

## 4 讨论

本实验结果显示 CTX-d 对人早幼粒白血病细胞 NB4 具有促凋亡作用。本实验在电镜下观察到, CTX-d (1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 作用于 NB4 细胞 3 h, 即出现典型凋亡改变及线粒体结构改变。NB4 细胞经不同剂量 CTX-d 处理后上流式检测, 作用 3 h, 1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  及 1.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  CTX-d 出现明显的亚  $G_1$  期凋亡峰; 作用 6 h, CTX-d (0.5、1.0、1.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 均出现亚  $G_1$  期凋亡峰, 并与剂量成正相关。可见, 诱导凋亡是 CTX-d 对 NB4 细胞的早期主要作用, 且 CTX-d 对 NB4 细胞的诱导凋亡作用具有剂量依赖及时间依赖关系。Chia 等<sup>[11]</sup>报道, CTX 对神经元细胞的作用以凋亡为主, 对心肌细胞和胶质细胞以坏死为主。Feofanov<sup>[12]</sup>等从眼镜蛇毒中分离的 CTX 可致 HL60 细胞坏死。本实验结果显示 CTX-d 作用早期, NB4 细胞以凋亡为主。

近年来的研究还表明, 诱导肿瘤细胞凋亡是许多抗癌药物的作用机制之一。凋亡主要有两条途径: 一条是胞外信号激活细胞膜表面 Fas/FasL 受体 (CD95), 从而激活 caspases 酶级联反应; 另一条是通过线粒体途径激活 caspases。本实验首次证实 CTX-d 对 NB4 细胞线粒体信号通路的影响: CTX-d (1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 作用 0.5 h, NB4 细胞线粒体膜电位已开始下降, 细胞色素 C 由线粒体释放入胞浆, 膜电位的下降与细胞色素 C 的释放两者变化趋势相符。另外, caspase-9 酶原的量在 CTX-d (1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 作用 1 h 时开始下降, 而活化的 caspase-3 片断 (17 000) 在 0.5 h 即检测到, 表明除了通过 caspase-9, CTX-d 还可能通过其他途径激活 caspase-3。结果显示, CTX-d 可通过降低线粒体膜

电位、细胞色素 C 释放、caspase-9 被活化、激活 caspase-3 等诱导凋亡, 还可能通过其他途径激活 caspase-3, 参与凋亡作用。

## References:

- [1] Chaim-Matyas A, Borkow G, Ovadia M. Isolation and characterization of a cytotoxin P4 from the venom of *Naja nigricollis nigricollis* preferentially active on tumor cells [J]. *Biochem Int*, 1991, 24: 415-421.
- [2] Kaneda N, Hayashi K. Separation of cardiotoxins (cytotoxins) from the venoms of *Naja naja* and *Naja naja atra* by reversed-phase high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr*, 1983, 281: 389-392.
- [3] Ohkura K, Inoue S, Ikeda K, et al. Amino-acid sequences of four cytotoxins (cytotoxins I-IV) purified from the venom of the Thailand cobra, *Naja naja siamensis* [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1988, 954(2): 148-153.
- [4] Efremov R G, Volynsky P E, Arseniev A S, et al. Interaction of cardiotoxins with membranes: a molecular modeling study [J]. *Biophys J*, 2002, 83(1): 144-153.
- [5] Forouhar F, Huang W N, Liu J H, et al. Structural basis of membrane-induced cardiotoxin A3 oligomerization [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 21980-21988.
- [6] Dubovskii P V, Lesovoy D M, Arseniev A S, et al. Interaction of three-finger toxins with phospholipid membranes: comparison of S- and P-type cytotoxins [J]. *Biochem J*, 2005, 387: 807-815.
- [7] Sue S C, Chen K Y, Huang W N, et al. Heparin binding stabilizes the membrane-bound form of cobra cardiotoxin [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277: 2666-2673.
- [8] Wang C H, Wu W G. Amphiphilic beta-sheet cobra cardiotoxin targets mitochondria and disrupts its network [J]. *FEBS Lett*, 2005, 579(14): 3169-3174.
- [9] Feofanov A V, Sharonov G V, Arseniev A S, et al. Cancer cell injury by cytotoxins from cobra venom is mediated through lysosomal damage [J]. *Biochem J*, 2005, 390(1): 11-18.
- [10] Zhu Y G, Chen X C, Chen Z Z, et al. Curcumin attenuates tert-butyl hydroperoxide induced oxidative damage in cortical neurons [J]. *Chin Pharmacol Bull (中国药理学通报)*, 2004, 20(10): 1153-1157.
- [11] Chia H W, Robert M, Shao C L, et al. Cobra cardiotoxin-induced cell death in fetal rat cardiomyocytes and cortical neurons: different pathway but similar cell surface target [J]. *Toxicol*, 2005, 46: 430-440.
- [12] Feofanov A V, Sharonov G V, Dubinnyi M A, et al. Comparative study of structure and activity of cytotoxins from venom of the Cobras *Naja oxiana*, *Naja kaouthia*, and *Naja haje* [J]. *Biochemistry*, 2004, 69: 1148-1157.

甜菜碱对 HepG<sub>2</sub> 人肝癌细胞 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 和细胞膜电位的影响

季宇彬, 杨红丹, 高世勇, 何立巍

(哈尔滨商业大学 生命科学与环境科学研究中心 药物研究所博士后科研工作站, 黑龙江 哈尔滨 150076)

**摘要:**目的 研究甜菜碱对肝癌 HepG<sub>2</sub> 细胞内游离 Ca<sup>2+</sup> 浓度 ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>) 和细胞膜电位的影响。方法 Fluo-3/AM 标记, 激光扫描共聚焦显微镜观察 HepG<sub>2</sub> 细胞 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>, TMRE 标记, 激光扫描共聚焦显微镜测定细胞膜电位的影响。结果 甜菜碱能够升高 HepG<sub>2</sub> 细胞 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>, 降低细胞膜电位。升高 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 的强度具一定的剂量依赖性, 随甜菜碱剂量的增大而升高。甜菜碱 50、25 mg/mL 组与对照组比较差异非常显著 ( $P < 0.01$ ), 甜菜碱 12.5 mg/mL 组

收稿日期: 2007-06-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30400352); 教育部重点项目 (205045); 黑龙江省自然科学基金资助项目 (D200611); 黑龙江省研究生创新基金资助项目 (YJSCX2006-0077HSD)

作者简介: 季宇彬 (1956—), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为肿瘤药理学研究。

与对照组比较差异显著 ( $P < 0.05$ )。给药 48 h 时间段内细胞内的  $[Ca^{2+}]_i$  升高的幅度较大, 72 h 升高幅度相对较小。而降低膜电位上, 在 48 h 时间段内, 甜菜碱 50、25、12.5 mg/mL 各组膜电位均显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 但在 72 h 时间段内甜菜碱 12.5 mg/mL 组与对照组比较没有显著性差异 ( $P > 0.05$ )。结论 甜菜碱通过开放细胞膜上的通透性转换孔道 (MPTP), 从而升高 HepG<sub>2</sub> 细胞  $[Ca^{2+}]_i$ , 启动细胞凋亡机制, 诱导 HepG<sub>2</sub> 细胞凋亡。

关键词: 甜菜碱; 细胞内游离钙离子浓度 ( $[Ca^{2+}]_i$ ); 细胞膜电位; 激光扫描共聚焦显微镜

中图分类号: R286.91 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2007)12-1842-05

## Effects of betaine on $[Ca^{2+}]_i$ and potential of cell membrane in HepG<sub>2</sub> tumor cells

Ji Yu-bin, YANG Hong-dan, GAO Shi-yong, HE Li-wei

(Postdoctoral Research Station, Institute of Materia Medica, Life Sciences and Environmental Sciences Research Center, Harbin Commerce University, Harbin 150076, China)

**Abstract: Objective** To study the effects of betaine on  $[Ca^{2+}]_i$  and potential of cell membrane in HepG<sub>2</sub> tumor cells. **Methods** Staining with Fluo-3/AM,  $[Ca^{2+}]_i$  in HepG<sub>2</sub> tumor cells was observed by laser scanning confocal microscope, staining with TMRE, membrane potential in HepG<sub>2</sub> tumor cells was observed by laser scanning confocal microscope. **Results** After treating with betaine, the  $[Ca^{2+}]_i$  in HepG<sub>2</sub> tumor cells increased while the potential of cell membrane in HepG<sub>2</sub> tumor cells decreased. The elevate intension of  $[Ca^{2+}]_i$  from the divided three groups was in a dose-dependent manner, it will elevate if the betaine dose increases. Compared with the control group, the betaine groups of 50 and 25 mg/mL had the extraordinary significant effect ( $P < 0.01$ ), of 12.5 mg/mL ( $P < 0.05$ ). For the  $[Ca^{2+}]_i$  in HepG<sub>2</sub> tumor cells, there was a big increase at 48 h after betaine treatment, but a less increase at 72 h after betaine treatment. For the potential of cell membrane in HepG<sub>2</sub> tumor cells, the betaine groups of 50, 25, and 12.5 mg/mL had the significant effect ( $P < 0.05$ ) at 48 h after betaine treatment, but the group of 12.5 mg/mL had no notable effect ( $P > 0.05$ ) at 72 h after betaine treatment. **Conclusion** Betaine opens the mitochondrion permeability transition pore (MPTP) to increase the  $[Ca^{2+}]_i$  in HepG<sub>2</sub> tumor cells, which could induce the apoptosis.

**Key words:** betaine;  $[Ca^{2+}]_i$ ; potential of cell membrane; laser scanning confocal microscope

甜菜碱是有机胺类生物碱中的一种季胺型水溶性生物碱, 系甘氨酸三甲基衍生物, 又名甘氨酸甜菜碱、三甲基甘氨酸等, 化学名称为三甲基铵乙内酯, 相对分子质量 117.15。研究表明<sup>[1-5]</sup>, 它是一种甲基化试剂, 可被细胞吸收并参与细胞内的甲基转移过程; 可以抑制大鼠肝细胞膜表皮生长因子 (EGF) 受体与其配基的结合, 并影响 EGF 受体的酪氨酸蛋白激酶活性; 还可抑制 L<sub>1210</sub> 白血病细胞、肉瘤 37 及埃利希瘤等肿瘤细胞株的有丝分裂, 使细胞凋亡<sup>[6,7]</sup>; 抑制 S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠的糖代谢过程<sup>[8]</sup>。前期研究表明, 甜菜碱对人肝癌细胞 HepG<sub>2</sub> 有一定的细胞毒作用, 本实验则通过观察甜菜碱对 HepG<sub>2</sub> 肿瘤细胞内游离  $Ca^{2+}$  浓度  $[Ca^{2+}]_i$  和细胞膜电位的影响, 探讨甜菜碱抗肿瘤作用的分子机制。

### 1 材料

1.1 肿瘤细胞株: 肝癌细胞 HepG<sub>2</sub> (购自美国 ATCC, 黑龙江省肿瘤医院肿瘤研究所传代保种)。

1.2 药品与试剂: 小牛血清和 RPMI-1640 培养基 (Gibco 公司); 阿霉素 (浙江海正药业股份有限公司, 批号 040404); 胰酶 (Gibco 公司); 甜菜碱 (浙江

绿成生物技术有限公司, 质量分数 95%); Fluo-3/AM 荧光探针 (美国 Molecular Probe 公司); TMRE 荧光探针 (美国 Molecular Probe 公司); 其余试剂均为国产分析纯。

1.3 仪器: 流式细胞仪 (美国 Beckman-Coulter 公司); 激光共聚焦扫描显微镜 (德国 Leica 公司); CO<sub>2</sub> 恒温培养箱 (日本三洋公司); 奥林巴斯 CKX-41-32 荧光倒置显微镜 (日本 Olympus 公司); 超净工作台 (苏净集团)。

### 2 方法

2.1 细胞培养: HepG<sub>2</sub> 细胞常规复苏后, 培养于含有 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液中, 置于 CO<sub>2</sub> 培养箱 (37 °C), 5% CO<sub>2</sub>、相对湿度 95% 培养, 2~3 d 传代 1 次。取对数生长期细胞, 浓度为  $2 \times 10^5$ /mL, 铺于 6 孔板中, 每孔 1 mL, 贴壁 24 h 后, 取出培养的细胞, 给药组分别加入终质量浓度为 50、25、12.5 mg/mL 的甜菜碱, 阳性对照组加阿霉素, 药物终质量浓度为 0.1 μg/mL; 阴性对照组加相同体积的培养液。

2.2 激光共聚焦观察甜菜碱对肝癌细胞 HepG<sub>2</sub> 中

[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>的影响:分别在细胞培养 48、72 h 后吸出培养皿中的培养液,用无 Ca<sup>2+</sup> 台氏液洗 3 次,加入终质量浓度为 2 μg/mL 的 Fluo-3 荧光探针每皿 200 μL,37 °C 避光温育 30 min,无 Ca<sup>2+</sup> 台氏液洗 3 次,再用 200 μL 无 Ca<sup>2+</sup> 台氏液覆盖凹槽里全部细胞,激光共聚焦扫描观察。激发波长 488 nm,发射波长 540~570 nm。

2.3 TMRE 单染激光共聚焦观察甜菜碱对肝癌细胞 HepG<sub>2</sub> 线粒体膜电位的影响:分别在细胞培养 48、72 h 后吸出培养皿中的培养液,用不含血清的 RPMI-1640 培养基轻洗细胞 3 次,加入 250 nmol/L TMRE 负载,37 °C 孵育,负载 TMRE 的细胞使用激光共聚焦显微镜观察记录荧光强度。激发波长 568 nm,发射波长 590~630 nm。

2.4 统计学处理:实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,用 *t* 检验进行分析。

3 结果

3.1 甜菜碱作用 48、72 h 肝癌细胞 HepG<sub>2</sub>[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>

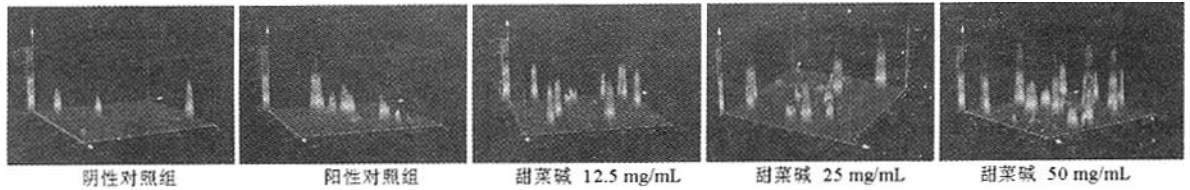


图 1 甜菜碱作用 48 h 肝癌细胞 HepG<sub>2</sub> 荧光强度

Fig. 1 Fluorescence intensity of HepG<sub>2</sub> cells at 48 h after betaine treatment



图 2 甜菜碱作用 72 h 肝癌细胞 HepG<sub>2</sub> 荧光强度

Fig. 2 Fluorescence intensity of HepG<sub>2</sub> cells at 72 h after betaine treatment

3.2 甜菜碱作用 48、72 h 后肝癌细胞线粒体膜电位的变化:肝癌细胞 HepG<sub>2</sub> 在甜菜碱作用 48 h 后,各组细胞膜电位均显著低于阴性对照组 (*P* < 0.05),但作用 72 h 甜菜碱 12.5 mg/mL 组与阴性对照组比较,没有显著性差异 (*P* > 0.05),见表 2。在共聚焦显微镜下可观察到,甜菜碱各剂量组的肝癌细胞 HepG<sub>2</sub> 内 TMRE 荧光强度较阴性对照组明显减弱,说明线粒体内膜两侧电位差下降,而在 72 h 时间段内的细胞要少于 48 h 的。见图 3 和 4。

4 讨论

肿瘤细胞凋亡受一系列凋亡相关基因的调控,

的变化:肝癌细胞 HepG<sub>2</sub> 在甜菜碱作用 48、72 h 后,细胞的 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 均显著高于阴性对照组,甜菜碱 3 个剂量组升高 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 的强度具有一定的剂量依赖性,随甜菜碱剂量的增大而升高。从给药时间长度来看,作用 48 h 细胞内的 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 升高的幅度较大,作用 72 h 细胞内的 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 升高幅度相对较小。见表 1。而在共聚焦显微镜下可观察到作用 72 h 后细胞明显少于作用 48 h 的。见图 1 和 2。

表 1 甜菜碱作用 48、72 h 后 HepG<sub>2</sub> 细胞 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 的变化 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 1 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> Changes of HepG<sub>2</sub> cells at 48 h or 72 h after betaine treatments ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	<i>p</i> / (mg · mL <sup>-1</sup> )	细胞数	[Ca <sup>2+</sup> ] <sub>i</sub>	
			48 h	72 h
对照	—	20	75.73 ± 43.05	19.24 ± 9.25
阿霉素	0.0001	20	82.98 ± 43.55	22.69 ± 16.58
甜菜碱	50	20	121.55 ± 47.99*	30.02 ± 12.08**
	25	20	110.77 ± 47.92*	29.14 ± 12.06**
	12.5	20	118.95 ± 43.69	20.52 ± 49.65*

与对照组比较: \**P* < 0.05 \*\**P* < 0.01

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

表 2 甜菜碱作用 48、72 h 后肝癌细胞 HepG<sub>2</sub> 线粒体膜电位的变化 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 2 Mitochondrion potential changes of HepG<sub>2</sub> cells at 48 h or 72 h after betaine treatments ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	<i>p</i> / (mg · mL <sup>-1</sup> )	细胞数	膜电位	
			48 h	72 h
阴性对照	—	20	84.80 ± 18.29	79.15 ± 26.54
阿霉素	0.0001	20	75.06 ± 22.85	61.54 ± 20.87
甜菜碱	50	20	60.86 ± 47.99*	60.59 ± 29.47*
	25	20	79.28 ± 39.86*	77.58 ± 47.92*
	12.5	20	80.86 ± 19.82	87.61 ± 47.12

与对照组比较: \**P* < 0.05

\**P* < 0.05 vs control group

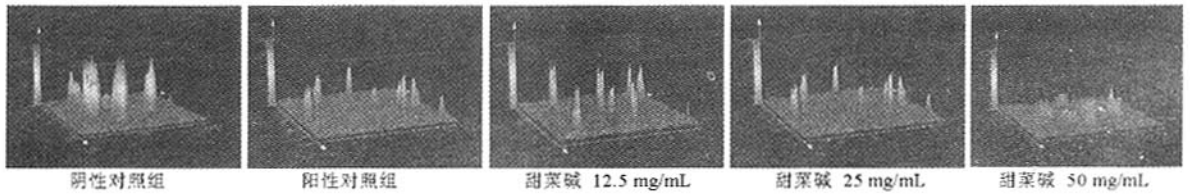


图 3 甜菜碱作用 48 h 后肝癌细胞 HepG<sub>2</sub> 线粒体膜电位荧光强度

Fig. 3 Mitochondrion potential changes of fluorescence intensity of HepG<sub>2</sub> cells at 48 h after betaine treatment

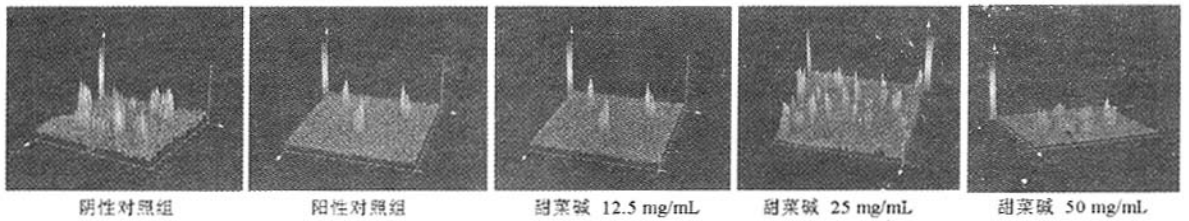


图 4 甜菜碱作用 72 h 后肝癌细胞 HepG<sub>2</sub> 线粒体膜电位荧光强度

Fig. 4 Mitochondrion potential changes of fluorescence intensity of HepG<sub>2</sub> cells at 72 h after betaine treatment

并通过凋亡相关的信号传导系统来实现<sup>[8]</sup>。钙是信号传导过程中一种比较重要的第二信使,钙在体内以两种形式存在:结合态和离子态,只有离子态有生理活性,又分为细胞内  $Ca^{2+}$  和细胞外  $Ca^{2+}$ 。正是甚微的细胞内  $Ca^{2+}$  对细胞凋亡起着重要作用。 $Ca^{2+}$  作为多个信号传导系统的枢纽,存在着多条诱导细胞凋亡的途径: $Ca^{2+}$  与钙调蛋白 (CaM) 结合,激活 CaM-PK,接着活化磷酸酯酶 (PL),催化  $Na^+PH^+$  交换蛋白-1 (NHE-1) 的去磷酸化,抑制  $Na^+PH^+$  交换,同时  $[Ca^{2+}]_i$  升高激活  $Ca^{2+}$ -ATPase,启动  $Ca^{2+}$  外流,这一过程伴有  $H^+$  内流,胞内酸化激活 Dnase 即酸性 Enase,引起 DNA 的降解,激活  $Ca^{2+}$ -P-Mg<sup>2+</sup> 依赖性的核酸内切酶、蛋白酶、蛋白激酶。 $Ca^{2+}$  升高后可直接激活 PKC,同时也可辅助 DG 活化 PKC,PKC 是一个具有双功能的激酶,不仅可调节细胞分化,同时可诱导细胞凋亡;细胞毒性 T 细胞 (CTL) 发挥效应牵涉到两个主要机制也是依靠  $[Ca^{2+}]_i$  急剧升高,而 FasL/Fas 活化需要的则是低水平的持续的  $Ca^{2+}$  内流。这些结果显示不同的  $Ca^{2+}$  信号刺激了不同的 CTL 效应<sup>[10]</sup>。与此同时  $Ca^{2+}$  外流,并伴有  $H^+$  内流,有可能会引起膜电位的改变,据报道<sup>[11]</sup>,线粒体是细胞有氧呼吸的基地和能量储存供给的场所,而线粒体跨膜电位 (mitochondrial transmembran potential,  $\Delta\varphi_m$ ) 的下降被认为是细胞凋亡级联反应过程中最早发生的事件,它发生在细胞核凋亡特征出现之前,一旦线粒体跨膜电位崩溃,则细胞凋亡不可逆转。尽管细胞凋亡的线粒体机制尚未完全明确,但一般认为,细胞受到

凋亡信号刺激后,线粒体发生肿胀,位于线粒体内外膜之间的通透性转换孔道 (mitochondrion permeability transition pore, MPTP) 开放,使线粒体膜内外离子浓度趋向平衡,跨膜电位下降。所以本实验选择  $Ca^{2+}$  和线粒体膜电位作为甜菜碱对肝癌细胞 HepG<sub>2</sub> 作用机制研究的突破点。

本实验应用激光扫描共聚焦技术测定甜菜碱对肝癌细胞 HepG<sub>2</sub>  $[Ca^{2+}]_i$  的动态变化的影响,分为 48、72 h 两个时间段,同时各时间段又分为对照组和不同剂量给药组,以观察甜菜碱影响细胞  $[Ca^{2+}]_i$  的剂量依赖性。实验结果表明,各时间段给药组  $[Ca^{2+}]_i$  均显著高于阴性对照组 ( $P < 0.01$ )。3 个剂量组升高  $[Ca^{2+}]_i$  的强度具一定的剂量依赖性。从不同给药时间长度  $[Ca^{2+}]_i$  变化值来看,48 h  $[Ca^{2+}]_i$  升高的幅度较大,72 h 升高幅度相对较小。这与文献报道  $[Ca^{2+}]_i$  升高与凋亡早期有关相一致。虽然,实验中看到了  $[Ca^{2+}]_i$  升高,但其来源究竟是细胞外钙内流还是内钙释放,需要进一步在实验中加入细胞膜钙离子阻断剂来观察。而甜菜碱影响细胞内线粒体膜电位的剂量依赖性显示,甜菜碱组肝癌细胞 HepG<sub>2</sub> 内 TMRE 荧光强度较阴性对照明显减弱, TMRE 荧光强度的下降,说明线粒体内膜两侧电位差下降,不能提供足够的电位梯度使标记物被吸收和保留在线粒体中;电位差越小,线粒体吸收的染料越少,荧光强度就越弱。因此,甜菜碱降低肝癌细胞 HepG<sub>2</sub> 线粒体膜电位,进而有可能使线粒体跨膜电位崩溃,是使细胞凋亡,从而发挥抗肿瘤作用的机制之一。另外,可以看到,到 72 h 时,共聚焦显微镜下

可观察到的细胞明显减少,这可能和此时已发生 DNA 片段化肿瘤细胞已凋亡有关,这需要下一步实验中来证实。

综上所述,甜菜碱能诱导肝癌细胞 HepG<sub>2</sub> [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>升高,线粒体膜电位降低,可以推测这些机制在甜菜碱诱导肝癌细胞 HepG<sub>2</sub>凋亡过程中起到一定的作用。

References:

[1] Li H, Nie Z M. Studies on betain [J]. *Hunan Agric Sci* (湖南农业科学), 2005 (2): 33-36.

[2] Slow S, Lever M, Lee M B, et al. Betaine analogues alter homocysteine metabolism in rats [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004, 36(5): 870-880.

[3] Ueland P M, Holm P I, Hustad S. Betaine: a key modulator of one-carbon metabolism and homocysteine status [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2005, 43(10): 1069-1075.

[4] Schwahn B C, Wendel U, Lussier-Cacan S, et al. Effects of betaine in a murine model of mild cystathionine-beta-synthase deficiency [J]. *Metabolism*, 2004, 53(5): 594-599.

[5] Fu D H. Identification and qualification of glycine betaine,

proline and trigonelline in grape leaves by HPLC [J]. *Nat Pro Res Dev* (天然产物研究与开发), 2007, 19: 313-315.

[6] Olsen M, Sarup A, Larsson O M, et al. Effect of hyperosmotic conditions on the expression of the betaine-GABA-transporter (BGT-1) in cultured mouse astrocytes [J]. *Neurochem Res*, 2005, 30(6-7): 855-865.

[7] Kong J Q, Zhao Q. Advance in mechanism of apoptosis [J]. *Biotechnol Inf* (生物技术通报), 2002, 3: 15-18.

[8] Zhang Y J, Ji Y B, He L W. Antitumor effect of betaine and its influence on glycometabolism of S<sub>180</sub> bearing mice [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2006, 38(9): 1378-1380.

[9] He J T, Zhou Q H, Yuan S L, et al. Apoptosis-inducing effect of tanshinone and its molecular mechanism on human lung cancer cells [J]. *Chin J Lung Cancer* (中国肺癌杂志), 2002, 5(4): 257-259.

[10] Miller W H J, Schipper H M, Lee J S, et al. Mechanisms of action of arsenic trioxide [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(1): 3893-3903.

[11] Pu X Y, Gao H, Duan G. Mitochondrion and apoptosis [J]. *Anim Sci Veter Med* (动物科学与动物医学), 2003, 20(8): 37-39.

## 玉竹乙醇提取物和分离部位对糖尿病大鼠肾脏的保护作用

师海波,苗艳波,王力平,王 威\*

(吉林省中医中药研究院,吉林 长春 130021)

**摘要:**目的 探讨玉竹乙醇提取物和分离部位对糖尿病大鼠肾脏的保护作用。方法 单次 ip 链脲佐菌素 (STZ) 60 mg/kg 建立实验性糖尿病大鼠模型,分别 ig 给予玉竹乙醇提取物和三氯甲烷、正丁醇分离部位。给药 80 d 后测定血清肌酐 (Cr)、尿素 (Ur)、糖化血红蛋白 (GHb)、肾皮质蛋白质非酶糖基化终末产物 (AGEs)、尿白蛋白 (UAL) 排泄率,并观察肾脏组织病理学改变。结果 玉竹乙醇提取物和三氯甲烷分离部位降低糖尿病大鼠血中 GHb 水平和 UAL 排泄率,抑制肾皮质 AGEs 的形成,同时改善肾脏病理改变;正丁醇分离部位降低 UAL 排泄率。结论 玉竹乙醇提取物和三氯甲烷分离部位对糖尿病大鼠肾脏保护作用机制可能与抑制 AGEs 形成有关。

**关键词:**玉竹;糖尿病肾病 (DN);蛋白质非酶糖基化终末产物 (AGEs)

**中图分类号:**R286.72 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2007)12-1846-04

### Protection of ethanol extract and fractions from *Polygonatum odoratum* on renal lesion in diabetic rats

SHI Hai-bo, MIAO Yan-bo, WANG Li-ping, WANG Wei

(Jilin Province Academy of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Changchun 130021, China)

**Abstract: Objective** To evaluate the protective effects of the ethanol extract and fractions from *Polygonatum odoratum* on renal lesion in diabetic rats. **Methods** An experimental diabetic rat model was successfully induced by one ip injection of streptozotocin (STZ) at a dose of 60 mg/kg. Diabetic rats were ig administrated the ethanol extract or fractions for 80 d. Serum levels of creatinine (Cr), urea (Ur), glycosylation hemoglobin (GHb), renal advanced glycation end products (AGEs), and urinary albumin

收稿日期:2007-04-20

基金项目:国家自然科学基金资助项目 (30400587)

作者简介:师海波(1964—),男,吉林省长春市人,副主任药师,主要从事中药药理研究。

Tel: (0431) 86816857 E-mail: shihaibo3901@163.com

\* 通讯作者 王 威 Tel: (0431) 86816224 E-mail: w. w. wangwei@263.net

# 甜菜碱对HepG2人肝癌细胞[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>和细胞膜电位的影响

作者: 季宇彬, 杨红丹, 高世勇, 何立巍, JI Yu-bin, YANG Hong-dan, GAO Shi-yong,

HE Li-wei

作者单位: 哈尔滨商业大学, 生命科学与环境科学研究中心, 药物研究所博士后科研工作站, 黑龙江, 哈尔滨, 150076

刊名: 中草药 **ISTIC** **PKU**

英文刊名: CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS

年, 卷(期): 2007, 38(12)

被引用次数: 1次

## 参考文献(11条)

1. Li H;Nie Z M Studies on betain 2005(02)
2. Slow S;Lever M;Lee M B Betaine analogues alter homocysteine metabolism in rats[外文期刊] 2004(05)
3. Ueland P M;Holm P I;Hustad S Betaine:a key modulator of one-carbon metabolism and homocysteine status[外文期刊] 2005(10)
4. Schwahn B C;Wendel U;Lussier-Cacan S Effects of betaine in a murine model of mild cystathionine-beta-synthase deficiency[外文期刊] 2004(05)
5. Fu D H Identification and qualification of glycine betaine,proline and trigonelline in grape leaves by HPLC[期刊论文]-天然产物研究与开发 2007(2)
6. Olsen M;Sarup A;Larsson O M Effect of hyperosmotic conditions on the expression of the betaine-GABA-transporter (BGT-1) in cultured mouse astrocytes[外文期刊] 2005(6-7)
7. Kong J Q;Zhao Q Advance in mechanism of apoptosis[期刊论文]-生物技术通报 2002(03)
8. Zhang Y J;Ji Y B;He L W Antitumor effect of betaine and its influence on glycometabolism of S180 bearing mice[期刊论文]-中草药 2006(09)
9. He J T;Zhou Q H;Yuan S L Apoptosis-inducing effect of tanshinone and its molecular mechanism on human lung cancer cells[期刊论文]-中国肺癌杂志 2002(04)
10. Miller W H J;Schipper H M;Lee J S Mechanisms of action of arsenic trioxide[外文期刊] 2002(01)
11. Pu X Y;Gao H;Duan G Mitochondrion and apoptosis[期刊论文]-动物科学与动物医学 2003(08)

## 本文读者也读过(10条)

1. 李楠, 袁媛, 陆庆国, 周传农, 王黎明, LI Nan, YUAN Yuan, LU Qing-guo, ZHOU Chuan-nong, WANG Li-ming 应用激光扫描共聚焦显微技术观察PDT导致癌细胞内钙水平的变化[期刊论文]-军医进修学院学报2000, 21(2)
2. 孙学刚, 伊丽蓉, 贾钰华 定心方对大鼠缺氧及正常心肌细胞内[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>、细胞膜电位和线粒体膜电位的影响[期刊论文]-山东中医药大学学报2001, 25(3)
3. 徐睿, 吕晓宇, 蔡宝昌, 项晓人, 邓旭坤 马钱子碱对人肝癌细胞HepG2细胞膜电位和通透性的影响[期刊论文]-中草药2008, 39(11)
4. 樊勇, 庞岚, 白德成, FAN Yong, PANG Lan, BAI De-cheng 血黏度增高致脑细胞膜电位及线粒体膜电位变化[期刊论文]-兰州大学学报(医学版) 2009, 35(4)
5. 贾钰华, 孙学刚, 赵晓山 定心方对大鼠缺氧及正常心肌细胞内钙、膜电位和线粒体膜电位的影响[期刊论文]-中国中西医结合杂志2001, 21(9)
6. 时昭红, 石拓, 林丽莉, 陶春晖 旋覆代赭汤对胃窦平滑肌细胞收缩和钙离子浓度的影响[会议论文]-2009
7. 郭姗姗, 崔晓兰, 赵晔, 黄洋, 高英杰, 巩文峰 栀子提取物ZG对病毒吸附后宿主细胞膜电位的影响[会议论文]-2006  
刘艳, 陈瑞川, 施文荣, 张鲁榕, 陈奕欣 化学合成抗菌肽tachyplesein对真核细胞膜的作用[会议论文]-2002

9. [汪清](#), [张宇](#), [倪泽称](#), [胡岚亭](#), [阿克拜尔·吾曼尔](#), [毕兴](#) 茶多酚对膀胱移行上皮肿瘤EJ细胞内Ca<sup>2+</sup>的影响[期刊论文]-[新疆医科大学学报](#)2005, 28(9)
10. [姚琰](#), [王军](#), [何文](#) N-三甲基壳聚糖对HaCat细胞膜电位的影响[期刊论文]-[中国药师](#)2009, 12(10)

#### 引证文献(1条)

1. [黄红娜](#), [张丹参](#), [郑晓霞](#), [张力](#), [薛贵平](#) 甜菜碱药理作用的研究进展[期刊论文]-[医学综述](#) 2009(24)

本文链接: [http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zcy200712029.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200712029.aspx)