

在聚合前溶液自组装中形成了稳定的复合物,非共价键的强弱直接影响了模板分子与功能单体之间形成了复合物的稳定性,进而影响了印迹聚合物对模板分子的印迹效应。因此在非共价印迹聚合物的制备过程中溶剂的选择至关重要,要尽量选择极性低,对非共价作用影响弱的有机溶剂,而强极性溶剂对静电作用、氢键作用等影响较大,在非共价印迹聚合物的制备过程中较少使用。实验中聚合物 MIP 4 对槲皮素结合量远小于聚合物 MIP 2 对槲皮素-Al<sup>3+</sup>的结合量,正是因为甲在甲醇强极性溶剂环境中,溶剂的强极性干扰或破坏槲皮素与 MAA 之间的氢键作用或静电作用。同时从图中也可以看出聚合物 MIP 4 对槲皮素和槲皮素-Al<sup>3+</sup>的结合量基本一致,这正是因为溶剂的极性影响了聚合物 MIP 4 模板分子槲皮素与功能单体之间的作用力,进而使其对槲皮素的吸附量减少。实验结果也进一步验证了金属配位键比氢键和范德华力等非共价作用力要强,且在水-醇体系中比较稳定,预组织性要比其他作用力要好。

### 3 结论

本实验以  $\alpha$ -甲基丙烯酸为功能单体、槲皮素-Al<sup>3+</sup>配合物为模板分子在甲醇中成功合成了金属配位键的印迹聚合物,并且通过紫外光谱、红外

光谱、透射电镜分析及吸附试验对聚合物进行了表征及性能的研究,结果表明槲皮素-Al(III)模板印迹聚合物对槲皮素-Al(III)的配合物表现出明显的吸附选择性和特异性,可望在分离、检测样品中的槲皮素方面具有较好的应用前景。

### REFERENCES

- [1] RAYNIE D E. Modern extraction techniques [J]. Anal Chem, 2006, 78(12): 3997-4004.
- [2] VIATKIS G, ANDERSSON L J MULLERR, et al. Drug assay using antibody mimics made by molecular imprinting [J]. Nature, 1993, 361(6413): 645-647
- [3] YANG C Y, XIONG Y, HE C, et al. Molecularly imprinted on-line solid-phase extraction combined with flow injection chemiluminescence for determination of chlortetracycline [J]. Chin J Appl Chem(应用化学), 2007, 24(3): 273-277.
- [4] LIU Z, HUAN S, JIANG G P. Progress in the application of MIPs [J]. Sci Technol Rev(科学导报), 2006, 24(1): 51-54.
- [5] YANG X L, LU J L, DONG Z B. Molecular imprinting technique and its application in separating and assaying functional components in tea [J]. J Tea(茶叶), 2008, 34(1): 15-18.
- [6] SHAN J J, WANG B. Preparation of quercetin-Cu(II) complex molecularly imprinted polymer and its binding characteristics [J]. Acta Polymer Sin(高分子学报), 2011, 22(1): 101-106.
- [7] FAN P M, WANG B. Molecular recognition characteristics of quercetin's metal-complexing imprinted polymer [J]. Chem J Chin Univ(高等学校化学学报), 2009, 30(12): 2514-2520.

收稿日期: 2013-03-20

## 替米沙坦对血管紧张素 II 诱导的血管内皮细胞氧化/还原失衡的保护作用

郑师明, 黄汉辉, 刘少志, 梁颖, 张欣, 严鹏科\* (广州医科大学附属第三医院药学部, 广州 510150)

**摘要:** 目的 探讨血管紧张素 II(Ang II)对血管内皮细胞氧化/还原平衡的影响及替米沙坦的保护作用。方法 人大动脉血管内皮细胞株接种于 35 mm 玻璃底细胞培养皿中,随机分成空白对照组、Ang II 模型组及 3 个浓度替米沙坦试验组(60, 300, 1 000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ),每组 42 例样本。测定不同取样时间点血管内皮细胞 SOD 活性和 MDA 含量。结果 血管内皮细胞受 Ang II 刺激后,细胞 MDA 含量瞬时激增, SOD 活性受到抑制,替米沙坦预处理过的血管内皮细胞能有效抵御 Ang II 诱发的氧化应激反应,提高 SOD 活性和抑制 MDA 含量的升高,并呈现替米沙坦剂量依赖性关系。结论 替米沙坦能够抑制 Ang II 诱导的细胞氧化应激反应,从多方面保护动脉血管。

**关键词:** 替米沙坦; 血管紧张素 II; 氧化应激反应

中图分类号: R965.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2014)01-0022-05

作者简介: 郑师明,女,主管药师 Tel: (020)81292235 E-mail: hzq\_zsm@126.com  
授, 硕导 Tel: (020)81292706 E-mail: Yanpk988@126.com

\*通信作者: 严鹏科,男,博士,主任药师,教

# Protective Effect of Telmisartan Against Oxidation-reduction Disequilibrium of Vascular Endothelial Cells Induced by Angiotensin II

ZHENG Shiming, HUANG Hanhui, LIU Shaozhi, LIANG Ying, ZHANG Xin, YAN Pengke\* (Department of Pharmacy, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510150, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To explore the effect of angiotensin II (Ang II) on oxidation-reduction equilibrium system of vascular endothelial cell and antagonism of telmisartan. **METHODS** After primary culture on 35 mm glass bottom cell culture dishes, the human vascular endothelial cells were randomly divided into 5 experimental groups which were blank control group, angiotensin II model group and three different concentration of telmisartan treatment groups (60, 300, 1 000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Each group contained 42 samples. The concentration of MDA and the activity of SOD in vascular endothelial cells were detected at different sampling time. **RESULTS** The concentration of MDA proliferated instantaneously and the activity of SOD was restrained after Ang II stimulation. The vascular endothelial cells after telmisartan pretreatment could significantly resist the oxidative stress induced by Ang II. Furthermore, the time-dosage dependent relationship existed in the protection of telmisartan. **CONCLUSION** Telmisartan can resist the oxidative stress induced by Ang II, provide protective effect for artery vessels.

**KEY WORDS:** telmisartan; angiotensin II; oxidative stress

目前认为, 血管内皮细胞(vascular endothelial cells)凋亡是动脉粥样硬化病变的独立危险因素<sup>[1]</sup>。异常升高的血管紧张素 II(angiotensin II, Ang II)可启动一系列的细胞凋亡信息转导过程<sup>[2-4]</sup>。替米沙坦(telmisartan)是新型的长效 Ang II 受体拮抗剂, 作为临床一线降压药被广泛应用, 其作用机制主要是与 AT<sub>1</sub> 受体结合, 阻断 Ang II 对 AT<sub>1</sub> 受体的激动作用。在临床应用中发现, 替米沙坦能通过抑制诱导血小板聚集反应的多种因子, 降低血液流体力学参数<sup>[5]</sup>, 从而改善血管内皮细胞内环境, 减少有害因素对内皮细胞的损伤; 另外, 替米沙坦能提高高血压、高脂血症患者的动脉弹性功能<sup>[6-8]</sup>。本试验通过给予血管内皮细胞不同浓度的替米沙坦预处理, 探讨 Ang II 对血管内皮细胞氧化/还原平衡的影响及替米沙坦的保护作用。

## 1 材料与试剂

### 1.1 材料

人大动脉血管内皮细胞株(PriCell 公司); 胎牛血清(美国 Hyclone 公司); PR-MI1640 培养基(美国 Hyclone 公司); Ang II(Sigma 公司, 批号: S02001300); 替米沙坦(森瑞化工有限公司, 分析纯, 批号: 010600160); 超氧化物歧化酶(SOD)以及微量丙二醛(MDA)测定试剂盒(军事医学科学院, 批号分别为 20100107 和 091117)。

### 1.2 药品配制

Ang II 工作液配制: 精密称取适量的 Ang II, 用 DMEN 培养液溶解, 配制成 Ang II 含量为  $2 \times 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的工作液。用时以 DMEN 细胞培养液调节终末浓度。

替米沙坦工作液配制: 精密称取适量的替米沙坦, 用 DMEN 培养液溶解, 配制成替米沙坦含量为  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的工作液。用时以 DMEN 细胞培养液调节终末浓度。

## 1.3 细胞培养

常规复苏血管内皮细胞株, 以含血清 DMEN 培养基(90%高糖 DMEN 培养基, 10%胎牛血清)制备浓度为  $1 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$  的血管内皮细胞悬浮液。取 10 mL 血管内皮细胞悬浮液置于 75 cm<sup>2</sup> 无菌培养瓶内, 5% CO<sub>2</sub>、37 °C、湿度 95% 孵化培养, 隔天置换培养液。当内皮细胞长至 80%~90% 融合时, 以 0.25% 胰蛋白酶-0.02% EDTA 混合液消化传代。当细胞传至第 3 代时, 将细胞接种于 35 mm 玻璃底细胞培养皿中, 放回培养箱中继续培养, 待细胞长满后进入分组和干预试验程序。

## 2 方法

### 2.1 分组

将“1.3”项下接种于 35 mm 细胞培养皿中的血管内皮细胞随机分成 5 组, 每组 42 例样本。分别为: ①空白对照组: 加入细胞培养液 180  $\mu\text{L}$ , 生理盐水 20  $\mu\text{L}$ ; ②模型组: 加入细胞培养液 180  $\mu\text{L}$ , Ang II 10  $\mu\text{L}$ , 生理盐水 10  $\mu\text{L}$ ; ③60  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  替米沙坦组: 加入细胞培养液 180  $\mu\text{L}$ , Ang II 10  $\mu\text{L}$ , 替米沙坦 10  $\mu\text{L}$ , 使细胞培养液 Ang II 终末浓度为  $1 \times 10^{-7} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 替米沙坦终末浓度为 60  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; ④300  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  替米沙坦组: 加入细胞培养液 180  $\mu\text{L}$ , Ang II 10  $\mu\text{L}$ , 替米沙坦 10  $\mu\text{L}$ , 使细胞培养液 Ang II 终末浓度为  $1 \times 10^{-7} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 替米沙坦终末浓度为 1.0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; ⑤1 000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  替米沙坦

组：加入细胞培养液 180  $\mu\text{L}$ ，Ang II 10  $\mu\text{L}$ ，替米沙坦 10  $\mu\text{L}$ ，使细胞培养液 Ang II 终末浓度为  $1 \times 10^{-7} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，替米沙坦终末浓度为  $1000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

## 2.2 替米沙坦预处理及 Ang II 胁迫

各组在预处理操作前，随机抽取 6 例(孔)样品作为  $T_0$  时(预处理前)测定细胞瞬时 SOD 活性和 MDA 含量。除空白对照组和模型组外，其他各组按“2.1”项下所述给予相应浓度替米沙坦预处理 30 min。预处理 30 min 后，除空白对照组外，各组均按“2.1”项下所述给予相应剂量的 Ang II 稀溶液，空白对照组加入生理盐水 10  $\mu\text{L}$ 。并于  $T_1$ (预处理 30 min 后)、 $T_2$ (Ang II 加入后)、 $T_3$ (Ang II 加入后 0.5 h)、 $T_4$ (Ang II 加入后 2 h)、 $T_5$ (Ang II 加入后 8 h)、 $T_6$ (Ang II 加入后 24 h)各时点每组随机抽取 6 例(孔)样品用于测定细胞瞬时 SOD 活性和 MDA 含量。

## 2.3 血管内皮细胞 SOD 活性和 MDA 含量测定

吸弃细胞培养液后加入适量的 D-Hank's 液轻洗 2 遍，用 0.125%胰蛋白酶消化细胞 10~15 min 后加入适量 D-Hank's 液悬浮细胞，置离心机  $2000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10 min，弃上清液。加入 1 mL D-Hank's 液吹打，置于预先加入冰水的超声细胞粉碎仪中击碎细胞，制得细胞裂解液。严格根据试剂盒说明书操作指引，测定细胞裂解液 SOD 活性和 MDA 含量。

## 2.4 统计学方法

计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示，应用 SPSS 13.0 统计软件进行单因素方差分析。 $P < 0.05$  则差异具有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 Ang II 对替米沙坦预处理血管内皮细胞 SOD 活性的影响

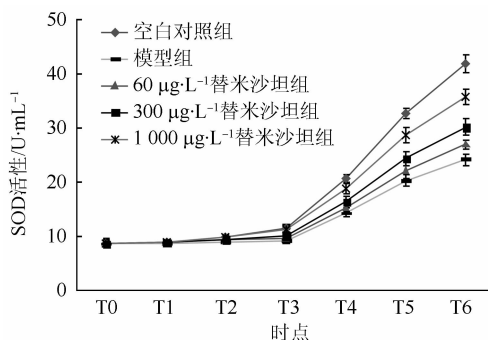


图1 Ang II 对替米沙坦预处理血管内皮细胞 SOD 活性的影响  
Fig 1 Effect of Ang II on the SOD activity in vascular endothelial cells pretreated by telmisartan

Ang II 对替米沙坦预处理血管内皮细胞 SOD 活性的影响结果见图 1。 $T_0$  时，各组间细胞 SOD 活性差异不具有统计学意义( $P > 0.05$ )； $T_1$  时，经替米沙坦预处理 30 min 后(空白对照组除外)，各组细胞(含空白对照组)SOD 活性均随培养时间延长有一定程度的提高，但与同组  $T_0$  时点比较差异不具有统计学意义( $P > 0.05$ )，且各组间比较差异不具有统计学意义( $P > 0.05$ )； $T_2$  时，加入 Ang II 胁迫后，各组间细胞瞬时 SOD 活性差异不具有统计学意义( $P > 0.05$ )； $T_3$  时，Ang II 胁迫 30 min 后，模型组和  $60 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  替米沙坦组细胞 SOD 活性明显低于空白对照组( $P < 0.001$ )、 $1000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  替米沙坦组( $P < 0.001$ )和  $300 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  替米沙坦组( $P < 0.05$ )；随培养时间的延长( $T_4$ ~ $T_6$ )，各组细胞 SOD 活性表现出时间递增性，模型组和  $60 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  替米沙坦组细胞 SOD 活性提升程度明显低于其他各组( $P < 0.05$ )。

试验结果显示，替米沙坦可剂量依赖性地减轻 Ang II 对细胞 SOD 活性的抑制作用。

### 3.2 Ang II 对替米沙坦预处理血管内皮细胞 MDA 含量的影响

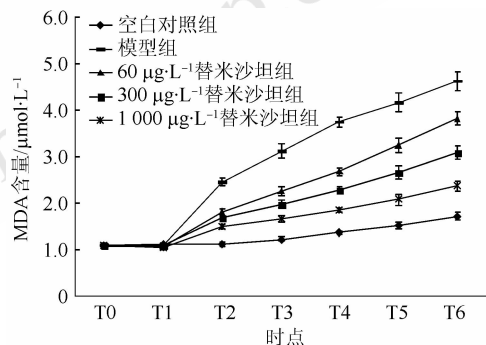


图2 Ang II 对替米沙坦预处理血管内皮细胞 MDA 含量的影响

Fig 2 Effect of Ang II on the MDA level in vascular endothelial cells pretreated by telmisartan

Ang II 对替米沙坦预处理血管内皮细胞 MDA 含量的影响结果见图 2。 $T_0$  时，各组间细胞 MDA 含量差异不具有统计学意义( $P > 0.05$ )； $T_1$  时，经替米沙坦预处理 30 min 后(空白对照组除外)，各组细胞(含空白对照组)MDA 含量均随培养时间延长有一定程度的提高，但与同组  $T_0$  时比较差异不具有统计学意义( $P > 0.05$ )，且各组间比较差异不具有统计学意义( $P > 0.05$ )。

$T_2$  时，加入 Ang II 胁迫后，模型组细胞 MDA 瞬时激增，为空白对照组的 2.17 倍；其余替米沙坦组均呈现出细胞 MDA 瞬时激增的现象，且明显

高于空白对照组( $P<0.001$ )及同组  $T_1$  时 MDA 的含量( $P<0.001$ )。  $T_3$  时, Ang II 胁迫 30 min 后, 各组(空白对照组除外)细胞 MDA 含量增加速率有所减缓, 表现为 MDA 含量变化曲线斜率减少; 其中以  $1\ 000\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  替米沙坦组斜率减少最为显著(与模型组比较,  $P<0.001$ ; 与  $60\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  替米沙坦组和  $300\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  替米沙坦组比较,  $P<0.05$ )。

随培养时间的延长( $T_4\sim T_6$ ), 各组细胞 MDA 含量表现出时间递增性, 模型组和替米沙坦各浓度试验组细胞 MDA 含量升高程度比空白对照组明显( $P<0.05$ )。

试验结果显示, 替米沙坦可剂量依赖性地减轻 Ang II 所致的细胞 MDA 含量升高的效应。

#### 4 讨论

动脉血管内皮细胞是构成动脉壁内膜的基本构成和功能单位。内皮细胞结构的完整和各种生理功能的正常运转是动脉血管乃至整个血液输送系统正常运作的基本保证。血管内皮细胞始终受到其内环境——血液的影响和作用, 血液中任何生理及病理变化均对内皮细胞产生影响, 而许多物质和因素可导致内皮细胞的损伤。

机体和细胞在正常生理情况下, 氧化性物质的产生和清除保持着一个动态平衡的状态。细胞内氧化与抗氧化机制的失衡, 导致氧化性物质在细胞内积聚, 诱发氧化应激反应状态, 是血管内皮细胞损伤、凋亡和诱导血管内皮细胞释放各种促炎症细胞因子的主要原因。血管内皮细胞的氧化应激反应, 被认为是引发动脉粥样硬化的炎症反应的始动因素<sup>[9]</sup>。氧化性物质, 尤其是氧自由基的蓄积, 致使细胞内脂质发生过氧化反应, 由此生成一系列具细胞毒性的脂质过氧化物, 其中生成的 MDA 能影响线粒体内关键酶活性和线粒体呼吸链复合物, 其细胞毒性最大<sup>[10]</sup>。生命体在长期进化过程中演化出能对抗自身不利因素的机制和物质, 以维持机体的正常运作。SOD 是存在于多数生命体中的抗氧化酶, 通过催化细胞内的氧自由基( $\text{O}^{\cdot-}$ )转化为  $\text{H}_2\text{O}$  和  $\text{O}_2$ , 解除氧自由基对细胞的胁迫和损伤作用。

因此, 细胞内 MDA 含量和 SOD 活性可以反映出细胞受氧化应激反应损伤的严重程度及细胞抗氧化机制清除氧自由基的能力, 并可间接评估细胞的氧化/抗氧化水平。

Ang II 是一种内源性的缩血管因子, 其正常生

理状态下来源广泛并可被血管内皮细胞合成和分泌。在病理情况下, Ang II 的合成和分泌增加, 致使血管内皮细胞的通透性上调, 增加钙离子内流, 并有利于脂质和有害物质的入侵和沉淀; 同时, Ang II 可通过与血管内皮细胞内的  $\text{AT}_1$  受体结合, 激动 G 蛋白, 使 4,5-二磷酸磷脂酰肌醇水解生成三磷酸肌醇( $\text{IP}_3$ ), 生成的  $\text{IP}_3$  激动细胞内内质网  $\text{IP}_3$  受体( $\text{IP}_3$  敏感型钙库), 致使内质网向胞浆释放大量的游离  $\text{Ca}^{2+}$ , 引起细胞钙超载<sup>[11-12]</sup>。Ang II 还能激活血管内皮细胞膜表面的一系列氧化酶(如 NADH/NADPH 氧化酶), 导致氧化应激, 改变血管内皮细胞的氧化/还原的动态平衡, 并启动一系列的细胞凋亡信息转导过程<sup>[2-4]</sup>。

试验结果显示, Ang II 可通过抑制抗氧化物质的生成和活性, 瞬时激活细胞氧化的一系列反应, 促使氧化性物质的生成和积聚, 从而破坏血管内皮细胞内氧化/还原的动态平衡, 损伤血管内皮细胞。尤其在 Ang II 直接作用血管内皮细胞的初期( $T_2\sim T_3$ ), 对氧化/还原的动态平衡的影响最为显著, MDA 激增的斜率最大; 随着培养时间的延长, Ang II 对 MDA 的生成和 SOD 活性的抑制作用逐渐减弱(表现在曲线斜率的改变)。这可能与 Ang II 在细胞和组织中的半衰期为 15~30 min, 故在其直接作用内皮细胞初期( $T_2\sim T_3$ ), 对细胞的胁迫效应比较显著。血管内皮细胞经替米沙坦预处理(30 min)后, 能显著提高对 Ang II 胁迫的耐受性, 并呈现替米沙坦剂量依赖性现象。提示替米沙坦可能通过保护血管内皮细胞的氧化/还原平衡体系, 提高对 Ang II 的耐受性, 减轻 Ang II 对血管内皮细胞的损伤, 延缓细胞凋亡的启动和发展。

鉴于本试验需严格控制  $\text{Ca}^{2+}$  的掺入, 致使在多项试验设计步骤和试剂选取上存在一定的局限性。例如为了避免血清  $\text{Ca}^{2+}$  的干扰, 本试验只能采用无  $\text{Ca}^{2+}$  的培养液作为溶剂配制替米沙坦工作液。因替米沙坦不易溶于水, 故本研究在方法上存在非均质溶液的加样误差。从试验结果可以观察到, 虽存在一定的加样误差, 但仍表现出对替米沙坦的浓度依赖性。对此问题, 本课题组将在今后开展相关的技术攻关研究。

本研究结果提示, 替米沙坦既可阻断 Ang II 对  $\text{AT}_1$  受体的激动发挥作用降压作用, 又可抑制 Ang II 所致的细胞氧化应激反应, 从多方面保护动脉血管。

## REFERENCES

- [1] FA L J, LIU N F. Research progress on the relationship between apoptosis and atherosclerosis [J]. J Southeast Univ(Med Sci Ed)(东南大学学报 医学版), 2010, 29(1): 107-110.
- [2] ABIKO M, RODGERS K, CAMPEAU J D, et al. Alterations of angiotensin II receptor levels in sutured wounds in rat skin [J]. J Invest Surg, 1996, 9(6): 447-453.
- [3] SELMAN M, PARDO A. Idiopathic pulmonary fibrosis: an epithelial/fibroblastic cross-talk disorder [J]. Respir Res, 2002, 3(1): 3.
- [4] KATHLEEN R, SHIQUAN X, JUNA F, et al. Development of angiotensin(1-7) as an agent to accelerate demral repair [J]. Wound Repair Regen, 2001, 9(3): 238-247.
- [5] HUANG H H, GUO S B, LIANG Y, et al. *In vitro* study of the effect of telmisartan on platelet aggregation [J]. Guide China Med(中国医药指南), 2011, 9(26): 196-197.
- [6] CHENG L, ZHANG L J. Mechanisms and advances in use of angiotensin II receptor antagonist telmisartan in improving glucose, lipid metabolism and anti-atherosclerosis [J]. Adv Cardiovasc Dis(心血管病学进展), 2008, 29(3): 494-496.
- [7] FENG W Q. The effect of telmisartan and amlodipine on function of artery elastic in hypertension patients [J]. Chin J Clin Res(中国临床研究), 2011, 24(9): 810-811.
- [8] HUANG H H, ZHENG S M, MEI Z R, et al. Effect of telmisartan treatment on artery elasticity in essential hypertension [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2012, 29(6): 554-557.
- [9] YANG Y Z. Basic and Clinical of Atherosclerotic Cardiovascular Disease(动脉粥样硬化性心血管病基础与临床) [M]. Vol 2. Beijing: Science Press, 2009: 60-61.
- [10] SONG Y, WEI X B, DING H, et al. Protection of effective parts of *Zingiber officinale* on ECV-304 cells oxidative stress injury induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2007, 38(10): 1538-1541.
- [11] MACZEWSKI M, BERSEWICZ A. Role of nitric oxide and free radicals in cardioprotection by blocking Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> and Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchange in rat heart [J]. Eur J Pharmacol, 2003, 461(2/3): 139-147.
- [12] AARONSON P I, ROBERTSON T P, KNOCK G A, et al. Hypoxic pulmonary vasoconstriction: mechanisms and controversies [J]. J Physiol, 2006, 570(Pt 1): 53-58.

收稿日期: 2013-01-29

## 雷公藤甲素对肺癌 A549/DDP 细胞多药耐药的逆转作用及机制

王中华(天津中医药大学第一附属医院药剂部, 天津 300193)

**摘要:** 目的 探讨雷公藤甲素(triptolide, TPL)对肺癌 A549/DDP 多药耐药的逆转作用及机制。方法 TPL 作用于肺癌 A549/DDP 细胞后, 应用 MTS 法检测细胞生长抑制率, 流式细胞术检测细胞内罗丹明-123(Rhodamine-123, Rh-123)及细胞表面 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)表达, 应用 Western blot 法和 real time PCR 检测肿瘤细胞多药耐药蛋白(MDR1)和肺耐药相关蛋白(LRP)表达变化, 应用报告基因技术检测细胞 NF- $\kappa$ B 启动子活性, 应用 Western blot 法检测肿瘤细胞 Akt 磷酸化。结果 TPL 可提高肺癌 A549/DDP 细胞药物敏感性, 经 2, 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  TPL 作用后, 顺铂逆转倍数(RF)分别为 2.09 倍和 2.93 倍, 肿瘤细胞中 Rh-123 含量分别提高了 1.38 倍和 2.88 倍, P-gp 表达分别是对照组的 57.1%和 32.1%, MDR1 和 LRP 蛋白表达水平显著下降, MDR1 mRNA 表达分别是对照组的 64.2%和 22.6%, LRP mRNA 表达分别是对照组的 54.8%和 34.7%, NF- $\kappa$ B 启动子活性分别是对照组的 55.6%和 23.6%, Akt 磷酸化水平显著下降。结论 TPL 可逆转肺癌 A549/DDP 细胞多药耐药性, 提高肿瘤细胞药物敏感性, 抑制药物外排, 降低细胞 MDR1 和 LRP 表达, 其机制可能与抑制 Akt 磷酸化水平, 下调 NF- $\kappa$ B 启动子活性有关。

**关键词:** 雷公藤甲素; 肺癌; 多药耐药

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2014)01-0026-06

### Effects and Mechanisms of Triptolide on Reverse the Multi-drug Resistance of A549/DDP Lung Cancer

WANG Zhonghua(Department of Pharmacy, First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To investigate the effects and mechanisms of triptolide on reverse the multi-drug resistance of lung cancer cell line A549/DDP. **METHODS** After treating A549/DDP cells with triptolide, cells proliferation inhibition ratio was determined by MTS assay, the intracellular concentration of rhodamine-123(Rh-123) and cells surface expression of P-glycoprotein (P-gp) by flow cytometry, the expression of multi-drug resistance protein(MDR1) and lung resistance related

作者简介: 王中华, 男, 硕士, 副主任药师 Tel: (022)27432297 E-mail: dazhizhi@hotmail.com