

多球壳菌素诱导系膜细胞凋亡及对细胞周期调节蛋白基因表达谱的影响

陈 美¹, 江警予², 郝 燕¹, 周建华^{1*}

(1. 华中科技大学同济医学院附属同济医院 儿科, 湖北 武汉 430030; 2. 武汉市中心医院 药剂科, 湖北 武汉 430030)

摘要:目的 观察多球壳菌素(ISP-1)对体外培养的正常大鼠肾小球系膜细胞(GMC)的促凋亡作用, 研究ISP-1对细胞周期调节蛋白基因表达谱和凋亡相关蛋白Bax、Bcl-2表达的影响。方法 体外培养大鼠GMC, 加入100 $\mu\text{mol/L}$ ISP-1干预, 分别于作用6、12、24、48 h后以流式细胞术检测GMC凋亡, Hoechst33258/PI染色观察凋亡细胞形态变化, 琼脂糖DNA凝胶电泳法观察凋亡细胞核小体DNA的断裂现象, 并通过SuperArray Real-Time PCR细胞周期基因芯片测定ISP-1对细胞周期调节蛋白基因表达谱的影响, Western blotting法观察Bax和Bcl-2蛋白的表达。结果 ISP-1可显著诱导GMC凋亡, 并呈一定的时间依赖性, 作用48 h后细胞凋亡最显著, Hoechst 33258/PI荧光染色法可见亮蓝色的凋亡小体, 琼脂糖凝胶电泳可见凋亡梯度的出现; PCR细胞周期基因芯片检测结果发现ISP-1可显著上调GMC Rad51、Atm、Brcal、Caspase3、cyclinA2、cyclinC、chek1、cyclinB1、cyclinB2、cyclinD2、cyclinF、Cdc25a和P²⁷等一些与DNA损伤、凋亡和细胞周期调节蛋白相关的基因的表达; Western blotting发现ISP-1可显著上调GMC Bax蛋白表达, 下调Bcl-2蛋白表达。结论 ISP-1可时间依赖性诱导体外培养的正常大鼠GMC凋亡, 其机制与影响细胞周期调节蛋白及凋亡相关基因的表达有关。

关键词:多球壳菌素(ISP-1); 肾小球系膜细胞(GMC); 凋亡; 细胞周期调节蛋白

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)08-1208-05

Induction of myriocin on apoptosis and effect of myriocin on gene expression profiles of cell cycle regulatory proteins in glomerular mesangial cells

CHEN Mei¹, JIANG Jing-yu², HAO Yan², ZHOU Jian-hua¹

(1. Department of Pediatrics, Affiliated Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China; 2. Department of Pharmacy, Central Hospital of Wuhan, Wuhan 430030, China)

Abstract: **Objective** To observe the effects of myriocin (ISP-1) on improvement of glomerular mesangial cell (GMC) apoptosis and on gene expression profiles of cell cycle regulatory proteins in GMC. **Methods** Rat GMC was cultured with 100 $\mu\text{mol/L}$ ISP-1 for 6, 12, 24, and 48 h, apoptosis was evaluated through flow cytometry, Hoechst33258/PI fluorescence staining and DNA fragmentation analysis was carried out under Sepharose electrophoresis to observe the changes of apoptosis and DNA fragmentation. Gene expression profiles of cell cycle regulatory proteins were detected by SuperArray Real-Time PCR microarray analysis. The expression of Bax and Bcl-2 proteins was investigated by Western blotting. **Results** ISP-1 could significantly induce GMC apoptosis in a time-dependent manner, which was the most significant after 48 h. Apoptosis bodies of GMC were observed by Hoechst/PI fluorescence staining, and a typical ladder pattern was identified in DNA electrophoresis. SuperArray Real-Time PCR microarray analysis revealed that ISP-1 could up-regulate the expression of genes involved in DNA damage, apoptosis and cell cycle regulation, such as Rad51, Atm, Brcal, caspases, cyclinA2, cyclinC, chek1, cyclinB1, cyclinB2, cyclinD2, cyclinF, Cdc25a, and P²⁷. Western blotting showed that ISP-1 could significantly up-regulate Bax protein expression and down-regulate Bcl-2 protein expression, respectively. **Conclusion** ISP-1 could induce GMC apoptosis in a time-dependent manner, propably through influencing gene expression of cell cycle regulatory proteins and apoptosis proteins.

Key words: myriocin (ISP-1); glomerular mesangial cell (GMC); apoptosis; cell cycle regulatory proteins

肾小球系膜细胞(GMC)是肾小球中3种固有细胞成分之一,其增生及由此引起的细胞外基质

收稿日期:2008-01-04

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30472268);湖北省科技攻关项目(2007AA301B44)

作者简介:陈 美(1981—),女,山东省莱州市人,在读硕士研究生,研究方向为儿科肾脏疾病。

* 通讯作者 周建华 E-mail: jhzhou@tjh.tjmu.edu.cn

(EMC)分泌增加是导致肾小球硬化的重要原因,增生的系膜细胞可通过细胞凋亡机制来清除^[1]。多球壳菌素(ISP-1), $C_{12}H_{33}NO_6$,相对分子质量401.5,是从冬虫夏草中提取的一种小分子新型免疫抑制剂,具极强的免疫抑制作用^[2~4]。以前的研究发现ISP-1可显著抑制GMC增生、肥大,减少EMC的分泌^[5],推测ISP-1可能直接诱导GMC凋亡从而发挥其抑制GMC增生作用,由于细胞的增生、凋亡受细胞周期调节蛋白的调控,本研究在多角度证实ISP-1诱导GMC凋亡的基础上,观察了ISP-1对细胞周期调节蛋白基因表达谱和凋亡相关蛋白Bax、Bcl-2表达的影响,阐明ISP-1诱导GMC凋亡的作用机制,为临床治疗系膜增生性肾炎提供实验依据。

1 材料

DMEM购自Gibco公司;小牛血清购自Hyclon公司;ISP-1由Calbiochem公司提供,为虫草菌丝粉中提取物;Hoechst33258、PI购自Sigma公司,琼脂糖为Spanish产品;流式细胞仪(美国BD公司),美国SuperArray Real-Time PCR细胞周期芯片,兔抗鼠Bax和Bcl-2多克隆抗体购自Santa Cruz,DAB试剂盒购自武汉博士德公司。

2 方法

2.1 细胞培养与分组:SD大鼠GMC为经SV-40转染的水生性细胞株,购自武汉大学中国典型培养物保藏中心,以含10%小牛血清的DMEM培养,含青霉素100 U/mL、链霉素100 mg/mL,常规置于37℃、5% CO₂培养箱中培养,每周传代2~3次。实验前无血清培养液培养24 h,然后用含5%小牛血清的培养基培养,加入ISP-1并使其终浓度为100 μmol/L(预实验确定的最佳剂量),分别作用6、12、24、48 h后检测。每种实验方法均使用ISP-1重复处理3次。

2.2 Hoechst33258/PI染色荧光显微镜观察细胞凋亡:培养液中加入10 μg/mL Hoechst33258,37℃染色30 min,吸除染料,直接加入10 μg/mL PI,4℃染色15 min,摇床上PBS洗3次,每次3 min,荧光显微镜下拍片。

2.3 DNA凝胶电泳检测细胞凋亡:同上处理的待检细胞制成悬液,3 000 r/min离心5 min,去上清,加入-20℃预冷的70%乙醇混匀,振荡打散细胞,-20℃固定过夜。次日3 000 r/min离心5 min,去上清,棉棒沾干液体,加入400 μL裂解液,100 μL蛋白酶K,混匀,60℃水浴30~40 min,加

入75 μL高浓度NaCl溶液,4℃,15 min,加入等体积的氯仿,振荡器上充分混匀,10 000 r/min离心10 min,立即取出,吸上清到另一管中,加2.5倍体积-20℃预冷的无水乙醇,上下颠倒,可见白色絮状沉淀,10 000 r/min离心5 min,去上清,加700 μL -20℃预冷的无水乙醇洗1遍,10 000 r/min离心10 min,去上清,棉棒沾干液体,加50 μL无菌双蒸水,混匀沉淀,60℃水浴15 min助溶,2%琼脂糖凝胶电泳,紫外灯下观察。

2.4 流式细胞仪检测细胞凋亡:同上处理的待检细胞制成细胞悬液,800~1 000 r/min离心5 min,离心2次去上清,用-20℃预冷的70%乙醇悬浮细胞,固定过夜,次日800~1 000 r/min离心5 min去固定液,PBS离心冲洗去上清,加入20 μL RNAase 37℃水浴30 min,再加入40 μL PI染液(PI 100 μg/mL, Triton-X 1%, NaCl 0.9%),4℃,30 min,流式细胞仪检测细胞凋亡。

2.5 SuperArray Real-Time PCR细胞周期基因芯片:待检细胞作用24 h后,倒出培养基,直接加入Trizol溶解细胞,每15 cm²加入1 mL吹打,待细胞溶解后加入1.5 mL Ep管中,封口胶封口,邮寄上海康成生物工程有限公司进行检测。

2.6 Western blotting检测Bax和Bcl-2蛋白的表达:细胞常规抽提蛋白,以12% SDS-PAGE凝胶电泳,电转移,封闭液4℃过夜,兔抗鼠Bax和Bcl-2多克隆抗体(1:200)杂交,4℃过夜,辣根过氧化物酶耦联的羊抗兔IgG二抗(1:1 000)37℃孵育1 h,DAB显色。

2.7 统计学方法:实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间数据比较采用 t 检验,统计软件采用SPSS 13.0。

3 结果

3.1 Hoechst33258/PI染色荧光显微镜观察结果:对照组未见凋亡,细胞核呈现Hoechst33258的蓝色荧光(图1-A)。GMC经ISP-1作用后出现凋亡,作用24、48 h组出现明显的形态变化,表现为亮蓝色凋亡小体出现,随着时间延长,凋亡小体也更为多见(图1-B及图1-C)。而ISP-1作用6、12 h组未见明显凋亡小体的出现。PI不能通过完整细胞膜,仅使坏死细胞呈现红色染色(图1-D)。

3.2 DNA凝胶电泳分析:ISP-1作用6、12 h后,未见凋亡梯度的出现,在作用24、48 h后,可见明显的“梯状”排列的DNA片段(图2)。

3.3 流式细胞仪检测细胞凋亡:ISP-1加入12 h后可见小的亚二倍体峰,24、48 h后出现明显的亚

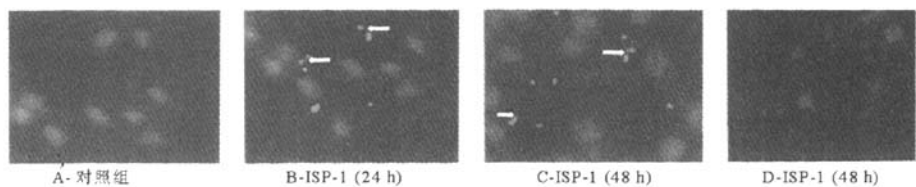
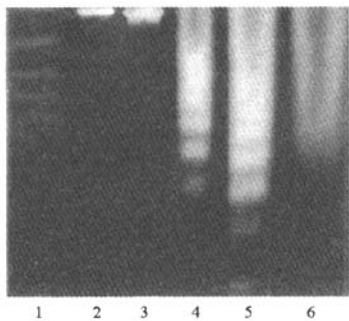


图 1 ISP-1 作用 GMC 不同时间后 Hoechst33258/PI 荧光染色结果

Fig. 1 Results of fluorescence staining by Hoechst33258/PI on GMC treated with ISP-1 for different times

二倍体峰。定量分析显示,ISP-1 作用 12、24、48 h 后细胞凋亡率显著高于对照组 ($P<0.05, 0.01$),见表 1,表明 ISP-1 诱导 GMC 凋亡呈时间依赖性。



1-Marker 2~5-ISP-1 6,12,24,48 h 组
6-ISP-1 诱导坏死细胞组
1-Maker 2~5-ISP-1 treated for 6, 12, 24, and 48 h
6-necrotic cells induced by ISP-1

图 2 ISP-1 处理不同时间 GMC DNA 凝胶电泳图

Fig. 2 DNA Electrophoretogram of GMC treated with ISP-1 for different times

表 1 ISP-1 作用不同时间对 GMC 凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Effect of ISP-1 on apoptosis of GMC treated for different times ($\bar{x} \pm s, n=3$)		凋亡率/%			
组别	C/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	6 h	12 h	24 h	48 h
对照	—	0.60±0.29	1.28±0.06	2.90±0.11	4.12±0.08
ISP-1	100	1.20±0.27	4.29±1.54*	6.38±0.47**	14.97±1.53**

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

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

3.4 SuperArray Real-Time PCR 细胞周期基因芯片分析:SuperArray Real-Time PCR 细胞周期基因芯片结果显示,与对照组相比,与 DNA 损伤和凋亡相关的基因 Atm、Brcal、Rad51 显著上调,分别为 10.14、8.09、8.49 倍,Caspase3 上调 2.51 倍;与细胞周期相关的蛋白中,cyclinA2、cyclinC、chek1 上调幅度比较大,分别为 4.10、3.38、5.41 倍,而 cyclinB1、cyclinB2、cyclinD2、cyclinF、Cdc25a 上调幅度比较小,分别为 2.24、2.36、2.06、2.92、2.12

倍;细胞周期蛋白激酶抑制剂的 CIP/KIP 家族中 P²⁷上调 2.96 倍(图 3)。另外,下调 2 倍以上的基因有 Npm2、Prm1,与对照组相比分别为 2.15、2.08 倍(图 4),下调 2 倍以下的基因有 Ak1、Ccnal、Cdk4、Cdknla、Cdkn2a、Cdkn2b、E2f1、LOC307231、Mcm2_predicted、Ran、Taf10_predicted、Tp53、Rplpl、Rp113a、Ldha、Actin,与对照组相比分别为 1.12、1.62、1.27、1.21、1.62、1.80、1.13、1.62、1.12、1.01、1.53、1.44、1.29、1.26、1.27、1.30 倍。

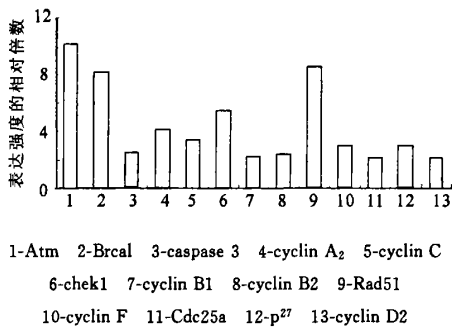


图 3 ISP-1 上调 GMC 基因表达相对倍数
Fig. 3 Relative multiples of gene expression of GMC up-regulated by ISP-1

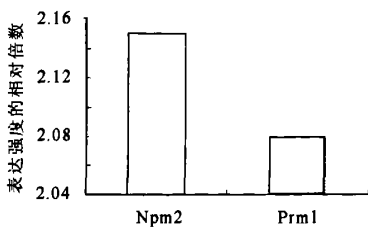


图 4 ISP-1 下调 GMC 基因表达相对倍数
Fig. 4 Relative multiples of gene expression of GMC down-regulated by ISP-1

3.5 Western Blotting 检测 Bax 和 Bcl-2 蛋白的表达:GMC 经 ISP-1 作用不同时间后,Bax 蛋白表达上调,48 h 组高于 24 h 组 ($P<0.05$),24 h 组明显高于 12 h ($P<0.01$),Bcl-2 蛋白表达下降,48 h 组明显低于 24 h 组 ($P<0.01$),24 h 组低于 12 h ($P<0.05$),并且 Bax/Bcl-2 值随时间增加而增加,

结果见图 5, 表 2。

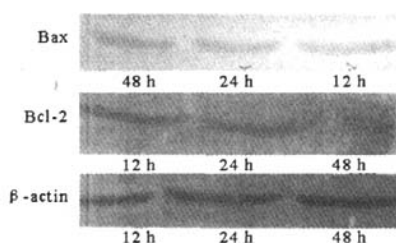


图 5 ISP-1 作用不同时间 GMC Bax 及 Bcl-2 蛋白表达

Fig. 5 Expression for Bax and Bcl-2 of GMC treated with ISP-1 for different times

表 2 ISP-1 作用不同时间 GMC Bax 及 Bcl-2 表达变化 (n=3)

Table 2 Changes of Bax and Bcl-2 expression of GMC treated with ISP-1 for different times (n=3)

组别	时间	Bax/β-actin	Bcl-2/β-actin	Bax/Bcl-2
ISP-1	12 h	0.65±0.02	0.87±0.04	0.75±0.05
	24 h	0.66±0.01**	0.84±0.02*	0.79±0.03
	48 h	0.71±0.03*	0.81±0.03**	0.87±0.02

与前一时间点比较: *P<0.05 **P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs pre-time point

4 讨论

本实验结果显示,体外培养的正常大鼠 GMC 与 ISP-1 共孵育后,呈现细胞形态学改变,DNA 凝胶电泳出现典型的 DNA“梯度”片段排列,流式细胞分析检测到亚二倍体的凋亡峰,且凋亡细胞数的增加与 ISP-1 呈时间依赖性,这些结果表明,ISP-1 可直接诱导 GMC 凋亡。为探讨其诱导 GMC 凋亡的机制,在多角度证实 ISP-1 诱导 GMC 凋亡的基础上,观察了 ISP-1 对细胞周期调节蛋白基因表达谱和凋亡相关蛋白 Bax、Bcl-2 表达的影响,其中 SuperArray Real-Time PCR 细胞周期基因芯片为新一代基因芯片,具有灵敏度高,特异性强,可有效避免非特异性物质的产生,均一性好,扩增效率高及重复性佳的特点,其结果发现 ISP-1 可显著上调 GMC Rad51、Atm、Brcal、caspase3、cyclinA2、cyclinC、chek1、cyclinB1、cyclinB2、cyclinD2、cyclinF、Cdc25a 和 P27 等一些与 DNA 损伤、凋亡和细胞周期调节蛋白相关的基因的表达,同时也可下调 Npm2、Prm1、Ak1、Ccna1、Cdk4、Cdkn1a、Cdkn2a、Cdkn1b、E2f1 等基因的表达,Western blotting 结果也显示 ISP-1 可显著上调 GMC 促凋亡蛋白 Bax 表达,下调 GMC 凋亡抑制蛋白 Bcl-2 表达,最终效应是诱导凋亡产生。

细胞凋亡与细胞周期密切相关,细胞周期是在细胞周期调节蛋白的严密调控下完成的,包括正调控蛋白:细胞周期蛋白(cyclins)、细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶(CDK)和负调控蛋白:细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶抑制剂(CKI)。正性调节蛋白促进细胞周期的运行,负性调节蛋白抑制细胞周期的运行。细胞周期中存在至少两个检测点,G₁/S 与 G₂/M,用药物来阻抑病理因素刺激下 GMC 的两个检测点的转位可抑制细胞增生,细胞自 G₁晚期或其后各期退出细胞周期可引起细胞凋亡。周期素与 CDK 结合才能发挥作用,本实验中,cyclinA 表达虽然增加,但因缺乏 CDK2,不能促进 G₁/S 转变;表达增高的 P27 结合并灭活 G₁期相应细胞周期素与 CDK 的复合物,抑制 cyclin/A/B/D/E 依赖的激酶,阻抑细胞 G₁/S、G₂/M 转变。在 Thy-1 肾炎大鼠模型,霉酚酸酯和 CDK2 抑制剂 roscovitine 治疗可以上调 P27 的蛋白表达水平,从而抑制 GMC 的增生^[3];另外,与细胞周期凋亡相关的基因 caspase3 的表达升高,直接降解胞内的结构蛋白和功能蛋白,引起凋亡;Atm、chek1 和 cdc25 表达显著增加,引起 G₂/M 阻滞,而且 Atm 是 G₂/M 阻滞的主要途径,以上均可引起细胞凋亡。

DNA 损伤引起的凋亡分为 P53 依赖途径和非 P53 依赖途径,而且主要是通过 P53 途径引起凋亡。当前研究认为,Atm 能调节 P53 表达从而启动细胞凋亡^[4]。Atm 磷酸化 P53 的 Ser⁴⁶,后者对 P53 发挥诱导凋亡有重要作用。在一些体内和体外实验中发现,DNA 损伤如 DNA 链断裂可直接激活 Atm。本实验中,GMC 经 ISP-1 作用后,Atm 表达显著增加,进而产生细胞周期阻滞和 GMC 凋亡。Atm 还可以通过磷酸化的方式活化其下游基因 Brcal, Brcal 再与下游基因 Rad51 相互作用,共同完成损伤后修复,其为 DNA 损伤后的一种自我保护机制。但 Atm 在细胞凋亡中的作用更大一些^[8]。Atm 还可激活 Chek1, Chek1 引起 Cdc25 的 Ser²¹⁶ 磷酸化,通过抑制 Cdc25 的活性,抑制 M-CDK 的活性,使细胞周期中断,进而引起细胞凋亡。

细胞凋亡受一系列分子调控,包括一系列原癌基因和抑癌基因的产物,其中 Bcl-2 家族起着决定性作用^[9],Bax 是主要凋亡促进蛋白,Bcl-2 是主要凋亡抑制蛋白,两者之间的比例决定了细胞是生存还是死亡^[10]。Lin 等^[11]表明,细胞的凋亡可以由 Bax 的上调和 Bcl-2 的降低诱导,本实验结果正符合这一点。

GMC 凋亡可以阻断 GMC 的异常增生,控制疾病进展。急性肾小球肾炎通常以白细胞浸润和 GMC 增生为特征,通过凋亡可清除炎性细胞和多余数量的 GMC^[12],Thy1 系膜增生性肾小球肾炎中 GMC 凋亡同样是防止 GMC 过度增生的主要机制^[13]。越来越多的资料显示,凋亡是肾小球增生性疾病的消除方式之一^[14]。所以 ISP-1 诱导 GMC 凋亡可能是其治疗系膜增生性肾小球肾炎的作用机制。

参考文献:

- [1] Baker A J, Mooney J, Hughes J, *et al.* Mesangial cell apoptosis: the major mechanism for resolution of glomerular hypercellularity in experimental mesangial proliferation nephritis [J]. *J Clin Invest*, 1994, 94: 2105-2116.
- [2] Momoi M, Tanoue D, Sun Y, *et al.* SLY1 (YGR212W) is a major gene conferring resistance to the sphingolipid biosynthesis inhibitor ISP-1, and encodes an ISP-1 N-acetyltransferase in yeast [J]. *Biochem J*, 2004, 318: 321-328.
- [3] Yamaji-Hasegawa A, Takahashi A, Tetsuka Y, *et al.* Fungal metabolite sulfamisterin suppressed sphingolipid synthesis through inhibition of serine palmitoyltransferase [J]. *Biochemistry*, 2005, 44(1): 268-277.
- [4] Johnson V J, He Q, Osuchowski M F, *et al.* Disruption of sphingolipid homeostasis by myriocin, a mycotoxin, reduces thymic and splenic T-lymphocyte populations [J]. *Toxicology*, 2004, 201(1-3): 67-75.
- [5] 肖朝华,周建华,吴衡生. ISP-1 对高糖诱导肾小球系膜细胞肥大及基质合成的影响 [J]. 实用儿科临床杂志, 2006, 21: 268-270.
- [6] Chiara M, Menegatti E, Di Simone D, *et al.* Mycophenolate mofetil and roscovitine decrease cyclin expression and increase p27Kip1 (Kip1) expression in anti Thy1 mesangial proliferative nephritis [J]. *Clin Exp Immunol*, 2005, 139 (2): 225-235.
- [7] Delia D, Fontanella E, Ferrario C, *et al.* DNA damage-induced cell-cycle phase regulation of p53 and p21 waf1 in normal and ATM-defective cells [J]. *Oncogene*, 2003, 49: 7866-7869.
- [8] 沈波,孟哲峰,陈葆国,等. 不同浓度羟基脲对 K562 ATM/ATR 基因表达及细胞凋亡与周期变化的研究 [J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(12): 1281-1283.
- [9] Phil-Ok K. Streptozotocin-induced diabetes increases the interaction of Bad/Bcl-XL and decreases the binding of pBad/14-3-3 in rat testis [J]. *Life Sci*, 2007, 81: 1079-1084.
- [10] Hiromatsu Y, Kaku H, Mukai T, *et al.* Immunohistochemical analysis of Bcl-2 and Bax expression in thyroid glands patients with Graves' Disease [J]. *Endocr J*, 2004, 51(4): 399-405.
- [11] Lin J, Chen L Y, Lin Z X, *et al.* The effect of triptolide on apoptosis of glioblastoma multiforme (GBM) cells [J]. *J Int Med Res*, 2007, 35(5): 637-643.
- [12] Savill J, Mooney A, Hughes J. Apoptosis and renal scarring [J]. *Kidney Int Suppl*, 1996, 49: S14-S17.
- [13] Garrington T P, Johnson G L. Organization and regulation of mitogen-activated protein kinase signaling pathways [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 1999, 11(2): 211-218.
- [14] Duann P, Ho T Y, Desai B D, *et al.* Mesangial cell apoptosis induced by stimulation of the adenosine A3 receptor: signaling and apoptotic events [J]. *J Invest Med*, 2005, 53(1): 37-43.

甜菜碱对 HepG2 人肝癌细胞基因组范围 DNA 甲基化表达的影响

季宇彬,高世勇,杨红丹,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,

国家教育部抗肿瘤天然药物工程研究中心,黑龙江 哈尔滨 150076)

摘要:目的 研究甜菜碱对人肝癌细胞 HepG2 内基因组范围 DNA 甲基化的影响。方法 以浓度 0.1、0.2、0.4 mol/L 甜菜碱作用于人肝癌细胞 HepG2 24、48 h 后,通过高效毛细管电泳仪 (HPCE) 检测肿瘤细胞中 DNA 水解产物中 5-甲基-2'-脱氧胞嘧啶 (5-methyl-2'-deoxycytidine, 5 mdC) 水平,来检测甜菜碱对 HepG2 内基因组范围 DNA 甲基化表达的影响。结果 随着甜菜碱的浓度增大,5 mdC 占总体胞嘧啶的峰面积的百分比也相应增大,且有剂量依赖性。结论 甜菜碱作为甲基供体,促进 HepG2 细胞基因组范围 DNA 甲基化的表达,从而调控细胞周期抑制肿瘤的生长。

关键词:甜菜碱; DNA 甲基化; 高效毛细管电泳仪

中图分类号:R979.1 R286.91

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)08-1212-04

Effect of betaine on expression of DNA methylation in HepG2 genome

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

(Postdoctoral Research Station, Institute of Materia Medica, Life Sciences and Environmental Sciences Research Center, Harbin Commerce University, Research Center of Nature Drug Engineering for Anti-tumor, Ministry of Education, Harbin 150076, China)

收稿日期:2008-02-20

基金项目:国家自然科学基金资助项目 (30400352); 教育部科学技术研究重点项目 (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项目 (YJSCX2006-0077HSD)

作者简介:季宇彬 (1956—),男,博士,教授,博士生导师,多年来一直致力于中药药理、肿瘤药理及分子药理学研究。

多球壳菌素诱导系膜细胞凋亡及对细胞周期调节蛋白基因表达谱的影响

作者：[陈美](#)，[江警予](#)，[郝燕](#)，[周建华](#)

作者单位：[陈美, 郝燕, 周建华\(华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科, 湖北, 武汉, 430030\)](#)，[江警予\(武汉市中心医院药剂科, 湖北武汉, 430030\)](#)

刊名：[中草药](#)[ISTIC](#)[PKU](#)

英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)

年，卷(期)：2008, 39(8)

被引用次数：4次

参考文献(14条)

1.[Baker A J;Mooney J;Hughes J](#) Mesangial cell apoptosis:the major mechanism for resolution of glomerular hypercellularity in experimental mesangial proliferation nephritis 1994

2.[Momoi M;Tanoue D;Sun Y](#) SLY1 (YGR212W) is a major gene conferring resistance to the sphingolipid biosynthesis inhibitor ISP-1, and encodes an ISP-1 Nacethyltransferase in yeast 2004

3.[Yamaji-Hasegawa A;Takahashi A;Tetsuka Y](#) Fungal metabolite sulfamisterin suppressed sphingolipid synthesis through inhibition of serine palmitoyltransferase[外文期刊] 2005(01)

4.[Johnson V J;He Q;Osuchowski M F](#) Disruption of sphingolipid homeostasis by myriocin, a mycotoxin, reduces thymic and splenic T-lymphocyte populations[外文期刊] 2004(1-3)

5.[肖朝华;周建华;吴衡生](#) ISP-1对高糖诱导肾小球系膜细胞肥大及基质合成的影响[期刊论文]-实用儿科临床杂志 2006(21)

6.[Chiars M;Menegatti E;Di Simone D](#) Myeophenolate mofetil and roscovitine decrease cyclin expression and increase p27Kipl (Kip1l) expression in anti Thyl mesangial proliferative nephritis[外文期刊] 2005(02)

7.[Delia D;Fontanella E;Ferrario C](#) DNA damageinduced cell-cycle phase regulation of p53 and p21 wall in normal and ATM-defective cells[外文期刊] 2003(49)

8.[沈波;孟哲峰;陈葆国](#) 不同浓度羟基脲对K562ATM/ATR基因表达及细胞凋亡与周期变化的研究[期刊论文]-中华检验医学杂志 2005(12)

9.[Phil-Ok K](#) Streptozotocin-induced diabetes increases the interaction of Bad/Bcl-XL and decreases the binding of pBad/14-3-3 in rat testis[外文期刊] 2007

10.[HiromatsuY;Kaku H;Mukai T](#) Immunohistochemical analysis of Bcl-2 and Bax expression in thyroid glands patients with Graves' Disease[外文期刊] 2004(04)

11.[Lin J;Chen L Y;Lin Z X](#) The effect of triptolide on apoptosis of glioblastoma muhiforme (GBM) cells 2007(05)

12.[Savill J;Mooney A;Hughes J](#) Apoptosis and renal scarring 1996

13.[Garrington T P;Jonhnson G L](#) Organization and regulation of mitogen-activated protein kinase signaling pathways[外文期刊] 1999(02)

14.[Duann P;Ho T Y;Desai B D](#) Mesangial cell apoptosis induced by stimulation of the adenosine A3 receptor:signaling and apoptotic events[外文期刊] 2005(01)

本文读者也读过(10条)

1. 葛晓言, 孙影, Ge Xiaoyan, Sun Ying 益肾蠲湿合剂对TGF- β 1诱导的肾小球系膜细胞分泌细胞外基质的影响[期刊论文]-现代中西医结合杂志2011, 20(16)
2. 党红星, 金玉, 梁耀军, 凌继祖, 苏婕 改良法人胎肾小球系膜细胞原代培养[期刊论文]-中国中西医结合肾病杂志2009, 10(4)
3. 石艳, 王路飞, 于晓艳, 苗春生, 李才, 胡芦巴多糖A2对大鼠肾小球系膜细胞CTGF表达的影响[期刊论文]-中国老年学杂志2008, 28(16)
4. 袁发焕, 光丽霞, 李一标 延肾胶囊对残肾系膜细胞凋亡及其细胞外基质代谢的影响[期刊论文]-中国现代医学杂志2004, 14(17)
5. 范焕芳, 陈志强, 张秀君, 韩琳, 庄克生, 李红霞 鳖甲煎丸对肾小球系膜细胞转化生长因子表达的影响[期刊论文]-中国老年学杂志2007, 27(5)
6. 方依卡, 李喜照 γ -干扰素协同5-杂氮-2'脱氧胞苷对神经母细胞瘤作用的基因表达谱研究[期刊论文]-实用医学杂志2009, 25(17)
7. 魏日胞, 陈香美, 李文歌, 傅博, 叶一舟, 王建中, 于力方 血管紧张素II诱导人胎肾系膜细胞凋亡及机制的初步研究[期刊论文]-解放军医学杂志1999, 24(3)
8. 宇汝翠, 张雁, 李平, 张梅, 陆智慧, 温跃才, YU Ru-cui, ZHANG Yan, LI Ping, ZHANG Mei, LU Zhi-hui, WEN Yue-cai 通络保肾复方对LPS刺激的肾小球系膜细胞表达TGF- β 、FN、LN的影响[期刊论文]-北京中医药大学学报2010, 33(7)
9. 林文生, 张农, 张颂文, 刘琛, 顾建新, 郭慕依, LIN Wen-sheng, ZHANG Nong, ZHANG Song-wen, LIU Chen, GU Jian-xin, GUO Mu-yi 大鼠肾脏系膜细胞转染人TGF- β 1基因可增强MMP-2表达[期刊论文]-上海医科大学学报2000, 27(1)
10. 钟海花, 万沁, 徐勇, Zhong HH, Wan Q, Xu Y 体外培养肾小球系膜细胞转化生长因子 β 1和血管紧张素II表达与过氧化物酶体增殖物激活受体 α 激动剂的影响[期刊论文]-中国组织工程研究与临床康复2007, 11(32)

引证文献(4条)

1. 王继明, 刘学永, 郭术莲, 王聪舟, 陈峰, 黄竹林, 史迎春 中药对肾小球系膜细胞增殖作用机制研究进展[期刊论文]-中国中西医结合肾病杂志 2010(9)
2. 江警予, 黄晓东, 王奕, 邓艾平, 周建华 转化生长因子 β 1-结缔组织生长因子途径在FTY720干预大鼠抗Thy-1系膜增生性肾炎中的作用[期刊论文]-中华病理学杂志 2012(2)
3. 肖朝华, 周建华, 吴衡生 多球壳菌素对高糖诱导肾小球系膜细胞cyclinD1表达的影响[期刊论文]-中国当代儿科杂志 2011(8)
4. 何亚红, 何晓青, 杨渊, 马牧之, 楼凯敏 蝉花对治疗糖尿病肾病的研究进展[期刊论文]-黑龙江医药 2012(6)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200808031.aspx