

## 补阳还五汤预先干预对大鼠脑死亡后心肺炎症细胞因子表达的抑制作用

陈洁<sup>1</sup>, 曾耀英<sup>2</sup>, 曾慧兰<sup>3</sup>, 刘嘉雯<sup>1</sup>, 苏泽轩<sup>1</sup>, 郝彤彤<sup>1</sup>

(1 暨南大学附属第一医院 泌尿外科/肾移植科, 广东 广州 510630; 2 暨南大学 组织移植与免疫中心, 广东 广州 510632; 3 暨南大学附属第一医院 血液科, 广东 广州 510630)

**摘要:**目的 观察补阳还五汤预先干预大鼠抑制其脑死亡后心、肺炎症细胞因子表达。方法 雄性 Wistar 大鼠 30 只, 体质量 180~200 g, 随机分 3 组。对照组: 正常大鼠麻醉后取心和肺; 脑死亡模型组: 诱导大鼠脑死亡; 补阳还五汤组: 脑死亡诱导前 7 d, 连续每天 1 次给大鼠 ig 补阳还五汤水煎剂 (1.8 mL/100 g, 12.6 g/kg)。大鼠脑死亡诱导成功, 机械呼吸 6 h, 若平均动脉压大于 80 mmHg, 则取其心和肺。RT-PCR 检测心、肺组织肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 和白细胞介素  $1\beta$  (IL- $1\beta$ ) mRNA 表达, Western blotting 检测心、肺组织 TNF- $\alpha$  和 IL- $1\beta$  蛋白及磷酸化 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p-p38 MAPK) 蛋白表达。结果 模型组心肺 TNF- $\alpha$ 、IL- $1\beta$  mRNA 和蛋白表达及 p-p38 MAPK 蛋白表达比对照组显著增加 ( $P < 0.01$ )。补阳还五汤组各指标比模型组显著降低 ( $P < 0.05$ ), 但仍比对照组显著增加 ( $P < 0.01$ )。结论 补阳还五汤预先干预大鼠能显著抑制其脑死亡后心肺炎症细胞因子表达, 可能与其在不同层面阻断 p38 MAPK 信号通路关键靶点有关。

**关键词:** 补阳还五汤; 脑死亡; 炎症细胞因子; p38 丝裂原活化蛋白激酶

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)05-0757-05

## Inhibition on inflammatory cytokine expressions in heart and lung from brain death rats pretreated with Buyang Huanwu Decoction

CHEN Jie<sup>1</sup>, ZENG Yaoying<sup>2</sup>, ZENG Huilan<sup>3</sup>, LIU Jiawen<sup>1</sup>, SU Zhexuan<sup>1</sup>, HAOTongtong<sup>1</sup>

(1. Department of Urology and Organ Transplantation, the First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou 510630, China; 2. Institution of Tissue Transplantation and Immunology, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 3. Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou 510630, China)

**Abstract: Objective** To observe the inhibition of inflammatory cytokine expressions in hearts and lungs from brain death (BD) rats pretreated with Buyang Huanwu Decoction (BYHWT). **Methods** Male Wistar rats, weighing from 180 to 200 g, were randomly divided into three experimental groups: control group ( $n=10$ ): hearts and lungs were gotten from normal rats after anesthesia; BD group ( $n=10$ ): rat brain death was gradually induced; BYHWT+BD group ( $n=10$ ): 7 d before BD induction, rats were ig administered with BYHWT (1.8 mL/100 g) once daily. Six hours after successful onset of BD, only the rats whose mean arterial blood pressure were more than 80 mmHg were accepted as BD donors. Hearts and lungs were then obtained. RT-PCR was used to detect the expressions of TNF- $\alpha$  and IL- $1\beta$  mRNA. Western blotting method was applied to determining the expressions of both TNF- $\alpha$  and IL- $1\beta$  proteins, and the phosphorylated p38 MAPK (p-p38 MAPK) proteins. **Results** The expressions of mRNA and protein levels of both TNF- $\alpha$  and IL- $1\beta$ , and also the p-p38 MAPK proteins levels, were significantly enhanced in BD group compared to the control group ( $P < 0.01$ ). While those in BYHWT+BD group were statistically decreased ( $P < 0.05$ ) compared to BD group, but they were still significantly increased ( $P < 0.01$ ) in comparison with the control group. **Conclusion** Pretreatment of the rats with BYHWT prior to the induction of rat brain death could significantly suppress the expression of inflammatory cytokines in the hearts and lungs from BD rats. This phenomenon may relate to the blockage of key target points in p38 MAPK signaling pathway.

**Key words:** Buyang Huanwu Decoction; brain death (BD); inflammatory cytokine; p38 mitogen activated protein kinase (p38 MAPK)

①收稿日期: 2009-09-29

基金项目: 教育部留学回国人员科研启动基金资助项目 (教外司留[2006]331); 教育部科学技术研究重点项目 (206108); 国家中医药管理局留学回国人员科技活动择优资助项目 (国中医药研 2006LHR04 号)

作者简介: 陈洁 (1965-), 男, 江苏苏州人, 博士, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 从事临床肾移植医疗和科研工作, 研究方向为提高脑死亡供体器官质量与移植长期存活和功能。Tel: 13631383297 E-mail: jkcharite@yahoo.com.cn

脑死亡供体器官在许多国家和地区已越来越多地成为临床器官移植供体的主要来源<sup>[1]</sup>。实验和临床研究<sup>[2-4]</sup>显示来自脑死亡供体的肝、心、肾、肺移植后发生急慢性排斥反应的速度比来自活体供体的明显加快,这与脑死亡供体器官免疫原性增高关系密切。移植前降低脑死亡供体器官的免疫原性成为移植界关注的热门话题<sup>[5-8]</sup>。而中药在这一领域的研究鲜有报道。经典古方补阳还五汤是历来中医临床治疗中风病的常用方,有补气、活血、通络等多方面作用,对中风后遗症疗效显著。近年来研究发现,补阳还五汤治疗缺血性脑血管疾病<sup>[9,10]</sup>,可减轻缺血再灌注损伤的收缩脑血管的作用,还能很好地清除氧自由基,增加对常压缺氧的耐力,抑制血小板聚集和血栓形成<sup>[11]</sup>,但研究主要集中在防治脑缺血再灌注损伤方面,在治疗心肺缺血再灌注损伤功效方面研究尚不多见。本实验旨在诱导大鼠脑死亡前先用补阳还五汤干预,观察补阳还五汤对大鼠脑死亡后心、肺炎症细胞因子:肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ) mRNA 和蛋白表达以及磷酸化 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 MAPK) 蛋白表达的调控作用,为中药在降低脑死亡供体器官免疫原性方面探索新的途径。

## 1 材料

1.1 实验动物:Wistar 大鼠 30 只,雄性,SPF 级,体重 180~200 g,购自南方医科大学实验动物中心。

1.2 实验仪器:Leica 显微镜 (WILD M 690 德国),ALC-V8A 动物呼吸机 (上海奥尔科特生物科技有限公司),BL-420E+ 生物机能实验系统 (成都泰盟科技有限公司),显微外科手术器械 1 套。T1 Thermocycler 型 PCR 仪 (Biometra 公司),凝胶扫描分析系统 (Muli Genius 公司),DU-640 型蛋白/核酸分析仪 (Beckman 公司),6131 型蛋白检测仪和 5804R 型高速冷冻离心机 (Eppendorf 公司),SD 半干转印仪 (Bio-Rad 公司),水平、垂直电泳系统 (Amersham Pharmacia Biotech 公司)。

1.3 实验试剂:酶制剂 M-MLV 购自 Promega 公司,RNase 抑制剂、RNase free DNase I、Realtime PCR Master Mix 均购自 Takara 公司;Western blotting 相关试剂、Western 及 IP 细胞裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自 Beyotime 公司,PVDF 膜购自 Bio-Rad 公司,IL-1 $\beta$  羊多克隆抗体、TNF- $\alpha$  兔多克隆抗体、p38 鼠单克隆抗体购自 Santa Cruz 公司, $\beta$ -actin 鼠单克隆抗体购自 Protein Tech Group, Inc.,HRP 标记山羊抗兔 IgG (H+

L)、HRP 标记兔抗羊 IgG (H+L)、HRP 标记羊抗小鼠 IgM 均购自北京博奥森生物技术有限公司,增强型 HRP-DAB 底物显色试剂盒购自 TianGen 公司;蛋白及核酸分子量标准 Prestained Protein Marker 购自 Fermentas 公司,150 bp DNA Marker 购自 Takara 公司;RNA 抽提试剂 Trizol 购自 Invitrogen 公司,DEPC 购自 Sigma Aldrich 公司。

1.4 补阳还五汤处方组成及剂型:补阳还五汤由黄芪 120 g、当归尾 3 g、赤芍 5 g、地龙 3 g、川芎 3 g、红花 3 g、桃仁 3 g 组成<sup>[12]</sup>。常规方法制备水煎剂,煎成 200 mL,生药质量浓度 0.70 g/mL,4 °C 冰箱保存。

## 2 方法

2.1 大鼠脑死亡模型的建立:采用渐进式诱导大鼠脑死亡<sup>[13,14]</sup>。大鼠以 10% 水合氯醛 (0.3 mL/100 g) ip 麻醉,手术视野 70% 乙醇消毒,仰卧位,左下肢外展,左侧股动脉用 PE50 导管插管,远端连接 BL-420+ 生物机能实验系统,持续测定有创动脉压,将钝头套管插入气管行气管插管。再俯卧位,剪去头部皮肤、肌肉、骨膜,在大鼠矢状线中点右侧 0.2~0.5 cm 处钻一直径 1 mm 的孔,将 3F Fogarty 导管 (Fogarty Arterial Embolectomy Catheter 3F; Baxter Healthcare Co., Irvine, CA) 垂直插入颅内,缓慢注入生理盐水 (160~170  $\mu$ L) 逐渐增大导管气囊,增加颅内压,形成脑干疝和脑死亡。脑死亡诱导后气管套管远端接动物呼吸机,持续人工呼吸 6 h,频率 102 次/min,潮气量 4 mL。脑死亡诱导成功标准:反射消失;自主呼吸停止;瞳孔散大固定。

2.2 分组及补阳还五汤预先干预方案:大鼠随机分为 3 组,对照组:正常大鼠麻醉后取心和肺组织;脑死亡模型组:诱导大鼠脑死亡;补阳还五汤组:诱导大鼠脑死亡前,每天 1 次 ig 补阳还五汤水煎剂 (1.8 mL/100 g,剂量为 12.6 g/kg<sup>[15]</sup>),连续 7 d,第 8 天诱导大鼠脑死亡。

2.3 标本获取与保存:大鼠脑死亡诱导成功 6 h 后,如平均动脉压大于 80 mmHg,就成为脑死亡供体,获取心、肺组织,-80 °C 冰箱和 RT-PCR 保存液保存。

2.4 RT-PCR 检测心、肺 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  mRNA 表达:采用 Primer 5.0 设计引物,上海生工生物公司合成。TNF- $\alpha$ :上游引物 5'-CAGACCCTCACTCAGATCATG-3',下游引物 3'-GTGGCTAAACGGTAAAGTAT-5',产物长度 269 bp。

IL-1 $\beta$ : 上游引物 5'-GAAATAGCAGCTTTCA-CAGTGAG-3', 下游引物 3'-CCTGGTTCGTG-GAAGAAAAG-5', 产物长度 254 bp。GAPDH: 上游引物 5'-TGTTCTACCCCAATGTGTG-3', 下游引物 3'-CGCTGAAGTTGTCGTTGAGGG-5', 产物长度 170 bp。RNA 提取试剂盒提取总 RNA。依 RT-PCR 试剂盒说明操作, 扩增条件: 94  $^{\circ}$ C、30 s, 60  $^{\circ}$ C、45 s, 72  $^{\circ}$ C、1 min, 30 个循环, 最后 72  $^{\circ}$ C 延伸 4 min。取 5  $\mu$ L 扩增产物, 2% 琼脂糖凝胶电泳。

2.5 Western blotting 检测 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  和 p38MAPK 蛋白表达: 配细胞裂解液提取细胞总蛋白, BCA 法测定总蛋白浓度。各样本提取等量总蛋白。经 100  $^{\circ}$ C 5 min 变性后, 进行 SDS-PAGE。电泳后将凝胶上的蛋白条带电转移至 PVDF 膜。一抗 (1: 200) 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜, 二抗 (1: 2 000) 室温

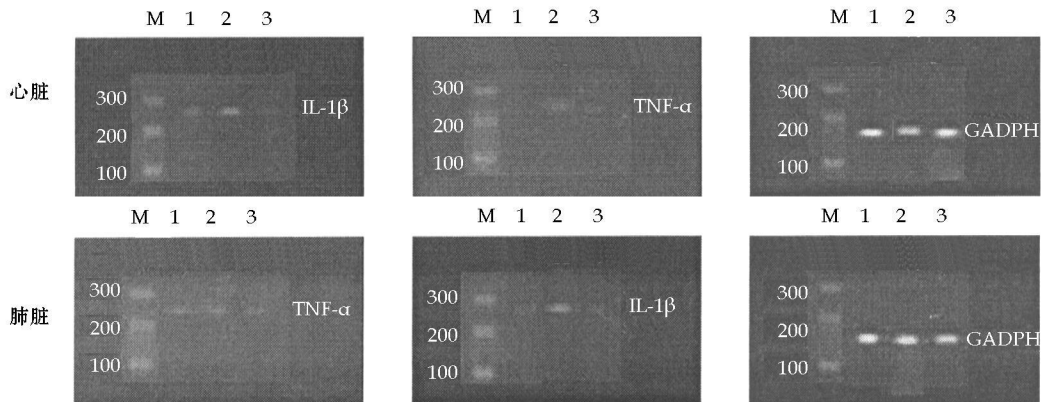
孵育 1 h。增强型 HRP-DAB 底物显色, 显色完毕后拍照, 并用 Alpha EaseFC 软件分析 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 p38MAPK 蛋白的表达量。

2.6 统计学处理: 所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 应用 SPSS 13.0 统计软件进行分析, 多个样本间比较行 One-way ANOVA 分析。

### 3 结果

3.1 RT-PCR 检测心、肺 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  mRNA 表达: 模型组心、肺组织 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  mRNA 表达比对照组明显增加 ( $P < 0.01$ )。补阳还五汤组心、肺组织 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  mRNA 表达显著低于模型组 ( $P < 0.05$ ), 但仍较对照组明显增高 ( $P < 0.01$ ), 3 组间心、肺 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  mRNA 表达差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 结果见图 1 和表 1。

3.2 Western blotting 检测心、肺组织 TNF- $\alpha$  和



M- Marker 1- 对照组 2- 模型组 3- 补阳还五汤组

M- Marker 1- control group 2- model group 3- BYHWT group

图 1 RT-PCR 检测心、肺组织 TNF $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  mRNA 表达

Fig. 1 RT-PCR Detection of TNF $\alpha$  and IL-1 $\beta$  mRNA expressions in heart and lung tissues

表 1 补阳还五汤对脑死亡大鼠心、肺组织 TNF $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Table 1 Effect of BYHWT on expression of TNF $\alpha$  and IL-1 $\beta$  mRNA in heart and lung tissues of BD rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	剂量/ (g · kg <sup>-1</sup> )	心脏		肺脏	
		TNF- $\alpha$	IL-1 $\beta$	TNF- $\alpha$	IL-1 $\beta$
对照	-	0.030 $\pm$ 0.008	0.180 $\pm$ 0.009	0.150 $\pm$ 0.012	0.120 $\pm$ 0.013
模型	-	0.340 $\pm$ 0.012 <sup>**</sup>	0.430 $\pm$ 0.012 <sup>**</sup>	0.580 $\pm$ 0.007 <sup>**</sup>	0.450 $\pm$ 0.012 <sup>**</sup>
补阳还五汤	12.6	0.220 $\pm$ 0.011 <sup>**<math>\Delta</math></sup>	0.240 $\pm$ 0.008 <sup>**<math>\Delta</math></sup>	0.210 $\pm$ 0.009 <sup>**<math>\Delta</math></sup>	0.230 $\pm$ 0.012 <sup>**<math>\Delta</math></sup>

与对照组比较: <sup>\*\*</sup>  $P < 0.01$ ; 与模型组比较:  <sup>$\Delta$</sup>   $P < 0.05$

<sup>\*\*</sup>  $P < 0.01$  vs control group;  <sup>$\Delta$</sup>   $P < 0.05$  vs model group

IL-1 $\beta$  蛋白表达: 模型组心、肺组织 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  蛋白表达比对照组明显增加 ( $P < 0.01$ )。补阳还五汤组心、肺组织 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  蛋白表达显著低于模型组 ( $P < 0.05$ ), 但仍比对照组显著增高 ( $P < 0.01$ )。组间心、肺组织 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  蛋白表达

差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 结果见图 2 和表 2。

3.3 Western blotting 检测心、肺组织 p38MAPK 蛋白表达: 模型组心、肺组织 p38MAPK 蛋白表达比对照组明显增加 ( $P < 0.01$ )。补阳还五汤组心、肺组织 p38MAPK 蛋白表达显著低于模型组 ( $P < 0.05$ ), 但较对照组显著增高 ( $P < 0.01$ )。各组间心、肺组织 p38MAPK 蛋白表达差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 结果见图 2 和表 2。

### 4 讨论

供体脑死亡后外周器官缺血缺氧, 促炎细胞因子过度释放、炎性细胞快速浸润, 这些早期非特异性炎症反应强化了移植后的免疫反应, 加速移植后急、慢性排斥反应发生, 影响移植器官功能和长期存活<sup>[1]</sup>。因此, 移植前降低脑死亡供体器官免疫状态是器官移植界一项新的研究策略。

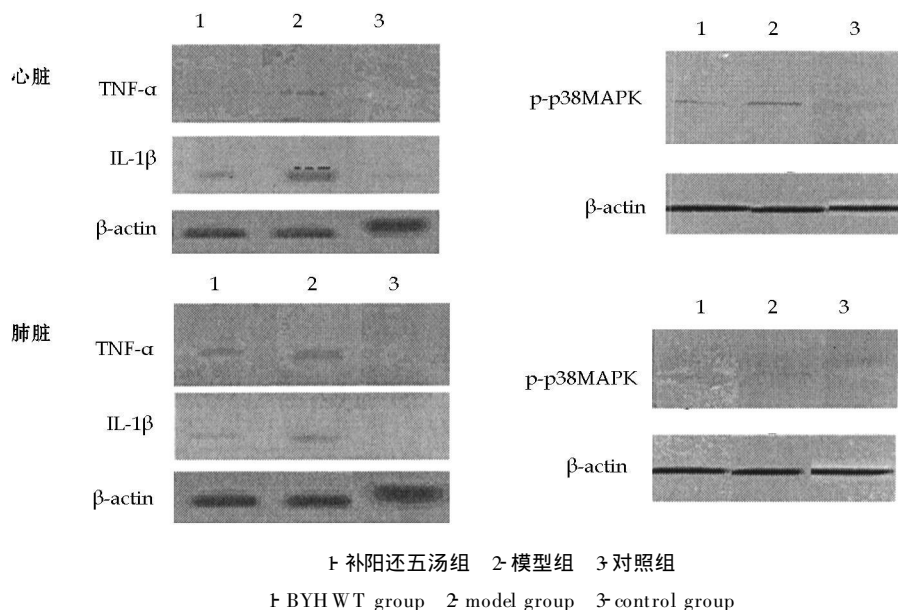


图 2 Western blotting 检测心、肺组织 TNF-α、IL-1β 和 p38MAPK 蛋白表达

Fig. 2 Western blotting detection of TNF-α, IL-1β, and p38MAPK protein expressions in heart and lung tissues

表 2 补阳还五汤对脑死亡大鼠心、肺组织 TNF-α、IL-1β 和 p38MAPK 蛋白表达的影响 (x̄ ± s, n = 10)

Table 2 Effect of BYHWT on TNF-α, IL-1β, and p38MAPK protein expressions in heart and lung tissues of BD rats (x̄ ± s, n = 10)

组别	剂量/ (g · kg <sup>-1</sup> )	心脏			肺脏		
		TNF-α	IL-1β	p38MAPK	TNF-α	IL-1β	p38MAPK
对照	-	0.002 0 ± 0.000 4	0.080 0 ± 0.002 0	0.030 0 ± 0.000 4	0.002 0 ± 0.000 5	0.002 0 ± 0.000 4	0.003 0 ± 0.000 4
模型	-	0.090 0 ± 0.005 0**	0.270 0 ± 0.006 0**	0.260 0 ± 0.004 0**	0.190 0 ± 0.008 0**	0.190 0 ± 0.006 0**	0.170 0 ± 0.005 0**
补阳还五汤	12.6	0.070 0 ± 0.005 0**△	0.170 0 ± 0.008 0**△	0.130 0 ± 0.004 0**△	0.130 0 ± 0.010 0**△	0.140 0 ± 0.006 0**△	0.008 0 ± 0.006 0**△

与对照组比较: \*\* P < 0.01; 与模型组比较: △ P < 0.05

\*\* P < 0.01 vs control group; △ P < 0.05 vs model group

本实验诱导大鼠脑死亡后,发现心肺 TNF-α 及 IL-1β 表达比对照组明显增加 (P < 0.01)。用补阳还五汤预先干预大鼠,再诱导脑死亡,心肺 TNF-α 及 IL-1β 表达比模型组显著降低 (P < 0.05),说明补阳还五汤可显著抑制 TNF-α 及 IL-1β 的表达,一定程度上降低心肺免疫原性。

p38MAPK 是丝裂原活化蛋白激酶的一个亚类, p38MAPK 信号通路参与炎症反应调控<sup>[16]</sup>。缺血再灌注损伤动物实验中, p38MAPK 磷酸化导致肾脏 TNF-α、IL-1β 明显表达,是肾脏炎症损伤的重要因素。本实验发现,单纯脑死亡大鼠心肺 p38MAPK 磷酸化水平比正常大鼠显著升高 (P < 0.01),补阳还五汤预先干预后心肺 p38MAPK 磷酸化水平比单纯脑死亡时明显降低 (P < 0.05),同时发现心肺 p38MAPK 磷酸化水平升高和降低,与心肺 TNF-α 及 IL-1β 表达增加和减少相一致。与前期研究结果相一致<sup>[17]</sup>,补阳还五汤有可能通过抑制 p38MAPK 信号通路的某些关键靶点,抑制了炎症细胞因子的表达。究竟是信号通路的哪些关键靶

点受到了抑制,将在今后的进一步研究中证实。

本研究结果表明用补阳还五汤预先干预大鼠,能显著抑制脑死亡后心肺炎症细胞因子表达,为中药在降低脑死亡供体器官免疫原性方面探索新的途径。

参考文献:

- [1] Pratschke J, Neuhaus P, Tullius S G. What can be learned from brain dead models? [J]. *Transplant International*, 2005, 18(1): 15-21.
- [2] Zweers N, Petersen A H, Van der Hoeven J A, et al. Donor brain death aggravates chronic rejection after lung transplantation in rtas [J]. *Transplantation*, 2004, 78(9): 1251-1259
- [3] Weiss S, Kotsch K, Francuski M, et al. Brain death activates donor organs and is associated with a worse I/R injury after liver transplantation [J]. *Am J Transplant*, 2007, 7(6): 1584-1593
- [4] Wilhelm M J, Pratschke J, Beato F, et al. Activation of the heart by donor brain death accelerates acute rejection after transplantation [J]. *Circulation*, 2000, 102(19): 2426-2433
- [5] Pratschke J, Kofla G, Wilhelm M J, et al. Improvements in early behavior of rat kidney allografts after treatment of the brain dead donor [J]. *Ann Surg*, 2001, 234(6): 732-740
- [6] Gasser M, Waaga A M, Holthe JEK-V, et al. Normalization of brain death induced injury to rat renal allografts by recom

- binant soluble P-selectin glycoprotein ligand [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2002, 13(7): 1937-1945
- [7] Kotsch K, Francuski M, Pascher A, et al. Improved long-term graft survival after HO-1 introduction in brain dead donors [J]. *Am J Transplant*, 2006, 6(3): 477-486
- [8] 张水军, 马廷午, 马秀现, 等. 乙酰半胱氨酸对脑死亡大鼠肝脏的保护作用 [J]. 中华实验外科杂志, 2004, 21(7): 818-820
- [9] 欧明娥, 唐利文, 邓常清. 补阳还五汤有效组分对血管内皮细胞抗血栓功能及蛋白激酶 C 的影响 [J]. 中草药, 2008, 39(10): 1514-1520
- [10] 刘柏炎, 蔡光先, 刘 维, 等. 补阳还五汤对大鼠局灶性脑缺血后血管内皮生长因子及其受体 Flk1 的影响 [J]. 中草药, 2007, 38(3): 394-397.
- [11] 张淑萍, 梁 燕, 邓常青. 补阳还五汤和其有效部位对大鼠脑缺血再灌注后 IL-1 $\beta$  及相关因子表达的影响 [J]. 湖南中医药大学学报, 2007, 27(2): 24-27
- [12] 邓中甲. 方剂学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003
- [13] Pratschke J, Wilhelm M J, Kusaka M, et al. A model of gradual onset brain death for transplant-associated studies in rats [J]. *Transplantation*, 2000, 69(3): 427-430
- [14] 陈 洁, 苏泽轩, Maja F, 等. 无脑电图仪监测下渐进式大鼠脑死亡模型的建立 [J]. 广东医学, 2005, 26(6): 768-770
- [15] 施新猷. 现代医学实验动物学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2000
- [16] 朱明光, 谢淑丽, 张 华. p38MAPK 抑制剂对缺血/再灌注大鼠肾脏功能损伤的保护作用 [J]. 西北国防医学杂志, 2003, 24(5): 361-363
- [17] 陈 洁, 曾耀英, 曾慧兰, 等. 阻断 p38MAPK 信号通路降低脑死亡肾脏免疫原性 [J]. 中华实验外科杂志, 2009, 26(11): 1509-1511.

## 葎草酮对人胃癌细胞 SGC-7901 N-乙酰基转移酶 1 活性及基因表达的抑制作用

高世勇<sup>1,2</sup>, 郎 朗<sup>1,2</sup>, 邹 翔<sup>1,2</sup>, 汲晨锋<sup>1,2</sup>, 季宇彬<sup>1,2</sup>, 马 强<sup>1,2</sup>, 岳 磊<sup>1,2</sup>, 曲中原<sup>1,2</sup>, 尚 明<sup>1,2</sup>  
 (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流动站, 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 探讨葎草酮抗肿瘤作用以及其与 N-乙酰基转移酶 1 (NAT1 酶) 之间的关系。方法 采用 HPLC 法, 以对氨基苯甲酸 (PABA) 为底物, 测定 PABA 被 NAT1 乙酰化为乙酰化对氨基苯甲酸 (Ac PABA) 的量, 间接反映 NAT1 酶的活性。采用 RT-PCR 法, 测定葎草酮对 NAT1 mRNA 表达的影响。结果 葎草酮能够显著降低 SGC-7901 完整细胞和细胞质中 Ac PABA 的生成量; 随着作用时间的增加, Ac PABA 的生成量逐渐增加, 但与其相同时间点的阴性对照组比较, 葎草酮组 Ac PABA 的生成量明显减少; 葎草酮能够降低 SGC-7901 细胞中 NAT1 mRNA 的表达。结论 葎草酮通过抑制 NAT1 的活性和基因表达两个方面减少芳香胺类化合物代谢为乙酰化的芳香胺类致癌物的量, 从而预防癌症的发生, 防止癌症的进一步恶化。

**关键词:** 葎草酮; 人胃癌细胞 SGC-7901; N-乙酰基转移酶 1 (NAT1); NAT1 mRNA 表达

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)05-0761-06

## Inhibition of humulon on arylamine N-acetyltransferase 1 activity and gene expression in SGC-7901 cells

GAO Shi yong<sup>1,2</sup>, LANG Lang<sup>1,2</sup>, ZOU Xiang<sup>1,2</sup>, JI Chen feng<sup>1,2</sup>, JI Yu bin<sup>1,2</sup>,  
 MA Qiang<sup>1,2</sup>, YUE Lei<sup>1,2</sup>, QU Zhong-yuan<sup>1,2</sup>, SHANG Ming<sup>1,2</sup>

(1 Post doctoral Research Station, Institute of Materia Medica, Center of Research and Development on Life Sciences and Environment Sciences of Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China; 2. MOE Engineering Research Center of Natural Anticancer Drugs, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

**Abstract: Objective** To study the antitumor effects of humulon on arylamine N-acetyltransferase 1 (NAT1) activity. **Methods** Employing HPLC, using PABA as substrate, in intact SGC-7901 cells and their cytoplasm, making PABA being acetylated to Ac-PABA by NAT1 as the activity of NAT1. Reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) assay was used to study the expression of the NAT1 mRNA. **Results** The results show that humulon could inhibit the production of Ac-PABA in intact SGC-7901 cell and the cytoplasm, the production of Ac-PABA was gradually increased with the interaction time increasing. But comparing with corresponding negative control groups, the production of Ac-PABA was

①收稿日期: 2009-12-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30873403); 黑龙江省教育厅重点项目 (11511102)

作者简介: 高世勇 (1975-), 男, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 哈尔滨商业大学药物研究所所长, 研究方向为肿瘤药理学。

E-mail: sygao2002@163.com