

- 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, Perlmutter 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

and PCNA (30.9%) was down regulated, and so were the protein expressions of p53 (23.1%) and PCNA (24.9%), by ligustrazine, respectively. **Conclusion** There seems to be two phases in the removal of CPDs; a rapid phase and a slower phase after UVB irradiation. Ligustrazine could decrease the level of CPDs. Down-regulation of the mRNA and protein expressions of DNA damage and repair related proteins p53 and PCNA may be a part of photo-protective mechanisms of ligustrazine.

Key words: UVB irradiation; cyclobutane pyrimidine dimers (CPDs); ligustrazine; p53; proliferating cell nuclear antigen (PCNA)

紫外线是引起皮肤晒伤、老化和皮肤肿瘤的主要环境因素。其中中波紫外线 (UVB, 280~320 nm) 常可导致细胞 DNA 损伤形成光产物, 主要有两种类型即环丁烷嘧啶二聚体 (CPDs) 和 6-4 光产物 [(6-4) PP_s]^[1], 其中 CPDs 约占 80%, 具有特征性和代表性; 这些光产物如没有及时清除修复或修复不完善, 将成为皮肤癌的初始突变^[2]。UVB 辐射后生物体对光产物的产生具有清除功能, 并且表现为短时间内的快速期及相对滞后的缓慢期^[3]。p53 和增殖细胞核抗原 (PCNA) 等多种酶与蛋白参与清除与修复活动, 同时修复活动也会受到外界因素如药物的影响^[3,4]。多项研究已证实川芎的生物学效应很广泛, 可以吸收紫外线、减少紫外线引起的细胞凋亡、抗过氧化以及抗肿瘤等作用^[5,6]。但川芎对 UVB 辐射后皮肤细胞光产物 CPDs 的产生及清除情况的影响以及对某些修复相关调控分子 p53 和 PCNA 作用未见报道。川芎的主要活性成分是川芎嗪。故本实验主要观察 UVB 辐射后 CPDs 生成和清除情况与川芎嗪对 UVB 辐射后细胞光产物的影响; 同时初步探讨川芎嗪的保护作用机制。

1 材料与仪器

1.1 材料: 永生化人角质形成细胞株 HaCaT 细胞: 由上海长海医院皮肤科教研室惠赠。RPMI-1640 培养基 (美国 Gibco 生物公司), 小牛血清 (杭州四季青生物公司), 嘧啶二聚体单抗 (美国 Sigma 生物公司), 免疫组化试剂盒、Western blotting 试剂盒和 DAB 显色试剂盒 (武汉博士德生物工程有限公司), RT-PCR 试剂盒 (美国 Promega 生物公司), 川芎嗪 (中国药品生物制品检定所, 质量分数 95%)。川芎嗪溶液配制: 以 10% 小牛血清的 RPMI-1640 培养基无菌配制质量浓度为 1 mg/mL 的川芎嗪母液。

1.2 仪器: GeneAmp 2400 型 PCR 仪 (美国 Perkin Elmer 公司), Western blotting 装置和 HOOD II 型凝胶成像系统 (意大利 BIO-RAD 公司), SUV-100 日光紫外线模拟器及 UVB 辐照度显示器 (上海 Sigma 高技术有限公司), 二氧化碳培

养箱 (美国 Heraeus 公司), CH 型倒置光学显微镜 (日本奥林巴斯公司)。

2 方法

2.1 细胞培养与细胞处理: 在 37℃、5% CO₂ 条件下将 HaCaT 细胞培养于细胞培养箱中。以 0.25% 胰酶和 0.02% EDTA 消化, 用含 10% 小牛血清的 RPMI-1640 培养基调整其浓度为 1×10⁶/mL。将无菌盖玻片放入 6 孔板中, 每张盖玻片上滴加 0.6 mL 细胞悬液, 6~8 h 细胞贴壁后每孔再加入 1 mL 含 10% 小牛血清的 RPMI-1640 培养基继续培养。将部分细胞悬液定量接种于直径 3.5 cm 培养皿中继续培养。待细胞达 90% 融合后进行药物干预处理和/或紫外线照射, 然后进行免疫组织化学实验、RT-PCR 和 Western blotting 实验。

2.2 实验分组与相关因素的处理

2.2.1 免疫组化实验: 将 HaCaT 细胞分为非照光对照组、阴性对照组 (以 PBS 代替一抗作为阴性对照)、照光不同时间组和川芎嗪处理组。川芎嗪组在细胞照光后加入质量浓度为 200 μg/mL 川芎嗪培养液^[5], 孵育细胞 2 h 后进行免疫组化实验; 照光组 UVB 剂量为 30 mJ/cm², 照光后 0、0.5、1、2、3、4、8、12、24 h 进行免疫组化实验; 每组设 3 个平行培养孔。

2.2.2 RT-PCR 和 Western blotting 实验: 将 HaCaT 细胞分为非照光对照组、单纯照光组和川芎嗪处理组。UVB 剂量为 30 mJ/cm², 细胞照光后加入 200 μg/mL 川芎嗪培养液处理细胞, 照光后 4 h 提取总 RNA 和总蛋白; 每组设 3 个平行培养孔。

2.2.3 照光处理: 应用 SUV-100 日光紫外线模拟器进行照射, 辐照度以 UVB 辐照度显示器标定, 其 UVB 剂量=UVB 辐照度×时间 (s)。吸去各组细胞培养液, PBS 冲洗一次, 再加入少量 PBS 覆盖底面; 以宽谱 UVB (发射峰为 313 nm) 照射细胞, 照射后吸取 PBS, 换上新鲜培养基, 继续培养至相应时间。

2.3 免疫组织化学法检测 CPDs: 严格按试剂说明书进行免疫组化操作。覆盖细胞的盖玻片以丙酮液

固定 30 min 后,用 30% H_2O_2 及纯甲醇灭活内源性过氧化物酶,并以 5% BSA 封闭液封闭非特异性抗原。以 PBS 代替一抗作为阴性对照,实验组滴加 1:1 000 稀释的鼠抗人 CPDs 单抗,37 °C 孵育 1 h 后以 PBS 洗 2 min $\times$ 3 次;滴加生物素化山羊抗小鼠 IgG,37 °C 孵育 20 min 后 PBS 洗 2 min $\times$ 3 次;滴加 SABC 室温下静置 20 min 后 PBS 洗 5 min $\times$ 3 次。以 DAB 显色及苏木素复染,经脱水、透明及封片后显微镜下观察拍照。阳性细胞为细胞核棕黄色着色,连续观察 5~10 个高倍视野($\times 400$),计数 200 个细胞总数的阳性细胞数,计算阳性细胞百分率。采用 u 检验进行统计分析。

2.4 RT-PCR 检测 p53 和 PCNA 的 mRNA 表达:收集各组细胞后严格按照 Trizol 说明书提取总 RNA。引物序列由上海博亚生物技术公司合成,其序列如下:p53 预期扩增片段为 643 bp:上游引物 5'-GGACAGCCACGTCTGTGACTTG-3',下游引物 5'-CCAGTGGTTTCTTCTTTGGCTG-3';PCNA 预期扩增片段为 271 bp:上游引物 5'-CAA-GAAGGTGTTGGAGGCAC-3',下游引物 5'-TACTAGCGCCAAGGTATCCG-3';内参照 GAPDH 预期扩增片段为 580 bp:上游引物 5'-AACCATGAGAAGTATGACAACAGC-3',下游引物 5'-CATGTGGGGCCATGAGGTCCACCAC-3'。按 RT-PCR 试剂盒说明逆转录合成 cDNA 并扩增。反应条件:逆转录:42 °C,1 h;逆转录酶灭活及预变性 94 °C,3 min;变性 95 °C,1 min;退火 58~64 °C (GADPH 64 °C,p53 62 °C,PCNA 58 °C),55 s;延伸 72 °C,100 s;35 个循环;最后 68 °C 延伸 7 min;4 °C 保存。取 10 μ L 扩增产物行 2% 琼脂糖凝胶电泳,Marker 为 pUC Mix Marker。BIO-RAD 凝胶成像系统分析,荧光强度为 DNA 样品的相对量,用靶条带峰面积值除以内参照峰值面积值得到反映目的 DNA 表达的半定量分析值。

2.5 Western blotting 法测定细胞 p53 和 PCNA 蛋白表达水平:收集各组细胞后严格按照 Trizol 说明书提取细胞总蛋白。用 Bradford 法测定总蛋白浓度。蛋白质 -20 °C 保存或直接进入下步实验。制备 10% SDS-PAGE 凝胶,每胶槽加入 20 μ g 样本蛋白,恒流 (20 mA/块胶) 电泳 2 h 左右。恒压 100 V 转膜电泳 1 h 左右。封闭液 20~37 °C 封闭 1~2 h,1:500 的一抗 20~37 °C 孵育杂交 2 h 左右,振荡洗膜,1:200 山羊抗小鼠 IgG 二抗,37 °C 孵育 20 min 左右,振荡洗膜。DAB 显色并观察条带情

况,用 BIO-RAD 凝胶成像系统采集和分析数据。光强度即代表蛋白样品的相对量,用靶条带峰面积值除以内参照峰值面积值得到反映目的蛋白表达的半定量分析值。

2.6 统计分析:采用配对 t 检验,以 SPSS 11.0 统计分析软件进行统计学处理。

3 结果

3.1 UVB 辐射对细胞光产物 CPDs 生成的作用:与照光组相比,非照光组和阴性对照组 (以 PBS 代替一抗作为阴性对照) 均未见到阳性细胞。UVB 辐射可以损伤细胞,表现为 DNA 损伤,产生光产物,即表现 CPDs 阳性细胞。

3.2 UVB 照射对光产物 CPDs 产生和清除的时效性影响:HaCaT 细胞进行细胞爬片,然后给予 30 mJ/cm^2 UVB 辐射,分别在照光后不同时间点 (0、0.5、1、2、3、4、8、12、24 h) 取出盖玻片进行免疫组化实验,检测 CPDs 的产生和清除情况,显微镜下计数阳性细胞个数。结果见图 1,照光后在 0~24 h 各检测时点有 CPDs 单抗着色的阳性细胞数,可以看出 UVB 辐射后细胞即开始产生光产物 CPDs,产量在 0.5 h 左右达到高峰;同时细胞也开始清除光产物,辐射后 4 h 内清除速率较快,辐射后 4~24 h 清除速率逐渐降低。

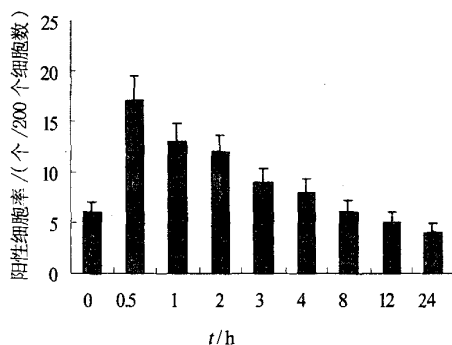


图 1 30 mJ/cm^2 UVB 辐射后细胞中光产物产生和清除情况

Fig. 1 Production and removal of CPDs in cells after UVB irradiation of 30 mJ/cm^2

3.3 川芎嗪对 UVB 辐射后光产物 CPDs 的水平干预作用:为观察川芎嗪的光保护作用,单纯照射组给予 30 mJ/cm^2 UVB 辐射,加药组在 UVB 照射后以质量浓度为 200 $\mu g/mL$ 川芎嗪加入 HaCaT 细胞培养体系,孵育 2 h 后进行免疫组化实验。结果川芎嗪处理组阳性细胞较单纯照射组少,单纯照射组为 12 个阳性细胞 (12 ± 2),川芎嗪组仅为 4 个阳性

细胞 (4 ± 1)。该资料符合 Poisson 分布,对数据进行 u 检验。组间差异显著 ($P<0.05$)。提示加入川芎嗪干预可以降低光产物 CPDs 的量,减轻了 UVB 辐射对细胞的损伤。

3.4 川芎嗪干预光产物 CPDs 产生和清除的作用机制:从 RT-PCR 电泳图 (图 2) 和 Western blotting 凝胶扫描图 (图 3) 可以看出,UVB 辐射后 p53 和 PCNA 的条带密度均强于非照光组,而加入川芎嗪干预后的 p53 和 PCNA 的条带强度较 UVB 照射组减低,p53 和 PCNA 的吸光度值经内参 GAPDH 校正后,结果见表 1。UVB 辐射组 HaCaT 细胞中 p53 和 PCNA 的 mRNA 和蛋白表达水平均高于非照光组,川芎嗪处理组 HaCaT 细胞中的两种光产物切除修复相关调控基因的 mRNA 和蛋白表达水平均低于单纯 UVB 照射组,经内参 GAPDH 校正比较后,p53 和 PCNA 的 mRNA 表达水平分别减少了 34.9% 和 30.9%,两者相应的蛋白表达量分别下降了 23.1% 和 24.9%,差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。

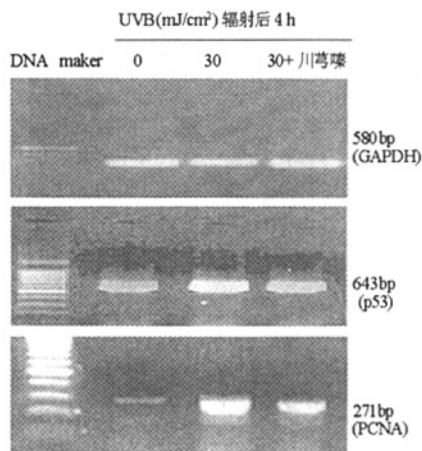


图 2 RT-PCR 电泳图

Fig. 2 RT-PCR Electrophoretogram

表 1 川芎嗪对 UVB 辐射后细胞中 p53 和 PCNA mRNA 及蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Table 1 Effect of ligustrazine on mRNA and protein expressions of p53 and PCNA in cells after UVB irradiation ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	mRNA 表达水平		蛋白表达水平	
	p53	PCNA	p53	PCNA
非照光对照	0.550 ± 0.015	0.624 ± 0.026	0.198 ± 0.016	0.266 ± 0.012
UVB	$1.033\pm 0.061^*$	$1.059\pm 0.059^*$	$0.420\pm 0.011^*$	$0.438\pm 0.021^*$
UVB+川芎嗪	$0.672\pm 0.041^\Delta$	$0.732\pm 0.052^\Delta$	$0.323\pm 0.011^\Delta$	$0.329\pm 0.009^\Delta$

与对照组比较: $^*P<0.05$; 与 UVB 组比较: $^\Delta P<0.05$

$^*P<0.05$ vs control group $^\Delta P<0.05$ vs UVB group

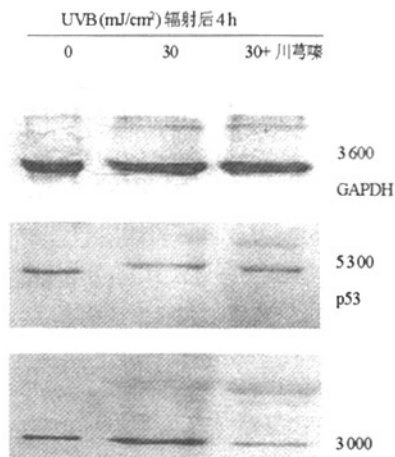


图 3 Western blotting 凝胶成像扫描图

Fig. 3 Western blotting gel imaging scanogram

4 讨论

UVB 波长为 280~320 nm,可诱发皮肤红斑和日晒伤,并与皮肤癌发生有关。UVB 辐射可导致细胞 DNA 损伤,形成光产物,(6-4) PPS 和 CPDs 是主要的两种类型,其中后者约占 80%,两种损伤均能导致基因突变,产生紫外线诱导的突变,如 C→T 或 CC→TT 转换,如修复不完善可成为皮肤癌发生的起始原因。CPDs 是紫外线照射细胞后产生的最具特征性的光产物之一,一般认为 CPDs 比 (6-4) PPs 致癌作用更强,形成的量是 (6-4) PPs 的 3 倍且修复效率较低^[1,2]。生物体本身具有切除和修复光产物的能力,同时外界因素如药物也会干预修复过程。生物体根据 DNA 损伤的类型和需要修复速率的不同选择修复途径^[7]。UVB 辐射产生的 CPDs 和 (6-4) PPs 主要由核苷酸切除修复 (nucleotide excision repair, NER),一般包含辐射后的快速修复期及缓慢修复期^[3,8]。

包括 p53 和 PCNA 在内的 30 多种修复相关酶与蛋白参与皮肤细胞 DNA 损伤的 NER 途径。作为“基因组监护人”的 p53 基因在细胞周期阻滞、DNA 修复、编码 NER 蛋白基因表达中起着中心作用^[7,9]。最近有关小鼠和人体的系统研究证据表明 p53 直接和/或间接参与 NER^[7]。PCNA 是细胞 DNA 合成必不可少的因子^[10],最重要的功能是在核酸代谢中作为 DNA 聚合酶 δ 的辅助蛋白,是 DNA 合成不可缺少的物质,而 DNA 合成是细胞增殖周期中的关键。PCNA 只在增殖细胞中合成,其合成与表达和细胞增殖周期相关,因此可以作为细胞增殖状态的一种标记。在 DNA 修复的全部过程

中,DNA 损伤可以启动分子级联反应,使细胞进入细胞周期的 S 期从而为修复损伤的 DNA 提供时间,此系统依赖于 p53 蛋白和 PCNA 蛋白的活化及在细胞核内积聚,以便参与 DNA 修复和/或细胞周期阻滞。继之 NER 的内切步骤、DNA 修复和转录过程均需要 p53 参与^[7];内切后是损伤链的外切,最后复制因子、DNA 聚合酶和 DNA 连接酶相互作用完成修复^[3,4]。

本实验采用免疫组织化学方法检测了 UVB 辐射后 HaCaT 细胞自然产生和清除光产物 CPDs 的情况,并观察了川芎嗪对 HaCaT 细胞光产物 CPDs 的影响。从结果可以看出,与非照光组和阴性对照组相比,UVB 辐射可以导致细胞 DNA 损伤而产生 CPDs,免疫组化法可以检测到细胞核棕褐色着色的阳性细胞。UVB 辐射后 CPDs 产生和清除的时效作用表现为:照射 UVB 后细胞即开始产生 CPDs,0.5 h 左右达到高峰。同时细胞也在清除 CPDs,在开始的 4 h 内清除速率较快,辐射后 4~24 h,CPDs 清除速率减慢,表现为阳性细胞数减少不明显。

川芎中的阿魏酸能有效地抑制氧自由基产生,保护膜脂质不被氧化,防止 DNA 损伤发生,还可能抑制肿瘤细胞的增殖生长^[6]。川芎嗪为其主要的活性成分。本实验中在 UVB 辐射后加入川芎嗪与细胞共同孵育后阳性细胞数明显少于单纯照射组,证实了川芎嗪的光保护作用在于加药可以降低细胞培养体系中 CPDs 的量,此效应可能与加速照光后已生成的 CPDs 的清除有关,进一步推测可能与前述的抗炎、抗氧化等机制有关。

通过 RT-PCR 法和 Western blotting 法比较了单纯 UVB 辐射 HaCaT 细胞中 p53 和 PCNA 的 mRNA 和蛋白表达水平以及加用川芎嗪后对这些

调控基因表达的影响。从结果中可以看出,30 mJ/cm² UVB 辐射后,HaCaT 细胞 p53 和 PCNA 的 mRNA 和蛋白表达增加,经 UVB 照射再加川芎嗪处理后,两种调控分子的 mRNA 和蛋白表达水平均较单纯 UVB 照射组低,说明川芎嗪降低细胞中 CPDs 水平的光保护作用机制可能与下调这些相关修复基因的 mRNA 和蛋白表达有关。

总之,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 基因和蛋白表达有关。

References:

- [1] Hoeijmakers J H. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer [J]. *Nature*, 2001, 411: 366-374.
- [2] You Y H, Lee D H, Yoon J H, et al. Cyclobutane pyrimidine dimers are responsible for the vast majority of mutations induced by UVB irradiation in mammalian cells [J]. *Biol Chem*, 2001, 276: 44688-44694.
- [3] Tornaletti S, Pfeifer G P. UV damage and repair mechanisms in mammalian cells [J]. *Bioessays*, 1996, 18: 221-228.
- [4] Ford J M, Hanawalt P C. Expression of wild-type p53 is required for efficient global genomic nucleotide excision repair in UV-irradiated human fibroblasts [J]. *Biol Chem*, 1997, 272: 28073-28080.
- [5] Luo D, Min W, Lin X F, et al. Experimental study of photo-protection of hydroxychloroquine and TCMS on human keratinocytes damages from ultraviolet irradiation [J]. *Chin Cosm Med* (中国美容医学), 2003, 12(4): 355-358.
- [6] Zhang H J, Yan Y L, Zhang Z X, et al. Apoptosis of human small cell lung cancer H446 cells induced by tetramethylpyrazine [J]. *Cancer Res Prev Treat* (肿瘤防治研究), 2003, 30(6): 452-454.
- [7] Levine A J. p53, the cellular gatekeeper for growth and division [J]. *Cell*, 1997, 88: 323-331.
- [8] Carr A M, Hoekstra M F. The cellular responses to DNA damage [J]. *Trends Cell Biol*, 1995, 5: 32-40.
- [9] Li G, Ho V C. p53-dependent DNA repair and apoptosis respond differently to high-and low-dose ultraviolet radiation [J]. *Br J Dermatol*, 1998, 139(1): 3-10.

丹参酮 II_A 在大鼠肝微粒体酶中的代谢动力学

毕惠婷¹, 和凡¹, 温莹莹¹, 陈孝², 黄民^{1*}

(1. 中山大学药学院临床药理研究所, 广东 广州 510080; 2. 中山大学附属第一医院 药学部, 广东 广州 510080)

摘要:目的 研究丹参酮 II_A 在大鼠肝微粒体酶中的代谢, 以及选择性细胞色素 P450 (CYP) 酶抑制剂对其代谢的影响。方法 超速离心法制备大鼠肝微粒体, 采用高效液相-质谱联用方法测定孵育液中丹参酮 II_A 原形药物的

收稿日期: 2006-06-10

基金项目: 广州新药临床前评价研究技术平台 (广州市重大项目, 2004Z1-E4051)

作者简介: 黄民 (1963—), 男, 中山大学药学院院长, 教授、博士生导师, 研究方向为药物代谢与药动学、遗传药理学。

Tel: (020) 87334521 Fax: (020) 87334718 E-mail: huangmin@mail.sysu.edu.cn

* 通讯作者 黄民

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

作者：[林向飞](#), [骆丹](#), [徐晶](#), [吉玺](#), [朱洁](#), [徐丽贤](#), [LIN Xiang-fei](#), [LUO Dan](#), [XU Jing](#), [JI Xi](#), [ZHU Jie](#), [XU Li-xian](#)
作者单位：[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](#)
刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2007, 38 (6)
被引用次数: 5次

参考文献(9条)

1.[Hoeijmakers J H](#) [Genome maintenance mechanisms for preventing cancer](#)[外文期刊] 2001
2.[You Y H](#);[Lee D H](#);[Yoon J H](#) [Cyclobutane pyrimidine dimers are responsible for the vast majority of mutations induced by UVB irradiation in mammalian cells](#)[外文期刊] 2001(48)
3.[Tornaletti S](#);[Pfeifer G P](#) [UV damage and repair mechanisms in mammalian cells](#)[外文期刊] 1996(3)
4.[Ford J M](#);[Hanawalt P C](#) [Expression of wild-type p53 is required for efficient global genomic nucleotide excision repair in UV-irradiated human fibroblasts](#)[外文期刊] 1997
5.[Luo D](#);[Min W](#);[Lin X F](#) [Experimental study of photo-protection of hydroxychloroquine and TCMs on human keratinocytes damages from ultraviolet irradiation](#)[期刊论文]-[中国美容医学](#) 2003(04)
6.[Zhang H J](#);[Yan Y L](#);[Zhang Z X](#) [Apoptosis of human small cell lung cancer H446 cells induced by tetramethylpyrazine](#)[期刊论文]-[肿瘤防治研究](#) 2003(06)
7.[Levine A J](#) [p53, the cellular gatekeeper for growth and division](#)[外文期刊] 1997
8.[Carr A M](#);[Hoekstra M F](#) [The cellular responses to DNA damage](#)[外文期刊] 1995
9.[Li G](#);[Ho V C](#) [p53-dependent DNA repair and apoptosis respond differently to high-and low-dose ultraviolet radiation](#)[外文期刊] 1998(01)

本文读者也读过(7条)

1. [靳月华](#). [杜英君](#). [刘桂珍](#) [远紫外辐射诱导紫杉产生的活性氧](#)[期刊论文]-[植物学报](#)2001, 43(4)
2. [郭志丽](#). [顾军](#). [米庆胜](#). [肖飞](#) [来氟米特对角质形成细胞增殖及凋亡的影响](#)[期刊论文]-[中华皮肤科杂志](#) 2003, 36(10)
3. [郭志丽](#). [顾军](#) [来氟米特治疗免疫性皮肤病的应用进展](#)[期刊论文]-[国外医学\(皮肤性病学分册\)](#)2003, 29(2)
4. [郭志丽](#). [顾军](#). [米庆胜](#). [肖飞](#) [来氟米特对角质形成细胞核因子κB的影响](#)[期刊论文]-[中华皮肤科杂志](#)2003, 36(11)
5. [郭志丽](#). [顾军](#). [唐玲](#). [球瑛](#). [米庆胜](#) [来氟米特对HaCaT细胞分泌α-肿瘤坏死因子、白介素-6和8的影响](#)[期刊论文]-[临床皮肤科杂志](#)2004, 33(1)
6. [张玲瑞](#). [邢达](#). [王俊生](#). [曾礼漳](#). [李强](#). [ZHANG Ling-rui](#). [XING Da](#). [WANG Jun-sheng](#). [ZENG Li-zhang](#). [LI Qiang](#) [植物光诱导延迟荧光的紫外辐射环境胁迫监测](#)[期刊论文]-[光电子·激光](#)2007, 18(7)
7. [骆丹](#). [林向飞](#). [徐晶](#). [高洁](#). [刘昕](#). [金颂良](#). [苏荣建](#). [闵玮](#). [沈春花](#). [LUO Dan](#). [LIN Xiang-fei](#). [XU Jing](#). [GAO Jie](#). [LIU Xin](#). [JIN Song-liang](#). [SU Rong-jian](#). [MIN Wei](#). [SHEN Chun-hua](#) [3种中药对中波紫外线辐射HaCaT细胞的干预及其机制](#)[期刊论文]-[中国药理学通报](#)2007, 23(6)

引证文献(5条)

1. [林秉奖](#). [闵玮](#). [骆丹](#) [中波紫外线对HaCaT细胞凋亡、细胞周期变化及p16、c-myc蛋白表达的影响及阿魏酸干预作用](#)

研究[期刊论文]-中国中西医结合皮肤性病学杂志 2010(1)

2. 陶玲, 柏帅, 沈祥春, 杨如会 健骨固本胶囊抗炎镇痛作用的实验研究[期刊论文]-陕西中医 2009(8)
3. 谢璟, 何黎, 郝萍, 万屏 三七皂苷R1对UV辐射皮肤成纤维细胞的影响[期刊论文]-中药新药与临床药理 2011(6)
4. 张慧明, 王海涛, 董银卯, 何聪芬 紫外线诱导皮肤过敏的损伤类型和机理[期刊论文]-香料香精化妆品 2010(1)
5. 袁李梅, 邓丹琪 防晒剂的特性及应用[期刊论文]-皮肤病与性病 2009(2)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200706035.aspx