

· 药理与临床 ·

鱼藤素对人骨髓瘤细胞 RPMF8226 增殖和凋亡的影响
及对核受体共激活因子-3 的调控作用

李睿, 陈燕*, 舒文秀

(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 观察鱼藤素对人多发性骨髓瘤细胞株 RPMF8226 细胞增殖和凋亡的影响及其对核受体共激活因子-3 (SRC-3) 的调控作用, 研究鱼藤素诱导凋亡作用与其调节 SRC-3 的相互关系。方法 采用 MTT 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, RT-PCR 法检测鱼藤素对 RPMF8226 细胞内 SRC-3 基因表达的影响; 免疫组化法检测鱼藤素对 RPMF8226 细胞 SRC-3 蛋白的影响和分布情况。结果 鱼藤素能明显抑制 RPMF8226 细胞的增殖, 其抑制作用呈时间、剂量依赖性, 其作用 24 h 的 IC_{50} 为 (54.55 ± 0.40) nmol/L。此外, 鱼藤素具有较强的诱导 RPMF8226 细胞凋亡的效应, 25 nmol/L 即能诱导 $(17.04 \pm 0.73)\%$ 的 RPMF8226 细胞发生凋亡; 当药物浓度达到 100 nmol/L 时, 总凋亡率达 $(63.57 \pm 1.36)\%$ 。在 RPMF8226 细胞中 SRC-3 高表达, 且主要分布于细胞核, 经鱼藤素干预后, SRC-3 的 mRNA 和蛋白表达水平明显下降。结论 鱼藤素能明显抑制 RPMF8226 细胞的增殖, 并诱导其凋亡。而鱼藤素诱导的 SRC-3 表达量的下调可能参与了其诱导凋亡作用。

关键词: 鱼藤素; 多发性骨髓瘤; 凋亡; 核受体共激活因子-3 (SRC-3)

中图分类号: R286.91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)07-1086-05

Effect on proliferation and apoptosis in RPMF8226 human myeloma cells
and regulation on steroid receptor coactivator-3 by deguelin

LI Rui, CHEN Yan, SHU Wen-xiu

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

Abstract : Objective To investigate the effects of deguelin on the proliferation inhibition and apoptosis induction in RPMF8226 cells *in vitro*, as well as the regulation of steroid receptor coactivator-3 (SRC-3) to explore the relationship between them. **Methods** The effect of deguelin on the growth of RPMF8226 cells was studied by MTT assay. Apoptosis was detected through Hoechst 33258 staining and Annexin-V FITC/PI double-labeled cytometry. RT-PCR Technology was applied to assessment of the mRNA expression of SRC-3, whereas, SRC-3 protein expression and localization were determined by using immunohistochemistry method. **Results** Deguelin presented striking proliferation inhibition potency on RPMF8226 cells *in vitro* and apoptosis induction activity in a time- and dose-dependent manner. The IC_{50} value for 24 h was (54.55 ± 0.40) nmol/L, $(17.04 \pm 0.73)\%$ RPMF8226 cells went apoptotic when treated with 25 nmol/L deguelin for 24 h, with the dose of deguelin increasing to 100 nmol/L, $(63.57 \pm 1.36)\%$ cells were apoptotic. Over-expression of SRC-3 was found in RPMF8226 cells, whereas the mRNA and protein expression levels of SRC-3 were significantly downregulated in RPMF8226 cells induced by deguelin in a dose-dependent manner. The disposition of SRC-3 was situated mainly at the nuclear, occasionally in the cytoplasm. **Conclusion** Deguelin exhibited potent proliferation inhibition to the human myeloma cell line RPMF8226 cells, furthermore, deguelin might induce RPMF8226 cells apoptosis in a dose-dependent manner, which might correspond to the regulation of the expression of SRC-3.

Key words: deguelin; multiple myeloma; apoptosis; steroid receptor coactivator-3 (SRC-3)

* 收稿日期: 2008-12-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30472267)

作者简介: 李睿 (1978-), 女, 云南省昆明市人, 住院医师, 在读博士, 研究方向为恶性血液病。

Tel.: (027) 85726009 E-mail: lirui-514@163.com

* 通讯作者 陈燕 Tel.: (027) 85726009 Fax: (027) 85726916 E-mail: yanchen@public.wh.hb.cn

鱼藤素是从植物鱼藤中提取的一种新型有效的抗癌药物,在非洲、南美以及中国曾作为一种杀虫剂而广泛使用^[1]。近年来国内外研究表明鱼藤素有明显地抑制肿瘤细胞生长、诱导肿瘤细胞凋亡的作用。核受体共激活因子-3 (steroid receptor coactivator-3, SRC-3) 属于 P160 类固醇激素受体共活化因子家族,其不仅作用于核受体,也作用于其他转录因子,从而调控一系列细胞过程,包括细胞生长、分化以及迁移等^[2]。近来研究发现 SRC-3 在许多肿瘤的发生和发展中起着关键作用,但 SRC-3 在恶性血液病中的研究甚是少见。本研究通过观察鱼藤素对人多发性骨髓瘤细胞株 RPMF8226 细胞增殖和凋亡的影响及对 SRC-3 的调控作用,探讨两者的相互关系,为鱼藤素的临床应用提供新的理论基础。

1 材料与方法

1.1 药物与试剂:鱼藤素 (deguelin, 分子式为 $C_{23}H_{22}O_6$, 相对分子质量为 394.4, 购自 Sigma 公司, 质量分数 98%), 用二甲基亚砜 (DMSO) 稀释成 1 mmol/L, 等量分装, -20 °C 保存, 临用前用 RPMI 1640 培养液稀释。MTT、DMSO、碘化丙啶 (PI)、Hoechst 33258 荧光染液均为 Sigma 公司产品; 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 RPMI 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。RT-PCR 试剂盒购自 Fermentas 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 SRC-3 购自美国 Cell Signaling 公司, SP 免疫组化试剂盒和 DAB 显色试剂盒购自北京中山试剂公司。

1.2 细胞培养:人多发性骨髓瘤细胞株 RPMF8226 细胞由华中科技大学同济医学院免疫教研室提供。RPMF8226 细胞使用含 10% 灭活胎牛血清、青霉素 100 U/mL、链霉素 100 μg/mL 的 RPMI 1640 培养液, 37 °C、5% CO₂、水饱和湿度条件下培养。每 1~2 d 换液传代 1 次, 取细胞活性大于 98% 的对数生长期细胞, 细胞悬液终浓度为 1×10^6 /mL, 分别与不同浓度 (25~100 nmol/L) 的鱼藤素共同培养 24 h 后检测指标。

1.3 MTT 法检测细胞增殖:将处于对数生长期的 RPMF8226 细胞 (2×10^5 /mL) 接种于 96 孔板, 每孔体积 200 μL, 经不同浓度鱼藤素处理 24~72 h 后, 加入 5 mg/mL MTT 20 μL, 37 °C 继续孵育 4 h, 小心吸去孔内培养上清液, 每孔加入 150 μL DMSO, 振荡 10 min, 使结晶充分溶解后于 Bio-Rad

M450 酶标仪测定 492 nm 波长处的吸光度 (A) 值, 每个实验重复 3 次。计算细胞增殖抑制率及 IC₅₀ 值。

增殖抑制率 = (1 - 实验组 A 值 / 对照组 A 值) × 100 %

1.4 Annexin-V FITC/PI 双标法流式细胞术检测细胞凋亡:收集不同浓度鱼藤素处理后的 RPMF8226 细胞及空白对照组细胞, 用 4 °C 预冷的 PBS 洗涤 2 次, 然后以 1×10^6 /mL 的细胞密度重悬于 100 μL 的 1 × 结合缓冲液中, 加入 5 μL Annexin-V FITC 和 10 μL PI 染液, 轻轻混匀, 避光室温反应 15 min, 再加入 300 μL 的 1 × 结合缓冲液, 于 1 h 内上机检测。

1.5 Hoechst 33258 染色:收集各组的 RPMF8226 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 μg/L) 37 °C 避光染色 20 min, 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。

1.6 RT-PCR 检测 SRC-3 mRNA 表达:Trizol 法提取细胞总 RNA, 按说明书合成 cDNA。RT 反应液组成: ddH₂O 8 μL, 5 × RT buffer 4 μL, dNTP (10 mmol/L) 2 μL, Oligo (dT) 1 μL, RNase 抑制剂 1 μL, RNA 样品 3 μL, ReverTra Ace (500 U/μL) 1 μL。按以下条件进行 RT 反应: 42 °C、20 min, 99 °C、5 min, 4 °C、5 min, -20 °C 保存。以细胞 cDNA 的第一链为模板, 做 25 μL 的 PCR。PCR 反应液组成: 10 × buffer 2.5 μL, MgCl₂ 2 μL, dNTP (10 mmol/L) 1 μL, cDNA 2 μL, ddH₂O 15 μL, 引物 1 (10 pmol/μL) 1 μL, 引物 2 (10 pmol/μL) 1 μL, Taq 酶 0.5 μL; 混匀后, 短暂离心, 进行 PCR 反应。SRC-3 的 PCR 扩增条件为: 94 °C、5 min, 94 °C、30 s, 60 °C、1 min, 后 2 步共循环 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 μL 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 紫外线照相进行扫描分析, 以 SRC-3/β-actin 进行 SRC-3 基因表达水平的半定量分析。SRC-3 引物序列: 上游引物为 5-TGTTTCCGTCTCGATTACCA-3; 下游引物为 5-GATTAGGAGAAACTTG-GATCC-3; 扩增产物为 392 bp。β-actin 引物序列: 上游引物为 5-CTGTCCCTGTATGCCTCTG-3; 下

游引物为 5-ATGTCACGCACGATTTCC-3;扩增产物为 218 bp。

1.7 免疫组化法检测 SRC-3 蛋白水平:用不同浓度的鱼藤素处理 RPMF8226 细胞 24 h 后,丙酮固定,正常血清封闭后分别加入 SRC-3 抗体 (1 : 50),随后加入生物素山羊抗小鼠抗体及 SABC 液,经 DAB 显色,以 PBS 代替一抗作为阴性对照。阳性结果判定标准:光学显微镜下, SRC-3 蛋白表达阳性细胞的胞浆和胞核内呈现特异性棕褐色。计算阳性表达率 (阳性表达率 = 500 个细胞内阳性细胞数/ 500 ×100 %)。

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

2 结果

2.1 鱼藤素对 RPMF8226 细胞增殖的影响:分别以 5、10、20、40、80、160 nmol/L 鱼藤素作用 RPMF8226 细胞后,各处理组细胞的增殖活性明显低于空白对照组。随着药物作用时间和作用浓度的逐渐增加,鱼藤素对 RPMF8226 细胞的增殖抑制作用逐渐增强,其作用 24 h 的 IC_{50} 值为 (54.55 ± 0.40) nmol/L,随着药物作用时间的延长,其 IC_{50} 值也逐渐减小,作用 48、72 h 的 IC_{50} 值分别为 (39.05 ± 0.32) 和 (20.38 ± 0.25) nmol/L,见图 1。

2.2 鱼藤素对 RPMF8226 细胞凋亡的影响:

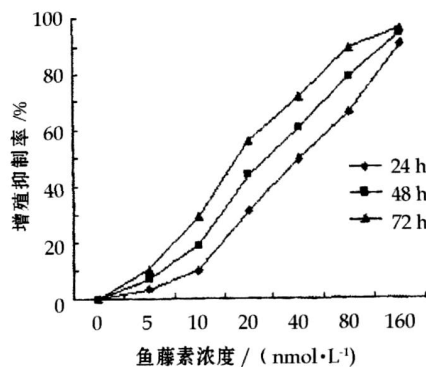


图 1 鱼藤素对 RPMF8226 细胞增殖抑制作用 (n=3)

Fig.1 Inhibition of deguelin on proliferation in RPMF8226 cells (n=3)

Annexin-V FITC/PI 双标法检测鱼藤素对 RPMF8226 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。如图 2 和表 1 所示,随着鱼藤素作用浓度的增加,越来越多的 RPMF8226 细胞发生凋亡。

2.3 Hoechst 33258 染色检测鱼藤素对 RPMF8226 细胞凋亡形态的改变:从图 3 中,发现 50 nmol/L 鱼藤素作用 RPMF8226 细胞 24 h 后,出现了典型的细胞凋亡形态改变,如染色质浓缩、边缘化,核膜裂解、染色质分割成块状和凋亡小体等。而未经鱼藤素处理细胞可见完整的细胞膜和有序折叠的染色质。

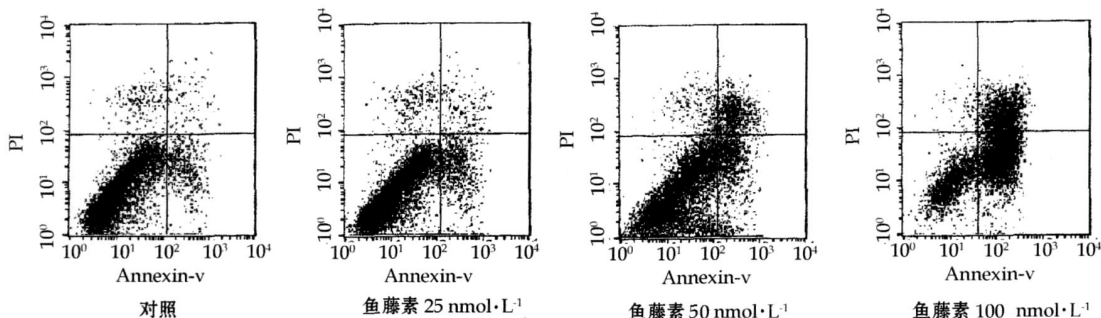


图 2 鱼藤素对 RPMF8226 细胞凋亡的影响

Fig.2 Effect of deguelin on apoptosis of RPMF8226 cells

表 1 鱼藤素对 RPMF8226 细胞凋亡率的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=3)

Table 1 Effect of deguelin on apoptosis rate of RPMF8226 cells ($\bar{x} \pm s$, n=3)

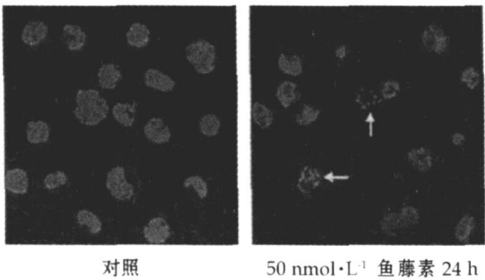
组别	C (nmol · L ⁻¹)	早期凋亡率/ %	晚期凋亡率/ %	总凋亡率/ %
对照	-	3.31 ± 0.02	0.98 ± 0.01	4.29 ± 0.03
鱼藤素	25	15.16 ± 0.62 **	1.88 ± 0.11 **	17.04 ± 0.73 **
	50	25.20 ± 0.96 **	9.08 ± 0.31 **	34.28 ± 0.27 **
	100	48.51 ± 0.53 **	15.06 ± 0.83 **	63.57 ± 0.36 **

与对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group

2.4 RT-PCR 方法检测鱼藤素对 RPMF8226 细胞 SRC-3 的 mRNA 调控作用:结果观察到在未经鱼藤素处理的 RPMF8226 细胞中 SRC-3 的 mRNA 呈高表达,经不同浓度的鱼藤素作用 24 h 后,细胞内 SRC-3 的基因表达水平呈浓度依赖性下调。低浓度的鱼藤素 (25 nmol/L) 对 SRC-3 的 mRNA 表达影响不大 ($P > 0.05$);随着鱼藤素作用浓度的进一步增加, SRC-3 的 mRNA 表达水平呈递减趋势,

50、100 nmol/L 鱼藤素作用后, SRC-3 mRNA 表达水平和对照组相比差异非常显著 ($P < 0.01$), 见图 4 和表 2。



箭头所示为凋亡细胞核碎裂
arrows represent apoptotic nuclear fragmentations

图 3 鱼藤素作用后 RPMI-8226 细胞凋亡形态的改变
Fig. 3 Morphological change of apoptosis in RPMI-8226 cells treated with deguelin

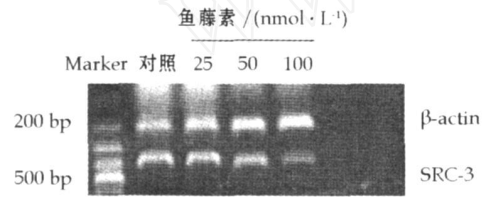


图 4 鱼藤素对 RPMI-8226 细胞内 SRC-3 mRNA 表达的影响

Fig. 4 Effect of deguelin on expression of SRC-3 mRNA in RPMI-8226 cells

表 2 鱼藤素对 RPMI-8226 细胞 SRC-3 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 2 Effect of deguelin on mRNA expression of SRC-3 in RPMI-8226 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	C (nmol · L ⁻¹)	SRC-3/β-actin
对照	0	0.91 ± 0.06
鱼藤素	25	0.88 ± 0.04
	50	0.65 ± 0.02 **
	100	0.39 ± 0.03 **

与对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group

2.5 免疫组化方法检测鱼藤素对 RPMI-8226 细胞 SRC-3 的蛋白表达的调控作用和分布情况:光镜下,可见 SRC-3 在 RPMI-8226 细胞中高表达,而且主要分布于细胞核内,少量可见胞浆表达,对照组积分吸光度值高达 156.85 ± 2.40 ,经 50 nmol/L 的鱼藤素作用 24 h 后, SRC-3 的蛋白表达明显减少,积分吸光度值降至 56.16 ± 1.75 ($P < 0.01$),见图 5。

3 讨论

研究表明鱼藤素可以显著抑制结肠癌细胞系 HT-29 的生长,可以诱导人的前恶性和恶性支气管上皮细胞凋亡,而对人正常的细胞没有杀伤作

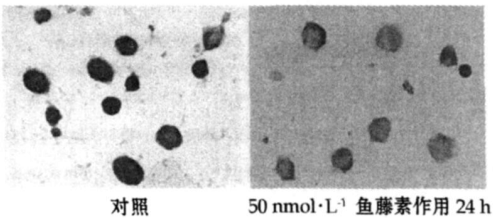


图 5 鱼藤素对 RPMI-8226 细胞 SRC-3 蛋白表达的影响

Fig. 5 Effect of deguelin on protein expression of SRC-3 in RPMI-8226 cells

用^[3,4],是一种安全有效,可以长期连续使用的抗癌药物。最近的研究表明,鱼藤素对多种白血病细胞的生长也有明显的抑制作用,但对人多发性骨髓瘤细胞株 RPMI-8226 细胞的作用机制尚未见报道。本实验以体外培养的 RPMI-8226 细胞作为研究对象,观察了鱼藤素对 RPMI-8226 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。

本研究结果发现鱼藤素能明显抑制 RPMI-8226 细胞的增殖,该抑制作用与药物作用时间和药物作用浓度呈正相关。多项实验结果表明鱼藤素对 RPMI-8226 细胞具有较强的诱导凋亡作用,低浓度的鱼藤素 (25 nmol/L) 即能诱导 RPMI-8226 细胞发生凋亡;当药物浓度达以 50 nmol/L 时,凋亡率明显增加,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,鱼藤素抗凋亡作用可能与其抑制 PI3K/Akt 及 NF-κB 信号通路有关^[5,6]。另外,前期研究还发现鱼藤素通过调控核孔蛋白和核磷蛋白从而诱导细胞凋亡^[7,8]。

SRC-3 又称为 NCOA3、P/CIP、RAC3、ACTR 和 TRAM1,属于 P160 类固醇激素受体共活化因子家族,此家族还包括 SRC-1 和 SRC-2 (TIF2/GRIP1)。SRC-3 不仅作用于核受体如雌激素受体 (ER)、孕激素受体 (PR) 和甲状腺激素受体,也作用于其他转录因子,包括转录因子 AP-1、核因子-κB (NF-κB)、信号转导子和转录激活子 (STAT) 及转录因子 E2F1^[9]。故 SRC 的浓度和活性的变化明显影响许多基因表达水平,从而调控一系列细胞过程,包括细胞增殖、分化和迁移等。近来发现 SRC-3 基因在多种恶性肿瘤细胞如乳腺癌、前列腺癌、胰腺癌、胃癌和肝癌等实体瘤中过量表达,而在对应的正常组织、良性肿瘤或增殖性病变中, SRC-3 呈不表达或弱表达。因此, Henke 等^[10]认为 SRC-3 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 SRC-3 的高表达,都与肿瘤的转

移和复发有密切关系^[11,12]。近来的研究也发现 SRC-3 在白血病细胞系 K562 中呈现高表达,并且与细胞耐药性相关,诱导 SRC-3 表达下调后可能促进白血病细胞的凋亡^[13]。在转基因小鼠中, SRC-3 基因高表达明显促进肿瘤发生^[14],而在基因敲除小鼠模型中, SRC-3 缺乏抑制小鼠肿瘤形成^[15]。因此,有报道认为 SRC-3 可以成为新的化疗靶点。本实验的初步结果显示,在 RPMF8226 细胞中 SRC-3 呈高表达,经不同浓度的鱼藤素处理后,其蛋白和基因表达水平均以浓度依赖性方式逐渐递减。而且发现在 RPMF8226 细胞中, SRC-3 主要位于细胞核内,经鱼藤素干预后, SRC-3 的表达明显减弱,其细胞定位没有明显改变。然而,鱼藤素是如何影响 SRC-3 表达,它又改变了哪些重要蛋白或基因仍不清楚,有待进一步的研究去发现。

综上所述,本实验表明鱼藤素作为一种高效低毒的抗肿瘤活性成分,具有显著抑制肿瘤细胞增殖、诱导细胞凋亡的作用,而该作用可能与其抑制 SRC-3 的表达有关,因此有望成为一种新型的高效的抗肿瘤药物。

参考文献:

- [1] Udeani G O, Gerhauser C, Thomas C F, *et al.* Cancer chemopreventive activity mediated by deguelin, a naturally occurring rotenoid [J]. *Cancer Res*, 1997, 57(16): 3424-3428.
- [2] Zhou G, Hashimoto Y, Kwak I, *et al.* Role of the steroid receptor coactivator SRC-3 in cell growth [J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(21): 7742-7755.
- [3] Weber A L, Rahemtullah A, Feery J A. Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma of the head and neck: clinical, pathologic, and imaging evaluation [J]. *Neuroimaging Clin N Am*, 2003, 13(3): 371-392.
- [4] Murillo G, Salti G I, Kosmeder J W, *et al.* Deguelin inhibits the growth of colon cancer cells through the induction of apoptosis and cell cycle arrest [J]. *Eur J Cancer*, 2002, 38(18): 2446-2454.
- [5] Lee H Y, Oh S H, Woo J K, *et al.* Chemopreventive effects of deguelin, a novel Akt inhibitor, on tobacco-induced lung tumorigenesis [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2005, 97(22): 1695-1669.
- [6] Chen W H, Chen Y, Cui G H. Deguelin inhibits expression of IkappaBalpha protein in Raji and U937 cells [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2006, 27(4): 485-490.
- [7] Liu H L, Chen Y, Cui G H, *et al.* Deguelin regulates the nuclear pore complex proteins Nup98 and Nup88 in U937 cells *in vitro* [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2005, 26(10): 1265-1273.
- [8] Shu W X, Chen Y, Wu Q, *et al.* Deguelin represses both the expression of nucleophosmin and some nucleoporins: Nup88 and Nup214 in Jurkat cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31(1): 27-32.
- [9] Yan J, Tsai S Y, Tsai M J. SRC-3/ AIB1: transcriptional co-activator in oncogenesis [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2006, 27(4): 387-394.
- [10] Henke R T, Haddad B R, Kim S E, *et al.* Overexpression of the nuclear receptor coactivator AIB1 (SRC-3) during progression of pancreatic adenocarcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(18 Pt 1): 6134-6142.
- [11] Sakakura C, Hagiwara A, Yasuoka R, *et al.* Amplification and over-expression of the AIB1 nuclear receptor co-activator gene in primary gastric cancers [J]. *Int J Cancer*, 2000, 89(3): 217-223.
- [12] Wang Y, Wu M C, Sham J S, *et al.* Prognostic significance of c-myc and AIB1 amplification in hepatocellular carcinoma. A broad survey using high-throughput tissue microarray [J]. *Cancer*, 2002, 95(11): 2346-2352.
- [13] Colo G P, Rosato R R, Grant S, *et al.* RAC3 down-regulation sensitizes human chronic myeloid leukemia cells to TRAIL-induced apoptosis [J]. *FEBS Lett*, 2007, 581(26): 5075-5081.
- [14] Torres-Arzayus M I, De Mora J F, Yuan J, *et al.* High tumor incidence and activation of the PI3K/ AKT pathway in transgenic mice define AIB1 as an oncogene [J]. *Cancer Cell*, 2004, 6(3): 263-274.
- [15] Kuang S Q, Liao L, Zhang H, *et al.* AIB1/ SRC-3 deficiency affects insulin-like growth factor I signaling pathway and suppresses v-Ha-ras-induced breast cancer initiation and progression in mice [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(5): 1875-1885.

利用稻瘟霉模型筛选粗疣合叶苔内生真菌中的活性菌株

郭 蕾¹, 吴锦忠², 许强芝³, 韩 婷¹, 秦路平^{1*}

(1. 第二军医大学药学院 生药教研室, 上海 200433; 2. 福建中医学院 中西医结合研究院, 福建 福州 350003; 3. 第二军医大学 生物化学与分子生物学教研室, 上海 200433)

摘要:目的 利用稻瘟霉模型快速筛选粗疣合叶苔内生真菌中具有生物活性的菌株, 并对活性菌株 T11 进行鉴定。方法 首次对粗疣合叶苔内生真菌进行了分离, 通过观察内生真菌醋酸乙酯提取物引起稻瘟霉分生孢子或菌

* 收稿日期: 2008-11-19

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目 (2008J0097)

作者简介: 郭 蕾 (1984—), 女, 硕士研究生, 研究方向为内生真菌活性代谢产物。

Tel: (021) 81871311 E-mail: guoleialice28@163.com

* 通讯作者 秦路平 Tel/ Fax: (021) 25070394 E-mail: qinsmmu@126.com