

## 苦参碱对肝癌 SMMC-7721 细胞 JAK-STAT 信号通路的影响

殷 飞, 赵军艳, 姚树坤

(河北医科大学第四临床医院 消化内科, 河北 石家庄 050011)

**摘 要:**目的 观察苦参碱对肝癌 SMMC-7721 细胞 JAK-STAT 通路的影响。方法 苦参碱和/或 JAK-STAT 途径特异性抑制剂 AG490 培养肝癌细胞 SMMC-7721, MTT 法检测苦参碱对肝癌 SMMC-7721 细胞株增殖的影响, RT-PCR 法检测苦参碱对 SMMC-7721 细胞 stat3, stat5 mRNA 表达的影响, Western blotting 法检测苦参碱对肝癌 SMMC-7721 细胞 STAT3, STAT5, P-STAT3, P-STAT5 蛋白表达的影响。结果 苦参碱对肝癌细胞增殖的抑制率呈剂量和时间依赖性。苦参碱能下调 stat3, stat5 mRNA 表达水平 ( $P < 0.05, 0.01$ ), 降低 STAT3, STAT5, P-STAT3, P-STAT5 蛋白表达量 ( $P < 0.05, 0.01$ )。AG490 作用于 SMMC-7721 细胞后, stat3, stat5 mRNA 和 STAT3, STAT5 蛋白的表达量与对照组比较无显著差异 ( $P > 0.05$ ), P-STAT3, P-STAT5 蛋白表达量与对照组比较显著降低 ( $P > 0.05, 0.01$ )。与 AG490 组比较, AG490 + 苦参碱组 stat3, stat5 mRNA 的表达量显著降低 ( $P < 0.05$ ), STAT3, STAT5 蛋白表达量显著降低 ( $P > 0.05$ ), P-STAT3, P-STAT5 蛋白表达量无显著差异 ( $P > 0.05$ )。与苦参碱组比较, AG490 + 苦参碱组 stat3, stat5 mRNA 的表达量无显著差异 ( $P > 0.05$ ), STAT3, STAT5, P-STAT3, P-STAT5 蛋白表达量无显著差异 ( $P > 0.05$ )。结论 苦参碱能下调 stat3, stat5 mRNA 表达水平, 因而能降低 STAT3, STAT5 蛋白表达水平, 抑制细胞 JAK-STAT 信号转导通路, 从而抑制肝癌 SMMC-7721 细胞增殖。

**关键词:** 苦参碱; JAK-STAT 通路; 增殖; AG490

中图分类号: R286.91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)06-0873-05

## Effect of matrine on signaling transduction pathway of JAK-STAT in SMMC-7721 cell line

YIN Fei, ZHAO Jun-yan, YAO Shu-kun

(Department of Gastroenterology, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the effect of matrine on JAK-STAT signaling transduction pathway in SMMC-7721 cell line. **Methods** Treated with matrine and AG490 (the inhibitor of JAK-STAT signaling transduction), the inhibitory effect of matrine on SMMC-7721 cell proliferation was detected by MTT. The mRNA expression of stat3 and stat5 in SMMC-7721 cell line was assessed with RT-PCR. The protein expression of STAT3, STAT5, P-STAT3 and P-STAT5 in SMMC-7721 cell line was detected by Western blotting. **Results** Matrine could significantly inhibit the proliferation of SMMC-7721 cells. The proliferation rate was in a dose- and time-dependent manner. The mRNA expression of stat3 and stat5 in SMMC-7721 cell with matrine was significantly lower than that in the control group ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ) and so was the protein expression of STAT3, STAT5, P-STAT3 and P-STAT5 ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). There was no significant difference of the mRNA expression of stat3 and stat5 between AG490 and control groups ( $P > 0.05$ ), and so was the protein expression of STAT3 and STAT5 ( $P > 0.05$ ). But P-STAT3 and P-STAT5 protein expression was significantly lower than that in the control group ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). After treated with matrine plus AG490, the mRNA expression of stat3 and stat5 was significantly lower than that in AG490 group ( $P < 0.05$ ) and so was the protein expression of STAT3 and STAT5 ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference of the P-STAT3 and P-STAT5 protein between matrine plus AG490 group and AG490 group ( $P > 0.05$ ). There was no significant difference of the mRNA expression of stat3 and stat5 between matrine plus AG490 group and matrine group ( $P > 0.05$ ), and so was STAT3, STAT5, P-ERK, P-STAT3 and P-STAT5 protein expression ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** Matrine could significantly down-regulate the mRNA expression of stat3 and stat5 and protein expression of STAT3 and STAT5 in SMMC-7721 cells. So matrine could inhibit the signaling transduction pathway of JAK-STAT and inhibit the proliferation of SMMC-7721 cells.

**Key words:** matrine; JAK-STAT pathway; proliferation; AG490

收稿日期: 2007-09-05

基金项目: 河北省科技领军人才资金资助项目 (06547008D-4)

作者简介: 殷 飞 (1971—), 女, 博士, 主任医师, 教授, 主要从事中西医结合诊治肝病的基础与临床研究。

Tel: (0311) 86095342 E-mail: yinfei\_4y@sina.com

关于中药对肿瘤细胞信号转导的作用已有相关研究<sup>[1]</sup>。苦参碱的抗肿瘤作用也与信号转导有关,在对多种中药单体化合物进行酪氨酸酶活性抑制作用的体外筛选实验中发现苦参碱作用最明显<sup>[2]</sup>。JAKs (Janus kinases) 是一类重要的酪氨酸蛋白激酶,细胞因子与受体结合后激活 JAK,进而激活信号转导子和转录激活子 (signal transducer and activator of transcription, STAT); 应激反应也能激活 JAK-STAT 信号转导,再诱导目的基因表达。JAK-STAT 通路异常与肝癌的发生发展有密切联系<sup>[3]</sup>。为研究苦参碱抑制肝癌细胞 SMMC-7721 增殖的机制是否与抑制 JAK-STAT 通路有关,本研究以 JAK-STAT 途径特异性信号转导阻滞剂 AG490 为对照,从基因转录水平和蛋白水平研究苦参碱对 JAK-STAT 通路的影响。

## 1 材料与方法

1.1 材料:人肝癌 SMMC-7721 细胞株,购自中国科学院上海细胞生物研究所。JAK-STAT 途径特异性信号转导阻滞剂 AG490 为 Sigma 公司产品。苦参碱 (质量分数为 99%) 为山东振东金晶制药有限公司惠赠。stat3 引物、stat5 引物、 $\beta$ -actin 引物均由北京赛百盛生物工程公司合成; Trizol 为美国 Amresco 公司产品; 兔抗人 STAT3、STAT5、 $\beta$ -actin 多克隆抗体,鼠抗人 P-STAT3 单克隆抗体,羊抗人 P-STAT5 多克隆抗体均为美国 Santa Cruz 公司产品; PVDF 膜购于博海生物工程公司, SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳低相对分子质量标准蛋白质 (蛋白 Marker)、考马斯亮蓝蛋白检测试剂盒购自北京中山生物工程公司。

## 1.2 方法

1.2.1 MTT 法检测苦参碱对肝癌 SMMC-7721 细胞增殖的影响:用含 5% 胎牛血清、青霉素 100 U/mL、链霉素 100  $\mu$ g/mL 的 RPMI-1640 培养液培养人肝癌细胞株 SMMC-7721,置于 37  $^{\circ}$ C、5%  $\text{CO}_2$  孵育箱中培养,3~4 d 传代 1 次,取对数生长期的细胞用于实验。取含  $5 \times 10^4 \sim 6 \times 10^4$  SMMC-7721 细胞悬液 180  $\mu$ L 接种于 96 孔培养板,分别加入不同质量浓度苦参碱溶液,使其终质量浓度为 0.5、1.0、1.5、2.5、5.0、10.0 mg/mL; 加 RPMI-1640 培养液至 200  $\mu$ L,另设空白孔 (只加培养液 200  $\mu$ L) 和对照孔 (只加细胞悬液 200  $\mu$ L),每种质量浓度均作 3 个平行孔,混匀后放入  $\text{CO}_2$  孵箱中培养。分别于培养 24、48、72 h 各取出 1 板,进行 MTT 实验。根据公式计算增殖抑制率。实验重复 2 次。

增殖抑制率 = (对照孔 A 值 - 用药孔 A 值) / 对照孔 A 值  $\times 100\%$

1.2.2 RT-PCR 法检测 SMMC-7721 细胞中 stat3、stat5 mRNA 的表达:将  $1 \times 10^6$  /mL 细胞接种于培养瓶,24 h 后,弃除培养液,分别加入含 1.0 mg/mL 苦参碱、50  $\mu$ mol/L AG490、50  $\mu$ mol/L AG490+1.0 mg/mL 苦参碱的培养液,以不加药细胞作为对照。作用 48 h 后收集细胞,用于实验。按 Trizol 试剂盒说明书提取细胞总 RNA。取 4  $\mu$ L (1  $\mu$ g) 提取的总 RNA,加入预先配置的逆转录体系中,加入 M-MLV 逆转录酶 1  $\mu$ L 进行逆转录。取逆转录产物 2  $\mu$ L 进行 PCR 反应。stat3 上游引物:5'-TTTGGAGGCAGGAATAGG-3',下游引物:5'-TGGCTTGACGGGTTGAT-3',扩增的目的片段长为 230 bp,退火温度 50.6  $^{\circ}$ C。stat5 上游引物:5'-TTTGGAGGCAGGAATAGG-3',下游引物:5'-TGGCTTGACGGGTTGAT-3',扩增的目的片段长度为 347 bp,退火温度 56.6  $^{\circ}$ C。 $\beta$ -actin 上游引物:5'-TCCACCGCAAATGCTTCTAG-3',下游引物:5'-TGCTGTCACCTTCACCGTTC-3',扩增的目的片段长度为 189 bp,退火温度 50.4  $^{\circ}$ C。RT-PCR 扩增产物凝胶用美国 ST 公司 AlphaImager TM1200 型读胶仪读取扩增条带的吸光度值进行分析,以目标基因与  $\beta$ -actin 扩增产物的吸光度值的比值表示表达水平。

1.2.3 Western blotting 法检测 SMMC-7721 细胞中 STAT3、STAT5、P-STAT3、P-STAT5 蛋白表达:细胞培养处理同 1.2.2 项。分别提取对照细胞和加药作用后细胞总蛋白,考马斯亮蓝法测定蛋白量,-80  $^{\circ}$ C 冰箱冻存备用。配制分离胶和浓缩胶,将已加入上样缓冲液的标准蛋白质样品及待测样品加入样品槽内,上样量为 100  $\mu$ g。接通电源,80 V 电压进行电泳,样品在浓缩胶中电泳约 1 h,待样品进入分离胶后,150 V 电泳 3 h 左右,直到溴酚蓝到达分离胶的底部,关闭电源。转膜,丽春红染色,以确定胶中蛋白质的转移情况。5% 脱脂奶粉中,室温振摇封闭 1 h。按 0.1 mL/cm<sup>2</sup> 加入一抗溶液 (1:80),封膜机封口,4  $^{\circ}$ C 过夜。加入二抗溶液 (1:1 000),37  $^{\circ}$ C,1 h。取出 PVDF 膜,用 TBS 溶液振摇洗 3 次,每次 10 min,在暗室中进行化学发光,胶片曝光显影后分析结果。结果应用 Gel Pro-Analyzer 3.1 凝胶分析软件进行分析,计算目的蛋白与  $\beta$ -actin 的吸光度比值。

1.2.4 统计学处理:用 SPSS 11.5 统计软件分析,

所有实验结果采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用单因素方差分析。

## 2 结果

2.1 苦参碱对肝癌 SMMC-7721 细胞增殖的影响: 不同质量浓度苦参碱作用于肝癌 SMMC-7721 细胞 24、48、72 h 后, 发现苦参碱对肝癌细胞的增殖抑制率呈剂量和时间依赖性; 苦参碱各组不同作用时间比较细胞增殖抑制率差异显著 ( $P < 0.05, 0.01$ ), 见表 1。1.0 mg/mL 苦参碱培养肝癌细胞 24、48、72 h, 增殖抑制率分别为  $(17.6 \pm 2.0)\%$ 、 $(32.8 \pm 2.2)\%$ 、 $(43.1 \pm 2.8)\%$ , 因此以下试验选取 1.0 mg/mL 苦参碱培养肝癌细胞 48 h 用于试验。

表 1 苦参碱对 SMMC-7721 细胞增殖的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 1 Effect of matrine on proliferation of SMMC-7721 cells ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

| 苦参碱 $p/$<br>(mg · mL <sup>-1</sup> ) | 增殖抑制率/%  |            |              |
|--------------------------------------|----------|------------|--------------|
|                                      | 24 h     | 48 h       | 72 h         |
| 0.5                                  | 9.8±1.4  | 17.8±1.6** | 26.7±5.5**   |
| 1.0                                  | 17.6±2.0 | 32.8±2.2** | 43.1±2.8**△△ |
| 1.5                                  | 25.6±1.6 | 43.6±2.5** | 56.4±6.7**△  |
| 2.5                                  | 34.3±1.7 | 53.9±4.3** | 65.7±6.3**   |
| 5.0                                  | 50.1±2.7 | 68.7±8.6*  | 77.2±7.4**   |
| 10.5                                 | 65.8±5.7 | 78.6±4.1*  | 85.2±3.9**   |

与 24 h 比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$

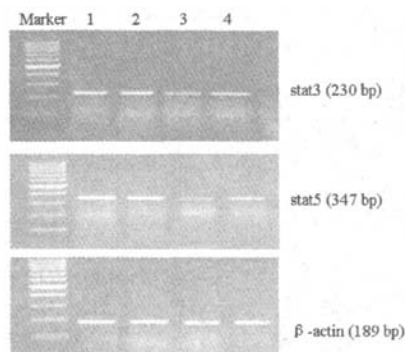
与 48 h 比较: △ $P < 0.05$  △△ $P < 0.01$

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs 24 h groups

△ $P < 0.05$  △△ $P < 0.01$  vs 48 h groups

2.2 苦参碱对 SMMC-7721 细胞 stat3、stat5 mRNA 表达的影响: 苦参碱培养 SMMC-7721 细胞 48 h 后, stat3、stat5 mRNA 的表达量与对照组比较明显降低, 差异显著 ( $P < 0.01$ )。AG490 培养 SMMC-7721 细胞 48 h 后, stat3、stat5 mRNA 的表达量与对照组比较差异无显著性 ( $P > 0.05$ )。苦参碱单独和 AG490+苦参碱联合作用于 SMMC-7721 细胞 48 h 后, stat3、stat5 mRNA 的表达量与对照组比较明显降低, 差异显著 ( $P < 0.05$ )。与 AG490 组比较, AG490+苦参碱组 stat3、stat5 mRNA 的表达量显著降低 ( $P < 0.05$ )。与苦参碱组比较, AG490+苦参碱组 stat3、stat5 mRNA 的表达量无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 结果见图 1 和表 2。

2.3 苦参碱对 SMMC-7721 细胞 STAT3、STAT5、P-STAT3、P-STAT5 蛋白表达的影响: 苦参碱作用于 SMMC-7721 细胞 48 h 后, STAT3、STAT5、P-STAT3、P-STAT5 蛋白表达量与对照组比较显著降低 ( $P < 0.05$ )。AG490 作用于 SMMC-7721 细胞 48 h 后, STAT3、STAT5 与对照组比较



1-对照组 2-AG490 50  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  组  
3-苦参碱 1.0  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  组 4-苦参碱+AG490 组  
1-control group 2-AG490 50  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  group  
3-matine 1.0  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  group 4-matine+AG490  
图 1 苦参碱对 SMMC-7721 细胞 stat3、stat5 mRNA 表达的影响

Fig. 1 Effect of matrine on mRNA expression of stat3, stat5 in SMMC-7721 cells

表 2 苦参碱对 SMMC-7721 细胞 stat3 和 stat5 mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 2 Effect of matrine on mRNA expression of stat3 and stat5 in SMMC-7721 cells ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

| 组别        | 剂量                                                                           | stat3/ $\beta$ -actin | stat5/ $\beta$ -actin |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| 对照        | —                                                                            | 0.76±0.06             | 0.72±0.04             |
| 苦参碱       | 1.0 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$                                         | 0.50±0.04**           | 0.43±0.03**           |
| AG490     | 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$                                       | 0.72±0.11             | 0.70±0.06             |
| AG490+苦参碱 | 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ +1.0 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ | 0.48±0.06**△          | 0.41±0.06**△△         |

与对照组比较: \*\* $P < 0.01$

与 AG490 组比较: △ $P < 0.05$  △△ $P < 0.01$

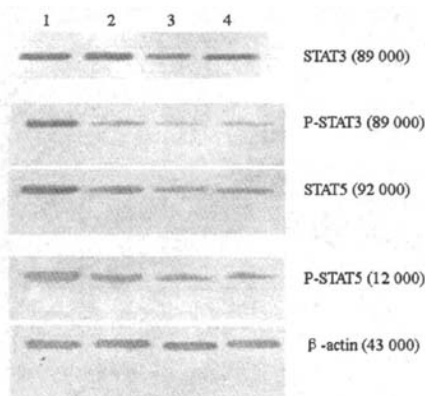
\*\* $P < 0.01$  vs normal group

△ $P < 0.05$  △△ $P < 0.01$  vs AG490 group

无显著差异 ( $P > 0.05$ ), P-STAT3、P-STAT5 蛋白表达量与对照组比较显著降低 ( $P < 0.05$ )。AG490+苦参碱作用于 SMMC-7721 细胞 48 h 后, STAT3、STAT5、P-STAT3、P-STAT5 蛋白表达量与对照组比较显著降低 ( $P < 0.05, 0.01$ )。与 AG490 组比较, AG490+苦参碱组 STAT3、STAT5 蛋白表达量显著降低 ( $P < 0.05$ ), P-STAT3、P-STAT5 蛋白表达量无显著差异 ( $P > 0.05$ )。与苦参碱组比较, AG490+苦参碱组 STAT3、STAT5、P-STAT3、P-STAT5 蛋白表达量无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 结果见图 2 和表 3。

## 3 讨论

苦参是传统中药, 含多种生物碱, 已广泛应用于临床。其有效成分具有抗寄生虫、抗菌、抗病毒、抗肿瘤、抗肝损伤等药理作用, 并有一定的调节免疫作



1-对照组 2-AG490 50  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组  
3-苦参碱 1.0  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 组 4-苦参碱+AG490 组  
1-control group 2-AG490 50  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  group  
3-matine 1.0  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  group 4-matine+AG490

图2 苦参碱对 SMMC-7721 细胞 STAT3、STAT5、P-STAT 蛋白表达的影响

Fig. 2 Effect of matrine on protein expression of STAT3, P-STAT3, STAT5, and P-STAT5 in SMMC-7721 cells

表3 苦参碱对 SMMC-7721 细胞 STAT3、STAT5、P-STAT3 和 P-STAT5 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

Table 3 Effect of matrine on protein expression of STAT3, STAT5, P-STAT3, and P-STAT5 in SMMC-7721 cells ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

| 组别        | 剂量                                                                           | STAT3/ $\beta$ -actin     | STAT5/ $\beta$ -actin     | P-STAT3/ $\beta$ -actin | P-STAT5/ $\beta$ -actin |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 对照        | —                                                                            | 1.10 $\pm$ 0.17           | 1.08 $\pm$ 0.13           | 0.94 $\pm$ 0.13         | 0.83 $\pm$ 0.09         |
| 苦参碱       | 1.0 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$                                         | 0.81 $\pm$ 0.07*          | 0.82 $\pm$ 0.07*          | 0.71 $\pm$ 0.06*        | 0.64 $\pm$ 0.06*        |
| AG490     | 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$                                       | 1.07 $\pm$ 0.13           | 1.03 $\pm$ 0.10           | 0.46 $\pm$ 0.11**       | 0.53 $\pm$ 0.07**       |
| AG490+苦参碱 | 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ +1.0 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ | 0.82 $\pm$ 0.04* $\Delta$ | 0.81 $\pm$ 0.06* $\Delta$ | 0.38 $\pm$ 0.06**       | 0.50 $\pm$ 0.07**       |

与对照组比较: \* $P<0.05$  \*\* $P<0.01$ ; 与 AG490 组比较:  $\Delta P<0.05$

\* $P<0.05$  \*\* $P<0.01$  vs normal group;  $\Delta P<0.05$  vs AG490 group

同源二聚体从受体上释放下来,进入细胞核与特异的 DNA 序列结合启动靶基因转录<sup>[9]</sup>。研究发现 JAK 与多种肿瘤发生有关,STAT3 和 STAT5 在特定的恶性肿瘤尤其是白血病和淋巴瘤中有持续性激活<sup>[10,11]</sup>。

AG490 是一种人工合成的苯亚甲基丙二腈的脂类衍生物,分子式  $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$ ,相对分子质量为 294.3,结构类似酪氨酸,是 JAK-STAT 途径特异性信号转导阻滞剂,通过和受体酪氨酸激酶竞争结合位置抑制 JAK2 的磷酸化,进一步抑制 JAK2 底物 STAT 的磷酸化,磷酸化形式是酪氨酸蛋白激酶的活化形式。

本研究说明苦参碱不仅从基因转录方面抑制了 stat3、stat5 mRNA 的表达,而且抑制 STAT3、STAT5 蛋白激酶的活化。因此苦参碱可以抑制肿

用<sup>[4]</sup>。研究发现苦参碱在体外可抑制肿瘤细胞增殖,诱导细胞凋亡<sup>[5,6]</sup>,并可通过多种途径产生抗肿瘤作用。刘北忠等<sup>[7,8]</sup>研究表明在苦参碱抑制 K562 细胞增殖、诱导细胞红系分化的过程中有广泛的蛋白酪氨酸激酶活性短暂下降和酪氨酸磷酸酶的活性变化。苦参碱抑制肿瘤细胞增殖机制可能是通过抑制酪氨酸磷酸酶的活性而影响细胞增殖过程中酪氨酸蛋白激酶的磷酸化水平,使肿瘤细胞异常增殖的信号通路在一定程度上受到阻滞,从而进一步影响细胞增殖分化,促进其凋亡。

JAKs 家族成员广泛分布于各种组织细胞中,其中 JAK<sub>2</sub>、JAK<sub>3</sub> 与肿瘤发生发展有密切关系。STATs 有多个家族成员,其中 STAT1 与肿瘤抑制有关,STAT3、STAT5 与肿瘤发生发展关系密切。JAK-STATs 信号转导通路与细胞的增殖、分化及凋亡关系密切,该通路异常活化可导致细胞异常增殖和恶性转化。JAKs 作为上游激酶介导 STATs 信号转导通路活化的机制是:JAK 激酶活化后募集胞浆中以单体存在的 STATs 分子,使与受体结合的 STAT 分子酪氨酸磷酸化后,STATs 形成同源或

瘤发展过程中起重要作用的细胞信号转导通路 JAK-STAT 通路。AG490 作用于肝癌 SMMC-7721 细胞后,对 STAT3、STAT5 蛋白激酶的活化产生抑制作用。AG490 和苦参碱联合应用与 AG490 比较,抑制了 stat3、stat5 mRNA 和 STAT3、STAT5 蛋白的表达,而对 P-STAT3、P-STAT5 蛋白表达无明显协同作用,而且联合应用与苦参碱比较 P-STAT3、P-STAT5 蛋白表达也无明显协同作用,表明苦参碱抑制 STAT3、STAT5 蛋白磷酸化的机制可能与 AG490 抑制 JAK2 的磷酸化机制不同,尚有待于进一步深入研究。

#### 参考文献:

- [1] 陈伟红,陈燕,谷俊侠,等.姜黄素对 K562 细胞 STAT5 信号分子的影响[J].中华血液学杂志,2004,25(3):151-153.
- [2] Tan C, Zhu W, Lu Y. Aloin, cinnamic acid and sophorcaridine are potent inhibitors of tyrosinase[J]. Chin Med J, 2002, 115(12): 1859-1862.

- [3] 赵军艳, 殷飞, 姚树坤. 用组织芯片技术研究 JAK/Stat5 在肝癌组织中的表达及意义 [J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2006, 15(1): 95-100.
- [4] 李丹, 王平金, 张楠森. 苦参碱类生物碱的研究进展及临床应用 [J]. 中草药, 1996, 27(5): 308-310.
- [5] 司维柯, 李鹏, 姚婕. 苦参碱对 HepG2 细胞代谢水平和基因水平的影响 [J]. 第三军医大学学报, 2002, 24(11): 1346-1349.
- [6] 张永清, 黄高昇, 王哲, 等. 苦参碱对 K562 细胞增殖及凋亡相关分子表达的影响 [J]. 中国医学科学院学报, 2001, 23(4): 333-336.
- [7] 刘北忠, 蒋纪恺, 何於娟, 等. 苦参碱对 K562 细胞蛋白酪氨酸激酶及磷酸酶活性的影响 [J]. 癌症, 2002, 21(12): 1292-1295.
- [8] 刘小珊, 蒋纪恺, 张彦, 等. 苦参碱对人白血病 K562 细胞内酪氨酸蛋白磷酸化的影响 [J]. 中华实用中西医杂志, 2004, 4(17): 3030-3031.
- [9] Levy D E, Darnell J E. STSTs: transcriptional control and biological impact [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002, 25(3): 651-662.
- [10] Bracke M, Nijhuis E, Lammers J W, et al. A critical role for PI3-kinase in cytokine-induced Fc $\alpha$ -receptor activation [J]. *Blood*, 2000, 95(6): 2037-2043.
- [11] Benekli M, Baer M R, Baumann H, et al. Signal transducer and activator of transcription proteins in leukemias [J]. *Blood*, 2003, 101(8): 2940-2945.

## 紫芝液体深层发酵液的抗肿瘤活性部位研究

杨国红, 杨义芳\*, 金隽迪

(上海医药工业研究院 中药研究室, 上海 200040)

**摘要:**目的 寻找紫芝液体深层发酵液的最佳抗肿瘤活性方法。方法 采用液体深层发酵得到菌丝体, 利用小鼠移植肿瘤模型追踪测试抗肿瘤活性, 导向得到最佳抗肿瘤活性部位, 并用苯酚-硫酸法测得其总多糖质量分数; 3, 5-二硝基水杨酸 (DNS) 法测定其还原糖质量分数, 并对活性部位进行体外的细胞毒试验。结果 紫芝液体深层发酵液的最佳抗肿瘤活性部位为胞内水提醇沉得到沉淀的水溶部分 (样品 B) 含多糖 88.4%, 含还原糖 3.15%, 该部分不含蛋白质; 在 ig 给药剂量为 40.5 mg/kg 时, 该活性部位对 H<sub>22</sub> 肝癌小鼠的抑瘤率为 63.94%, 对 Lewis 肺癌小鼠的抑瘤率为 58.32%; 该活性部位对 A549、LoVo、CEM、QGY-7703 等 4 种人肿瘤细胞的 IC<sub>50</sub> 值分别为 160、29.28、45.06、37.38  $\mu$ g/mL。结论 紫芝液体深层发酵液的最佳抗肿瘤活性部位为胞内水提醇沉物可溶于水部分, 对小鼠移植肿瘤有较好的抑制作用, 但体外细胞毒作用较弱。

**关键词:** 紫芝; 液体深层发酵; 抗肿瘤

中图分类号: R286.91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)06-0877-04

### Antitumor fraction from liquid submerged fermentation of *Ganoderma sinense*

YANG Guo-hong, YANG Yi-fang, JIN Jun-di

(Department of Chinese Materia Medica, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200040, China)

**Abstract:** **Objective** To study the antitumor fraction from liquid submerged fermentation of *Ganoderma sinense*. **Methods** The antitumor active fractions were extracted from the hyphostroma which was produced by liquid submerged fermentation and their antitumor activities were observed by mice transplant tumor model. The total polysaccharides were tested by phenol-sulphuric acid method and the contents of reducing sugars were measured by DNS method. The cytotoxic activities were tested by MTT method *in vitro*. **Results** The optimum fraction was the intracellular soluble precipitation (sample B) by water extracting with alcohol sedimentation. The contents of total polysaccharide and reducing sugar in the optimum active fraction from liquid submerged fermentation of *G. sinense* were 88.4% and 3.15%, respectively, but no protein. The inhibitory ratios were 63.94% and 58.32% on the growth of H<sub>22</sub> and Lewis tumor transplanted in mice by ig administration in the concentration of 40.5 mg/kg, respectively. The IC<sub>50</sub> on four tumor cells of A549, LoVo, CEM, and QGY-7703 were 160, 29.28, 45.06, and 37.38  $\mu$ g/mL, respectively, which suggested that the active fraction had weak cytotoxic on LoVo, CEM, and QGY-7703. **Conclusion** The active fraction from liquid submerged fermentation of *G. sinense* is polysaccharide which has better inhibitory rate on the growth of H<sub>22</sub> and Lewis tumor transplanted in mice but their cytotoxicities are weak.

收稿日期: 2007-09-07

基金项目: 上海市自然科学基金项目 (05ZR14112); 上海市科委“登山行动计划”项目中药现代化专项重点项目 (06DZ19706)

作者简介: 杨国红 (1976—), 男, 山西人, 博士, 主要从事中药活性成分及新药研究。

Tel: (021) 62479808-491 E-mail: yangguohong2001@yahoo.com.cn

\* 通讯作者 杨义芳 Tel/Fax: (021) 62473018 E-mail: yanggy4912@163.com

# 苦参碱对肝癌SMMC-7721细胞JAK-STAT信号通路的影响

作者：[殷飞](#)，[赵军艳](#)，[姚树坤](#)，[YIN Fei](#)，[ZHAO Jun-yan](#)，[YAO Shu-kun](#)  
作者单位：[河北医科大学第四临床医院消化内科, 河北, 石家庄, 050011](#)  
刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**  
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)  
年，卷(期)：2008, 39 (6)  
被引用次数：7次

## 参考文献(11条)

1. 陈伟红, 陈燕, 谷俊侠 [姜黄素对K562细胞STAT5信号分子的影响](#) [期刊论文]-[中华血液学杂志](#) 2004 (03)  
2. Tan C, Zhu W, Lu Y [Aloin, cinnamic acid and sophorcarpidine are potent inhibitors of tyrosinase](#) [外文期刊] 2002 (12)  
3. 赵军艳, 殷飞, 姚树坤 [用组织芯片技术研究JAK/Stat5在肝癌组织中的表达及意义](#) [期刊论文]-[中国组织化学与细胞化学杂志](#) 2006 (01)  
4. 李丹, 王平金, 张楠森 [苦参碱类生物碱的研究进展及临床应用](#) 1996 (05)  
5. 司维柯, 李鹏, 姚婕 [苦参碱对HepG2细胞代谢水平和基因水平的影响](#) [期刊论文]-[第三军医大学学报](#) 2002 (11)  
6. 张永清, 黄高昇, 王哲 [苦参碱对K562细胞增殖及凋亡相关分子表达的影响](#) [期刊论文]-[中国医学科学院学报](#) 2001 (04)  
7. 刘北忠, 蒋纪恺, 何於娟 [苦参碱对K562细胞蛋白酪氨酸激酶及磷酸酶活性的影响](#) [期刊论文]-[癌症](#) 2002 (12)  
8. 刘小珊, 蒋纪恺, 张彦 [苦参碱对人白血病K562细胞胞内酪氨酸蛋白磷酸化的影响](#) 2004 (04)  
9. Levy D E, Darnell J E [STs: transcriptional control and biological impact](#) [外文期刊] 2002 (03)  
10. Bracke M, Nijhuis E, Lammers J W A [A critical role for PI3-kinase in cytokine-induced Fcαph-receptor activation](#) [外文期刊] 2000 (06)  
11. Benekli M, Baer M R, Baumann H [Signal transducer and activator of transcription proteins in leukemias](#) [外文期刊] 2003 (08)

## 本文读者也读过(5条)

1. 种铁, 付德来, 牛建强, 李和程, 张鹏, 甘为民, 王子明, CHONG Tie, FU De-lai, NIU Jian-qiang, LI He-cheng, ZHANG Peng, GAN Wei-min, WANG Zi-ming [苦参碱对体外培养的人ACHN肾癌细胞的生长抑制作用及其机制](#) [期刊论文]-[西安交通大学学报 \(医学版\)](#) 2010, 31 (6)  
2. 高薇, 杨娉婷, 赵娟娟 [JAK/STAT信号转导通路与类风湿关节炎](#) [期刊论文]-[中华风湿病学杂志](#) 2006, 10 (9)  
3. 詹刚, 冯来运, ZHAN Gang, FENG Lai-yun [苦参碱对大肠癌细胞凋亡发生及Bad蛋白表达的影响](#) [期刊论文]-[重庆医学](#) 2009, 38 (8)  
4. 殷飞, 赵军艳, 姚树坤, YIN Fei, ZHAO Jun-yan, YAO Shu-kun [苦参碱对SMMC-7721细胞MAPK、JAK-STAT信号通路的影响](#) [期刊论文]-[肿瘤防治研究](#) 2008, 35 (2)  
5. 钟梁, 刘北忠, 郝坡, 刘畅, 王东生, 王春光, ZHONG Liang, LIU Bei-zhong, HAO Po, LIU Chang, WANG Dong-sheng, WANG Chun-guang [苦参碱诱导肺腺癌A549细胞凋亡及对人端粒酶逆转录酶表达的影响](#) [期刊论文]-[中草药](#) 2008, 39 (10)

## 引证文献(7条)

1. 豆卫, 王俊梅, 谭成虎, 魏玉兵, 王东辉 [苦参碱防治荒漠草地蝗虫试验研究](#) [期刊论文]-[草业科学](#) 2010 (3)  
2. 王玉龙, 关扎根, 贾学思, 吴尚英, 魏红国 [苦参碱在农业害虫防治中的应用研究进展](#) [期刊论文]-[山西农业科学](#)

2012 (4)

3. [李屹](#), [张丽楠](#), [杨磊](#) [苦参碱药理作用研究进展](#) [期刊论文] - [实用中医药杂志](#) 2012 (5)
4. [薛爱华](#), [宋文静](#) [苦参碱药理作用研究概况](#) [期刊论文] - [天津药学](#) 2010 (5)
5. [尹蓓珮](#), [李炳生](#) [中药抗肝癌作用机制的研究进展](#) [期刊论文] - [世界临床药物](#) 2010 (7)
6. [张丽华](#), [陈邦恩](#), [潘明佳](#) [苦参碱药理作用研究进展](#) [期刊论文] - [中草药](#) 2009 (6)
7. [刘斐](#), [商倩](#), [张士俊](#) [中药活性成分抗肝癌的研究进展](#) [期刊论文] - [现代药物与临床](#) 2012 (6)

本文链接: [http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zcy200806026.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200806026.aspx)