

• 药理与临床 •

雷公藤内酯醇对非霍奇金淋巴瘤基质细胞衍生因子-1
及其特异性受体生物学轴效应的影响

张 纯, 崔国惠, 刘 芳, 吴秋玲, 陈 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 研究雷公藤内酯醇对非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin lymphoma, NHL)细胞系 Raji 增殖的抑制作用,并探讨雷公藤内酯醇体外抑制 NHL 肿瘤细胞通过淋巴结转移的作用及其分子机制。方法 采用 MTT 法测定雷公藤内酯醇对 Raji 细胞增殖的影响;采用 RT-PCR 方法检测雷公藤内酯醇对 NHL 淋巴结基质细胞中基质细胞衍生因子-1 α (SDF-1 α) 表达的影响;采用流式细胞术检测雷公藤内酯醇作用前后 NHL 淋巴结瘤细胞 CXCR4 受体表达水平的变化;采用 Transwell 微孔隔离室迁移实验观察雷公藤内酯醇对 NHL 淋巴结瘤细胞体外迁移的影响。结果 MTT 法表明低剂量雷公藤内酯醇(6.25~25 nmol/L)即可以时间和剂量依赖方式明显抑制 Raji 细胞的生长;其作用 24、36、48、60、72 h 的 IC_{50} 值分别为 43.06、25.08、7.32、2.66、0.58 nmol/L。RT-PCR 结果显示雷公藤内酯醇能抑制 NHL 淋巴结基质细胞 SDF-1 α 的表达,其中较低剂量组(12.5 nmol/L)与对照组相比有一定的降低,但差异无显著性($P>0.05$),而较高剂量组(25、50 nmol/L)则可明显抑制 SDF-1 α 的表达($P<0.05$),并具有量效关系。流式细胞术分析结果发现经不同浓度雷公藤内酯醇处理后,NHL 淋巴结瘤细胞 CXCR4 表达率与对照组相比逐渐下降($P<0.01$),此抑制效应呈剂量依赖性。Transwell 趋化活性分析显示雷公藤内酯醇既能抑制重组人 SDF-1 α 对 NHL 淋巴结瘤细胞的趋化作用,也能阻断 NHL 淋巴结基质细胞对瘤细胞的体外迁移,且雷公藤内酯醇对趋化作用的抑制具有剂量依赖关系。结论 雷公藤内酯醇具有抗淋巴瘤细胞增殖的效应,并能阻断 NHL 淋巴结瘤细胞通过淋巴结的转移。其抗肿瘤机制及其抗细胞增殖作用与对 NHL SDF-1/CXCR4 生物学轴的抑制效应有关。

关键词:雷公藤内酯醇;非霍奇金淋巴瘤;基质细胞衍生因子-1(SDF-1)

中图分类号:R286.91

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)09-1350-06

Effects of triptolide on stromal cell derived factor-1/CXCR4 biological axis
in non-Hodgkin lymphoma

ZHANG Chun, CUI Guo-hui, LIU Fang, WU Qiu-ling, CHEN Yan

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

Abstract: **Objective** To investigate the antiproliferative effect of triptolide on non-Hodgkin lymphoma (NHL) cell line Raji cells and to study the effects of triptolide on the lymph node metastasis in NHL and its molecular mechanism. **Methods** The effects of triptolide on the growth of Raji cells were studied by MTT assay. The effects of triptolide on stromal cell derived factor-1 α (SDF-1 α) mRNA expression in lymph node stromal cells from patients with NHL were determined by RT-PCR and the effects of triptolide on CXCR4 expression on lymphoma cells freshly isolated from the lymph nodes of these patients were studied by flow cytometric analysis. Transwell chemotaxis assay was used to observe the effect of triptolide on the migration of NHL tumor cells *in vitro*. **Results** Triptolide at low concentrations (6.25—25 nmol/L) inhibited the proliferation of Raji cells in a dose- and time-dependent manner with 24, 36, 48, 60, 72 h- IC_{50} value of 43.06, 25.08, 7.32, 2.66, and 0.58 nmol/L. The RT-PCR results showed that triptolide could inhibit the expression of SDF-1 α in NHL lymph node stromal cells at the concentration of 12.5 nmol/L with no significance ($P>0.05$) while at the concentrations of 25 and 50 nmol/L with an obvious significance ($P<0.05$) and a dose-effect relationship. And triptolide with different concentrations could down-regulate the expression of CXCR4 on NHL lymph node tumor cells ($P<0.01$) in a dose-

收稿日期:2006-11-24

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30472267)

作者简介:张 纯(1973—),女,广东普宁人,博士,主治医师,主要从事恶性血液病分子生物学方面的研究。

Tel: (027) 85726095 E-mail: zhangchun23@yahoo.com.cn

*通讯作者 陈 燕 Tel: (027) 85726387 E-mail: yanchen@public.wh.hb.cn

dependent manner also. Moreover, Transwell chemotaxis assays suggested that triptolide could block the migration of freshly isolated lymphoma cells from NHL lymph node either to rhSDF-1 α or NHL lymph node stromal cells *in vitro* in a dose-dependent manner. **Conclusion** Triptolide could inhibit both the proliferation of NHL cell line Raji cells and the migration of lymphoma cells via lymph node. The antitumor mechanisms of triptolide are related to the antiproliferative effect and the blockage of SDF-1/CXCR4 biological axis.

Key words: triptolide; non-Hodgkin lymphoma (NHL); stromal cell derived factor-1 (SDF-1)

非霍奇金淋巴瘤 (non-Hodgkin lymphoma, NHL) 具有广泛侵袭、转移的特点,常累及多个淋巴结、结外淋巴组织及全身多脏器组织。传统化疗单纯从杀细胞的角度治疗疾病,缓解率有限。若能从抑制肿瘤细胞迁移方面设计治疗方案,势必在 NHL 治疗中开拓一片全新的领域。研究表明基质细胞衍生因子-1 (SDF-1) 与其特异性受体 CXCR4 构成的 SDF-1/CXCR4 生物学轴在多种肿瘤的播散和器官特异性转移中发挥重要的作用^[1]。雷公藤内酯醇 (triptolide) 是从卫矛科雷公藤属植物雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 中分离到的二萜内酯化合物,具有显著的抗炎和调节免疫的作用,近年来其广谱的抗肿瘤作用备受关注^[2]。但其对淋巴瘤细胞是否具有抗增殖作用,以及是否具有抗淋巴瘤细胞侵袭的作用鲜见报道。本实验选择 B-NHL 细胞系 Raji,观察雷公藤内酯醇在体外对 Raji 细胞增殖的影响,并通过观察雷公藤内酯醇对 NHL SDF-1/CXCR4 轴的作用,探讨雷公藤内酯醇抗 NHL 肿瘤侵袭的机制。

1 材料

1.1 药品及主要试剂:雷公藤内酯醇 (质量分数 99%,批号 20000215) 购自美国 Sigma 公司,用二甲亚砜稀释,0.22 μm 微孔滤膜除菌,等量分装, -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存,使用前解冻。DMEM (低糖) 培养基、RPMI-1640 培养基、新生牛血清、胎牛血清、Trizol 购自 Gibco 公司;MTT 购自美国 Janssen Chimica 公司;RT-PCR 试剂盒购自美国 MBI 公司;淋巴细胞分离液 (1.077 g/mL) 购自上海华精生物高科技有限公司;胰蛋白酶购自美国 Amresco 公司;重组人 SDF-1 α (rhSDF-1 α) 购自美国 PEPRO TECH 公司;PE 标记的 CXCR4 单克隆抗体及其同型对照 IgG_{2a} 购自美国 eBioscience 公司;FITC-CD3/PE-CD19 双标单克隆抗体及其同型对照 IgG1/IgG2 α 购自美国 Becton Dickinson 公司;Transwell (孔径 5.0 μm) 购自美国 Corning Incorporated Costar 公司。B-NHL 细胞系 Raji 购自中国科学院上海生物

细胞研究所。培养体系采用含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素、100 U/mL 链霉素的 RPMI-1640 培养基,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 饱和湿度下培养,每 48 h 换液传代 1 次。

1.2 标本来源:所有患者为华中科技大学同济医学院附属协和医院血液病研究所收治病人。7 例淋巴结标本均取自颈部,分别为弥漫大 B 细胞型淋巴瘤 5 例,其中 N 期 3 例,II 期 2 例;周围 T 细胞淋巴瘤 2 例,IV 期 1 例,III 期 1 例。另取 3 例反应增生淋巴结作为阴性对照。

2 方法

2.1 淋巴结基质细胞及瘤细胞的制备:无菌手术切除淋巴结,剪碎制成组织匀浆,通过 100 目钢网及 200 目尼龙网滤过,制成单细胞悬液,采用淋巴细胞分离液以淋巴细胞梯度密度离心法分离单个核细胞, D-Hank's 液洗涤,调整细胞浓度为 $1 \times 10^6/\text{mL}$, 苔盼蓝拒染法鉴定细胞活性在 98% 以上。先取部分细胞,重悬于含 1% 胎牛血清的 D-Hank's 液中,用于分析来源于淋巴结的淋巴瘤细胞表面 CXCR4 受体的表达。其余细胞接种于含 10% 热灭活新生牛血清的 DMEM (低糖) 培养基,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 饱和湿度条件下培养。1~3 d 后弃除悬浮细胞,留贴壁细胞,即淋巴结基质细胞继续培养,此后每 2~3 d 半量换液,每周全量换液,约 2~3 周传代 1 次,取早期传代细胞检测 SDF-1 α 的表达。分别取淋巴结瘤细胞和基质细胞进行实验,实验分 4 组:不加药物作为对照组;另外 3 组为雷公藤内酯醇 (12.5、25、50 nmol/L 处理组)。各组药物与细胞作用 24 h。

2.2 MTT 比色法检测雷公藤内酯醇对 Raji 细胞增殖的影响:取生长良好的 Raji 细胞 ($2 \times 10^5/\text{mL}$) 接种于 96 孔培养板,每孔 200 μL ,设 5 个平行孔,实验重复 3 次。实验组加入不同浓度雷公藤内酯醇 (6.25、12.5、25、50、100 nmol/L),另设对照组和空白组,分别于培养 0、24、36、48、60、72 h 后于每孔加入 MTT (5 mg/mL) 20 μL ,37 $^{\circ}\text{C}$ 继续培养 4 h,离心弃上清,加入 DMSO 150 μL ,振荡使结晶完全溶

解,最后用全自动酶标仪(美国宝特 ELX800)测定 490 nm 波长处吸光度(A)值。细胞增殖抑制率=(1-实验组 A 值/对照组 A 值)×100%,采用药物抑制浓度计算软件(LOGIT 法) 1.0.0 版本计算 IC₅₀值。

2.3 RT-PCR 方法检测淋巴结基质细胞 SDF-1α 的表达:0.25% 胰蛋白酶消化基质细胞,采用 Trizol 一步法提取细胞总 RNA,所提取的总 RNA 用紫外分光光度仪测定 RNA 纯度和浓度(A₂₆₀/A₂₈₀>1.8)。行逆转录反应,将总 RNA 2 μg、随机引物 1 μL、DEPC 水 1 μL 混匀,70 ℃ 温浴 5 min;按顺序加入 5×反应缓冲液 4 μL、10 mmol/L dNTP 2 μL、RNA 酶抑制剂 0.5 μL、DEPC 水 1.5 μL、M-MLV 逆转录酶 1 μL,混匀,42 ℃ 温育 60 min,70 ℃,10 min,终止反应。引物根据 GeneBank 中 SDF-1α cDNA 的序列,通过 Premier 5.0 软件设计,由上海生工生物有限公司合成。引物序列为 SDF-1α 正义链:5'-GCCATGAACGCCAAGGT-CGTGGT-3';反义链:5'-CCTCGAGTGGGTCTA-GCGGAAAG-3',扩增产物为 317 bp。同时选择 β-actin 作为内参照,正义链:5'-TACATGGCT-GGGGT-GTTGAA-3';反义链:5'-AAGAGAGGC-ATCCTCACCT-3',扩增产物为 219 bp。分别取逆转录产物 3 μL、10×反应缓冲液 5 μL、10 mmol/L dNTP 1 μL、2 mmol/L MgCl₂ 3 μL、TaqDNA 聚合酶 1U、正向引物、反向引物各 3 μL,最后加入灭菌双蒸水使终体积为 50 μL,混匀,在 PCR 仪上进行 PCR 反应。扩增条件为 94 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 1 min,60 ℃ 退火 1 min,72 ℃ 延伸 1 min,共进行 30 个循环,72 ℃ 再延伸 10 min。同时扩增 β-actin 作为内参照。PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳鉴定,运用凝胶电泳分析系统(UVITEC)进行条带吸光度分析,结果以 SDF-1α/β-actin 的值表示相对水平。

2.4 流式细胞仪检测淋巴结瘤细胞 CXCR4 的表达:采用 FITC-CD3/PE-CD19 双标单克隆抗体及其同型对照 IgG1/IgG2α 鉴定淋巴结单个核细胞来源,CD19(+)为 B 淋巴细胞来源,CD3(+)为 T 淋巴细胞来源,选择 CD19 或 CD3 阳性表达率超过 80% 的病例进行淋巴瘤细胞 CXCR4 受体的检测。取 1×10⁶ 单个核细胞悬液,分别加入 PE-抗人 CXCR4 单克隆抗体及其同型对照 IgG2α 各 10 μL,4 ℃ 避光孵育 30 min,PBS 洗涤 3 次并重悬,流式细胞仪(Becton Dickinson 公司)检测,结果以 CXCR4 表达阳性百分率表示。

2.5 Transwell 微孔隔离室迁移实验:为检测 rhSDF-1α 对 NHL 淋巴瘤细胞的体外迁移作用,取新鲜分离的淋巴结瘤细胞悬液,调整细胞浓度至 2×10⁶/mL,加入终浓度分别为 0、12.5、25、50 nmol/L 的雷公藤内酯醇,37 ℃、5% CO₂作用 2 h。在 Transwell 上室加入各组细胞悬液 100 μL,下室均加入 500 μL 含 200 ng/mL SDF-1α 的 10% 胎牛血清-RPMI-1640 培养基。另在下室加 500 μL 不含 rhSDF-1α 的培养基作为空白对照。经 37 ℃ 培养箱孵育 4 h 后,小心收集各组下室悬液中的细胞,用台盼蓝拒染法计数,每孔计数 3 次,取平均值,并计算细胞迁移率:下室细胞数/原细胞悬液细胞数×100%。此外,为检测 NHL 患者淋巴结基质细胞对 NHL 淋巴结瘤细胞的体外迁移效应,将 5×10⁴淋巴结基质细胞接种于趋化板下室,置 37 ℃、5% CO₂培养箱中培养 3~5 d。待基质细胞铺满下室腔底面时,将 NHL 淋巴结瘤细胞预先和不同浓度的雷公藤内酯醇孵育 2 h,取细胞悬液 100 μL 加入上室。另在下室加不含淋巴结基质细胞的培养基作为空白对照。37 ℃ 培养箱孵育 4 h,如上法计算细胞迁移率。实验中所用的淋巴结基质细胞取自 1 例弥漫大 B 细胞型淋巴瘤患者的淋巴结。

2.6、统计学处理:结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 11.5 软件对实验数据进行统计学分析,组间比较采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 MTT 分析雷公藤内酯醇对 Raji 细胞增殖的影响:与未加药的对照组相比,低剂量雷公藤内酯醇组(6.25~25 nmol/L)即可以时间和剂量依赖关系明显抑制 Raji 细胞的生长($P<0.05$);而较大剂量组(50~100 nmol/L)随着药物浓度的增加,生长抑制作用增加不明显,且较大剂量组中 24 和 36 h、48 和 60 h 作用时间组的生长抑制率大致相同($P>0.05$),但均明显低于 72 h 作用组,并具有时效关系($P<0.05$),见图 1。雷公藤内酯醇作用 24、36、48、60、72 h 的 IC₅₀ 值分别为 43.06、25.08、7.32、2.66、0.58 nmol/L。

3.2 雷公藤内酯醇对 NHL 淋巴结基质细胞 SDF-1α 表达的影响:RT-PCR 结果显示 7 例 NHL 患者淋巴结基质细胞均明显表达 SDF-1α,而反应性增生淋巴结基质细胞中 SDF-1α 的表达很微弱,二者 SDF-1α 与 β-actin 条带吸光度的比值(SDF-1α/β-actin)分别为 1.22±0.30 和 0.25±0.15($n=3$, $P<0.01$),见图 2。雷公藤内酯醇处理后,可见 SDF-

1 α mRNA 扩增产物条带随雷公藤内酯醇浓度增加逐渐减弱。其中雷公藤内酯 12.5 nmol/L 处理组与

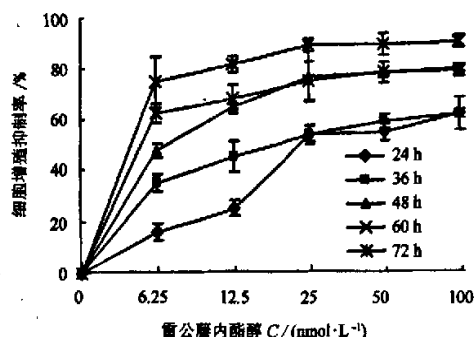
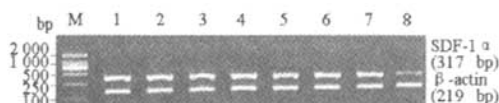


图 1 雷公藤内酯醇对 Raji 细胞增殖的抑制作用 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 1 Inhibition of triptolide on proliferation of Raji cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

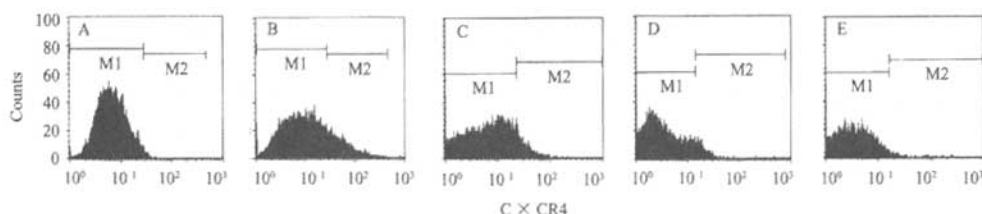


M-marker 1~7 名 NHL 患者淋巴结基质细胞 SDF-1 α 表达 8-反应性增生淋巴结基质细胞 SDF-1 α 的表达

M-marker 1-7-illustrate SDF-1 α mRNA expression in stromal cells from seven NHL patients 8-illustrates SDF-1 α expression in reactive hyperplasia lymph node stromal cells

图 2 NHL 淋巴结基质细胞 SDF-1 α 的表达

Fig. 2 Expression of SDF-1 α in lymph node stromal cells from patients with NHL



A-同型对照 B-对照 C~E-雷公藤内酯醇 12.5、25、50 nmol/L

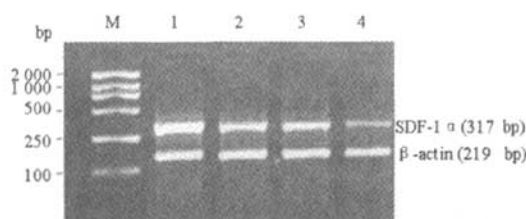
A-isotype control B-control C~E-triptolide 12.5, 25, 50 nmol/L

图 4 雷公藤内酯醇对 NHL 淋巴瘤细胞 CXCR4 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=7$)

Fig. 4 Effect of triptolide on expression of CXCR4 on surface of lymphoma cells freshly isolated from lymph node of patients with NHL ($\bar{x} \pm s$, $n=7$)

3.4 雷公藤内酯醇对 NHL 淋巴细胞体外迁移的影响:趋化分析显示当下室为 rhSDF-1 α 或接种的淋巴结基质细胞时,NHL 淋巴瘤细胞悬液均能有有效的从上室迁移至下室。不同浓度雷公藤内酯醇 (0.12.5、25、50 nmol/L) 作用后,当下室为 rhSDF-1 α 时,细胞迁移率分别为 (75.4 $\pm$ 15.8) %、(59.4 $\pm$ 17.3) %、(30.3 $\pm$ 13.8) %、(21.4 $\pm$ 9.9) %;而当下室为接种的 NHL 患者淋巴结基质细胞时,

未加药组相比表达减少 (1.15 $\pm$ 0.33 vs 1.22 $\pm$ 0.30),但差异无显著性 ($P>0.05$);而雷公藤内酯醇 25 nmol/L 和 50 nmol/L 处理组与未加药组相比,表达明显减弱,并呈量效关系 (25 nmol/L 组 0.88 $\pm$ 0.35;50 nmol/L 组 0.74 $\pm$ 0.32, $n=7$, $P<0.05$),见图 3。



M-marker 1-对照 2~4-雷公藤内酯醇 12.5、25、50 nmol/L
M-marker 1-control 2-4-triptolide 12.5, 25, 50 nmol/L

图 3 雷公藤内酯醇对 NHL 淋巴结基质细胞 SDF-1 α 表达的抑制作用

Fig. 3 Inhibition of triptolide on expression of SDF-1 α in lymph node stromal cells from patients with NHL

3.3 雷公藤内酯醇对 NHL 淋巴瘤细胞 CXCR4 表达的影响:NHL 淋巴瘤细胞 CXCR4 表达率为 (17.37 $\pm$ 7.21) %,经不同浓度雷公藤内酯醇 (12.5、25、50 nmol/L) 处理后,瘤细胞 CXCR4 的表达分别降至 (11.13 $\pm$ 5.66) %、(8.30 $\pm$ 4.61) %、(3.31 $\pm$ 2.35) %,抑制效应呈量效关系,见图 4。

细胞迁移率分别为 (61.1 $\pm$ 15.5) %、(53.4 $\pm$ 17.3) %、(20.8 $\pm$ 7.4) %、(15.4 $\pm$ 6.3) %。结果表明与对照组相比,雷公藤内酯醇能抑制 NHL 淋巴瘤细胞向 rhSDF-1 α 或 NHL 患者淋巴结基质细胞的体外迁移,见图 5。

4 讨论

雷公藤内酯醇是传统中药雷公藤中提纯的含环氧的二萜内酯化合物。雷公藤药理作用广泛,化学成

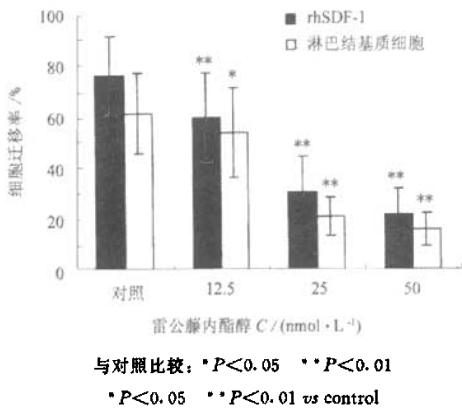


图5 雷公藤内酯醇对 NHL 淋巴结瘤细胞向 rhSDF-1 α 或接种的淋巴结基质细胞体外迁移的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=7$)

Fig. 5 Effect of triptolide on migration of lymphoma cells freshly isolated from patients with NHL towards rhSDF-1 α or cultured lymph node stromal cells *in vitro* ($\bar{x} \pm s$, $n=7$)

分复杂,其中二萜内酯为主要的活性成分,且作用最强,具有重要的临床应用价值^[2]。近年来,其抗肿瘤作用也受到人们的普遍关注。体外实验表明,极低浓度雷公藤内酯醇(2~10 ng/mL)即能抑制非小细胞肺癌(H23)、纤维肉瘤(HT 1080)和结肠癌(COLO 205)等多种肿瘤细胞系的细胞增殖;动物实验显示,雷公藤内酯醇对分别接种黑色素瘤、乳腺癌、膀胱癌和胃癌等肿瘤细胞系的荷瘤小鼠模型的肿瘤细胞生长也起抑制作用^[3]。除直接抑制肿瘤细胞的生长外,雷公藤内酯醇还能诱导多种肿瘤细胞的凋亡,其作用机制与调控癌基因蛋白和凋亡调控蛋白的表达^[4]、抑制核转录因子(NF- κ B)的活化^[5]以及激活 caspase 蛋白活性^[6]有关。本研究结果显示低剂量雷公藤内酯醇((6.25~25 nmol/L)即能以时间和剂量依赖关系有效抑制 B-NHL 细胞系 Raji 细胞的增殖。除此之外,研究发现雷公藤内酯醇还具有抑制黑色素瘤细胞 B16F10 向小鼠肺部和脾脏的体外迁移,但具体机制不明^[7]。

SDF-1 是趋化因子 CXC 亚家族的重要成员之一,与其受体 CXCR4 具有高度的亲和力及绝对的特异性。目前研究表明,SDF-1 与 CXCR4 构成的生物学轴不仅参与细胞炎症、造血干细胞迁移和归巢等重要生理过程,而且还与肿瘤细胞的浸润和转移密切相关^[1]。Muller 等^[8]报道人乳腺癌细胞系、乳腺癌原发灶和转移灶均高表达 CXCR4 受体,而在乳腺癌最常见的转移部位如淋巴结、肺、肝脏和骨髓则

高水平的表达其相应的配体 SDF-1。来自正常肺和肝脏的组织提取物对乳腺癌细胞有明显的趋化作用,而来自皮肤、肌肉等罕见转移部位的组织提取物对乳腺癌细胞没有趋化作用。在严重联合免疫缺陷小鼠中用抗 CXCR4 中和抗体可显著抑制人乳腺癌移植瘤的肺部转移,由此提示 SDF-1/CXCR4 轴参与乳腺癌细胞的浸润和转移,并具有一定的器官特异性。Phillips 等^[9]发现手术切除的非小细胞性肺癌(NSCLC)组织和细胞系(A549 和 CALV-1)均表达 CXCR4 受体,并可在 SDF-1 的刺激下发生趋化反应。而 NSCLC 小鼠模型中易发生肿瘤转移的靶器官如肾上腺、骨髓、肝和肺 SDF-1 的表达明显高于原发肿瘤组织,由此形成的 SDF-1 浓度梯度可促进肿瘤细胞向这些器官的迁移。因此阻断 SDF-1/CXCR4 生物学轴的趋化效应有可能成为抗肿瘤转移的新途径。

研究表明 SDF-1/CXCR4 生物学轴与造血系统恶性肿瘤细胞的浸润和迁移也密切相关。CXCR4 受体可在多种起源于淋巴细胞的恶性血液病的肿瘤细胞上表达,如急性淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、毛细胞白血病和恶性淋巴瘤等;且细胞迁移实验显示 rhSDF-1 能诱发这些表达 CXCR4 受体的恶性淋巴细胞的体外迁移^[10~12]。本研究发现 NHL 淋巴结基质细胞高表达 SDF-1 α ,而 NHL 淋巴结瘤细胞表面高表达 CXCR4 受体,体外迁移实验显示 rhSDF-1 α 及 NHL 淋巴结基质细胞均能有效地趋化 NHL 淋巴结瘤细胞的迁移。此结果表明 SDF-1/CXCR4 生物学轴在 NHL 肿瘤细胞的迁移和浸润过程中起重要的作用,因此阻断 SDF-1/CXCR4 轴的趋化效应有可能成为抗肿瘤转移的新途径。

本研究结果表明,雷公藤内酯醇能抑制 NHL 淋巴结基质细胞 SDF-1 α 的表达;同时以剂量依赖方式下调 NHL 淋巴结瘤细胞 CXCR4 的水平;Transwell 趋化活性分析显示雷公藤内酯醇不仅能抑制 rhSDF-1 α 对 NHL 淋巴结瘤细胞的趋化作用,亦能抑制 NHL 淋巴结基质细胞对瘤细胞的体外迁移,此效应也呈量效关系。以上结果提示雷公藤内酯醇能阻断 NHL 淋巴结瘤细胞通过淋巴结的转移,其机制与雷公藤内酯醇对 NHL SDF-1 α /CXCR4 生物学轴的抑制效应有关。由于雷公藤内酯醇不仅具有抑制淋巴瘤细胞增殖的效应,还具有阻断 NHL 肿瘤侵袭的作用,因而有望成为治疗 NHL 的新型药物。

References:

- [1] Kucia M, Reza R, Miekus K, *et al.* Trafficking of normal stem cells and metastasis of cancer stem cells involve similar mechanisms: pivotal role of the SDF-1-CXCR4 axis [J]. *Stem Cells*, 2005, 23(7): 879-894.
- [2] Chen B J. Triptolide, a novel immunosuppressive and anti-inflammatory agent purified from a Chinese herb *Tripterygium wilfordii* Hook F [J]. *Leuk Lymphoma*, 2001, 42(3): 253-265.
- [3] Yang S, Chen J, Guo Z, *et al.* Triptolide inhibits the growth and metastasis of solid tumors [J]. *Mol Cancer Ther*, 2003, 2(9): 65-72.
- [4] Chang W T, Kang J J, Lee K Y, *et al.* Triptolide and chemotherapy cooperate in tumor cell apoptosis. A role for the p53 pathway [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(3): 2221-2227.
- [5] Yin J L, Jie J, Yun G W. Triptolide inhibits transcription factor NF- κ B and induces apoptosis of multiple myeloma cells [J]. *Leuk Res*, 2005, 29(1): 99-105.
- [6] Choi Y J, Kim T G, Kim Y H, *et al.* Immunosuppressant PG490 (triptolide) induces apoptosis through the activation of caspase-3 and down-regulation of XIAP in U937 cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2003, 66(2): 273-280.
- [7] Yang S, Chen J, Guo Z, *et al.* Triptolide inhibits the growth and metastasis of solid tumors [J]. *Mol Cancer Ther*, 2003, 2(1): 65-72.
- [8] Muller A, Horney B, Soto H, *et al.* Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis [J]. *Nature*, 2001, 410(6824): 50-56.
- [9] Phillips R J, Burdick M D, Lutz M, *et al.* The stromal derived factor-1/CXCL12-CXC chemokine receptor 4 biological axis in non-small cell lung cancer metastases [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 167(12): 1676-1686.
- [10] Bertolini F, Dell'Agnola C, Mancuso P, *et al.* CXCR4 neutralization, a novel therapeutic approach for non-Hodgkin's lymphoma [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(11): 3106-3112.
- [11] Trentin L, Cabrelle A, Facco M, *et al.* Homeostatic chemokines drive migration of malignant B cells in patients with non-Hodgkin lymphomas [J]. *Blood*, 2004, 104(2): 502-508.
- [12] Bradstock K F, Makrynika V, Bianchi A, *et al.* Effects of the chemokine stromal cell-derived factor-1 on the migration and localization of precursor-B acute lymphoblastic leukemia cells within bone marrow stromal layers [J]. *Leukemia*, 2000, 14(5): 882-888.

1-羟基-2,3,5-三甲氧基吡酮对脂多糖致小鼠急性肺损伤的保护作用

邢丞,徐波,郭伟,李敏,崔景荣*

(北京大学天然药物及仿生药物国家重点实验室,北京 100083)

摘要:目的 探讨1-羟基-2,3,5-三甲氧基吡酮(QGS)对脂多糖(LPS)致小鼠急性肺损伤的保护作用及其机制。方法 采用ip LPS的方法建立小鼠急性肺损伤模型。检测肺脏指数,酶法检测支气管及肺泡灌洗液(BALF)中NO水平,Western blotting法检测核转录因子 κ B抑制蛋白I κ B- α ,诱导型一氧化氮合成酶(iNOS)及环氧化酶I(COX-2)等蛋白的表达,HE染色观察肺组织病理学改变。结果 QGS 500 mg/kg组能显著降低LPS引起的小鼠的肺脏指数($P < 0.05$)。QGS 250,500 mg/kg组均能显著降低LPS致伤小鼠BALF中NO水平,抑制率分别达到了37%和48.1%。同时QGS 500 mg/kg组还能够明显增加肺组织中I κ B- α 蛋白表达量并下调iNOS及COX-2蛋白表达量。结论 QGS对LPS引起的小鼠急性肺损伤有保护作用,该作用与其增加I κ B- α 蛋白表达而抑制iNOS和COX-2蛋白的表达有关。

关键词:1-羟基-2,3,5-三甲氧基吡酮;脂多糖;急性肺损伤

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)09-1355-05

Protection of 1-hydroxy-2, 3, 5-trimethoxyxanthone on acute lung injury of mice induced by lipopolysaccharide

XING Cheng, XU Bo, GUO Wei, LI Min, CUI Jing-rong

(State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, Peking University, Beijing 100083, China)

Abstract: **Objective** To investigate the protective effects of 1-hydroxy-2, 3, 5-trimethoxyxanthone (QGS) on acute lung injury of mice induced by ip lipopolysaccharide (LPS). **Methods** Mice were pretreated with QGS for 7 d. Murine models of acute lung injury were duplicated by injection of LPS 20 mg/kg intraperitoneally. In 12 h, the lung weight index was observed and the NO level in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) was measured with kits. The lung was also assessed for the

收稿日期:2006-11-17

基金项目:国家高技术研究发展计划(863计划)(2004AA2Z3783)

作者简介:邢丞(1982-),男,北京人,北京大学药学院药理学系研究生,主要研究方向为蛋白酶体抑制剂的抗炎作用及机制。

Tel: (010) 82801161 E-mail: xingcheng41@hotmail.com

*通讯作者 崔景荣 Tel: (010) 82802467 E-mail: jrcui@bjmu.edu.cn