 2002, 13(2): 127-137.
- [7] Rudnick D A, Perlmuter D H, Muglia L J. Prostaglandins are required for CREB activation and cellular proliferation during liver regeneration [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(15): 8885-8890.
- [8] Sheng H, Shao J, Morrow J D, et al. Modulation of apoptosis and Bcl-2 expression by prostaglandin E2 in human colon cancer cells [J]. *Cancer Res*, 1998, 58(2): 362-366.
- [9] Sawaoka H, Tsuji S, Tsujii M, et al. Cyclooxygenase inhibitors suppress angiogenesis and reduce tumor growth *in vivo* [J]. *Lab Invest*, 1999, 79(12): 1469-1477.
- [10] Sun Y, Tan X, Haf E, et al. Cyclooxygenase-2 overexpression reduces apoptotic susceptibility by inhibiting the cytochrome c-dependent apoptotic pathway in human colon cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(21): 6323-6328.
- [11] Grosch S, Maier T J, Schiffmann S, et al. Cyclooxygenase-2 (COX-2)-independent anticarcinogenic effects of selective COX-2 inhibitors [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2006, 98(11): 736-747.

川芎嗪对中波紫外线辐射后细胞光产物影响 及其光保护作用机制的研究

林向飞, 骆丹*, 徐晶, 吉玺, 朱洁, 徐丽萍

(南京医科大学第一附属医院 江苏省人民医院 皮肤科, 江苏 南京 210029)

摘要:目的 观察中波紫外线 (UVB) 辐射后永生角质形成细胞株 (HaCaT 细胞) 中光产物环丁烷嘧啶二聚体 (CPDs) 的产生和清除情况, 观察川芎嗪对 UVB 辐射后细胞光产物的影响并探讨其保护作用机制。方法 采用 30 mJ/cm² UVB 照射培养的 HaCaT 细胞, 加入川芎嗪干预处理, 采用免疫组织化学法检测 CPDs, 以 RT-PCR 法和 Western blotting 法检测各受试组中 p53 和增殖细胞核抗原 (PCNA) 的 mRNA 和蛋白的表达水平。结果 UVB 辐射后 HaCaT 细胞中 CPDs 生成, 0.5 h 达高峰, 辐射后 4 h 内清除速率较快, 4 h 后清除速率较慢直至辐射 24 h。川芎嗪处理 UVB 辐射的细胞中 CPDs 少于单纯照射组 ($P < 0.05$)。川芎嗪可下调 p53 (34.9%) 和 PCNA (30.9%) 的 mRNA 表达, 还可下调 p53 (23.1%) 和 PCNA (24.9%) 的蛋白表达。结论 HaCaT 细胞对 UVB 照射所致光产物 CPDs 的清除存在快速期及慢速期; 川芎嗪可降低光产物 CPDs 水平。川芎嗪的光保护作用可能与其下调修复相关调控分子 p53 和 PCNA 基因及蛋白表达有关。

关键词: 中波紫外线 (UVB) 辐射; 环丁烷嘧啶二聚体 (CPDs); 川芎嗪; p53; PCNA

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)06-0878-05

Effect of ligustrazine on photo-products and its photo-protective mechanisms after UVB irradiation

LIN Xiang-fei, LUO Dan, XU Jing, JI Xi, ZHU Jie, XU Li-xian

(Department of Dermatology, First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China)

Abstract: **Objective** To observe the production and removal of photo-product, cyclobutane pyrimidine dimers (CPDs), in HaCaT cells induced by UVB irradiation and intervention effect of ligustrazine, and to investigate its photo-protective mechanisms on HaCaT cells damaged from UVB irradiation. **Methods** HaCaT cells were cultured or irradiated with UVB irradiation of 30 mJ/cm² and then treated with ligustrazine. The production and removal of CPDs were examined by immunohistochemical method. The mRNA and protein expressions of p53 and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) were detected by RT-PCR and Western blotting assay, respectively. **Results** CPDs appeared in HaCaT cells, reached the peak at 0.5 h and removed rapidly during the first 4 h, and then removed slowly until 24 h after UVB irradiation. The quantity of CPDs in HaCaT cells under UVB irradiation in ligustrazine-treated group was less than that in merely irradiated group ($P < 0.05$). The mRNA expression of p53 (34.9%)

收稿日期: 2006-12-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30371294)

作者简介: 林向飞 (1979—), 女, 江苏南京人, 现于南京医科大学攻读皮肤性病博士学位, 研究方向为光损伤与光保护机制研究及中药的干预作用机制研究。E-mail: xiaoling79@sina.com

* 通讯作者 骆丹

染料木素诱导人胃癌BGC-823细胞凋亡及其分子机制的研究

作者：[苏文](#)，[刘艳平](#)，[李忠魁](#)，[张树冰](#)，[郑杰](#)，[吴丽萍](#)，[李宇晟](#)，[SU Wen](#)，[LIU Yan-ping](#)，[LI Zhong-kui](#)，[ZHANG Shu-bing](#)，[ZHENG Jie](#)，[WU Li-ping](#)，[LI Yu-sheng](#)

作者单位：[苏文, 刘艳平, 李忠魁, 张树冰, 郑杰, 吴丽萍, SU Wen, LIU Yan-ping, LI Zhong-kui, ZHANG Shu-bing, ZHENG Jie, WU Li-ping](#)([中南大学生物科学与技术学院, 细胞生物学系, 湖南, 长沙, 410013](#))，[李宇晟, LI Yu-sheng](#)([中南大学湘雅医学院, 湖南, 长沙, 410013](#))

刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**

英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)

年，卷(期)：2007, 38(6)

参考文献(11条)

1. [Li L;Qian Z M Progress of the research on pharmacological actions and health functions of soybean isoflavones](#)[期刊论文]-[中国药学杂志](#) 2002(10)
2. [Tian L;Wang Y P;Zhang Z Progress of the research on anti-tumor effect of soybean isoflavones](#)[期刊论文]-[华西医学](#) 2004(02)
3. [Kerr J F;Winterford C M;Hrmon B V Apoptosis:Its significance in cancer and cancer therapy](#)[外文期刊] 1994(08)
4. [Vane J R;Bakhle Y S;Botting R M Cyclooxygenases 1 and 2](#)[外文期刊] 1998(0)
5. [Dubois R N;Abramson S B;Crofford L Cyclooxygenase in biology and disease](#) 1998
6. [Xu X C COX-2 inhibitors in cancer treatment and prevention,a recent development](#)[外文期刊] 2002(02)
7. [Rudnick D A;Perlmutter D H;Muglia L J Prostaglandins are required for CREB activation and cellular proliferation during liver regeneration](#)[外文期刊] 2001(15)
8. [Sheng H;Shao J;Morrow J D Modulation of apoptosis and Bcl-2 expression by prostaglandin E2 in human colon cancer cells](#)[外文期刊] 1998(02)
9. [Sawaoka H;Tsuji S;Tsuji M Cyclooxygenase inhibitors suppress angiogenesis and reduce tumor growth in vivo](#)[外文期刊] 1999(12)
10. [Sun Y;Tan X;Haf E Cyclooxygenase-2 overexpression reduceds apoptotic susceptibility by inhibiting the cytochrome c-dependent apoptotic pathway in human colon cancer cells](#) 2002(21)
11. [Grosch S;Maier T J;Schiffmann S Cyclooxygenase-2\(COX-2\)-independent anticarcinogenic effects of selective COX-2 inhibitors](#) 2006(11)

本文读者也读过(10条)

1. [吴丽萍](#) 染料木素对人胃癌细胞BGC-823的实验研究[学位论文]2009
2. [吴丽萍](#). [李宇晟](#). [刘艳平](#). [WU Li-ping](#). [LI Yu-sheng](#). [LIU Yan-ping](#) 染料木素抗肿瘤机制的研究进展[期刊论文]-[国际遗传学杂志](#)2009, 32(1)
3. [戴支凯](#). [黄姣娥](#). [余丽梅](#). [徐庆](#). [DAI Zhi-kai](#). [HUANG Jiao-e](#). [Yu Li-mei](#). [XU Qing](#) 染料木素的体外抗肿瘤作用研究[期刊论文]-[时珍国医国药](#)2007, 18(12)
4. [刘静](#). [刘艳平](#). [何莉芳](#). [周汨波](#). [郑杰](#) 浅议细胞生物学理论教学的技巧[期刊论文]-[山西医科大学学报\(基础医学教育版\)](#)2002, 4(3)
5. [苏文](#) 染料木素抑制人胃癌细胞BGC-823的增殖和诱导细胞凋亡的机制[学位论文]2007
6. [柯进晶](#). [邵钦树](#). [凌志强](#). [Ke Jinjing](#). [Shao Qinshu](#). [Ling Zhiqiang](#) 三氧化二砷对人胃癌MKN45细胞凋亡的影响[期刊论文]-[医学研究杂志](#)2006, 35(7)

7. [樊娟](#), [王林芳](#), [孔芹](#), [FAN Juan](#), [WANG Lin-fang](#), [KONG Qin](#) 染料木素及其钆配合物与DNA的相互作用[期刊论文]-[陕西师范大学学报（自然科学版）](#) 2007, 35(2)
8. [龚燕飞](#), [曾庆仁](#), [张祖萍](#), [刘艳平](#) 日本血吸虫染色体核型及其G带带型分析[期刊论文]-[中国寄生虫病防治杂志](#) 2004, 17(3)
9. [郑杰](#), [刘艳平](#), [宗永立](#), [李忠魁](#), [苏文](#), [曾建国](#), [ZHENG Jie](#), [LIU Yan-ping](#), [ZONG Yong-li](#), [LI Zhong-kui](#), [SU Wen](#), [ZENG Jian-guo](#) 红车轴草提取物对胃癌BGC-823细胞凋亡的影响[期刊论文]-[生命科学研究](#) 2006, 10(2)
10. [刘景东](#), [刘惠敏](#), [王憬](#), [王秀卿](#), [甘露](#) 槐角多糖含量测定方法的研究[期刊论文]-[白求恩医学院学报](#) 2007, 5(3)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200706034.aspx