

胞内钙离子的浓度进而影响T细胞活化和增殖。Meng等^[9]报道淫羊藿提取物在体外具有雌激素效应,可以防止老年鼠和绝经期妇女的骨质疏松症。Ye等^[10]报道淫羊藿提取物或制剂在体内可以引起类似雌激素效应,提示淫羊藿可能与Genistein作用路径相似,即通过抑制PTK活性,阻断活化信号的传递。

淫羊藿提取物对Con A刺激的小鼠T淋巴细胞早期活化和增殖都是有抑制作用的,具有开发为免疫调节剂的潜能,其抗肿瘤、抗氧化作用也十分显著,但具体作用靶点和路径尚不清楚,有待于进一步探索和研究。

参考文献:

- [1] 李作洲,徐艳琴,王瑛,等.淫羊藿属药用植物的研究现状与展望[J].中草药,2005,36(2):289-295.
- [2] Nada Kovacevic, Miodrag Colic, Aleksandar Backovic, et al. Immunomodulatory effects of the methanolic extract of *Epimedium alpinum* in vitro [J]. Fitoterapia, 2006, 77: 561-567.
- [3] 王青,何贤辉,肇静娴,等.染料木黄酮对小鼠T细胞体外活化剂增殖的影响[J].中国病理生理杂志,2004,20(2):186-190.
- [4] 肇静娴,曾耀英,何贤辉,等.活体染料CFDA-SE在淋巴细胞增殖中的应用[J].细胞与分子免疫学杂志,2003,19(2):109-111.
- [5] 陈慰峰,金伯泉.医学免疫学[M].北京:人民卫生出版社,2005.
- [6] Marzio R, Mauel J, Betz-Corradin S. CD69 and regulation of the immune function [J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 1999, 21: 565-582.
- [7] Schowengerdt K O, Fricker F J, Bahjat K S, et al. Increased expression of the lymphocyte early activation marker CD69 in peripheral blood correlates with histologic evidence of cardiac allograft rejection [J]. Transplantation, 2000, 69: 2102-2107.
- [8] Posselt A M, Vincenti F, Bedolli M, et al. CD69 expression on peripheral CD8 T cells correlates with acute rejection in renal transplant recipients [J]. Transplantation, 2003, 76: 190-195.
- [9] Meng F H, Li Y B, Xiong Z L, et al. Osteoblastic proliferate activity of *Epimedium brevicornum* Maxim [J]. Phytomedicine, 2005, 12: 189-193.
- [10] Ye H Y, Lou Y J. Estrogenic effects of two derivatives of icariin on human breast cancer MCF-7 cells [J]. Phytomedicine, 2005, 12: 735-741.

基因芯片技术分析青蒿琥酯抑癌作用机制

陈立军,姚丽,靳秋月,谢红,呼文亮*

(中国人民武装警察部队医学院生化教研室,天津 300162)

摘要:目的 利用基因芯片检测青蒿琥酯作用于K562细胞后的基因表达情况,从基因水平上探讨青蒿琥酯抑制K562细胞增殖的作用机制。方法 K562细胞经不同浓度青蒿琥酯处理24 h,倒置光显微镜和荧光显微镜观察细胞形态学变化,流式细胞仪检测细胞周期变化。提取总RNA,逆转录生成cDNA,cDNA与基因芯片杂交,扫描仪检测杂交结果。结果 倒置光显微镜观察到青蒿琥酯处理的K562细胞出现不同程度的皱缩,核分裂相减少,细胞密度下降,漂浮细胞增多。荧光显微镜观察到青蒿琥酯处理的K562细胞染色质高度浓缩、边缘化,凝聚成明亮的团块,即凋亡小体。流式细胞仪检测青蒿琥酯处理K562细胞G₂期细胞的比例明显增加。扫描信号,分析数据显示10条基因表达有差异,p21、chk1表达上调,cyclinB1、cyclinE1、E2F1、DNA-PK、hTERT、bcl-2、jnk、VEGF表达下调。结论 青蒿琥酯可以抑制K562细胞增殖,作用机制与改变细胞周期某些调控物质的基因表达、诱导K562细胞凋亡有关。

关键词:基因芯片;青蒿琥酯;细胞周期;细胞凋亡

中图分类号:R286.91 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2008)09-1359-06

Analysis on mechanism related to anti-cancer effect of artesunate using gene chip technology

CHEN Li-jun, YAO Li, JIN Qiu-yue, XIE Hong, HU Wen-liang

(Department of Biochemistry, Medical College of Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin 300162, China)

Abstract: Objective In order to understand how artesunate inhibited leukaemia cell line K562, on the molecular level, the gene chip was used to detect the gene expression of leukaemia cell line K562 treated by artesunate. **Methods** K562 Cells were treated with artesunate for 24 h, and then modality changes were

收稿日期:2007-12-20

基金项目:天津市科委课题资助项目(05YFJMJ08200)

作者简介:陈立军(1967—),女,副教授,研究方向为肿瘤相关基因表达。Tel: (022) 60578076 E-mail: chenlijun67@eyou.com

* 通讯作者 呼文亮

studied by under invert microscope; The morphology changes of the nucleons were observed by Hoechst33342/PI staining; The cell cycle state was examined by flow cytometry (FCM) analysis. Total RNA samples were obtained by TRIzol and were reversely transcribed to the cDNA. cDNA Samples were hybridized to our gene chips. Hybridization signals were collected and analyzed following scanning by Gene Pix 4100A. **Results** The numbers of drift cells were increased and the density of cells was decreased by under invert microscope after K562 cells were treated with artesunate for 24 h. Morphology changes of cell apoptosis such as karyopyknosis and conglomeration were observed by Hoechst33342/PI staining. FCM Analysis showed that cells were arrested in G₂ phase. There were ten differentially expressed genes identified. Hybridization analysis showed up-regulation of p21 and chk1, and down-regulation of cyclinB1, cyclinE1, E2F1, DNA-PK, hTERT, bcl-2, jnk, and VEGF in the artesunate-treated K562 cells. **Conclusion** The inhibition of leukaemia cell line K562 by artesunate is clear; Artesunate exerts its anti-cancer effect by altering the expression of these genes involved in cell cycle and inducing apoptosis.

Key words: gene chip; artesunate; cell cycle; apoptosis

基因芯片是近年来涌现出来的一种生物学技术,正广泛应用于基因表达分析、基因型和多态性分析,疾病诊断与治疗 and 药物开发等研究中^[1]。用基因芯片作大规模的药物筛选研究可以省略大量的动物实验,缩短药物筛选所用时间。中药多成分和作用的多位点特点,决定了基因芯片在重要筛选和作用机制研究中的优势地位^[2]。青蒿琥酯是青蒿素重要的衍生物之一,是目前常用的抗疟特效药,研究发现青蒿琥酯还有抗肿瘤活性^[3,4]。如青蒿琥酯可以抑制鼠艾氏腹水瘤细胞、人淋巴细胞白血病细胞 (Molt-4)、人宫颈癌细胞 (HeLa) 和人鼻咽癌细胞 (SUNE-1 和 CNE-1) 的生长。在前期研究中发现,青蒿琥酯可以诱导肿瘤细胞发生凋亡,对肿瘤细胞生长具有明显的抑制作用^[5],并且被处理的肿瘤细胞多被阻滞在 G₂/M 期,和其他药物比较有明显的差异。因此,本研究拟用细胞周期调控相关的基因表达谱芯片,从基因水平探讨青蒿琥酯抑制肿瘤细胞周期作用的分子机制。

1 材料

1.1 细胞:人红白血病细胞株 K562 培养于含 10% 胎牛血清、80 U/L 庆大霉素的 RPMI-1640 (pH 7.0) 培养基中,37 °C、5% CO₂ 恒温培养箱中孵育生长。取对数生长期细胞用于实验。

1.2 药物:青蒿琥酯购自四川维康植化有限公司 (批号 050326,质量分数:99.8%)。

1.3 主要仪器:二氧化碳培养箱 (Forma),倒置相差显微镜 (Olympus),超纯水器 (Millipore),核酸定量仪 (Biochro),SpotArray ASP7201 点样仪 (PerKinElmer),GenePix 4100A 扫描仪 (Axon),CL-1000M 紫外交联仪 (UVP),HB-1000 杂交炉 (UVP)。

2 方法

2.1 青蒿琥酯处理 K562 细胞:配制青蒿琥酯溶液,浓度分别为 1×10^{-5} 、 4×10^{-5} 、 1.6×10^{-4} 、 6.4×10^{-4} 、 2.56×10^{-3} mol/L。常规培养细胞,调整细胞数为 1×10^5 /mL,体积为 4.5 mL/瓶,加入以上各浓度药物 0.5 mL。使其终浓度为 1×10^{-6} 、 4×10^{-6} 、 1.6×10^{-5} 、 6.4×10^{-5} 、 2.56×10^{-4} mol/L。将细胞置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中孵育。实验分组遵循随机原则,分为对照组和青蒿琥酯组,每组重复两瓶。

2.2 细胞形态学观察:经青蒿琥酯处理的各瓶细胞置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中孵育 24 h 后,倒置光显微镜观察细胞形态变化。每个标本分别收集细胞后用 Hoechst33342/PI 双荧光染色,荧光显微镜观察 K562 细胞变化。用 100 mg/L 5-氟尿嘧啶处理细胞做阳性对照。

2.3 流式细胞仪检测细胞周期变化:收集细胞,预冷的无水乙醇固定细胞,PBS 洗 1 次,加入 PI 终质量浓度 20 µg/mL 和 RnaseA 终质量浓度 50 µg/mL,37 °C 避光染色 30 min,流式细胞仪进行检测。

2.4 总 RNA 提取及质控:药物作用 24 h 后分别收集细胞至一离心管中,弃培养液,细胞依次用 TRIzol、氯仿、异丙醇、75% 乙醇处理后得到总 RNA,无 RNA 酶水 20 µL 溶解 RNA 沉淀,−80 °C 保存备用。总 RNA 纯化后,核酸定量仪测定和 A_{260}/A_{280} ;变性胶电泳质检总 RNA。

2.5 cDNA 的生成:总 RNA 反转录生成 cDNA,同时标记,用纯化柱纯化标记的 cDNA。

2.6 构建基因芯片:查找相关文献,找到与青蒿琥酯抗肿瘤密切相关基因及管家基因,在 Gene Bank 中查找这些基因的 mRNA 序列,用软件处理这些

序列,利用 Nucleotide blast 数据库,从中找出符合探针条件的 mRNA 序列,用 Oligo 6.0 设计探针,奥科生物有限公司合成。探针溶解与定量后,加入点样板的相应位置,运行程序,点制芯片。过夜静置晾干。

2.7 芯片杂交:标记的 cDNA 产物放于 65 ℃ 烘干,加入 18 μL 杂交液溶解,混匀;与芯片于杂交舱中杂交,42 ℃、16 h;取出芯片,洗液 A 中洗涤 3 min,洗液 B 中洗涤 3 min,洗液 C 中洗涤 1.5 min。自然晾干;芯片放入 Genepix 4100A 扫描仪中扫描,所得图像用 Genepix Pro 6.0 进行数据分析,计算每个探针点的信号值;根据内参照基因的信号值,对各个杂交阵进行数据归一化处理,根据归一化后的结果,计算出各个基因的差异表达情况。

3 结果

3.1 倒置光显微镜观察 K562 细胞形态学改变:对

照组 K562 细胞为悬浮生长,胞体圆形,细胞核居中,细胞膜完整,折光性强,可见大量分裂相。5-氟尿嘧啶和青蒿琥酯处理的 K562 细胞出现不同程度的皱缩,核分裂相减少,细胞密度下降,漂浮细胞增多,细胞膜完整但出现发泡现象,细胞内可见多个折光性较强的圆形小泡样结构和细胞出芽样改变。青蒿琥酯处理的细胞形态变化有剂量依赖性,随药物浓度增加,死亡细胞增加。见图 1。

3.2 荧光显微镜观察 K562 细胞变化:对照组 K562 细胞被染成蓝色,胞膜完整,细胞核结构正常;5-氟尿嘧啶和青蒿琥酯处理的 K562 细胞一部分被染成蓝色,染色质高度浓缩、边缘化,凝集成明亮的团块,即凋亡小体。一部分细胞被染成红色,并可见染色质凝集,即凋亡后继发死亡的细胞。还有一部分染成红色,而细胞核结构正常,即非凋亡而死亡的细胞。见图 2。

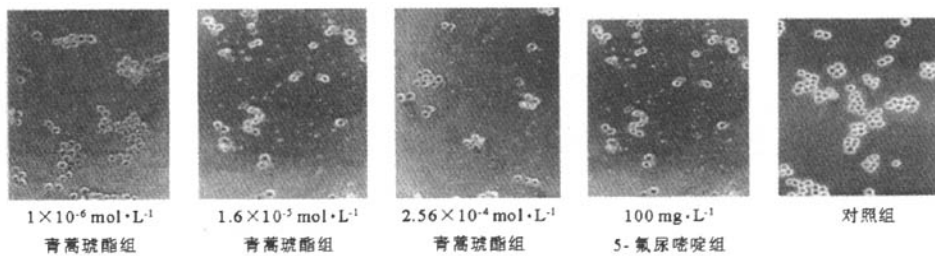


图 1 青蒿琥酯处理 24 h 后 K562 细胞形态变化 (光学显微镜)

Fig. 1 Morphological changes of K562 cells treated with artesunate for 24 h (optical microscope)

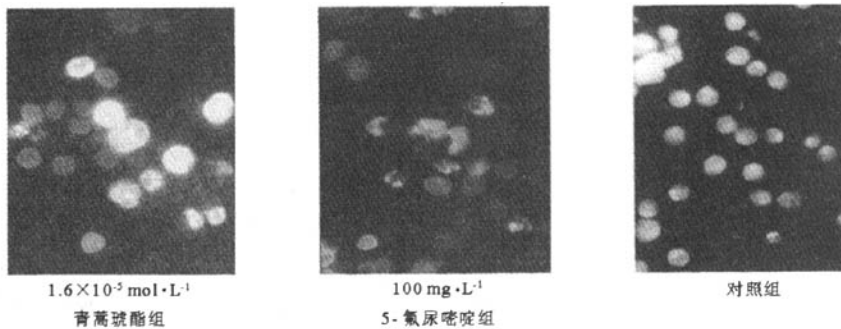


图 2 青蒿琥酯处理 24 h 后 K562 细胞形态变化 (荧光显微镜)

Fig. 2 Morphological Changes of K562 cells treated with artesunate for 24 h (fluorescence microscope)

3.3 流式细胞仪检测细胞周期:1.6×10⁻⁵ mol/L 青蒿琥酯处理 K562 细胞 24 h 后的细胞周期分布: G₁期为 22.97%、S 期为 62.1%、G₂期为 15.0%;对照组的细胞周期分布: G₁期为 24.9%、S 期为 71.0%、G₂期为 4.1%。经青蒿琥酯处理的 K562 细胞的 G₂期细胞数量增多。见图 3。

3.4 TRIzol 试剂提取总 RNA 质控:用紫外分光

光度计检测 RNA 的量,均达到实验要求,测定 RNA A₂₆₀/A₂₈₀值均在 1.9~2.1,纯度较高,基本上没有蛋白质和 DNA 的污染。电泳分析总 RNA 的完整性,电泳图上可见清楚的 28S 和 18S 条带,且 28S 与 18S 比值大约为 2:1,表明没有发生降解,总 RNA 质量较好。见图 4。

3.5 基因芯片的构建:找到目的基因 34 条,细胞周

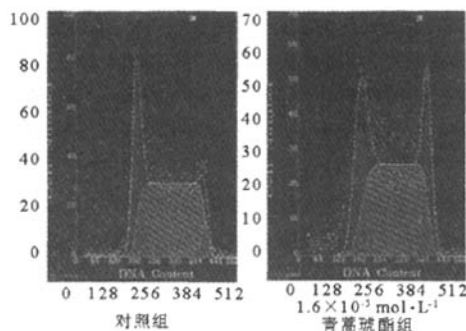
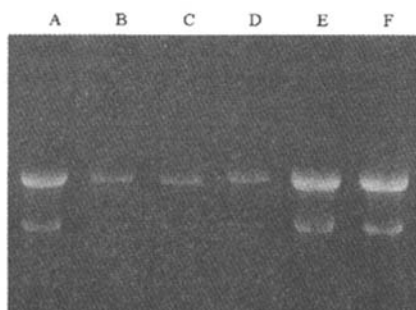


图 3 青蒿琥酯处理 K562 细胞的细胞周期分布
Fig. 3 Cell cycle phase distribution of K562 cells treated with artesunate



A~E- 1×10^{-6} , 4×10^{-6} , 1.6×10^{-5} , 6.4×10^{-5} , 2.56×10^{-4} mol/L 青蒿琥酯 F-对照组
A~E- 1×10^{-6} , 4×10^{-6} , 1.6×10^{-5} , 6.4×10^{-5} , 2.56×10^{-4} mol/L artesunate F-control group

图 4 青蒿琥酯处理 K562 细胞提取的总 RNA 电泳图
Fig. 4 Electrophoretogram of total RNA extracted from K562 cells treated with artesunate

期主要相关基因: PCNA、cyclinA1、cyclinB1、cyclinC、cyclinD1、cyclinD1、cyclinE1、cyclinG1、cdk4、cdk2、cdc2、p16、p21、p53、E2F1、chk1、chk2; 参与 DNA 损伤修复的主要基因: atm、DNA-PK、DNA-Topo I、hTERT; 与细胞凋亡主要相关基因: bcl-2、trail、mcl-1、bax、bak1、brca1、caspase3; 参与信号转导的主要基因: erk、jnk、p38、cdc25A、fgd1、rac; 与血管生成相关的主要基因: VEGF; 管家基因一条 β -actin。每条基因设计两条探针, 合成探针后每个探针在芯片点制 3 个点, 即每条基因有 6 个探针位点, 相当于每条探针与样品重复杂交 6 次。

3.6 细胞周期相关基因芯片的检测结果

3.6.1 细胞周期相关基因芯片的检测特异性与均一性测定结果: 从样品中任选一个总 RNA, 按标准的操作流程, 重复转录标记、杂交两次 (图 5)。从图中可见, 阳性对照和定位基因荧光强度均较高, 说明均一

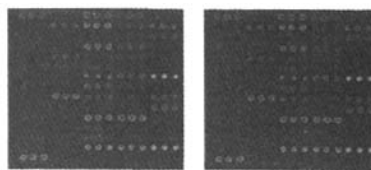


图 5 基因芯片的特异性与均一性测定杂交图

Fig. 5 Specificity and homogeneity of hybridization by gene chip

性较好, 阴性对照均无明显信号, 说明特异性较好。

3.6.2 细胞周期相关基因芯片的检测重复性的比较: 从样品中任选一个总 RNA, 按标准的操作流程, 重复转录标记、杂交两次, 计算两次杂交结果的相关度。相关度为 0.987 1, 结果稳定可靠, 重复性较好, 已达到芯片分析的要求。

3.6.3 差异表达基因的检测: 用 β -actin 作为管家基因对结果扫描后的信号值进行了归一化处理, 每条基因对应的 6 个探针位点的归一化值取均值后, 其均值同对照信号值比值大于 2.0 或小于 0.5 作为差异的标准, 统计显示上调和下调的基因共 10 个。见图 6 和表 1。

表 1 青蒿琥酯处理的 K562 细胞差异表达基因

Table 1 Difference expression genes of K562 cells treated with artesunate

青蒿琥酯/(mol $\cdot$ L $^{-1}$)	下调基因	上调基因
1×10^{-6}	DNA-PK (0.465)、bcl-2 (0.351)、VEGF (0.455)	chk1 (6.211)
4×10^{-6}	cyclin B1 (0.362)、cyclin E1 (0.382)	
1.6×10^{-5}	cyclin B1 (0.432)、bcl-2 (0.28)、jnk (0.489)	
6.4×10^{-5}	cyclin B1 (0.045)、E2F1 (0.391)、hTERT (0.106)、bcl-2 (0.0184)	p21 (6.125)
2.56×10^{-4}	E2F1 (0.302)、DNA-PK (0.431)、hTERT (0.287)、VEGF (0.337)、jnk (0.257)	

4 讨论

基因芯片又称 DNA 微阵列、DNA 芯片, 通过微加工技术和微电子技术在固体芯片表面构建成的微型生物化学分析系统, 能够检测基因的丰度来确定基因的表达模式和表达水平。基因芯片在研究基因差异表达上与传统方法相比具有无法比拟的优势^[6,7]: (1)高通量同步分析; (2)全自动快速分析; (3)高灵敏度精确分析。基于其诸多优势, 本实验设计、构建基因芯片, 利用该芯片分析青蒿琥酯的抗肿瘤作用机制。青蒿琥酯是青蒿素的重要衍生物之一, 是常用的抗疟特效药。近年来发现青蒿琥酯具有较强的抗肿瘤作用^[8]。有研究者^[9]发现, 青蒿琥酯作用 MCF-7 细胞 24h 后, 细胞的生长被抑制。本实验

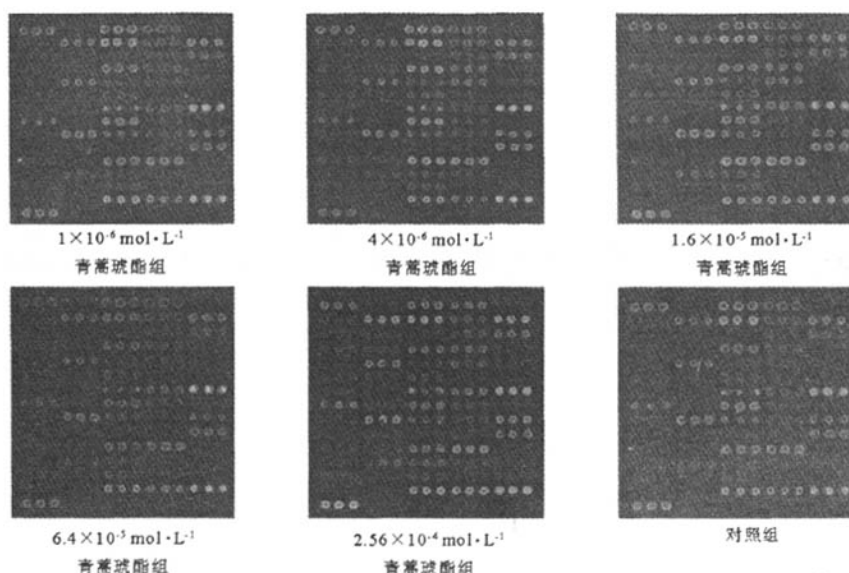


图 6 青蒿琥酯处理 K562 细胞的 cDNA 与芯片杂交图

Fig. 6 Hybridization between cDNA and chip of K562 cells treated with artesunate

中, K562 细胞经青蒿琥酯处理 24 h 后, 细胞生长受到抑制。倒置光显微镜可见死亡细胞明显增多, 并有剂量依赖性, 荧光显微镜也可见大量的死亡细胞。说明青蒿琥酯能抑制 K562 细胞的增殖。

采用 Hoechst 33342/PI 荧光双染, 观察到部分 K562 细胞出现凋亡小体。说明青蒿琥酯可以诱导 K562 细胞凋亡, 这与芯片检测中 bcl-2 的表达下调相符, 也与文献报道相一致^[10], 说明青蒿琥酯可以影响 Bcl-2 与其他蛋白 (如 Bax、Bad 等) 相互结合、相互作用而促进了细胞凋亡。

Efferth 等^[11]用青蒿琥酯作用于 55 种肿瘤细胞, 发现有一部分细胞被抑制于 G₀/G₁ 期, 还有一部分细胞被抑制于 S 期。在实验中通过流式细胞仪的检测, 发现被处理的 K562 细胞多被阻抑在 G₂/M 期。说明青蒿琥酯能通过阻滞 K562 细胞的细胞周期而抑制其增殖。并且芯片筛选发现与细胞周期相关基因有表达变化: cyclinB1、cyclinE1、E2F1 表达下调, p21 和 chk1 表达上调。CyclinB1 蛋白是 G₂/M 期转换的重要调节物质, 青蒿琥酯可以降低 CyclinB1 的表达, 可能会使 CyclinB1 蛋白的合成量减少, 不足以与 Cdc2 形成成熟促进因子, 而成熟促进因子是驱动细胞 G₂/M 期转换的重要因素。所以 K562 细胞表现出 G₂ 期向 M 期运行受抑制。E2F1 表达下调, 抑制了其对一些编码 DNA 复制所需蛋白质的基因 (如 c-myc 和 B-myb 等) 的转录激活, 进而

影响了细胞周期的进展。青蒿琥酯上调 chk1 (Checkpoint kinase 1) 的表达, 促进 chk1 引起 CDC25 的 Ser²¹⁶ 磷酸化, 通过抑制 CDC25 的活性, 抑制 M 期 CDK 的活性, 使细胞周期中断。通过以上分析发现流式细胞仪的检测结果与芯片检测结果基本一致, 可以推断, 青蒿琥酯是通过综合调控这些细胞周期相关基因的表达来阻滞 K562 细胞周期的, 从而表现出对肿瘤细胞生长的抑制。

此外, 通过芯片检测还发现一些对细胞增殖具有重要作用的基因表达下调, 如 VEGF、DNA-PK、jnk 等。青蒿琥酯使这些基因下调, 也会表现出抑制细胞增殖。如 VEGF 表达下调, 抑制了 VEGF 与内皮细胞跨膜酪氨酸激酶受体 KDR/Flk-1 相互作用, 从而抑制了血管内皮细胞有丝分裂, 降低了血管通透性, 使肿瘤细胞得不到充分的营养, 表现出生长受到抑制。说明青蒿素还可以通过细胞凋亡和抑制细胞周期之外的途径抑制 K562 细胞生长。

本实验中, 利用基因芯片分析青蒿琥酯抗肿瘤作用机制, 发现该药物可以调节很多与细胞增殖、细胞周期、细胞凋亡、血管生成密切相关的基因的表达, 这很可能就是青蒿琥酯可以抑制肿瘤生长的重要原因。由于青蒿琥酯作用的复杂性, 很多具体的作用机制还需要进一步研究。

参考文献:

- [1] Nambiar S, Mirmohammadsadegh A, Bar A, *et al.* Applications of array technology: melanoma research and diagnosis

- [1]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2004, 4(4): 549-557.
- [2] 李超英. 抗癌中药新型给药系统的研究及展望 [J]. 中医药学报, 2001, 29(6): 31-33.
- [3] Beekman A C, Woerdenbag H J, Van Uden W, *et al*. Stability of artemisinin in aqueous environments: impact on its cytotoxic action to Ehrlich ascites tumour cells [J]. *Pharm Pharmacol*, 1997, 49(12): 1254-1258.
- [4] Singh N P, Lai H C. Synergistic cytotoxicity of artemisinin and sodium butyrate on human cancer cells [J]. *Anticancer Res*, 2005, (6B): 4325-4331.
- [5] 樊 嵘, 谢 红, 杨 磊, 等. 青蒿素及其衍生物抑制 K562 细胞生长作用比较 [J]. 武警医学院学报, 2006, 15(3): 199-201.
- [6] Crowther D J. Applications of microarrays in the pharmaceutical industry [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2002, 2(5): 551-554.
- [7] Nambiar S, Mirmohammadsadegh A, Bar A, *et al*. Applications of array technology: melanoma research and diagnosis [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2004, 4(4): 549-557.
- [8] Efferth T, Dunstan H, Sauerbrey A, *et al*. The anti-malarial artesunate is also active against cancer [J]. *Int Oncol*, 2001, 18(4): 767-773.
- [9] Zhou Z, Feng Y. Artesunate reduces proliferation, interferes DNA replication and cell cycle and enhances apoptosis in vascular smooth muscle cells [J]. *J Huazhong Univ Sci Technol (Med Sci)*, 2005, 25(2): 135-136.
- [10] Wu G D, Zhou H J, Wu X H. Apoptosis of human umbilical vein endothelial cells induced by artesunate [J]. *Vascul Pharmacol*, 2004, 41(6): 205-212.
- [11] Efferth T, Sauerbrey A, Olbrich, *et al*. Molecular modes of action of artesunate in tumor cell lines [J]. *Mol Pharmacol*, 2003, 64(2): 382-394.

野西瓜多糖诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡的实验研究

季宇彬^{1,2}, 东方^{1,2}, 高世勇^{1,2}, 邹翔^{1,2}

(1. 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;

2. 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 观察野西瓜多糖诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡作用。方法 通过 MTT 法测定野西瓜多糖对 HepG2 细胞的细胞毒作用; 倒置显微镜观察野西瓜多糖对 HepG2 细胞形态的影响; AO/EB 双染, 激光共聚焦扫描显微镜观察野西瓜多糖对 HepG2 细胞形态的影响; PI 染色法, 流式细胞术检测细胞凋亡率。结果 MTT 结果显示野西瓜多糖对 HepG2 细胞有抑制作用, IC_{50} 为 471.53 mg/L; 倒置显微镜、激光共聚焦扫描显微镜下观察细胞形态, 表现为细胞皱缩、碎裂、甚至出现凋亡小体; 流式细胞术检测到野西瓜高剂量组凋亡率为 74.926%。结论 野西瓜多糖具有诱导 HepG2 细胞凋亡的作用。

关键词:野西瓜多糖; HepG2 细胞; 凋亡

中图分类号:R285.5 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2008)09-1364-04

Apoptosis induced by *Capparis spionosa* polysaccharide in human HepG2

Ji Yu-bin^{1,2}, Dong Fang^{1,2}, Gao Shi-yong^{1,2}, Zou Xiang^{1,2}

(1. Postdoctoral Research Station of Institute of Materia Medica, Research Center of Life Science and Environment Science, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China; 2. Engineering Research Center of Natural Anticancer Drugs, Ministry of Education, Harbin 150076, China)

Abstract: Objective To investigate the apoptosis of *Capparis spionosa* polysaccharide (CSPS) on human HepG2. **Methods** MTT was adopted to determine if CSPS had cytotoxic effect to HepG2. The alteration of HepG2's morphology was observed by invert microscope. Morphology of HepG2 changed with dosage of CSPS was detected by AO/EB and laser confocal scanning microscope. Flow cytometry (FCM) was used to detect the apoptosis index with PI labeling method. **Results** The result of MTT showed that CSPS could inhibit the growth of HepG2, IC_{50} was 471.53 mg/L; The morphology of cell was observed by invert microscope and laser confocal scanning microscope in cell collapsed, break to pieces, even appearance of apoptosis body. The apoptosis rate in high dose group was 74.926%, detected by FCM. **Conclusion** This consequence indicates that CSPS could induce human HepG2 apoptosis.

Key words: *Capparis spionosa* L. polysaccharide (CSPS); HepG2; apoptosis

收稿日期: 2008-04-25

基金项目: 黑龙江省研究生创新科研项目 (YJSCX2008-185 HLJ); 黑龙江省自然科学基金项目 (D200610)

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

基因芯片技术分析青蒿琥酯抑癌作用机制

作者：[陈立军](#)，[姚丽](#)，[靳秋月](#)，[谢红](#)，[呼文亮](#)，[CHEN Li-jun](#)，[YAO Li](#)，[JIN Qiu-yue](#)，[XIE Hong](#)，[HU Wen-liang](#)
作者单位：[中国人民武装警察部队医学院生化教研室](#), 天津, 300162
刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年，卷(期)：2008, 39(9)
被引用次数：6次

参考文献(11条)

1. [Nambiar S;Mirmohammdsadegh A;Bar A Applications of array technology:melanoma research and diagnosis\[外文期刊\] 2004\(04\)](#)
2. [李超英 抗癌中药新型给药系统的研究及展望\[期刊论文\]-中医药学报 2001\(06\)](#)
3. [Beekman A C;Woerdenbag H J;Van Uden W Stability of artemisinin in aqueous environments:impact on its cytotoxic action to Ehrlich ascites tumour cells 1997\(12\)](#)
4. [Singh N P;Lai H C Synergistic cytotoxicity of artemisinin and sodium butyrate on human cancer cells\[外文期刊\] 2005\(6B\)](#)
5. [樊蝶;谢红;杨磊 青蒿素及其衍生物抑制K562细胞生长作用比较\[期刊论文\]-武警医学院学报 2006\(03\)](#)
6. [Crowther D J Applications of microarrays in the pharmaceutical industry\[外文期刊\] 2002\(05\)](#)
7. [Nambiar S;Mirmohammdsadegh A;Bar A Applications of array technology:melanoma research and diagnosis\[外文期刊\] 2004\(04\)](#)
8. [Efferth T;Dunstan H;Sauerbrey A The antimalarial artesunate is also active against cancer\[外文期刊\] 2001\(04\)](#)
9. [Zhou Z;Feng Y Artesunate reduces proliferation,interferes DNA replication and cell cycle and enhances apoptosis in vascular smooth muscle cells\[期刊论文\]-Journal of Huazhong University of Science and Technology\(Medical Science\) 2005\(02\)](#)
10. [Wu G D;Zhou H J;Wu X H Apoptosis of human umbilical vein endothelial cells induced by artesunate \[外文期刊\] 2004\(06\)](#)
11. [Efferth T;Sauerbrey A;Olbrich Molecular modes of action of artesunate in tumor cell lines\[外文期刊\] 2003\(02\)](#)

本文读者也读过(10条)

1. [洪圉. 沈秀. 刘培勋. 周则卫. 徐文清. 李松年 用表达谱芯片研究施普睿达抗肿瘤作用机制\[会议论文\]-2006](#)
2. [张巍巍. 罗炳德. 赵丽瑛. ZHANG Wei-wei. LUO Bing-de. ZHAO Li-ying 青蒿琥酯对高温复合内毒素致细胞凋亡保护作用\[期刊论文\]-中国公共卫生2008, 24\(9\)](#)
3. [谢红. 陈立军. 呼文亮 双氢青蒿素的抗肿瘤作用\[期刊论文\]-中国药房2007, 18\(3\)](#)
4. [雷佳红. 刘文. 罗书久. 蒋红. 杨明辉 青蒿琥酯抑制人肝癌细胞株HepG2细胞生长及其机制的初步研究\[期刊论文\]-按摩与康复医学\(下旬刊\)2010, 01\(7\)](#)
5. [刘杰. 高秀梅. 王怡. 张伯礼. LIU Jie. GAO Xiu-mei. WANG Yi. ZHANG Bo-li 丹酚酸B对急性心肌梗死大鼠血流动力学的影响及作用分子机制研究\[期刊论文\]-中草药2006, 37\(3\)](#)
6. [向洋. 戴春霞. 蔡霄英. 李晓文 论基因芯片技术在中药机制研究中的作用\[期刊论文\]-湖南中医杂志2005, 21\(6\)](#)
7. [史娜. 陈立军. 靳秋月. 呼文亮. SHI Na. CHEN Li-jun. JIN Qiu-yue. HU Win-liang STAT3-siRNA表达框架的设计与](#)

[构建\[期刊论文\]-武警医学院学报2008, 17\(10\)](#)

8. [邹明瑾](#), [郭文静](#), [杨美香](#), [张丹](#), [张静](#), [闫实](#), [曲迅](#) [表达谱芯片技术在罗勒多糖抗肿瘤机制研究中的应用](#)[期刊论文]-[山东医药](#)2005, 45(20)
9. [呼文亮](#), [高宏生](#), [HU Wenliang](#), [GAO Hongsheng](#) [预防医学在灾难救援中应用的几点思考](#)[期刊论文]-[武警医学](#)2009, 20(8)
10. [杨静](#), [李振彬](#), [贺占国](#), [徐铮](#), [任宝娣](#) [青蒿琥酯对佐剂性关节炎大鼠VEGF、bFGF、TNF- \$\alpha\$ 、IL-1 \$\beta\$ 表达的影响](#)[期刊论文]-[河北中医](#)2010, 32(6)

引证文献(6条)

1. [刘静](#), [张金晓](#), [胡金芳](#), [申秀萍](#), [刘昌孝](#) [基因芯片技术在药物毒理学研究中的应用](#)[期刊论文]-[药物评价研究](#)2011(2)
2. [王素云](#), [杨晓阳](#), [邓凯](#), [成志勇](#), [陈浩](#), [杨静慈](#), [尚银涛](#), [潘峻](#) [青蒿琥酯对骨髓瘤RPMI 8226细胞增殖、凋亡及对Survivin、Caspase-3、Caspase-7的影响](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2010(5)
3. [张燕丽](#) [青蒿琥酯抗肿瘤作用研究进展](#)[期刊论文]-[中医药信息](#) 2009(6)
4. [周铁军](#), [向丽](#), [李健](#), [贾春霞](#), [王云](#), [龚莉](#) [青蒿琥酯对口腔鳞癌Tca8113细胞及其移植瘤小鼠的抗肿瘤作用研究](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2012(8)
5. [周亚滨](#), [王岩](#) [基因芯片技术在中医药领域的应用现状](#)[期刊论文]-[天津中医药](#) 2010(1)
6. [钟敏](#), [刘晓力](#), [刘晓加](#), [杜庆锋](#), [许娜](#), [刘志](#), [林榕](#), [夏立平](#), [苏群豪](#) [青蒿琥酯诱导K562细胞凋亡过程中的氧化损伤机制](#)[期刊论文]-[广东医学](#) 2013(18)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200809027.aspx