· 药理与临床 ·

苦参碱对人卵巢癌细胞株 HO-8910PM 增殖及侵袭运动能力的影响

申志华[1], 揭 伟[2*], 陈 锦[1], 黄培春[1]

(1. 广东医学院 病理生理学教研室, 广东 湛江 524023; 2. 广东医学院 病理教研室, 广东 湛江 524023)

摘 要: 目的 研究苦参碱对人高转移卵巢癌细胞系 HO-8910PM 增殖及转移相关能力的影响及其作用机制。方法 以 MTT 法和台盼蓝拒染法检测苦参碱对人高转移卵巢癌 HO-8910PM 细胞增殖的影响; Transwell 小室法检测其对 HO-8910PM 细胞侵袭运动能力的影响; 考马斯亮蓝染色法检测不同质量浓度苦参碱对 HO-8910PM 细胞细胞骨架的改变及免疫细胞化学方法检测药物作用前后 HO-8910PM 细胞 Ezrin 蛋白的表达。结果 苦参碱对 HO-8910PM 细胞增殖抑制呈明显剂量和时间效应; 1.5 g/L 苦参碱能明显抑制细胞的增殖, 作用 6 h 后能抑制 HO-8910PM 细胞体外侵袭人工基底膜和运动能力, 抑制率分别为 (41.52±10.76)% 和 (39.73±10.67)%; 1.0、1.5 g/L 苦参碱作用 HO-8910PM 细胞 24 h 后使细胞骨架明显改变, 并上调 Ezrin 蛋白的表达。结论 苦参碱能抑制高转移性人卵巢癌细胞 HO-8910PM 的增殖能力和侵袭运动能力, 其抗肿瘤侵袭运动的机制与细胞骨架和 Ezrin 蛋白表达的改变有关。

关键词: 苦参碱; 卵巢癌; 增殖; 侵袭; 细胞骨架; Ezrin

中图分类号: R286.91 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2008)03-0386-05

Effects of matrine on proliferation and metastasis abilities of human ovarian carcinoma HO-8910PM cells line

SHEN Zhi-hua[1], JIE Wei[2], CHEN Jin[1], HUANG Pei-chun[1]

(1. Department of Pathophysiology, Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023, China; 2. Department of Pathology, Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023, China)

Abstract: **Objective** To study the effect of matrine on proliferation and metastasis associated the abilities of human highly metastatic ovarian cancer HO-8910PM cells and its possible mechanism. **Methods** The trypan blue staining and MTT assay were used to examine the effect of matrine on proliferation of HO-8910PM cells; Transwell chamber assay was performed to determine the effect of matrine on the invasive and migratory abilities of the cells; Coomassie brilliant blue staining assay was used to detect the changes in cytoskeleton treated by matrine at different concentrations and immunocytochemical methods were used to observe the expression of Ezrin protein in HO-8910PM cell line befores and after matrine treatment. **Results** There was an obvious dose-dependent and time-consuming effect on the inhibition of HO-8910PM cells proliferation by matrine; 1.5 g/L matrine inhibited cell proliferation significantly, for 6 h after the treatment *in vitro*, the invasive and migratory abilities of HO-8910PM cells were also obviously down-regulated with the inhibitory rates (41.52±10.76)% and (39.73±10.67)%, respectively; Matrine distinctly changed the cytoskeleton and up-regulated the expression of Ezrin protein in HO-8910PM cell line treated with 1.0 g and 1.5 g/L matrine for 24 h. **Conclusion** Matrine inhibits the proliferation, migration, and invasion abilities of HO-8910PM cell line *in vitro*, which may associate with the changes of cytoskeleton and Ezrin protein expression.

Key words: matrine; ovarian carcinoma; proliferation; invasion; cytoskeleton; Ezrin

卵巢癌是女性生殖系统常见恶性肿瘤之一, 其发病率占妇科恶性肿瘤的第3位, 占妇女各种恶性肿瘤的第6位, 占全身恶性肿瘤的5%。卵巢癌的治疗是以手术为主, 辅以放化疗、中医药及生物治疗的综合性治疗, 但其5年存活率始终停留在30%左右, 死亡率已居女性生殖系统肿瘤的首位[1]。苦参是传

* 收稿日期: 2007-07-10
基金项目: 广东医学院青年科研基金资助项目 (XQ0205); 广东省湛江市科技立项课题 (ZK0535)
作者简介: 申志华(1975—), 女, 硕士, 讲师, 主要从事肿瘤免疫及转移相关机制研究。 E-mail: szh75@126.com
* 通讯作者 揭 伟 Tel: (0759) 2388587 E-mail: jiewei74@126.com

统的中草药, 具有抗肿瘤、抗炎等广泛生物学效应。苦参碱是其重要的生物碱, 对某些肿瘤细胞及移植瘤有较高的抑制率[2~4], 提示苦参碱在抗肿瘤方面具有潜在的临床应用价值。目前尚未见苦参碱在卵巢癌治疗中的研究报道。本研究探讨苦参碱对人高转移性卵巢癌细胞株 HO-8910PM 增殖及侵袭转移等方面的影响, 为进一步阐明苦参碱用于卵巢癌临床治疗的可能机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 细胞株、药品和主要试剂: 人高转移性卵巢癌细胞株 HO-8910PM 购自上海细胞生物研究所, 由浙江省肿瘤研究所许沈华教授等建立[5]。苦参碱注射液购自广州明兴制药厂 (批号 051104-1); RPMI-1640 培养基购自 Gibco 公司; 小牛血清购自杭州四季青生物工程和材料研究所; MTT 购自 Sigma 公司; 纤维黏连蛋白 (FN)、人基底膜胶 (matrigel) 购自 BD 公司; Transwell 小室 (直径 6.5 mm, 孔径 8.0 μm) 购自 Corning 公司。鼠抗人 Ezrin 一抗购自 Neo Markers 公司 (克隆号 3C12)。

1.2 细胞培养和分组: HO-8910PM 细胞在含体积分数为 10% 热灭活小牛血清、1×10^5 U/L 青霉素和 100 mg/L 链霉素的 RPMI-1640 完全培养液中, 置 37 ℃、5% CO_2、饱和湿度的培养箱内培养。细胞经过消化传代, 取对数生长期的细胞进行培养及实验。实验前用台盼蓝拒染法确保所用细胞拒染率在 97% 以上。细胞接种 8 h 后进行换液和药物处理。处理组在培养液中加入苦参碱注射液, 终质量浓度分别为 0.5、1.0、1.5、2.0 g/L, 以不含苦参碱的 RPMI-1640 完全培养液为对照。

1.3 MTT 法测定苦参碱对 HO-8910PM 细胞增殖的影响: 选取对数生长期的 HO-8910PM 细胞, 0.2% 胰酶消化后调整细胞浓度为 3×10^7/L, 加入 96 孔板中, 每孔 200 μL, 设 6 个复孔。放入 37 ℃、5% CO_2的培养箱内培养。细胞加药(苦参碱 1.0 g/L, 剂量依赖 IC_{50}值确定) 后分别培养 24、48 h。培养结束后加入 MTT (5 g/L, 每孔 20 μL), 再置于 37 ℃、5% CO_2条件下培养 4 h。取出, 吸弃上清液, 加入 DMSO 每孔 200 μL, 平板摇床上摇动混匀 10 min, 酶标仪上测 490 nm 处吸光度 (A) 值。计算增殖抑制率[增殖抑制率= (对照组 A 值- 实验组 A 值)/对照组 A 值×100%]。

1.4 台盼蓝拒染法测定苦参碱对 HO-8910PM 细胞生长的影响: 选取对数生长期的 HO-8910PM 细胞, 消化后调整细胞浓度为 1×10^7/L, 加入 24 孔板, 每孔 1 mL。放入 37 ℃、5% CO_2的培养箱内培养。细胞加药(苦参碱 1.0 g/L, 剂量依据 IC_{50}值确定) 后每隔 12 h 每组各取 4 孔, 消化后细胞计数板计数, 共做 72 h, 绘制细胞生长曲线。

1.5 细胞-基质黏附试验: 参照苟新敏等[6]所用方法配制 Matirgel 胶, 并铺于 96 孔板内 (每孔 2 μg)。挑选生长状态良好的细胞, 消化计数, 用含有不同质量浓度苦参碱 (0.5、1.0、1.5、2.0 g/L) 的生长液调整细胞浓度, 以 4×10^4/孔接种在铺胶的 96 孔板中; 不加苦参碱的生长液组为阴性对照; 每组 6 个复孔。置 37 ℃、5% CO_2培养箱内培养 60、120 min 后, 弃上清, 加入结晶紫染液 100 μL/孔, 染色 10 min, PBS 冲洗 3 次除去未黏附细胞; 每孔加入醋酸乙酯 100 μL, 酶联免疫检测仪上 570 nm 处测定各孔的 A 值, 以 A 值代表黏附细胞数。计算黏附抑制率[黏附抑制率= (对照组 A 值- 实验组 A 值)/对照组 A 值×100%]。

1.6 细胞运动侵袭试验[6]: 在 24 孔培养板中每孔加入含有 10 μg/mL 纤维黏连蛋白的 RPMI-1640 培养基 600 μL。收集对数生长期的 HO-8910PM 细胞, 分别用加有苦参碱 (终质量浓度为 1.0、1.5 g/L) 和未加苦参碱的含 1% BSA 的 RPMI-1640 培养基重悬, 并调整浓度为 1×10^9/L。将 Transwell 小室浸于 24 孔板的条件培养基中, 每个小室加细胞悬液 100 μL, 置 37 ℃、5% CO_2培养箱内培养 6 h。将 Transwell 小室取出, 滤膜用甲醇固定 1 min, 结晶紫染色 15 min, 水洗, 棉签小心擦去未穿膜的细胞, 中性树胶封片, 于 400 倍显微镜下计数穿过滤膜的细胞数。每膜计数上下左右中 5 个随机不同视野, 每组平行设 3 个滤膜。计算运动抑制率[运动抑制率= (对照组穿膜细胞数- 实验组穿膜细胞数)/对照组穿膜细胞数×100%]。侵袭试验时在 Transwell 小室膜的内表面涂基底膜成分 Matrigel 5 μg (10 μL), 超净台通风过夜使之干燥, 形成人工重组基底膜, 其余步骤同细胞运动实验。计算侵袭抑制率[侵袭抑制率= (对照组穿膜细胞数- 实验组穿膜细胞数)/对照组穿膜细胞数×100%]。

1.7 细胞骨架观察: 取对数生长期的细胞, 常规消化, 调整细胞浓度为 5×10^7/L, 接种于预先铺好盖玻片的 6 孔细胞培养板内, 置于 37 ℃、5% CO_2培养箱内培养。细胞贴壁后更换为含有不同质量浓度苦参碱的培养液, 继续培养 24 h 后取出, PBS 洗 3×5 min, 1.5% Trton-X100 震荡洗涤 3×8 min, M 缓冲液洗 3×4 min, 3% 戊二醛固定 10 min, M

缓冲液洗 3×3 min, 考马斯亮蓝染液染色 40 min, PBS 洗去多余染液, 空气干燥, 二甲苯透明, 中性树胶封片。显微镜下观察, 摄像。

1.8 免疫细胞化学方法测定 Ezrin 蛋白的表达: 细胞消化爬片及药物处理同 1.7 项。培养结束后取出, 用甲醇-丙酮 (1∶1) 固定 10 min, 晾干。参照 S-P 试剂盒说明进行操作: 细胞水化, PBS 洗 3×5 min, 滴加过氧化物酶阻断剂, 室温孵育 15 min, PBS 洗 3×5 min; 滴加正常山羊血清封闭剂, 室温孵育 20 min, 甩去多余血清, 不洗; 滴加鼠抗人 Ezrin 一抗 (1∶100 稀释), 同时以 PBS 代替一抗作空白对照, 4 ℃ 孵育过夜; 滴加生物素标记的羊抗鼠二抗, 室温孵育 10 min, PBS 洗 3×5 min; 滴加链菌素亲生物蛋白-过氧化物酶溶液, 室温孵育 10 min, PBS 洗 3×5 min; DAB 显色, 苏木素复染, 自来水返蓝, 晾干后中性树胶封片, 显微镜下观察阳性细胞的百分率及阳性染色程度。结果判断: 光镜下观察, 胞质或胞膜出现棕黄色颗粒者为阳性细胞。

1.9 统计学分析: 数据分析采用 SPSS11.5 统计软件进行方差分析。

2 结果

2.1 苦参碱对 HO-8910PM 细胞增殖的影响: 用不同质量浓度苦参碱作用于细胞后, MTT 法测定对 HO-8910PM 细胞增殖的抑制效应。数据显示, 随着苦参碱质量浓度的增加和作用时间的延长, A 值逐渐降低, 提示活细胞数量逐渐减少, 表明苦参碱对 HO-8910PM 细胞增殖的抑制能力逐渐升高, 呈明显剂量和时间依赖效应 (表 1)。

表 1 苦参碱对 HO-8910PM 细胞增殖的影响 ($\bar{x}\pm s$, n= 6)

Table 1 Effect of matrine on proliferation of HO-8910PM cells ($\bar{x}\pm s$, n= 6)

作用时间	剂量/(g·L^{-1})	A 值	增殖抑制率/%
24 h	0.0 (对照)	0.954±0.037	–
	0.5	0.825±0.073	13.34±8.69
	1.0	0.547±0.158	47.64±7.80*
	1.5	0.392±0.049**	58.86±5.83**
	2.0	0.341±0.063**	64.36±5.64**
48 h	0.0 (对照)	0.773±0.048	–
	0.5	0.694±0.052	10.34±5.88
	1.0	0.455±0.113	44.14±6.97##
	1.5	0.279±0.041##	64.12±3.81##
	2.0	0.286±0.059##	68.19±5.26##

与 24 h 对照组比较: * P< 0.05 ** P< 0.01

与 48 h 对照组比较: ## P< 0.01

* P< 0.05 ** P< 0.01 *vs* 24 h control group

P< 0.01 *vs* 48 h control group

2.2 苦参碱对 HO-8910PM 细胞生长曲线的影响: 如图 1 所示, 随着苦参碱作用时间的延长, 实验组的生长曲线前期 (48 h 之前) 较平坦, 后期 (48 h 之后) 开始降低, 与阴性对照组比较差异具有显著统计学意义 (P< 0.01)。

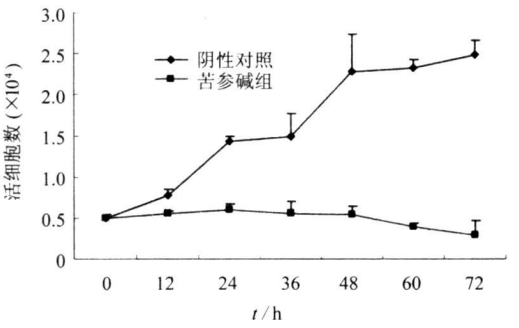

图 1 苦参碱 (1.0 g/L) 对 HO-8910PM 细胞生长曲线的影响 ($\bar{x}\pm s$, n= 4)

Fig. 1 Effect of matrine (1.0 g/L) on growth curve of HO-8910PM cells ($\bar{x}\pm s$, n= 4)

2.3 苦参碱对 HO-8910PM 细胞黏附能力的影响: 随药物质量浓度的增加及作用时间的延长, A 值逐渐降低, 提示黏附细胞数量逐渐减少, 处理后的 HO-8910PM 细胞对基质的黏附能力逐渐降低, 表明苦参碱对细胞黏附能力的抑制效应逐渐增高 (表 2)。

表 2 苦参碱对 HO-8910PM 细胞基质黏附能力的影响 ($\bar{x}\pm s$, n= 6)

Table 2 Effect of matrine on adhesion ability of HO-8910PM to matrix ($\bar{x}\pm s$, n= 6)

作用时间	剂量/(g·L^{-1})	A 值	黏附抑制率/%
1 h	0.0 (对照)	1.369±0.041	–
	0.5	1.248±0.039	8.85± 2.49
	1.0	1.098±0.109	19.80± 7.93
	1.5	1.093±0.040*	20.19± 3.24
	2.0	0.981±0.103*	28.36± 6.99
2 h	0.0 (对照)	1.378±0.065	–
	0.5	1.091±0.100	20.80± 7.44
	1.0	0.960±0.076#	30.36± 2.35
	1.5	0.833±0.112#	39.54± 7.96
	2.0	0.688±0.098##	40.03±10.38

与 1 h 对照组比较: * P< 0.05

与 2 h 对照组比较: # P< 0.05 ## P< 0.01

* P< 0.05 *vs* 1 h control group

# P< 0.05 ## P< 0.01 *vs* 2 h control group

2.4 苦参碱对 HO-8910PM 细胞侵袭运动能力的影响: 将游离的聚乙烯吡咯烷酮膜 (PVP-F 膜) 取下, 在显微镜下计数细胞侵袭试验中穿过 PVP-F 膜的细胞数。1.0、1.5 g/L 苦参碱处理 6 h 后, 对 HO-8910PM 细胞的侵袭基底膜成分能力的抑制率分别为 (14.33±11.29)% 和 (41.52±10.76)%。对 HO-8910PM 细胞运动能力的抑制率分别为

(13.67±11.29)% 和 (39.73±10.67)%, 见表3。

表3 苦参碱对 HO-8910PM 细胞侵袭和运动能力的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Table 3 Effect of matrine on invasion and movement ability of HO-8910PM cells ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	剂量/(g·L⁻¹)	侵袭		运动	
		细胞个数	抑制率/%	细胞个数	抑制率/%
阴性对照	0.0	66.80±7.40	0.00± 0.00	69.80±7.95	0.00± 0.00
苦参碱	1.0	56.80±6.30	14.33±11.29*	59.40±6.22	13.67±10.60*
	1.5	38.60±5.03	41.52±10.76**	43.40±3.85	39.73±10.67**

与阴性对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

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

2.5 苦参碱对 HO-8910PM 细胞骨架的影响: 无苦参碱作用时 HO-8910PM 细胞大致呈卵圆形, 中间染色较深的为细胞核, 细胞质内蛋白呈蓝色丝状结构, 近核区域较致密, 细胞骨架相对丰富, 呈丝状交错排列, 在胞浆内分布不均匀。1.0 g/L 苦参碱作用后细胞骨架结构收缩, 染色变淡、稀疏、变细, 排列方式发生变化; 1.5 g/L 苦参碱作用后细胞骨架变化更加明显, 表现为细胞骨架的量明显减少, 见图2。

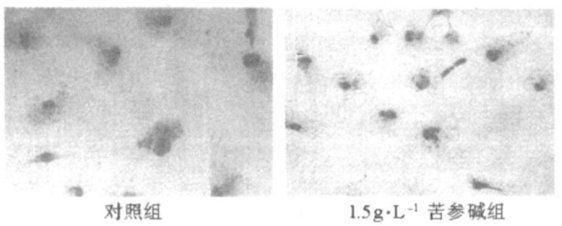

图2 苦参碱 HO-8910PM 细胞的细胞骨架的影响

Fig. 2 Effect of matrine on cytoskeleton of HO-8910PM cells

2.6 苦参碱对 HO-8910PM 细胞 Ezrin 蛋白表达的影响: 对照组 HO-8910PM 细胞胞浆未见空泡, Ezrin 蛋白少量表达, 主要位于核周胞质; 处理组细胞胞质出现大量空泡, Ezrin 蛋白表达明显增强, 胞质内见弥漫棕黄色颗粒状阳性信号, 见图3。

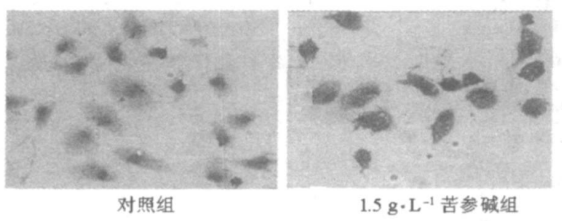

图3 苦参碱 HO-8910PM 细胞 Ezrin 蛋白表达的影响

Fig. 3 Effect of matrine on expression of Ezrin protein in HO-8910PM cells

3 讨论

苦参为豆科槐属植物苦参 *Sophora flavescens* Ait. 的根, 味苦, 性寒, 归心、肝、胃、大肠、膀胱经, 功能清热燥湿、杀虫、利尿, 为常用抗肿瘤中药。现代药理研究证实苦参中所含的苦参碱、氧化苦参碱等生物碱成分对多种恶性肿瘤具有较好的抗肿瘤活性。近年来, 随着恶性肿瘤的综合疗法的日益兴起, 苦参碱作为一种具有潜在临床应用价值的肿瘤中药引起越来越多的关注和兴趣。

细胞持续分裂和不断增殖是肿瘤细胞区别于正常细胞的重要特征, 抑制肿瘤细胞的生长是治疗肿瘤的基本途径之一。本实验中采用 MTT 比色法和生长曲线实验两种方法观察苦参碱对 HO-8910PM 细胞的生长抑制作用。实验结果均显示苦参碱对 HO-8910PM 细胞有明显的增殖抑制效应, 该效应随着苦参碱质量浓度的逐渐增加和作用时间的逐步延长而升高, 具有剂量和时间依赖效应。

侵袭和转移是恶性肿瘤的主要生物学特征, 是导致手术、放疗及化疗等治疗失败和患者死亡的最主要原因, 也是一个极其复杂、多步骤的过程, 包括癌细胞从原发部位脱落, 结合并降解基底膜, 癌细胞侵入血管、淋巴管, 癌细胞在循环中运行和滞留, 最后穿出血管、淋巴管并增殖形成转移灶[7]。本研究通过细胞黏附实验、运动实验和细胞侵袭实验全面评价了苦参碱对细胞侵袭转移能力的影响。实验数据显示, 经过不同质量浓度苦参碱处理后, 无论是黏附于 FN 的细胞数还是运动穿膜细胞率和侵袭穿膜细胞率均显著低于对照组, 差别具有统计学意义。结果表明苦参碱可明显抑制 HO-8910PM 细胞与 FN 的黏附, 并可降低肿瘤细胞的运动力及降解穿透基底膜的侵袭力, 从而证实苦参碱不是仅仅通过侵袭转移的某个环节, 而是通过多个环节全面实现其抑制作用的。

细胞骨架是细胞机构的重要成分, 不但参于维持细胞形态, 还参于细胞信号传导、物质运输, 并与细胞膜外结构及细胞基质相连, 影响细胞黏附及运动能力。细胞骨架连接蛋白 Ezrin 属于 ERM (Ezrin-Radixin-Moesin) 家族成员之一, 其编码基因为 villin2, ERM 蛋白 N 端约 300 个氨基酸残基形成的结构域同胞膜发生作用, C 端的结构域则同细胞骨架发生作用[8]。Ezrin 作为连接膜和细胞骨架的蛋白, 通过组成膜细胞骨架相关复合体和形成特殊膜结构对细胞活动进行调节, 如细胞存活、黏附和运动。Ezrin 蛋白在肿瘤的侵袭转移中起到了重要的作用。在骨肉瘤和前列腺癌等类型的肿瘤中, Ezrin 蛋白的表达与肿瘤的侵袭转移能力呈正相关[9,10], 但是卵巢癌中二者之间的关系则存在争议。

Kobel 等[11]认为卵巢癌中二者之间也呈正相关，而 Moilanen 等[12]则认为 Ezrin 蛋白表达和卵巢癌侵袭转移能力之间呈负相关。本研究发现，不同质量浓度的苦参碱作用于 HO-8910PM 细胞后，引起该细胞侵袭转移能力降低的同时伴随有细胞骨架结构的稀疏化和细胞骨架连接蛋白 Ezrin 量的增多，与后一种观点相吻合。由此推测，苦参碱对 HO-8910PM 细胞侵袭运动的抑制作用可能部分是通过改变细胞骨架连结蛋白 Ezrin 的表达进而影响细胞骨架来实现的，但其具体分子联系机制仍需进一步研究。

本研究发现，苦参碱可以抑制 HO-8910PM 细胞的增殖速度，使细胞骨架结构发生改变，重要的细胞骨架连接蛋白 Ezrin 表达上调，这可能是苦参碱抗 HO-8910PM 细胞侵袭转移的作用机制之一，为临床上卵巢癌的综合治疗提供实验依据。

参考文献：

[1] 汤钊猷. 现代肿瘤学 [M]. 第二版. 上海: 上海医科大学出版社, 2000.

[2] 李先荣, 方 增. 苦参生物碱的药理研究及其临床应用 [J]. 山西中医, 1985, 9(3): 49-51.

[3] Liu X S, Jiang J, Jiao X Y, *et al*. Matrine-induced apoptosis in leukemia U937 cells: involvement of caspases activation and MAPK-independent pathways [J]. *Planta Med*, 2006, 72(6): 501-506.

[4] 李贵海, 王 玫, 孙付军, 等. 苦参碱逆转小鼠 S180 肿瘤细胞获得性多药耐药基因相关表达产物过度表达的研究 [J]. 中药材, 2006, 29(1): 40-42.

[5] 许沈华, 钱丽娟, 牟瀚舟, 等. 高转移人卵巢癌细胞系 HO-8910PM 的建立及其生物学特性 [J]. 中华病理学杂志, 1998, 27(6): 451-452.

[6] 苟新敏, 陈 燕, 陈小毅, 等. EBV-LMP1 对鼻咽癌细胞系 CNE1 细胞转移相关因素的影响 [J]. 癌症, 2003, 22(5): 481-485.

[7] Gassmann P, Enns A, Haler J. Role of tumor cell adhesion and migration in organ-specific metastasis formation [J]. *Onkologie*, 2004, 27(6) 577-582.

[8] Crepaldi T, Gautreau A, Comoglio P M, *et al*. Ezrin is an effector of hepatocyte growth factor 2 mediated migration and morphogenesis in epithelial cells [J]. *J Cell Biol*, 1997, 138: 423-434.

[9] Park H R, Jung W W, Bacchini P, *et al*. Ezrin in osteosarcoma: Comparison between conventional high-grade and central low-grade osteosarcoma [J]. *Pathol-Res Prac*, 2006, 202(7): 509-515.

[10] Valdman A, Fang X L, Pang S T, *et al*. Ezrin expression in prostate cancer and benign prostatic tissue [J]. *Eur Urol*, 2005, 48(5): 852-857.

[11] Kobel M, Gradhand E, Zeng K, *et al*. Ezrin promotes ovarian carcinoma cell invasion and its retained expression predicts poor prognosis in ovarian carcinoma [J]. *Int J Gynecol Pathol*, 2006, 25(2): 121-130.

[12] Moilanen J, Lassus H, Leminen A, *et al*. Ezrin immunoreactivity in relation to survival in serous ovarian carcinoma patients [J]. *Gynecol Oncol*, 2003, 90(2): 273-281.

表没食子儿茶素没食子酸酯影响慢性紫外线辐射诱导的人皮肤成纤维细胞凋亡和突变的研究

朱 洁[1,2], 骆 丹[2*], 金颂良[2], 沈春花[2], 明亚玲[2]

(1. 江苏省中医院 皮肤科, 江苏 南京 210029; 2. 南京医科大学第一附属医院 皮肤科, 江苏 南京 210029)

摘 要：目的 研究紫外线 (UV) 照射对人皮肤成纤维细胞的细胞凋亡率、细胞周期变化和次黄嘌呤磷酸核糖转移酶 (HPRT) 基因位点突变频率的影响以及表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG) 的干预作用。方法 采用一定剂量的中、长波紫外线 (UVA 和 UVB) 慢性照射培养的新生儿包皮成纤维细胞。通过流式细胞仪检测细胞凋亡率和细胞周期变化，HPRT 突变分析法检测突变频率。结果 慢性 UVA 组引起的细胞凋亡率低于 UVB 组 ($P < 0.05$)，而 HPRT 基因位点突变的频率是 UVB 组的 4.79 倍。EGCG 干预组与单纯 UV 辐射组相比，成纤维细胞的凋亡率增加，HPRT 基因位点突变的频率降低。结论 慢性照射日常剂量 UVA，其损伤性高于 UVB。EGCG 可以升高慢性 UV 照射引起的细胞凋亡率，降低 UV 照射引起的突变频率，提示 EGCG 可以诱导不可逆损伤细胞的凋亡，从而减少突变细胞。

关键词：紫外线；成纤维细胞；表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG)；细胞凋亡；突变频率

中图分类号：R285.5 文献标识码：A 文章编号：0253-2670(2008)03-0390-04

* 收稿日期：2007-06-26

作者简介：朱 洁(1980—)，女，江苏省南京人，硕士研究生，医师，研究方向为皮肤光生物学。

* 通讯作者 骆 丹