

使 Foxp3 蛋白表达和调节性 T 细胞比率基本降至正常水平。这充分提示大蒜新素可能通过作用于 Treg 环节逆转 CMV 感染所致的抗病毒免疫功能低下, 尤其可能在 CMV 慢性持续性感染中发挥促进抗病毒免疫的效应。依据前期的研究结果<sup>[5]</sup>, 选取 Treg 抑制效应较强的细胞模型, 即添加 Treg 比率为 20% 的共培养体系进行体外大蒜新素干预实验。结果显示, 大蒜新素可显著抑制 Treg 特异性转录因子 Foxp3 基因表达, 正如前文分析的, Foxp3 是 Treg 增殖活化的关键因子, Foxp3 表达减少意味着 MCMV 感染诱导的 Treg 扩增受到抑制。由此, 在体内外水平证实大蒜新素可显著纠正 MCMV 感染导致的 Treg 异常扩增。这可能是大蒜新素诱导抗 CMV 免疫的另一重要机制。

参考文献:

- 1] Biron K K. Antiviral drugs for cytomegalovirus diseases J]. *Antiv Res*, 2006, 71(2-3): 154-163
- 2] Miron T, Rabinkov A, Mirelman D, et al. The mode of action of allicin: its ready permeability through phospholipids membranes may contribute to its biological activity J]. *Biochi Biophys Acta*, 2000, 1463(1): 29-30
- 3] 刘志峰, 方峰, 董永绥, 等. 大蒜新素预防和治疗鼠巨细胞病毒性肝炎的实验研究 J]. *中草药*, 2003, 34(6): 529-532
- 4] Lamm D L, Riggs D R. Enhanced immunocompetence by garlic: role in bladder cancer and other malignancies J]. *J Nutr*, 2001, 131(3): 1067-1070
- 5] Ghazanfari T, Hassan Z M, Ebtekar M, et al. Garlic induces

a shift in cytokine pattern in leishmania major-infected BALB/c mice J]. *Scand J Immunol*, 2000, 52(5): 491-495

- 6] 郭乃榄, 陆道培, 周桂珍, 等. 大蒜提取物体外抑制巨细胞病毒的研究 J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 1999, 5(1): 71-79.
- 7] 李亚男, 方峰, 甄宏, 等. MCMV 感染鼠胚成纤维细胞对共培养调节性 T 细胞增殖和活化的影响 J]. *中华传染病杂志*, 2008, 26(11): 641-646
- 8] 徐翼, 方峰, 董永绥, 等. 大蒜新素对 MCMV 感染小鼠转录因子 T-bet 和 GATA-3 基因表达的影响 J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2004, 24(12): 950-954
- 9] Gunzer M, Weishaupt C, Planelles L, et al. Two-step negative enrichment of CD4+ and CD8+ T cells from murine spleen via nylon wool adherence and an optimized antibody cocktail J]. *J Immunol Methods*, 2001, 258(1-2): 55-63
- 10] Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3 J]. *Science*, 2003, 299(5609): 1057-1061
- 11] Fontenot J D, Gavin M A, Rudensky A Y. Foxp3 programs the development and function of CD4+ CD25+ regulatory T cells J]. *Nat Immunol*, 2003, 4(4): 330-336
- 12] Fang F, Li H, Cui W, et al. Treatment of hepatitis caused by cytomegalovirus with allitridin injection: an experimented study J]. *J Tongji Med Univ*, 1999, 19(4): 271-274.
- 13] 聂兴草, 方峰, 李红, 等. 大蒜新素对人巨细胞病毒感染的人胚肺成纤维细胞凋亡的影响 J]. *中草药*, 2004, 35(9): 1015-1018
- 14] Xu Y, Fang F, Xiang Z D, et al. The effects of allitridin on the expression of transcription factor T-bet/GATA-3 in mice infected by murine cytomegalovirus J]. *J Microbiol Immunol*, 2004, 2(2): 106-110
- 15] 李亚男, 方峰, 甄宏, 等. CD4+ CD25+ 调节性 T 细胞抑制效应性 T 细胞在 MCMV 感染中的免疫作用 J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2008, 28(3): 234-238

## 大豆异黄酮对前列腺增生大鼠生长因子及受体的影响

任国峰, 汤凌, 杨爱青, 姜伟伟, 黄忆明\*  
(中南大学公共卫生学院 营养与食品卫生学系, 湖南长沙 410078)

**摘要:**目的 研究大豆异黄酮对前列腺增生大鼠模型的抑制作用及生长因子调控机制。方法 采用 sc 睾酮法诱导大鼠前列腺增生。大鼠随机分为对照、模型组、大豆异黄酮 (60、120、240 mg/kg) 组; ig 给药 4 周后处死大鼠, 测定大鼠前列腺湿质量、前列腺指数, 酶联免疫法测定血清胰岛素样生长因子-1 (IGF-1)、表皮生长因子 (EGF)、血管内皮生长因子 (VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF)、转化生长因子-β (TGF-β) 水平, 免疫组化法检测表皮生长因子受体 (EGF-R) 表达的变化情况。结果 模型组大鼠前列腺湿质量明显增加, 前列腺指数明显增加。与模型组相比, 大豆异黄酮各组前列腺湿质量和前列腺指数明显下降, 血清 IGF-1、EGF、VEGF 和 bFGF 水平均显著降低, 血清 TGF-β 水平显著提高, 前列腺上皮组织 EGF-R 表达显著下降, 以 120 mg/kg 大豆异黄酮组效果最为明显。结论 大豆异黄酮具有较好的抑制前列腺增生的作用, 可能与其降低 IGF-1、EGF、VEGF 和 bFGF 水平, 提高 TGF-β 水平, 下调 EGF-R 表达有关。

**关键词:**大豆异黄酮; 前列腺增生; 胰岛素样生长因子-1 (IGF-1); 表皮生长因子 (EGF); 血管内皮生长因子 (VEGF); 碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF); 转化生长因子 (TGF-β); 表皮生长因子受体 (EGF-R)

中图分类号: R281.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)09-1497-05

\* 收稿日期: 2009-10-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30500407)

作者简介: 任国峰 (1973-), 男, 山西省忻州市人, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为植物提取物及其功效活性。

Tel: (0731) 84805464 Fax: (0731) 84805452 E-mail: rgf3824@163.com

## Effects of soybean isoflavone on growth factors and its receptor on prostatic hyperplasia in rats

REN Guo-feng, TANG Ling, YANG Ai-qing, JIANG Wei-wei, HUANG Yi-ming

(Department of Nutrition and Food Hygiene, School of Public Health, Central South University, Changsha 410078, China)

**Abstract: Objective** To investigate the inhibitive effect of soybean isoflavone (SI) on benign prostatic hyperplasia (BPH) in rats and to study its regulation mechanism of growth factors. **Methods** Rats were induced to prostate hyperplasia by sc injection of testosterone and were randomly divided into normal control group, BPH model group, and three SI groups (60, 120, and 240 mg/kg). Treated by ig administration four weeks later, the prostate wet weight and prostatic index (PI) were measured. The levels of IGF-1, EGF, VEGF, bFGF, and TGF- $\beta$  in serum were determined by ELISA, and the change of EGF-R was detected by immunohistochemistry. **Results** The prostate wet weight and PI increased in BPH model group; The prostate wet weight and PI decreased in all SI dose groups, and the levels of IGF-1, EGF, VEGF, and bFGF in serum and the expression of EGF-R in prostatic epithelial tissue also decreased, compared to the model group. However, the level of TGF- $\beta$  increased significantly. The effect of 120 mg/kg SI group was the most potent. **Conclusion** SI has good inhibition on prostate hyperplasia and its mechanism may be related to reducing the levels of IGF-1, EGF, VEGF, and bFGF, raising the level of TGF- $\beta$ , and down-regulating the expression of EGF-R.

**Key words:** soybean isoflavone (SI); prostatic hyperplasia; IGF-1; EGF; VEGF; bFGF; TGF- $\beta$ ; EGF-R

良性前列腺增生 (benign prostatic hyperplasia, BPH) 是影响老年男性健康的常见病、多发病,近年来国内 BPH 发病率大幅度增长。其发病机制比较复杂,目前研究多集中在间质-上皮细胞相互作用中,生长因子与其特异性受体结合后,在前列腺细胞生长、分化、增殖以及死亡中所起的关键性作用。最近研究发现组织及血清中血管内皮生长因子 (VEGF) 等生长因子水平与 BPH 的发生密切相关<sup>[1]</sup>。由于天然产物作用比较温和,不良反应较小,适合长期服用,在治疗 BPH 中发挥重要作用<sup>[2]</sup>。流行病学资料表明,以往西方国家前列腺癌与 BPH 的发病率明显高于某些亚洲国家,其中一个重要原因就在于东方国家的膳食结构中大豆及其制品占有较大的比重<sup>[3]</sup>。大豆异黄酮 (soybean isoflavone, SI) 是存在于大豆及其制品中的一类多酚类化合物,由染料木黄酮等 12 种单体组成,具有雌激素样等多种生物学活性,在预防和治疗心血管疾病<sup>[4]</sup>、骨质疏松、肿瘤和老年性痴呆等方面的作用受到广泛重视<sup>[5]</sup>。本实验旨在研究大豆异黄酮对睾酮诱导前列腺增生大鼠模型的抑制作用,并探讨其生长因子调控的可能机制。

### 1 材料与方法

1.1 实验动物: SPF 级健康成年 SD 雄性大鼠 80 只 (体质量 200~220 g), 购于中国科学院上海实验动物中心, 实验动物生产许可证号: SCXK (沪) 2007-0005; 屏障环境饲养, 实验动物屏障环境使用许可证号: SYXK (湘) 2005-0005。实验期间大鼠

喂食无大豆饲料。

1.2 药品: 大豆异黄酮 (质量分数 40%, 含染料木苷 32%、染料木黄酮 0.6%), 由山东三维长润生物有限公司提供。丙酸睾酮注射液, 上海通用药业股份有限公司提供。

1.3 试剂: 胰岛素样生长因子-1 (IGF-1)、VEGF、表皮生长因子 (EGF)、碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF)、转化生长因子 (TGF- $\beta$ ) 酶联免疫试剂盒, 美国赛默飞世尔公司。兔抗鼠 EGF-R 一抗, 北京博奥森公司; 二抗为生物素化山羊抗兔 IgG, SP 试剂盒及 AP-BCIP/NBT 显色剂, 北京中杉金桥公司。

1.4 仪器: MK3 型酶标仪, 美国赛默飞世尔公司; E02140 型电子天平, 瑞士 Ohaus 公司; TDL-5-1 A 型台式离心机, 上海安亭科学仪器厂; MC-80 DX 型显微摄影仪, 德国 Zeiss 公司。

1.5 模型制备与药物处理: SD 大鼠按体质量随机分为 5 组, 对照组、模型组和大豆异黄酮 (60、120、240 mg/kg) 组。对照组注射麻油, 其余 4 组大鼠腹部 sc 丙酸睾酮 3 mg/(kg·d)。连续注射 1 周。1 周后大豆异黄酮各组分别 ig 给药, 对照组和模型组 ig 0.5% 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na), 连续 28 d。末次给药后 24 h, 大鼠称体质量, 颈椎脱臼处死大鼠, 取出前列腺, 用电子天平称取前列腺湿质量后, 计算前列腺指数 [前列腺湿质量(mg)/体质量(g)]。右侧前列腺腹叶用中性福尔马林固定 24 h, 石蜡包埋连续切片, 用于免疫组化检测, 北航 CMIAS 多功能真彩色病理图像分析管理系统进行图像采集。

1.6 细胞生长因子测定: 实验期满大鼠禁食 12 h 后, 腹主动脉插管取空腹血 3 mL, 静置 3~4 h, 4 °C、3 000 r/min 离心 10 min, 分离血清, -20 °C 保存待测。严格按照 ELISA 试剂盒说明书方法, 分别测定血清 IGF-1、EGF、VEGF、bFGF 和 TGF-β 水平。

1.7 免疫组化法检测 EGF-R 阳性表达: 切片常规脱蜡入水, 0.1 mol/L PBS 洗涤。滴加 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 室温封闭 5~10 min, 蒸馏水洗涤。微波修复抗原, PBS 洗涤。正常山羊血清室温封闭 20 min, 滴加 1:500 稀释的兔抗鼠 EGF-R 一抗, 4 °C 孵育过夜。PBS 洗涤后滴加生物素化二抗, 室温孵育 15 min, 洗涤。滴加 HRP 标记的链霉卵白素工作液, 室温孵育 20 min。PBS 洗涤。AP-BCIP/NBT 显色液镜下显色, 蒸馏水冲洗终止。核固红复染 2 min, 盐酸乙醇分化, 常规脱水、透明、封片。光学显微镜下观察、摄片。PBS 代替一抗作为阴性对照, 用 EGF-R 阳性片(乳腺癌)作为 EGF-R 阳性对照。结果判定: EGF-R 蛋白表达以阳性细胞数 < 10% 为阴性(-); 阳性细胞数 10%~30% 为阳性(+); 阳性细胞数 30%~70% 为阳性(++), 阳性细胞数 > 70% 为阳性(+++)。

1.8 统计分析: 采用 SPSS 11.5 统计软件包建立数据库, 定量指标以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多个样本均数的比较采用 ANOVA 检验, 两两比较均采用 LSD 检验及卡方检验 Fisher 精确概率法。

2 结果

2.1 对 BPH 大鼠前列腺湿质量及前列腺指数的影响: 由表 1 可见, 与对照组相比, 模型组大鼠前列腺湿质量、前列腺指数均显著增加 ( $P < 0.001$ ); 大豆异黄酮低、中、高剂量组大鼠前列腺湿质量、前列腺指数均显著低于模型组 ( $P < 0.01, 0.001$ ); 大豆异黄酮中剂量组前列腺湿质量、前列腺指数显著低于大豆异黄酮低剂量组 ( $P < 0.01$ ), 与对照组无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

表 2 大豆异黄酮对前列腺增生大鼠血清 IGF-1、EGF、VEGF、bFGF 和 TGF-β 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 16$ )

Table 2 Effects of SI on levels of IGF-1, EGF, VEGF, bFGF, and TGF-β in serum of BPH rats ( $\bar{x} \pm s, n = 16$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	IGF-1/(pg·mL <sup>-1</sup> )	EGF/(pg·mL <sup>-1</sup> )	VEGF/(pg·mL <sup>-1</sup> )	bFGF/(pg·mL <sup>-1</sup> )	TGF-β/(pg·mL <sup>-1</sup> )
对照	-	192.1 ± 16.5	278.7 ± 43.1	211.2 ± 35.7	56.0 ± 9.8	273.8 ± 29.9
模型	-	489.9 ± 47.9 <sup>***</sup>	433.0 ± 42.3 <sup>***</sup>	359.2 ± 37.8 <sup>***</sup>	125.6 ± 13.4 <sup>***</sup>	144.3 ± 23.1 <sup>***</sup>
大豆异黄酮	60	356.3 ± 18.3 <sup>***</sup> △△△	359.0 ± 27.6 <sup>***</sup> △△△	290.1 ± 29.8 <sup>***</sup> △△△	86.0 ± 12.4 <sup>***</sup> △△△	189.9 ± 23.1 <sup>***</sup> △△△
	120	244.4 ± 14.4 <sup>**</sup> △△△	281.5 ± 31.2△△△	230.8 ± 30.8△△△	59.1 ± 5.9△△△	269.9 ± 27.1△△△
	240	297.0 ± 23.4 <sup>**</sup> △△△	319.0 ± 25.4 <sup>*</sup> △△△	231.8 ± 38.9△△△	72.2 ± 8.1 <sup>*</sup> △△△	226.1 ± 17.4 <sup>*</sup> △△△

与对照组比较: \*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$  \*\*\*  $P < 0.001$ ; 与模型组比较: △△△  $P < 0.001$

\*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$  \*\*\*  $P < 0.001$  vs control group; △△△  $P < 0.001$  vs model group

表 1 大豆异黄酮对前列腺增生大鼠前列腺指数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 16$ )

Table 1 Effects of SI on PI of BPH rats ( $\bar{x} \pm s, n = 16$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	前列腺湿质量/mg	前列腺指数/(mg·g <sup>-1</sup> )
对照	-	633.4 ± 76.6	1.44 ± 0.16
模型	-	882.0 ± 44.7 <sup>***</sup>	2.12 ± 0.11 <sup>***</sup>
大豆异黄酮	60	791.8 ± 53.7 <sup>***</sup> △△	1.80 ± 0.08 <sup>***</sup> △△△
	120	655.4 ± 40.9△△△	1.54 ± 0.06△△△
	240	762.5 ± 75.7 <sup>***</sup> △△△	1.75 ± 0.13 <sup>***</sup> △△△

与对照组比较: \*\*\*  $P < 0.001$

与模型组比较: △△  $P < 0.01$  △△△  $P < 0.001$

\*\*\*  $P < 0.001$  vs control group

△△  $P < 0.01$  △△△  $P < 0.001$  vs model group

2.2 对 BPH 大鼠血清 IGF-1、EGF、VEGF、bFGF 和 TGF-β 水平的影响: 由表 2 可见, 模型组大鼠血清 IGF-1、EGF、VEGF 和 bFGF 水平显著高于对照组 ( $P < 0.001$ ), TGF-β 水平显著低于对照组 ( $P < 0.001$ ); 大豆异黄酮低、中、高剂量组血清 IGF-1、EGF、VEGF 和 bFGF 水平显著低于模型组 ( $P < 0.001$ ), TGF-β 水平显著高于模型组 ( $P < 0.001$ ); 大豆异黄酮中剂量组血清 IGF-1、EGF、VEGF 和 bFGF 水平最低, 而 TGF-β 水平最高 ( $P < 0.001$ )。

2.3 对 BPH 大鼠前列腺上皮组织 EGF-R 表达的影响: 经免疫组化染色后, EGF-R 在前列腺上皮组织中染色呈蓝紫色或蓝黑色(图 1)。由表 3 可见, 模型组 EGF-R 阳性表达显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ); 大豆异黄酮中、高剂量组 EGF-R 表达较模型组显著降低 ( $P < 0.05$ )。

3 讨论

本实验中大豆异黄酮可以使睾酮诱导大鼠前列腺增生的程度减轻, 且存在剂量-效应关系。研究显示, BPH 患者血清中大豆异黄酮的浓度要低于正常对照, 轻度 BPH 患者血清中大豆异黄酮的浓度高于重度 BPH 患者<sup>[6]</sup>。在本实验所采用的大豆异黄酮剂量范围内, 120 mg/kg 大豆异黄酮组大鼠前列腺湿质量及前列腺指数已接近对照组水平, 抑制大

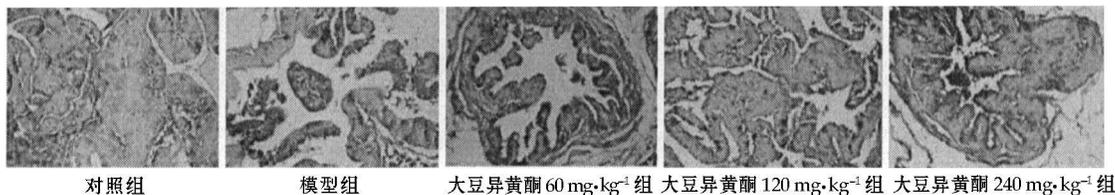


图 1 各组前列腺上皮组织 EGFR 免疫组化染色结果

Fig. 1 Immunohistochemistry micrographs of EGFR in prostatic epithelial tissue of rats in every group

表 3 大豆异黄酮对前列腺增生大鼠前列腺上皮组织 EGFR 阳性表达的影响

Table 3 Effects of SI on positive expression of EGFR in prostatic epithelial tissue of BPH rats

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	动物 只	EGFR 表达			
			-	+	++	+++
对照	-	16	9	6	1	0
模型	-	16	0	5	5	6
大豆异黄酮	60	16	0	9	3	4
	120	16	2	12	2	0
	240	16	1	8	5	2

鼠前列腺增生作用最为显著。

雄激素是调节前列腺生长的最重要激素,也是一个重要致病因素。而雌激素在 BPH 的发生中也起重要作用,既可增加前列腺对雄激素的敏感性来调控雄激素的活性,也可通过刺激垂体释放催乳素直接作用于前列腺使其增殖。研究证实,生长因子与前列腺的细胞生长、生长阻滞及细胞死亡有直接关系,与雄激素的作用机制、间质-上皮的相互作用机制亦有关系。研究发现 IGF-1 对于老年男性前列腺细胞的增生具有促进作用<sup>7)</sup>,而 EGF 可促进大鼠前列腺中雌激素受体的表达<sup>8)</sup>。在本研究中,模型组大鼠血清 IGF-1、EGF 及 bFGF 水平显著高于各剂量组,这表明大豆异黄酮可能通过其雌激素样作用,减少 IGF-1、EGF 及 bFGF 的分泌,从而抑制前列腺细胞的增殖。同时,研究发现大豆异黄酮可抑制人体卵巢黄素化颗粒细胞芳香酶的活性<sup>9)</sup>,而一定剂量的 IGF-1 可抑制黄素化颗粒细胞的凋亡<sup>10)</sup>,这表明大豆异黄酮也可通过其芳香酶抑制剂的作用来减少雌二醇(E<sub>2</sub>)的合成。另外,大豆异黄酮还可下调人雌激素依赖型乳腺癌 MCF-7 细胞 EGFR 的表达<sup>11)</sup>。

VEGF 是血管内皮细胞增殖过程中一个主要的正性调节因子<sup>12)</sup>。VEGF 与其受体相结合后可产生多种生物学功能,如促进内皮细胞增殖、增强血管通透性等,从而促进血管增生。新近研究发现 VEGF 能通过促进人端粒酶逆转录酶(hTERT)的表达从而促进前列腺细胞的增殖<sup>13)</sup>。在本实验中,

大豆异黄酮组大鼠血清 VEGF 水平显著低于模型组,其机制可能是大豆异黄酮通过减少 VEGF 的生成量从而降低 hTERT 的表达。此外, Jagadeesh 等<sup>14)</sup>研究发现大豆异黄酮具有雌激素样作用,能够活化雌激素受体作用通路(PI3K/Akt 通路),从而降低 hTERT 的活性,因此大豆异黄酮还可能具有 hTERT 拮抗剂的作用。

已有实验证明 TGF-β 能够抑制上皮细胞和内皮细胞的生长,诱导细胞凋亡,并且能促进 bFGF 的酶解,加速从血液循环中排出。Xu 等<sup>15)</sup>发现大豆异黄酮可以调节上皮细胞中 TGF-β 的量,而本实验也发现大豆异黄酮能够使大鼠血清中 TGF-β 的量升高,从而减轻前列腺增生的程度。

综上所述,大豆异黄酮可能是发挥其雌激素样作用来调节细胞因子的分泌,降低血清 IGF-1、EGF、VEGF 和 bFGF 水平,提高血清 TGF-β 水平,下调 EGFR 表达,从而达到抑制前列腺增生的作用,但其他生长因子如角化细胞生长因子(KGF)、神经生长因子(NGF)、血小板源生长因子(PDGF)等的作用如何及其受体表达的调控方面,尚待进一步研究。

参考文献:

- 1) Sum H, Li T J, Sun L N, et al. Inhibitory effect of traditional Chinese medicine Zi Shen Pill on benign prostatic hyperplasia in rats. *J. J Ethnopharmacol*, 2008, 115 (2): 203-208
- 2) 杨必成, 杨义芳. 治疗良性前列腺增生的天然药物研究进展. *中草药*, 2009, 40(12): 2000-2005
- 3) Horn Ross P L, Bames S, Lee M, et al. Assessing phytoestrogen exposure in epidemiologic studies: development of a data base. *J. Cancer Causes Control*, 2000, 11 (4): 289-298
- 4) 周俐, 刘建新, 周青, 等. 大豆异黄酮对大鼠心肌肥厚与纤维化的保护作用. *中草药*, 2007, 38 (11): 1673-1676
- 5) 毛峻琴, 宓鹤鸣. 大豆异黄酮的研究进展. *中草药*, 2000, 31(1): 61-64.
- 6) Brossner C, Petritsch K, Fink K, et al. Phytoestrogen tissue levels in benign prostatic hyperplasia and prostate cancer and their association with prostatic diseases. *J. Urology*, 2004, 64(4): 707-711.
- 7) Garcia F U, Urbanska K, Koltowski L, et al. Insulin-like growth factor-I produced by seminal vesicles: relationship to intraepithelial basal cell hyperplasia in the prostate. *J. Clin Cancer Res*, 2007, 13(11): 3140-3146

- 8] 贾彬, 汤泓, 黎玮, 等. 表皮生长因子对小鼠前列腺细胞雌激素受体表达的影响 [J]. 南方医科大学学报, 2006, 26(10): 1473-1475
- 9] Rice S, Mason H D, Whitehead S A. Phytoestrogens and their low dose combinations inhibit mRNA expression and activity of aromatase in human granulosa-luteal cells [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2006, 101(4-5): 216-225
- 10] Bencomo E, Pérez R, Arteaga M F, et al. Apoptosis of cultured granulosa-luteal cells is reduced by insulin-like growth factor I and may correlate with embryo fragmentation and pregnancy rate [J]. *Fertil Steril*, 2006, 85(2): 474-480
- 11] Mai Z, Blackburn G L, Zhou J R. Soy phytochemicals synergistically enhance the preventive effect of tamoxifen on the growth of estrogen-dependent human breast carcinoma in mice [J]. *Carcinogenesis*, 2007, 28(6): 1217-1223
- 12] Qian Y Y, Liu Y Q. Inhibition of *Celastrus orbiculatus* extracts on VEGF expression in hepatoma cells of mice [J]. *Chin Herb Med*, 2010, 2(1): 72-76
- 13] Tang J, Wang Z, Li X, et al. Human telomerase reverse transcriptase expression correlates with vascular endothelial growth factor-promoted tumor cell proliferation in prostate cancer [J]. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol*, 2008, 36(2): 83-93.
- 14] Jagadeesh S, Kyo S, Banerjee P P. Genistein represses telomerase activity via both transcriptional and posttranslational mechanisms in human prostate cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(4): 2107-2115
- 15] Xu J W, Yasui N, Ikeda K, et al. Isoflavones regulate secretion of leukemia inhibitory factor and transforming growth factor (beta) and expression of glycodelin in human endometrial epithelia cells [J]. *J Endocrinol*, 2008, 196(2): 425-433

## 枸杞多糖对人肝癌细胞 HepG2 生长的影响及其分子机制

黄霞, 肖丙秀\*, 赵军伟, 毛芳, 姚吉, 郭俊明  
(宁波大学医学院, 浙江宁波 315211)

**摘要:**目的 探讨枸杞多糖 (*Lycium barbarum* polysaccharides, LBP) 对人肝癌细胞 HepG2 生长的影响及可能机制。方法 人肝癌 HepG2 细胞用 100~1 000 mg/L LBP 处理 1~5 d, 分别用 MTT 方法、流式细胞术检测细胞增殖、细胞周期和细胞凋亡。用 Western blotting 分析周期蛋白 (cyclin) 和周期蛋白依赖性激酶 (cyclin-dependent kinase, CDK) 表达的变化。结果 LBP 以质量浓度依赖方式抑制肝癌细胞的生长, 阻滞细胞在 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期, 并诱导细胞凋亡; 其分子机制为引起 cyclin D、cyclin E 和 CDK2 蛋白表达下降。结论 LBP 抑制人肝癌细胞 HepG2 增殖的机制包括阻滞细胞周期和诱导细胞凋亡。

**关键词:** 枸杞多糖; 肝癌细胞; 细胞增殖; 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(2010)09-1501-03

枸杞 *Lycium barbarum* L. 是我国传统的滋补中药, 它含有多种营养成分和微量元素, 具有滋补肝肾、益精明目、促进造血、调血脂等功效。枸杞多糖 (*Lycium barbarum* polysaccharides, LBP) 是枸杞中主要的生物活性成分, 具有广泛的药理作用, 如增强机体免疫力、延缓衰老等<sup>[1]</sup>。近几年研究表明, LBP 可抑制人肺癌<sup>[2]</sup>、宫颈癌<sup>[3]</sup>、前列腺癌<sup>[4]</sup> 和白血病<sup>[5]</sup> 等多种肿瘤细胞的生长。肝癌是我国常见的肿瘤, 但 LBP 能否抑制肝癌细胞生长及其可能机制, 尚未完全阐明。本研究主要探讨 LBP 对人肝癌细胞 HepG2 生长的影响及其机制, 为 LBP 临床应用提供依据。

### 1 材料与方法

1.1 材料: LBP 购自上海融禾医药科技发展有限公司<sup>[6]</sup>, MTT 购自美国 Sigma 公司, RPMI 1640 培

养液购自美国生命技术公司, 人肝癌 HepG2 细胞购于中国科学院上海生命科学研究院细胞库, 细胞周期和细胞凋亡检测试剂盒购自美国 BD 公司。

1.2 细胞培养: HepG2 细胞在 37 °C、含 5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养, RPMI 1640 培养液含有 10% 小牛血清、50 U/mL 青霉素和 50 μg/mL 链霉素。选择对数生长期细胞用于实验, 细胞分别用 100、200、400、800、1 000 mg/L LBP 处理<sup>[6]</sup>, 对照组为不含 LBP 的培养液。

1.3 MTT 法测定细胞生长情况: 以每孔 1.5 × 10<sup>4</sup> 个将细胞接种入 96 孔板, 24 h 后分别加入不同质量浓度的 LBP 处理 1~5 d, 每个质量浓度设 8 个平行孔。待处理时间达到要求时, 将 15 μL MTT (5 mg/mL) 加入到培养孔中继续培养 4 h, 再小心加入 150 μL 二甲基亚砷 (DMSO)。水平摇床震荡

\* 收稿日期: 2009-11-15

基金项目: 宁波大学大学生科研创新计划 (SRIP-2009); 宁波大学创新性开放实验建设项目 (Cxxkf2008-066)

作者简介: 黄霞 (1987-), 女, 四川人, 本科生, 主要从事抗癌药物研究。Tel: (0574) 87600759 E-mail: xiaobingxiu@nbu.edu.cn

\* 通讯作者 肖丙秀