

藤黄酸对急性白血病细胞 U937 增殖和凋亡的影响 及对核孔蛋白 Nup88 的调控作用

舒文秀, 陈燕*, 何静, 崔国惠

(华中科技大学同济医学院协和医院血液病研究所, 湖北 武汉 430022)

摘要:目的 观察藤黄酸对白血病细胞株 U937 增殖和凋亡的影响及其对核孔蛋白 Nup88 的调控作用, 研究藤黄酸诱导凋亡作用与其调节 Nup88 的相互关系。方法 采用 MTT 比色法检测细胞增殖活性, Annexin-V FITC/PI 双标法及 Hoechst 33258 染色法分析细胞凋亡的改变, 流式细胞术分析细胞周期和细胞内核孔蛋白 Nup88 的改变, RT-PCR 检测藤黄酸对白血病细胞内 Nup88 基因表达的调控作用; 共聚焦显微镜观察 Nup88 蛋白的细胞分布情况。结果 藤黄酸能明显抑制 U937 细胞的增殖, 其抑制作用呈时间、剂量依赖性, 其 24 h 的 IC₅₀ 为 (1.019 ± 0.134) mg/L; 此外, 藤黄酸还具有诱导 U937 细胞凋亡和 G₀/G₁ 期阻滞的作用。核孔蛋白 Nup88 弥漫分布于白血病细胞的核浆之间, 以细胞浆和核膜为主, 经藤黄酸干预后, Nup88 的蛋白和 mRNA 表达水平明显下降, 主要集中于核膜的胞浆面, 偶见胞浆中表达。结论 藤黄酸能明显抑制 U937 白血病细胞的增殖, 并诱导其凋亡。而藤黄酸诱导的核孔蛋白 Nup88 的重新分布以及表达量的下调可能参与了其诱导凋亡作用。

关键词: 藤黄酸; 白血病; 凋亡; Nup88

中图分类号: R286.91 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2008)01-0074-05

Effect on proliferation and apoptosis and regulation on nucleoporin Nup88 in acute leukemic cell U937 by gambogic acid

SHU Wen-xiu, CHEN Yan, HE Jing, CUI Guo-hui

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

Abstract: **Objective** To investigate the effect on proliferation and apoptosis and the regulation on nucleoporin Nup88 in acute leukemic cell U937 by gambogic acid (GA) *in vitro*. To study the relationship between the effect and the regulation. **Methods** The effect of GA on the growth of U937 cells was studied by MTT assay. Apoptosis was detected through Annexin-V FITC/PI double-labeled cytometry and Hoechst 33258 staining. The influence on cell cycle was studied by a propidium iodide method. Both flow cytometry (FCM) and RT-PCR technologies were applied to assessing the expression of Nup88, whereas, the cell localization of Nup88 was determined by using confocal microscopy method. **Results** GA presented striking proliferation inhibition, as well as apoptosis induction potency on U937 cells *in vitro* in a time- and dose-dependent manner. The IC₅₀ value for 24 h was (1.019 ± 0.134) mg/L. Moreover, cells treated with GA showed accumulation in G₀/G₁ phase and reduction in the percentage of cells in S phase. The expression of Nup88 was down-regulated in U937 cells by GA in a dose-dependent manner, and the disposition of Nup88 was also switched from widely dispersed in both nucleus and cytoplasm to situate only at the cytoplasmic side of nuclear rim, occasionally in cytoplasm sporadically. **Conclusion** GA exhibits the potent proliferation inhibition, apoptosis induction, and cell-cycle arrest in leukemia cells, which might correspond to the down-regulation of the expression, as well as the disposition, of nucleoporin Nup88.

Key words: gambogic acid (GA); leukemia; apoptosis; Nup88

近年来,藤黄酸的抗肿瘤作用倍受人们关注,藤黄酸是传统中药藤黄 *Garcinia morella* Desv. 的主要成分,其抗肿瘤作用在多种实体瘤细胞中已得到

证实,对其作用机制也作了一些推测,但其对白血病的作用研究甚少。在前期研究中,发现核孔蛋白 Nup88 在白血病发病中起着关键作用。本研究通过

* 收稿日期: 2007-04-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30472267)

作者简介: 舒文秀(1979—),女,湖北省武汉市人,在读博士,住院医师,研究方向为血液的恶性肿瘤。

Tel: (027) 85726387 E-mail: teengel@126.com

* 通讯作者 陈燕 Tel: (027) 85726387 Fax: (027) 85726916 E-mail: yanchen@public.wh.hb.cn

观察藤黄酸对急性白血病细胞株 U 937 细胞增殖和凋亡的影响及其对 Nup88 的调控作用, 探讨两者的相互关系, 为藤黄酸的临床应用提供新的理论基础。

1 材料

藤黄酸质量分数 > 95%, 购自美国 Calbiochem 公司, 用二甲基亚砜 (DM SO) 稀释成 4 g/L , 等量分装, -20°C 保存, 临用前用 RPM I-1640 培养液稀释。四甲基偶氮唑盐 (MTT)、DM SO、碘化丙锭 (PI)、Hoechst 33258 荧光染液、RNase A 均购自 Sigma 公司; Annexin-V FITC/PI 试剂盒购自深圳晶美生物工程有限公司; RNA 抽提试剂 Trizol 和 RPM I-1640 培养基由 Gibco BRL 公司提供; 胎牛血清 (FCS) 购自杭州四季青生物工程材料有限公司。氯仿、异戊醇、乙醇为国产分析纯。RT-PCR 试剂盒购自 Fementas 公司, 引物由上海英骏生物技术有限公司合成。小鼠抗人单克隆抗体 Nup88 购自美国 Santa Cruz 公司, FITC 标记的山羊抗小鼠二抗 IgG 购自北京中杉试剂公司。人急性白血病细胞株 U 937 由华中科技大学同济医学院免疫教研室提供。

2 方法

2.1 细胞培养及处理: U 937 细胞使用含 10% 灭活 FCS、青霉素 100 IU/mL 、链霉素 $100 \mu\text{g/mL}$ 的 RPM I-1640 培养液, 37°C 、5% CO_2 水饱和湿度条件下培养。每 1~2 天换液传代 1 次, 取活细胞大于 98% 的对数生长期细胞, 细胞悬液终浓度为 $1 \times 10^6/\text{mL}$, 分别与不同质量浓度的藤黄酸共同培养后, 检测各项指标。

2.2 MTT 比色法检测细胞增殖: 将处于对数生长期的 U 937 细胞 ($2 \times 10^5/\text{mL}$) 接种于 96 孔板, 每孔体积 $200 \mu\text{L}$, 经不同质量浓度藤黄酸处理 24~72 h 后, 加入 5 mg/mL MTT $20 \mu\text{L}$, 37°C 继续孵育 4 h, 小心吸去培养上清液, 每孔加入 $150 \mu\text{L}$ DM SO, 振荡 10 min, 使结晶充分溶解后于 Bio-Rad M 450 酶标仪测定 492 nm 波长处的各孔吸光度 (A), 计算细胞增殖抑制率 [增殖抑制率 = $(1 - \text{实验组 A 值}/\text{对照组 A 值}) \times 100\%$]。实验重复 3 次。

2.3 Annexin-V FITC/PI 双标法流式细胞术检测细胞凋亡: 收集不同质量浓度藤黄酸处理后的 U 937 细胞及对照组细胞, 用 4°C 预冷的 PBS 洗涤 2 次, 以 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 的细胞密度重悬于 $100 \mu\text{L}$ 的 $1 \times$ 结合缓冲液中, 加入 $5 \mu\text{L}$ Annexin-V FITC 和 $10 \mu\text{L}$ PI 染液, 轻轻混匀, 避光室温反应 15 min, 再加入 $1 \times$ 结合缓冲液 $300 \mu\text{L}$, 于 1 h 内上机检测。

2.4 Hoechst 33258 荧光染色观察: 收集各处理组的 U 937 细胞, PBS 洗 1 次, 加 0.5 mL 甲醇-冰醋酸 (3:1) 室温固定 20 min, 离心去除固定液, PBS 洗 1 次, 将细胞涂到预先经多聚赖氨酸处理的玻片上, 置于空气中干燥; 用含有 0.2% Triton X-100 的 PBS 处理 5 min, PBS 洗 1 次; 滴加 Hoechst 33258 染液 ($10 \mu\text{g/L}$) 37°C , 20 min, 避光; 弃去染色液, 用蒸馏水洗 3 次; 甘油封片。于荧光显微镜下观察, 并照相保存。

2.5 流式细胞术检测细胞周期: 收集各处理组的 U 937 细胞 1×10^6 个, 以 PBS 缓冲液清洗 2 次, 用 70% 冷乙醇 4°C 固定过夜, 离心, 用 PBS 洗 1 次, 加入 $20 \mu\text{L}$ RNase A 于 37°C 水浴 30 min, 再加入 $300 \sim 500 \mu\text{L}$ PI 染液混匀, 至 4°C 避光 30 min, 用流式细胞仪 (美国 Becton Dickinson 公司) 进行检测, 记录激发波长 488 nm 处的红色荧光。

2.6 流式细胞术检测 Nup88 蛋白的表达: 收集各处理组的 U 937 细胞, PBS 洗 1 次, 调整细胞数为 $1 \times 10^6/\text{mL}$, 分别加入小鼠抗人 Nup88 (1:100), 4°C 孵育过夜, PBS 洗 1 次, 滴加 FITC 标记的 IgG₁ 二抗 (1:100), 37°C 孵育 30 min, PBS 洗 1 次, $400 \mu\text{L}$ PBS 重悬, 上流式细胞仪检测。

2.7 激光共聚焦显微镜检测 Nup88 的细胞分布: 收获各处理组细胞, 4% 多聚甲醛固定 10 min; 含 0.2% Triton X-100 PBS 置冰上破膜 10 min; 用含 3% 牛血清蛋白及 0.02% Triton X-100 的 PBS 封闭 30 min; 加一抗 Nup88 (1:100), 37°C 孵育 60 min; PBS 洗 6 次; PI 染细胞核 15 min; PBS 洗 3 次; 再将细胞涂到预先经多聚赖氨酸处理的玻片上; 甘油封片后, 用激光共聚焦显微镜 (Olympus, 日本) 观测。

2.8 RT-PCR 检测 Nup88 mRNA 表达: Trizol 法提取细胞总 RNA, 按说明书合成 cDNA。以细胞 cDNA 的第一链为模板, 进行 PCR 反应。Nup88 的 PCR 扩增条件为: 94°C 、5 min, 94°C 、30 s, 60°C 、1 min, 循环 10 次; 94°C 、30 s, 58°C 、40 s, 72°C 、1 min, 循环 30 次; 72°C 延伸 7 min, 4°C 保存。PCR 产物的电泳分析: 取 $5 \mu\text{L}$ 产物经 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳, 紫外照相并进行扫描分析, 以 Nup88/ β -actin 进行 Nup88 基因表达水平的半定量分析。

Nup88 引物序列为: 上游引物: 5'-GGA G-CTTGCTTTGAAACTGG-3'; 下游引物: 5'-ATTTCCCGCA GACTTTTCCT-3'; 扩增产物为 741 bp。 β -actin 引物序列为: 上游引物: 5'-TGA-

GACCTTCAACACCCCA G-3; 下游引物: 5'-GC-CA TCTCTTGCTCGAA GTC-3; 扩增产物为 312 bp。

2.9 统计方法: 应用统计学软件 SPSS 13.0 进行分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 藤黄酸对白血病细胞 U 937 增殖的影响: 分别以 0.062 5、0.125、0.25、0.5、1.0、2.0、4.0 mg/L 藤黄酸作用 U 937 细胞后, 各处理组细胞的增殖活性明显低于对照组。随着药物作用时间和作用质量浓度的逐渐增加, 藤黄酸对 U 937 细胞的增殖抑制作用逐渐增强, 其 24 h 的 IC₅₀ 为 (1.019 ± 0.134) mg/L, 随着药物作用时间的延长, 其 IC₅₀ 值也逐渐减小, 48、72 h 的 IC₅₀ 分别为 (0.450 ± 0.107)、(0.325 ± 0.079) mg/L, 见图 1。

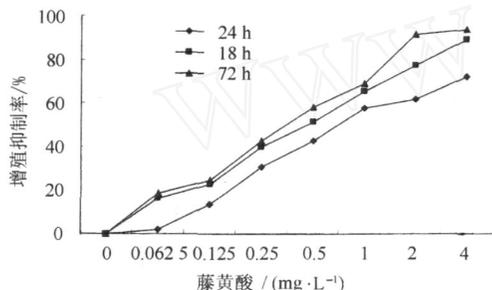


图 1 藤黄酸对 U937 细胞增殖抑制的时效与量效关系 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig 1 Time-effect and dose-effect relationship of proliferation inhibition by GA on U937 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.2 藤黄酸对白血病细胞 U 937 凋亡的影响: Annexin V-FITC/PI 双标法检测藤黄酸对 U 937 细胞凋亡的影响, 其中早期凋亡细胞指 Annexin V-FITC 标记阳性, 而 PI 标记阴性的细胞群; 晚期凋亡细胞指的是 Annexin V-FITC 与 PI 均标记阳性的细胞群; 总凋亡率为早期凋亡率与晚期凋亡率的总和。表 1 结果所示, 随着藤黄酸质量浓度的增加, 越来越多的 U 937 细胞发生凋亡, 0.5 mg/L 藤黄酸诱导 24 h, 其早期凋亡率为 (8.53 ± 0.63)%, 当藤黄酸质量浓度达到 2.0 mg/L 时, 其早期凋亡率升至 (22.68 ± 1.13)%, 总凋亡率为 (31.96 ± 1.31)%。另外, 藤黄酸干预 (1.0 mg/L, 作用 24 h) 的 U 937 细胞经 Hoechst 33258 染色后, 也出现了典型的细胞凋亡形态的改变, 如染色质浓缩、边缘化, 核膜裂解、染色质分割成块状和出现凋亡小体等。

3.3 藤黄酸对 U 937 细胞周期的影响: 藤黄酸可诱

表 1 藤黄酸对 U937 细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Effect of GA on apoptosis of U937 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	$\rho/$ (mg·L ⁻¹)	早期凋亡率/ %	晚期凋亡率/ %	总凋亡率/ %
对照	-	2.29 ± 0.18	1.13 ± 0.13	3.43 ± 0.30
藤黄酸	0.5	8.53 ± 0.63**	4.73 ± 0.19	13.27 ± 0.79**
	1.0	16.77 ± 1.06**	7.07 ± 0.2	23.84 ± 1.26**
	2.0	22.68 ± 1.13**	9.28 ± 0.49	31.96 ± 1.31**

与对照组比较: ***P* < 0.01

***P* < 0.01 vs control group

导 U 937 细胞周期阻滞于 G₀/G₁ 期, 随着藤黄酸质量浓度的增加, G₀/G₁ 期的细胞越来越多, 相应的 S 期细胞逐渐减少, 而 G₂/M 期细胞改变不明显。此外, 当藤黄酸达到作用的最高质量浓度 (2.0 mg/L) 时, 可见明显的亚二倍体峰—凋亡峰, 其凋亡率达 (13.89 ± 1.36)%, 见表 2。

表 2 藤黄酸对 U937 细胞周期的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effect of GA on cell cycle of U937 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	$\rho/$ (mg·L ⁻¹)	细胞周期分布/%			细胞凋亡率/ %
		G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M	
对照	-	36.22 ± 1.04	47.92 ± 1.56	16.59 ± 0.72	0.87 ± 0.42
藤黄酸	0.5	38.65 ± 1.46	43.21 ± 2.07	18.13 ± 3.06	1.62 ± 0.44
	1.0	51.99 ± 2.07*	34.29 ± 3.00**	13.71 ± 2.81	3.12 ± 0.81*
	2.0	65.88 ± 2.70*	22.01 ± 1.22**	12.10 ± 3.54	13.89 ± 1.36**

与对照组比较: **P* < 0.05 ***P* < 0.01

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

3.4 藤黄酸对白血病细胞 U 937 核孔蛋白 Nup88 表达的调控作用: 在未处理的 U 937 细胞中, 存在较高荧光强度的 Nup88 蛋白的表达, 其阳性细胞占总射门细胞的 90% 以上。随着藤黄酸质量浓度的增加, 其蛋白荧光强度逐渐减弱, 阳性细胞比例也逐渐减少。当藤黄酸质量浓度达到最大值 (2.0 mg/L) 时, Nup88 蛋白阳性细胞的比例也降至最低值。为了进一步检测藤黄酸对 Nup88 转录水平的调控作用, 应用 RT-PCR 技术检测了 U 937 细胞内 Nup88 基因表达水平的改变, 同样, 藤黄酸以质量浓度依赖方式下调 U 937 细胞内核孔蛋白 Nup88 的转录水平, 结果见图 2 和表 3。

3.5 激光共聚焦显微镜观察 Nup88 的细胞分布: 激光共聚焦显微镜下, Nup88 弥漫分布于白血病细胞的核浆之间, 见图 3 所示。对照组细胞荧光强度值高达 180.93 ± 8.31, 经 1.0 mg/L 的藤黄酸作用 24 h 后, Nup88 的荧光强度明显减弱, 降至 105.41 ± 9.75 (*P* < 0.05), 其在细胞的分布也主要集中于核膜的胞浆面, 偶见于胞浆中表达。

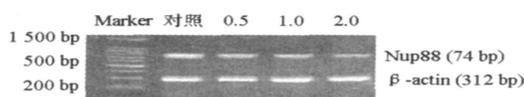


图2 藤黄酸对U937细胞内Nup88蛋白mRNA表达的影响

Fig 2 Effect of GA on expression of Nup88 mRNA in U937 cells

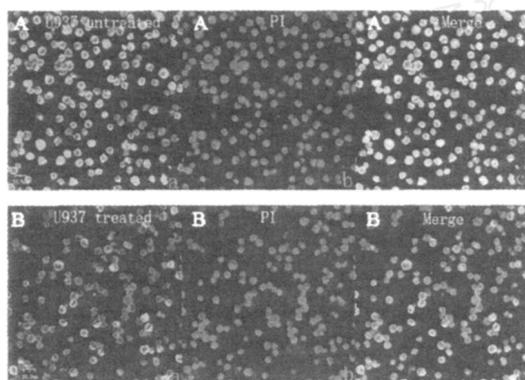
表3 藤黄酸对U937细胞核孔蛋白Nup88的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Effect of GA on expression of nucleoporin Nup88 in U937 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	$\rho/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	Nup88 蛋白表达/%	Nup88 基因表达 (Nup88/ β -actin)
对照	-	96.437 \pm 1.944	0.931 \pm 0.040
藤黄酸	0.5	87.720 \pm 3.548 *	0.853 \pm 0.024 *
	1.0	68.507 \pm 3.452 **	0.627 \pm 0.044 **
	2.0	50.277 \pm 3.780 **	0.481 \pm 0.045 **

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

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



A-藤黄酸治疗前Nup88在细胞内分布 B-1.0 mg/L 藤黄酸治疗后Nup88在细胞内的分布 a-FITC 标记的蛋白荧光图 b-PI 标记的DNA 图 c-图a与图b的融合图

A-expression of Nup88 in U937 cells of control B-expression of Nup88 in cells treated by 1.0 mg/L GA a-protein stained with FITC b-DNA stained with PI c-merging figure a with figure b

图3 藤黄酸对Nup88蛋白在U937白血病细胞中分布的影响

Fig 3 Effects of GA on subcellular localization of Nup88 in U937 cells

4 讨论

早在20世纪80年代,就有学者对藤黄抗肿瘤特性进行了相关报道,并进一步确定了其有效成分藤黄酸的不同于一般抗癌药物的特性,它能选择性地杀死癌细胞,以实体瘤报道的最为多见,而对正常的造血细胞及心、肝、肾等组织器官均无明显损害,故被认为是一种安全有效,可以长期连续使用的抗癌药物^[1,2]。有关其抗癌机制,已有一些报道,但其在白血病中的研究甚是少见。本实验以体外培养的急性

单核细胞白血病细胞系U937作为研究对象,观察藤黄酸对U937细胞的生长抑制和诱导凋亡作用,并探讨其可能的分子机制。

本研究发现,藤黄酸能明显抑制U937细胞的增殖,该抑制作用与药物作用时间和药物作用质量浓度呈正相关。同时,藤黄酸对U937细胞具有较强的诱导凋亡作用,极低质量浓度的藤黄酸(0.5 mg/L)即能诱导U937细胞发生凋亡,并逐渐出现染色质浓缩、边缘化,核膜裂解、染色质分割成块状和凋亡小体等凋亡形态的改变。研究发现,藤黄酸抗凋亡作用可能与其抑制端粒酶活性,诱导c-Myc、bcl-2降解,促进bax、P53等促凋亡蛋白表达有关^[3,4]。另外,转铁蛋白受体做为新发现的藤黄酸结合的受体蛋白,可能在其启动的线粒体途径的凋亡过程中发挥重要作用^[5]。

郭青龙等^[6]在对人胃腺癌SGC-7901细胞的研究中发现,藤黄酸可能通过抑制周期调控蛋白如CDC2/p34、CDK7和cyclin H的表达而诱导细胞周期阻滞于G₂/M期,从而发挥诱导SGC-7901细胞凋亡的作用。为研究藤黄酸对U937细胞的诱导凋亡作用是否也与其阻滞细胞周期进展有关,本研究进一步观察了藤黄酸对U937细胞的周期调控作用。与上述结果相反的是,藤黄酸并不能诱导U937细胞周期阻滞于G₂/M期,随着藤黄酸质量浓度的增加,G₀/G₁期的细胞逐渐增加,S期的细胞逐渐减少。当藤黄酸作用质量浓度达到最大值2.0 mg/L时,可见明显的亚二倍体凋亡峰。

无论是细胞增殖,或是细胞凋亡,都是在一系列分子的精细调控下进行的。而这些分子又并非一成不变的固定于同一亚细胞结构,因而物质的核浆穿梭行为成为调控细胞生物学特性的关键环节之一。作为跨越核膜的唯一通道,核孔复合物(NPC)在核浆穿梭的过程中发挥着重要作用。而核孔蛋白(Nucleoporins, Nups)作为NPC的重要组成部分,除了参与大分子的核质转运,它还在细胞周期、信号转导、凋亡等生命过程中发挥“非转运”的作用。此外,某些Nups的异常直接影响了原癌基因或抑癌基因产物以及信号转导分子等穿梭蛋白的核质转运过程,这往往是导致细胞癌变的一个重要原因。因此,对Nups与肿瘤关系的深入研究,将为肿瘤的诊断和治疗开辟一条新思路。在众多研究的Nups中,Nup88的高表达与肿瘤的关系最为密切。截至目前为止,已在多种肿瘤细胞系和原发的肿瘤组织如胃癌、肝癌、乳腺癌、卵巢癌、肾癌、前列腺癌等实体瘤

中检测到 Nup88 高表达, 并呈弥漫分布, 而并未检测到其他核孔蛋白(如 Nup214 和 Nup153)的表达异常; 相比之下, 在对应的正常组织、良性肿瘤或增殖性病变中, Nup88 呈弱表达和散在分布, 因此, Gould 等^[7]认为 Nup88 可以作为肿瘤诊断的检测指标之一。此外, 大量研究还显示, 肿瘤细胞内 Nup88 的高表达, 无论是在生物学特性方面, 还是生化指标上, 都预测着肿瘤的高度侵袭性和转移倾向, 而其他核孔蛋白并无此特性^[8]。在之前的研究中, 也发现 Nup88 在白血病细胞系 U937 中呈现高表达, 并弥漫分布于细胞的核浆之间, 诱导 Nup88 蛋白表达下调后可能抑制了白血病细胞的增殖^[9]。而 Roth 等^[10]推测 Nup88 蛋白表达量的异常或基因的突变均将影响其他蛋白的异常定位, 从而导致物质输出障碍。本实验的初步结果表明, 在 U937 细胞中 Nup88 蛋白呈高表达, 经不同质量浓度的藤黄酸处理后, 其蛋白和基因表达水平均以质量浓度依赖性的方式逐渐递减, 在藤黄酸质量浓度达到 2.0 mg/L 时, Nup88 蛋白和基因转录水平也降至最低值。正常情况下, Nup88 蛋白主要定位于核膜的胞浆面, 而在 U937 细胞中, Nup88 蛋白弥漫分布于细胞的核浆之间, 以细胞浆和核膜为主, 经藤黄酸干预后, Nup88 的荧光强度明显减弱, 其细胞定位也主要集中于核膜的胞浆面, 偶见于胞浆中, 这和之前的研究结果相类似。由此可见, 藤黄酸极有可能通过调控核孔蛋白(Nup88)的表达以及分布来影响某些关键分子的核浆穿梭, 从而调控白血病细胞的生物学活性, 诱导细胞发生凋亡。然而, Nup88 究竟是如何影响核浆穿梭异常的, 它又改变了哪些重要分子的穿梭仍不得而知, 有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 雷秋模, 刘金妹. 藤黄抗癌作用研究的回顾与展望 [J]. 肿瘤防治杂志, 2003, 10(2): 216-219.
- [2] Guo Q L, Qi Q, You Q D, et al. Toxicological studies of gambogic acid and its potential targets in experimental animals [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2006, 99(2): 178-184.
- [3] Yu J, Guo Q L, You Q D, et al. Repression of telomerase reverse transcriptase mRNA and hTERT promoter by inhibitory effects of oncogene C-myc in gambogic acid treated-human gastric carcinoma cells [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2006, 58(6): 434-443.
- [4] Zhao L, Guo Q L, You Q D, et al. Gambogic acid induces apoptosis and regulates expressions of Bax and Bcl-2 protein in human gastric carcinoma MGC-803 cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2004, 27(7): 998-1003.
- [5] Kasibhatla S, Jessen K A, Maliartchouk S, et al. A role for transferring receptor in triggering apoptosis when targeted with gambogic acid [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(34): 12095-12100.
- [6] 郭青龙, 赵丽, 尤启冬, 等. 藤黄酸诱导人胃腺癌 SGC-7901 细胞的凋亡作用 [J]. 中国天然药物, 2004, 2(2): 106-110.
- [7] Gould V E, Orucevic A, Zentgraf H, et al. Nup88 (karyoporin) in human malignant neoplasms and dysplasias: correlations of immunostaining of tissue sections, cytologic smears, and immunoblot analysis [J]. *Hum Pathol*, 2002, 33(5): 536-544.
- [8] Agudo D, Gomez E F, Martinez A F, et al. Nup88 mRNA Overexpression is associated with high aggressiveness of breast cancer [J]. *Int J Cancer*, 2004, 109(5): 717-720.
- [9] Liu H L, Chen Y, Cui G H, et al. Deguelin regulates nuclear pore complex proteins Nup98 and Nup88 in U937 cells in vitro [J]. *Acta Pharm Sin*, 2005, 26(10): 1265-1273.
- [10] Roth P, Xylourgidis N, Sabri N. The drosophila nucleoporin DNup88 localizes DNup214 and CRM1 on the nuclear envelope and attenuates NES mediated nuclear export [J]. *J Cell Biol*, 2003, 163(4): 701-706.

何首乌醋酸乙酯提取部位与二苯乙烯苷的调血脂作用

王春英, 张兰桐*, 袁志芳, 金一宝, 张 峰

(河北医科大学药学院 药物分析教研室, 河北 石家庄 050017)

摘要: 目的 研究何首乌醋酸乙酯提取部位(EAFF-PM)与有效成分二苯乙烯苷的调血脂作用。方法 观察 EAFF-PM 和二苯乙烯苷对正常小鼠血脂及肝脏指数的影响; 小鼠 ip Triton 致急性高脂血症模型, 观察 EAFF-PM 和二苯乙烯苷对模型小鼠血脂水平的影响; 以大鼠食饵性高脂血症为模型, 给予高脂饲料的同时给予 EAFF-

* 收稿日期: 2007-05-24

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目 (C2006000791)

作者简介: 王春英(1972—), 女, 讲师, 在读博士, 研究方向为中药有效成分的提取分离与药效物质基础研究。

Tel: (0311) 86265625 E-mail: wangcy730301@163.com

* 通讯作者 张兰桐 Tel: (0311) 86266419 E-mail: zhanglantong@263.net