

纳米山药多糖对 4 种肿瘤细胞的作用

石亿心, 于莲*, 翟美芳, 苏瑾, 孙维彤, 李守君, 马淑霞(佳木斯大学药学院 黑龙江省高校生物药制剂重点实验室, 黑龙江 佳木斯 154007)

摘要: 目的 研究纳米山药多糖的抗肿瘤活性, 并对其作用机制进行探究。方法 细胞增殖/毒性检测试剂盒(CCK-8 试剂盒)测定各给药组对肿瘤细胞抑制率的影响; Western blotting 检测不同给药组给药 48 h 后对 4 种肿瘤细胞凋亡相关蛋白 caspase-3、caspase-8 表达情况的影响; 细胞划痕实验检测各给药组对肿瘤细胞迁移能力的影响。结果 CCK-8 实验表明, 与对照组相比, 纳米山药多糖高剂量组(80 ng·mL⁻¹)、氟尿嘧啶组(80 ng·mL⁻¹)能够明显抑制肿瘤细胞增殖($P < 0.05$); Western blotting 实验显示纳米山药多糖高剂量组(80 ng·mL⁻¹)与氟尿嘧啶组(80 ng·mL⁻¹)肿瘤细胞凋亡蛋白 caspase-3、caspase-8 条带灰度降低, 蛋白含量表达与对照组比较明显减少($P < 0.05$); 细胞划痕实验表明纳米山药多糖作用于 4 种肿瘤细胞 48 h 后, 细胞愈合率均有不同程度的下降($P < 0.05$)。结论 纳米山药多糖剂量的升高, 促进肿瘤细胞凋亡蛋白 caspase-3 和 caspase-8 蛋白酶原的活化, 酶原降解增多, 抑制肿瘤细胞生长, 促进肿瘤细胞凋亡, 降低细胞划痕愈合率, 具有抗肿瘤活性。

关键词: 抗肿瘤; 纳米山药多糖; CCK-8; Western blotting; 细胞划痕实验

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2016)08-0967-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.08.001

Effect of Nano Chinese Yam Polysaccharide on 4 Kinds of Tumor Cells

SHI Yixin, YU Lian*, ZHAI Meifang, SU Jin, SUN Weitong, LI Shoujun, MA Shuxia(Provincial Key Lab of Biological Medicine Preparation, College of Pharmacy, Jiamusi University, Jiamusi 154007, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study anti-tumor activity of nano chinese yam polysaccharide and to explore the mechanism of its action. **METHODS** Cell proliferation/toxicity detection kit(CCK-8 kit) was used to determine inhibition rate to tumor cells of each drug administration group; Western blotting was used to test the effect of each drug administration group on the expression of tumor cell apoptosis related protein caspase-3, caspase-8 after 48 h. Effect of each drug administration group on the ability of tumor cell migration was tested by tumor cell scratch experiment. **RESULTS** CCK-8 experiment showed that compared with normal control group, high dose group of nano chinese yam polysaccharide(80 ng·mL⁻¹) and fluorouracil group(80 ng·mL⁻¹) could obviously inhibit tumor cell proliferation($P < 0.05$); Western blotting experiment showed that the tumor cell apoptosis protein caspase-3, caspase-8 of nano chinese yam polysaccharide group(80 ng·mL⁻¹) and fluorouracil group(80 ng·mL⁻¹) had lower band grayscale, protein expression were significantly increased compared with the normal group ($P < 0.05$); Cell scratch experiment showed that healing rate of 4 kinds of tumor cells treated with nano chinese yam polysaccharide all had varying degrees of decline($P < 0.05$) after 48 h. **CONCLUSION** The increase of the dosage of nano chinese yam polysaccharide can promote the original tumor cell apoptosis caspase-3 and caspase-8 protease activation, increase the degradation of zymogen, inhibit the growth of tumor cells, promote tumor cell apoptosis and reduce cell scratch healing rate, nano chinese yam polysaccharide has anti-tumor activity.

KEY WORDS: anti-tumor; nano chinese yam polysaccharide; CCK-8; Western blotting; cell scratch experiment

山药为薯蓣科植物薯蓣(*Dioscorea opposita* Thunb.)的根茎, 性平、味甘, 有健脾除湿、补气益肾等功效^[1]。研究发现山药活性成分包括多糖、糖蛋白、尿囊素、皂苷等, 具有抗肿瘤、降血糖、降血脂、抗氧化、抗衰老等功效, 近年来山药多

糖作为抗肿瘤活性物质深受人们青睐^[2-5]。细胞凋亡是机体正常细胞在受到生理性或病理性刺激后自发的死亡过程, 是一种主动的、信号依赖的、基因控制的、一系列酶参与的过程, 亦可称为“自杀”^[6]。细胞凋亡途径的抗肿瘤药物是通过诱导细

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81274101)

作者简介: 石亿心, 女, 硕士生 Tel: 15946562476
E-mail: jdyulian@163.com

E-mail: 364825560@qq.com

*通信作者: 于莲, 女, 硕导, 教授 Tel: 13845405552

胞凋亡蛋白表达,促使肿瘤细胞凋亡,进而达到抑制肿瘤细胞生长的目的。本实验通过检测凋亡蛋白 caspase-3、caspase-8 含量的表达,初步探讨纳米山药多糖体外诱导肿瘤细胞凋亡机制,为研发抗肿瘤天然药物提供实验依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

3100 型 CO₂ 恒温培养箱(美国 Thermo 公司); MK3 型全自动酶标仪(赛默飞世尔公司); A1130232 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司); DW-HL388 型超低温冷冻储存箱(中科美菱低温有限责任公司); LS-C50L 型高压蒸汽灭菌锅(江阴滨江医疗设备有限责任公司); TDZ4-WS 台式低速离心机(湖南相宜实验室开发有限公司); EPS-100 型电泳仪(Tanon 公司); VE-186 转移电泳槽(Tanon 公司)。

1.2 药品与试剂

山药多糖(陕西慈缘生物技术有限公司,批号:CY150330,纯度:95%); 氟尿嘧啶注射液(上海旭东海普药业有限公司,规格:10 mL:0.25 mg,批号:150318); CCK-8 试剂盒(上海贝博生物公司,批号:150220); 无水乙醇(AR 天津市科密欧化学试剂有限公司); 澳洲胎牛血清(北京智杰方远科技有限公司); RPMI-1640 培养基(赛默飞世尔生物化学制品有限公司); 青霉素-链霉素(中国医学科学院生物医学工程研究所); PBS(赛默飞世尔生物化学制品有限公司); 胰酶细胞消化液(江苏恩莫阿赛生物技术有限公司); DMSO(天津索罗门生物科技有限公司); 96 孔板(美国康宁公司); 小鼠抗人 GAPDH 抗体、caspase-3 与 caspase-8 兔抗人一抗、鼠抗兔二抗均购自 proteintech 公司。

1.3 细胞

人肝癌 HepG2 细胞、人胃癌 SGC7901 细胞、人宫颈癌 HeLa 细胞、人前列腺癌 DU145 细胞均由中国医科大学基础医学研究所提供。

2 方法

2.1 CCK-8 法检测纳米山药多糖对肿瘤细胞的抑制作用

取对数生长的正常人肝癌 HepG2 细胞、人胃癌 SGC7901 细胞、人宫颈癌 HeLa 细胞、人前列腺癌 DU145 细胞,经胰蛋白酶消化细胞,用 10%FBS 培养液吹打均匀,使用细胞计数板在倒置显微镜下调整细胞浓度至 $2 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$,每孔 200 μL ,接

种于 96 孔培养板中,置于培养箱中 24 h。待细胞贴壁后,倾去培养液,更换无血清培养液饥饿处理细胞 12 h,待细胞适应无血清环境后再将培养液倾出,更换无血清含药培养基。将细胞分为对照组(常规培养液)、山药多糖组($80 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)、纳米山药多糖低剂量组($8 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)、纳米山药多糖高剂量组($80 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)、氟尿嘧啶组($80 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$),每孔 100 μL ,每组设 3 个复孔,边缘孔用 PBS 填充。放回 37 $^{\circ}\text{C}$,5%CO₂ 的培养箱中孵育,48 h 后取出培养板,每孔加入 CCK-8 试剂 10 μL ,放入培养箱中继续孵育 1 h。以正常孔调零,使用酶联免疫检测仪 450 nm 波长处检测其吸光度值(A 值);计算不同给药组对 4 种肿瘤细胞的抑制率。

肿瘤细胞抑制率计算公式:

$$\text{肿瘤细胞抑制率}(\%) = \frac{\text{正常对照组 } A \text{ 值} - \text{实验组 } A \text{ 值}}{\text{正常对照组 } A \text{ 值}} \times 100\%$$

2.2 Western blotting 检测纳米山药多糖对肿瘤细胞凋亡蛋白 caspase-3 及 caspase-8 表达的影响

取对数生长期 4 种肿瘤细胞,用含 10%FBS 的 RPMI-1640 培养液调整细胞浓度为 $3 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$,放回 37 $^{\circ}\text{C}$,5%CO₂ 的培养箱中孵育,24 h 后取出,实验分为对照组(正常培养基)、山药多糖组($80 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)、纳米山药多糖低剂量组($8 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)、纳米山药多糖高剂量组($80 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)、氟尿嘧啶溶液($80 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)给药 48 h 后,实验各组加入细胞裂解液 100 μL ,用细胞刮刮取细胞后转移到 1.5 mL 离心管中,1 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,PBS 再洗 2 次。加入 150 μL 新鲜配置的细胞裂解液放在冰上裂解 30 min。4 $^{\circ}\text{C}$ 离心机 10 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min。BCA 试剂盒测定各实验组的蛋白浓度,每孔加入 20 μL 蛋白上样缓冲液后,加入 12%分离胶和 5%的浓缩胶,进行 SDS-PAGE 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,湿转至 PVDF 膜上,PVDF 膜用 1:2 000 的兔抗人 caspase-3 或者 1:4 000 的兔抗人 caspase-8 的一抗,4 $^{\circ}\text{C}$ 封闭过夜。加入 1:10 000 的鼠抗兔二抗 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h,TBST 缓冲液洗涤 3 次,每次 5 min。加入 ECL 显色剂避光显色后进入暗室用胶片曝光,经显影液和定影液处理后比较各条带。实验中以鼠抗人 β -actin 抗体作为一抗进行 Western blotting 检测,作为判断结果的内参照。显影后根据 Western blotting 彩色标准电泳指示条带(marker)中位置来分析各电泳条带的性质。使用 Image J 软件对各组的条带灰度值进行处理分析,目的条带与内参照条带灰度比值代表目的蛋白的

表达水平。

2.3 划痕实验检测纳米山药多糖对肿瘤细胞的迁移能力的影响

取对数生长期的无血清处理 24 h 的 4 种肿瘤细胞, 用含 10%FBS 的 RPMI-1640 培养液调整细胞浓度为 $5 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$, 接种于 6 孔板中, 放回 37°C , 5% CO_2 的培养箱中孵, 待肿瘤细胞生长 90% 融合时, 取出 6 孔板, 用记号笔在 6 孔板背后, 均匀划宽约 2 mm 横线, 大约每隔 1 cm 划 1 条直线, 横穿过孔, 每孔划 3 条线, 划痕过程中用 10 μL 枪头沿标记线笔直划下, 用 PBS 洗去漂浮细胞, 分别加入不含血清的培养基, 不含血清培养基溶解的山药多糖溶液、纳米山药多糖溶液, 不含血清培养基溶解的氟尿嘧啶溶液, 置于 5% CO_2 , 37°C 孵育箱中继续孵育, 0, 48 h 后分别置于倒置荧光显微镜下观察细胞的愈合程度。每株细胞设 3 个复孔, 实验重复 3 次, 显微镜下观察细胞愈合程度, 拍照记录, 比较纳米山药多糖对 4 种肿瘤细胞划痕愈合率。

肿瘤细胞划痕愈合率计算公式:

$$\text{划痕愈合率}/\% = \frac{0 \text{ h 划痕宽度} - 48 \text{ h 划痕宽度}}{0 \text{ h 划痕宽度}} \times 100\%$$

2.4 统计学方法

所有数据采用 SPSS 17.0 统计软件包进行数据分析处理, 图片采用 Image J 软件分析, 所得到的数值以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多个实验组均数之间比较采用 *t* 检验和方差分析, 以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 认为有统计学意义。

3 结果

3.1 CCK-8 法检测纳米山药多糖作用于肿瘤细胞 48 h 的抑制作用

CCK-8 实验结果显示, 各实验组作用于 4 种肿瘤细胞 48 h 后与对照组比较, 有不同程度的生长抑制作用, 与山药多糖比较, 纳米山药多糖高

剂量组、氟尿嘧啶组均对 4 种肿瘤细胞抑制率差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结果表明: 纳米山药多糖可以抑制肿瘤细胞生长。各实验组作用于 4 种肿瘤细胞 48 h 后抑制率结果见表 1。

3.2 Western blotting 检测纳米山药多糖对肿瘤细胞凋亡蛋白 caspase-3 及 caspase-8 表达的影响

Western blotting 结果显示, 纳米山药多糖与氟尿嘧啶作用于肿瘤细胞 48 h 后, 4 种肿瘤细胞中凋亡蛋白 caspase-3 和 caspase-8 含量均有明显变化。与对照组比较, 随着纳米山药多糖给药剂量的增加, 可以促进肿瘤细胞凋亡蛋白 caspase-3 和 caspase-8 蛋白酶原的活化, 酶原降解增多, caspase-3 和 caspase-8 蛋白条带灰度减弱, 凋亡蛋白表达降低。各实验组以 caspase-3/caspase-8 与 β -actin 灰度值的比值作为 caspase-3/caspase-8 蛋白相对表达量, 实验结果显示纳米山药多糖组和氟尿嘧啶组的 caspase-3/caspase-8 蛋白表达与对照组蛋白表达具有显著差异($P<0.05$)。肝癌 HepG2 细胞凋亡蛋白表达见图 1, 胃癌 SGC7901 细胞凋亡蛋白表达见图 2, 乳腺癌 Hela 细胞凋亡蛋白表达见图 3, 前列腺癌 DU145 细胞凋亡蛋白表达见图 4。

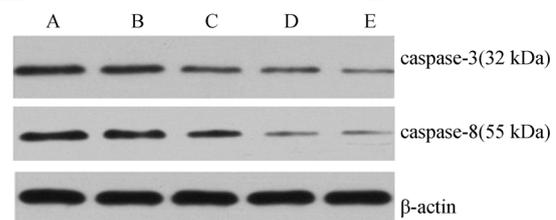


图 1 给药组对肝癌 Hepg2 细胞 48 h 后对凋亡蛋白 caspase-3/caspase-8 表达影响

A-对照组; B-山药多糖组; C-纳米山药多糖低剂量组; D-纳米山药多糖高剂量组; E-氟尿嘧啶组。

Fig. 1 Effect of administration groups on the expression of apoptosis caspase-3/caspase-8 in HepG2 cells after 48 h

A-control group; B-yam polysaccharide group; C-low dose group of nano Chinese yam polysaccharide; D-high dose group of nano Chinese yam polysaccharide; E-fluorouracil group.

表 1 各实验组加药 48 h 后对 4 种肿瘤细胞的抑制率($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Tab. 1 Inhibition rate of 4 kinds of tumor cells in each experimental group after 48 h ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	抑制率/%			
	HepG	SGC7901	Hela	DU145
对照组	0	0	0	0
山药多糖组	29.13±2.02	40.87±4.17	42.28±4.19	43.79±1.55
纳米山药多糖低剂量组	39.42±2.99 ¹⁾	52.38±2.10 ¹⁾	54.49±1.22 ¹⁾	55.81±1.73 ¹⁾
纳米山药多糖高剂量组	51.51±4.96 ¹⁾	63.39±1.89 ¹⁾	66.09±1.52 ¹⁾	66.13±1.61 ¹⁾
氟尿嘧啶组	63.98±4.05 ²⁾	74.35±5.09 ²⁾	79.01±1.77 ²⁾	78.76±2.77 ²⁾

注: 与山药多糖组比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ 。

Note: compared with yam polysaccharide group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$.

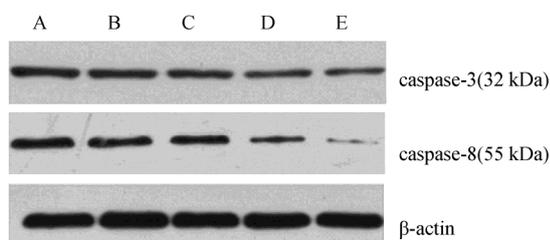


图2 给药组作用于胃癌 SGC7901 细胞 48 h 后对凋亡蛋白 caspase-3/caspase-8 表达影响

A-对照组; B-山药多糖组; C-纳米山药多糖低剂量组; D-纳米山药多糖高剂量组; E-氟尿嘧啶组。

Fig. 2 Effect of administration groups on the expression of apoptosis caspase-3/caspase-8 in SGC7901 cells after 48 h

A-control group; B-yam polysaccharide group; C-low dose group of nano Chinese yam polysaccharide; D-high dose group of nano Chinese yam polysaccharide; E-fluorouracil group.

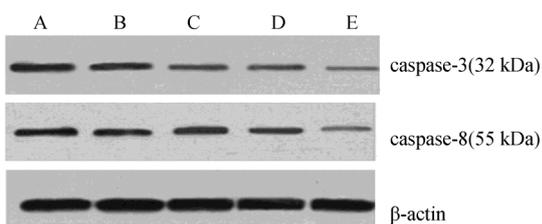


图3 给药组作用于乳腺癌 HeLa 细胞 48 h 后对凋亡蛋白 caspase-3/caspase-8 表达影响

A-对照组; B-山药多糖组; C-纳米山药多糖低剂量组; D-纳米山药多糖高剂量组; E-氟尿嘧啶组。

Fig. 3 Effect of administration groups on the expression of apoptosis caspase-3/caspase-8 in HeLa cells after 48 h

A-control group; B-yam polysaccharide group; C-low dose group of nano Chinese yam polysaccharide; D-high dose group of nano Chinese yam polysaccharide; E-fluorouracil group.

3.3 划痕实验检测纳米山药多糖对肿瘤细胞的迁移能力的影响

100 倍倒置荧光显微镜下观察肿瘤细胞愈合程度, 48 h 后, 纳米山药多糖组、氟尿嘧啶组对人肝癌 HepG2 细胞、胃癌 SGC7901 细胞、宫颈癌 HeLa 细胞、前列腺癌 DU145 细胞愈合率与对照组相比有统计学差异($P < 0.05$)。各实验组对 4 种肿瘤细胞愈合率见表 2。

表 2 各实验组作用于 4 种肿瘤细胞 48 h 后的细胞划痕愈合率

Tab. 2 Healing rate of four kinds of tumor cells in each experimental group after 48 h

组别	愈合率/%			
	HepG2	SGC7901	HeLa	DU145
对照组	76.77±0.70	73.63±2.82	72.96±1.43	74.76±2.52
山药多糖组	72.98±2.36	70.66±2.42	69.32±3.60	70.96±3.31
纳米山药多糖低剂量组	65.31±2.61 ¹⁾	63.26±0.61 ¹⁾	62.88±3.12 ¹⁾	63.98±2.49 ¹⁾
纳米山药多糖高剂量组	56.99±9.44 ²⁾	55.98±1.67 ²⁾	57.98±4.03 ²⁾	54.98±2.66 ²⁾
氟尿嘧啶组	54.77±2.31 ²⁾	52.94±3.28 ²⁾	47.94±4.91 ²⁾	50.96±1.41 ²⁾

注: 与对照组比较, ¹⁾ $P < 0.05$ 。

Note: compared with control group, ¹⁾ $P < 0.05$.

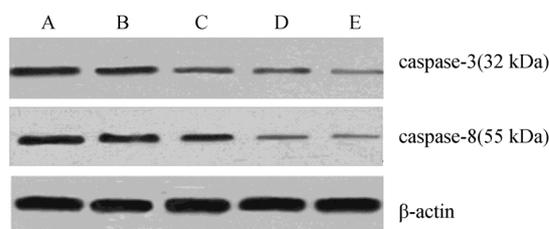


图4 给药组作用于前列腺 DU145 细胞 48 h 后对凋亡蛋白 caspase-3/caspase-8 表达影响

A-对照组; B-山药多糖组; C-纳米山药多糖低剂量组; D-纳米山药多糖高剂量组; E-氟尿嘧啶组。

Fig. 4 Effect of administration groups on the expression of apoptosis caspase-3/caspase-8 in DU145 cells after 48 h

A-control group; B-yam polysaccharide group; C-low dose group of nano Chinese yam polysaccharide; D-high dose group of nano Chinese yam polysaccharide; E-fluorouracil group.

4 讨论

恶性肿瘤亦称为癌症, 癌细胞生长不受限制, 无限制的侵入到人体的正常周围组织, 经过体液循环系统转移到人体的其他组织, 恶性肿瘤生长的部位会导致疼痛、出血、坏死、感染、人体消瘦、无力、发热等现象, 严重会导致脏器衰竭, 最终导致死亡^[7-11]。通过药物作用于肿瘤细胞, 促使肿瘤细胞蛋白凋亡, 是治疗肿瘤的一种有效手段, 细胞凋亡又称程序性细胞死亡, 是细胞的生理性自我毁灭过程^[12]。caspase 凋亡蛋白家族是细胞凋亡主要执行者, 启动型 caspase-8 主要介导由受体诱导的细胞凋亡; 效应型 caspase-3 介导的信号传递途径导致细胞凋亡^[13-14]。本实验研究表明纳米山药多糖有效地促进肿瘤细胞相关凋亡蛋白 caspase-3/caspase-8 活化, 酶原降解增多, 从而抑制肿瘤细胞生长, 进而达到抗肿瘤作用效果。CCK-8 法是一种检测细胞存活与生长的方法, CCK-8 被活细胞线粒体中的脱氢酶还原为甲瓩, 甲瓩的数量与活细胞的数量成正比^[15]。CCK-8 实验中高剂量的纳米山药多糖($80 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)具有明显的抑制肿瘤细胞生长作用。Western blotting 检测凋

亡蛋白结果显示, 纳米山药多糖高剂量组(80 ng·mL⁻¹)作用于4种肿瘤细胞48 h后, 明显促进凋亡蛋白 caspase-3/caspase-8 活化, 增多酶原降解, 进而达到抑制肿瘤细胞生长的目的。细胞划痕实验表明, 纳米山药多糖高剂量组(80 ng·mL⁻¹)作用于肿瘤细胞48 h后, 与对照组比较愈合率明显降低, 抑制肿瘤细胞生长现象明显。

综上, 本实验证明, 纳米山药多糖能明显抑制4种肿瘤细胞的增殖与生长, 其机制可能为促进启动型细胞凋亡蛋白 caspase-8 和效应型细胞凋亡蛋白 caspase-3 酶原活化, 进而细胞出现细胞皱缩、凋亡小体形成等一系列特征性的变化, 最终导致细胞裂解, 从而达到抗肿瘤活性目的。

REFERENCES

[1] 中国药典: 一部 [S]. 2010: 16.
[2] LI M. Overview on extractive techniques and pharmacological functions of active constituents in rhizoma dioscoreae [J]. Guangxi Agric Sci(南方农业学报), 2013, 44(7): 1184-1189.
[3] ZHANG H Y, ZHAO X M, CUI B A. Investigative progress of dioscorea root polycose [J]. J Henan Univ Chin Med(河南中医学报), 2008, 21(6): 87-88.
[4] 杨宏莉, 李少春, 张伟伟, 等. 山药多糖的药理作用[J]. 医学研究与教育, 2010, 27(3): 80.
[5] 苗明三. 怀山药多糖抗氧化作用研究[J]. 中国医药学报, 1997, 12(2): 22-23.

[6] LI B, ZHU X M, GAO M H, et al. Study on the molecular mechanism of C-phycoyanin from Spirulina platensis induced apoptosis in Hela cells [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2009, 25(8): 1045-1050.
[7] HUNDAL R, SHAFFER E A. Gallbladder cancer: epidemiology and outcome. [J]. Clin Epidemiol, 2014, 6(1): 99-109.
[8] THURNHER M, GRUENBACHER G, NUSSBAUMER O. Regulation of mevalonate metabolism in cancer and immune cells [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1831(6): 1009-1015.
[9] TANG L, HAN X. The urokinase plasminogen activator system in breast cancer invasion and metastasis [J]. Biomed Pharmacother, 2013, 67(2): 179-182.
[10] WEN X H, XUE H L, WANG C L, et al. Oncology clinical pharmacists participating in individualized treatment of cancer pain [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(7): 881-884.
[11] XU J, YU J M, LIU Y H, et al. Advances in active targeting drug delivery system for prostate cancer [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(9): 1143-1147.
[12] MAO D W, CHEN Y Q, WANG L, et al. Relationship of caspase-8 and caspase-3 to apoptosis [J]. J Liaoning Univ TCM(辽宁中医药大学报), 2008, 10(10): 148-150.
[13] HAN Y, GUAN D W, HOU Z H, et al. Caspase-8 and its advances in related studies [J]. Chin J Forensic Med(中国法医学杂志), 2006, 21(2): 94-96.
[14] ZHANG L. The studies to anti-tumor effect and its mechanisms of trichostatin on human colon cancer HCT-116 cell line *in vitro* [D]. Suzhou: Soochow University, 2011.
[15] ZHOU C. The studies of microRNA-339-5P/3p in colorectal cancer [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2013.

收稿日期: 2015-12-17

淫羊藿苷基于雌激素受体对糖皮质激素诱导的 MC3T3-E1 成骨抑制的影响

陈丹阳^{1a}, 林忠^{1c}, 潘牡丹², 孙渊^{1c}, 金慧^{1c}, 洪盾^{1b}, 朱敏^{1d}, 谢群莉^{1c}, 陈利华^{1d}, 陈海啸^{1b*} (1.温州医科大学附属台州医院, a.康复医学科, b.骨科, c.临床药学实验中心, d.公共实验平台, 浙江 台州 317000; 2.临海市第一人民医院肿瘤外科, 浙江 台州 317000)

摘要: 目的 研究淫羊藿苷(icariin, ICR)对雌性激素受体(estrogen receptor, ER)与地塞米松(dexamethasone, DEX)诱导的 MC3T3-E1 成骨抑制效应的影响。方法 分别以 DEX 10⁻⁵ mol·L⁻¹、ICR 10⁻⁶ mol·L⁻¹、雌激素(E2)10⁻⁸ mol·L⁻¹ 及 ICI182780(IN)10⁻⁵ mol·L⁻¹ 干预 MC3T3-E1 成熟分化过程, 并通过 real-time RT-PCR、Western blot、MTT 和茜素红染色法分别测定对应组各指标变化情况。结果 ICR 和 E2 一样能够明显提高成骨细胞 ALP、OPG、OC 和 Runx2 的表达, 并能够显著降低 RANKL 和 Dickkopf 的表达, 对应的 OPG 和 RANKL 蛋白的表达量与 mRNA 的表达量相一致。ALP 活性、细胞增殖能力以及 Ga²⁺ 结节数量与对照组相比也有明显提高。同时 ICR 和 E2 都能够有效回复 DEX 诱导的成骨抑制效应, 这种调节效应能够被 IN 有效的阻断。结论 ICR 具有促成骨细胞增殖分化和抑制破骨细胞激活效应, 并能够有效的

基金项目: 国家自然科学基金(31501147); 浙江省医药卫生科技计划项目(2015KYB436); 台州市科技基金(14SF03); 台州恩泽医疗中心科研基金(12EZD31); 浙江省台州恩泽医疗中心(集团)青蓝人才培养工程

作者简介: 陈丹阳, 男, 硕士生, 主治医师 Tel: (0576)85199592 E-mail: chendy@enzemed.com *通信作者: 陈海啸, 男, 博士, 教授, 主任医师, 博导 Tel: (0576)85199886 E-mail: chenhx@enzemed.com