

链的 N 原子上引入一个乙基时,得到的化合物 **9d** 对 K562 细胞的抑制活性大大提高, IC_{50} 值为 $1.25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 与阳性对照紫杉醇相当。这与前期合成的 γ -咔啉类衍生物结果相一致^[6]。比较化合物 **8b**、**9b** 和 **17c**, 化合物 **9b** 对两种受试细胞株的活性较强; 比较化合物 **8d**、**9c** 和 **17b**, 三者对 K562 细胞的活性相当, 而化合物 **9c** 对 KB 细胞的活性最强; 由此可见, 当侧链为磺酰胺基时, 6-取代 β -咔啉类衍生物的活性最强。

4 结论

从体外抗肿瘤活性结果可以看出, 所合成的 15 个目标化合物对 2 种受试细胞株均具有一定的抑制能力, 部分化合物显示出与阳性对照紫杉醇相当或更佳的肿瘤细胞抑制活性, 有望对其通过进一步结构修饰得到理想的抗肿瘤先导化合物。相关的工作正在进行中。

REFERENCES

- [1] CAO R, PENG W, WANG Z, et al. β -Carboline alkaloids: biochemical and pharmacological functions [J]. *Curr Med Chem*, 2007, 14(4): 479-500.
- [2] SAKO K, AOYAMA H, SATO S, et al. γ -Carboline derivatives with anti-bovine viral diarrhoeavirus (BVDV) activity [J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16(7): 3780-3790.
- [3] NGUYEN C H, LHOSTE J M, LAVELLE F, et al. Synthesis and Antitumor Activity of 1-[[[(Dialkylamino)alkyl]amino]-4-methyl-5H-pyrido[4,3-b]benzo[e]- and-benzo[g]] indoles. A new class of antineoplastic agents [J]. *J Med Chem*, 1990, 33(5): 1519-1528.
- [4] MEWSHAW R E, SILVERMAN L S, MATHEW R M, et al. Bridged γ -carbolines and derivatives possessing selective and combined affinity for 5-HT₂ and D₂ receptors [J]. *J Med Chem*, 1993, 36(10): 1488-1495.
- [5] SENNHENN P, MANOULIDIS A, TREU M, et al. α -Carbolines as CDK-1 inhibitors: WO2006131552 [P]. 2006-12-14.
- [6] CHEN J, DONG X, LIU T, et al. Design, synthesis, and quantitative structure-activity relationship of cytotoxic γ -carboline derivatives [J]. *Bioorg Med Chem*, 2009, 17(9): 3324-3331.
- [7] CHEN J, LIU T, WU R, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of novel N- γ -carboline arylsulfonamides as anticancer agents [J]. *Bioorg Med Chem*, 2010, 18(24): 8478-8484.
- [8] CHEN J, LIU T, WU R, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of novel γ -carboline ketones as anticancer agents [J]. *Euro J Med Chem*, 2011, 46(4): 1343-1347.
- [9] MOLINA A, VAQUERO J, GARCIA-NAVIO J L, et al. One-pot Graebe-Ullmann synthesis of γ -carbolines under microwave irradiation [J]. *Tetrahedron Lett*, 1993, 34: 2673-2676.
- [10] WU J, CHEN Q, YU F, et al. Harmine derivatives, intermediates used in their preparation, preparation processes and use thereof: WO2004106335 [P]. 2004-12-09.
- [11] LKEDA R, LWAKI T, LIDA T, et al. 3-Benzylamino- β -carboline derivatives induce apoptosis through G2/M arrest in human carcinoma cells HeLa S-3 [J]. *Euro J Med Chem*, 2011, 46(2): 636-646.

收稿日期: 2012-07-19

香青兰总黄酮对哮喘大鼠气道炎症及高反应性的改善作用

康小龙¹, 何承辉^{2*}, 邢建国², 闫丽丽² (1.新疆医科大学附属中医医院, 乌鲁木齐 830000; 2.新疆维吾尔自治区药物研究所, 乌鲁木齐 830004)

摘要: 目的 研究香青兰总黄酮对哮喘大鼠气道炎症及高反应性的影响。方法 采用氨水引咳实验和磷酸组胺-氯化乙酰胆碱引喘实验观察香青兰总黄酮的镇咳、平喘作用; 同时观察香青兰总黄酮对哮喘大鼠支气管肺泡灌洗液(BALF)中白细胞分类计数和离体气管螺旋条张力的影响。结果 香青兰总黄酮中、高剂量能延长小鼠咳嗽潜伏期, 减少小鼠 2 min 内咳嗽次数($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 延长豚鼠引喘潜伏期($P<0.01$); 降低哮喘大鼠血清卵白蛋白特异性 IgE 水平($P<0.01$), 减少 BALF 中嗜酸性粒细胞数量($P<0.01$)及减小离体气管螺旋条张力($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论 香青兰总黄酮具有一定镇咳、平喘作用; 可改善哮喘气道炎症及高反应性。

关键词: 香青兰总黄酮; 哮喘; 气道炎症; 高反应性

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)03-0234-05

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金(2011211A098)

作者简介: 康小龙, 男, 博士, 主管药师 Tel: (0991)5853365
助理研究员 Tel: (0991)2318172 E-mail: 408705201@qq.com

E-mail: kangxiaolong_163@163.com

*通信作者: 何承辉, 女, 硕士,

Inhibitory Effects of Moldavica Total Flavone on Airway Inflammation and Hyperresponsiveness in Ovalbumin-induced Asthmatic Rats

KANG Xiaolong¹, HE Chenghui^{2*}, XING Jianguo², YAN Lili²(1.Xinjiang Traditional Medical Hospital, Urumqi 830000, China ; 2.Xinjiang Medicine Research Institute, Urumqi 830004, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effects of moldavica total flavone on airway inflammation and hyperresponsiveness in ovalbumin-induced asthmatic rats. **METHODS** The cough model in rats and asthma model in cavies were made by using ammonia water and histamine-acetylcholine chloride to observe the antitussive and antiasthmatic actions. The inhibitory effect on airway inflammation and hyperresponsiveness in ovalbumin-induced asthmatic rats were observed. **RESLUTS** The moldavica total flavone in middle and high dose group could extend the cough latent period in rats($P<0.05$ or 0.01) and gasp latent period in cavies ($P<0.01$), decreased the levels of serum ovalbumin specific IgE ($P<0.01$) and eosinophil counts in bronchoalveolar lavage fluid ($P<0.01$), attenuate the contraction of tracheal smooth muscle in ovalbumin-induced asthmatic rats ($P<0.05$ or 0.01). **CONCLUSION** Moldavica total flavone has antitussive and antiasthmatic actions and may inhibit ariway inflammation and hyperresponsiveness in asthma.

KEY WORDS: moldavica total flavone; asthma; inflammation; hyperresponsiveness

哮喘是一种由肥大细胞、嗜酸性粒细胞(EOS)和 T 淋巴细胞等多种炎症细胞参与的,以气道慢性炎症和气道高反应性为主要特征性疾病^[1]。据《维吾尔药志(上)》记载^[2],唇形科植物香青兰(*Dracocephalum moldavica* L.)具有镇咳、祛痰、平喘作用,在维吾尔医和民间用于治疗气管炎已有几百年的历史。本课题组从香青兰中提取的有效部位香青兰总黄酮,拟用于治疗支气管哮喘。本实验观察了香青兰总黄酮镇咳、平喘作用及对哮喘大鼠气道炎症及高反应性的影响,旨在为新药开发提供药效学依据。

1 材料与方法

1.1 动物

清洁级昆明种小白鼠,体质量 18~22 g,清洁级豚鼠,体质量 200~300 g,清洁级 SD 大鼠,体质量 180~220 g,以上动物均由新疆实验动物研究中心提供,实验动物合格证号:SCXK(新)2003-0002。

1.2 药材与试剂

香青兰药材购自安徽省亳州市德昌药业有限公司,经新疆维吾尔自治区药物研究所何江研究员鉴定为正品。卵白蛋白(OVA, Sigma 公司,批号:1001115808);氢氧化铝(西安化学试剂厂,批号:080912);磷酸组胺(上海三杰生物技术有限公司,批号:080901);氯化乙酰胆碱(上海三爱思试剂有限公司,批号:20071022);大鼠 OVA 特异性 IgE(上海将来试剂公司,批号:201204)。

1.3 仪器

超声雾化器(江苏鱼跃医疗设备公司);FT-100

生物张力传感器(成都泰盟科技有限公司)。

1.4 方法

1.4.1 香青兰总黄酮制备方法 香青兰药材经 40%乙醇回流提取 1 次,3 h,提取液用 HPD100 型大孔吸附树脂纯化,70%乙醇洗脱,浓缩干燥,得香青兰总黄酮,经 UV 测定,总黄酮含量为 60% 以上。

1.4.2 氨水引咳实验 取昆明种小白鼠 40 只,♀♂ 各半,随机分为空白对照组(给予生理盐水),香青兰总黄酮低($130 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、中($260 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、高($520 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)剂量组,各组小鼠连续灌胃给药 6 d,末次给药 1 h 后,将每只小鼠置于玻璃钟罩内(容量为 500 mL),罩内放置含 25%~28%的氨水 0.2 mL,随即观察和记录小鼠咳嗽潜伏期和 2 min 内发生咳嗽反应的次数。

1.4.3 磷酸组胺和氯化乙酰胆碱引喘实验 取健康豚鼠 70 只,♀♂ 各半,将豚鼠放 1 000 mL 烧杯中,并使豚鼠接受恒流 0.4%磷酸组胺-2%氯化乙酰胆碱(1:2)刺激 15 s,观察引喘潜伏期(从喷雾开始到哮喘发作、呼吸困难、直至抽搐跌倒的时间),挑出潜伏时间在 120 s 内的豚鼠备用。把筛选出的豚鼠随机分为溶剂对照组、氨茶碱组($50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、香青兰总黄酮低($80 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、中($160 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、高剂量组($320 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$),共 5 组、每组 8 只,实验豚鼠禁食不禁水 10 h,然后各组豚鼠灌胃给药,连续给药 6 d,最后一次给药 1 h 后,使豚鼠接受恒流 0.4%磷酸组胺-2%氯化乙酰胆碱(1:2)刺激 15 s,观察豚鼠引喘潜伏期。

1.4.4 对哮喘大鼠血清 OVA 特异性 IgE、肺泡灌

洗液(BALF)中白细胞分类及气管张力的影响

1.4.4.1 动物分组及哮喘模型的建立 清洁级 SD 大鼠 60 只, ♀ ♂ 各半, 随机分为 6 组, 空白对照组, 哮喘模型组, 地塞米松组, 香青兰总黄酮低、中、高剂量组, 每组 10 只。采用 OVA 致敏法制备动物模型。除空白组外, 其它 5 组动物第 1, 2, 3 天用含 OVA 10 mg、Al(OH)₃ 干粉 100 mg 的生理盐水混悬液 1 mL 腹腔注射致敏, 第 8 天重复致敏 1 次, 第 15 天开始除空白对照组外各组动物超声雾化 1% OVA 进行激发, 约 30 min·次⁻¹, 于每天早上 8~9 时进行。直至大鼠出现哮喘样发作, 共 4 周。雾化时见大鼠出现烦躁不安、打喷嚏、大小便失禁、抓耳朵、紫绀等症状, 说明哮喘模型建立成功。第 5 周起各给药组分别灌胃给予香青兰总黄酮 90, 180, 360 mg·kg⁻¹·d⁻¹, 地塞米松 1 mg·kg⁻¹·d⁻¹, 空白对照组及哮喘模型组灌胃给予生理盐水, 每日一次, 共 30 d。

1.4.4.2 血清 OVA 特异性 IgE 检测 末次给药后 1 h, 用 2%戊巴比妥钠(40 mg·kg⁻¹)腹腔注射麻醉, 各组大鼠采集股静脉血 4 mL 室温静置 2 h, 以 4 000 r·min⁻¹ 的速度离心 10 min, 取血清, 放置 -20 ℃ 低温冰箱中保存待检。采用双抗体夹心法(ELISA)测定血清中 OVA 特异性 IgE 含量。按 IgE-ELISA 检测试剂盒说明进行操作。

1.4.4.3 支气管肺泡灌洗液(BALF)中白细胞分类计数 末次给药后 1 h, 用 2%戊巴比妥钠(40 mg·kg⁻¹)腹腔注射麻醉, 然后消毒无菌分离气管, 夹闭右主支气管, 剪开气管用相应导管插入左主气管内, 从导管注入 4 mL 生理盐水灌洗左肺, 反复 3 次, 回收率为 60%~70%, 回收灌洗液即为 BALF, 1 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取沉淀涂片固定, 瑞姬氏染液染色, 在光镜下计数 100 个白细胞进行分类。比较各组 BALF 中 EOS、单核细胞、淋巴细胞和中性粒细胞数量。

1.4.4.4 离体气管螺旋条张力实验 末次给药后 1 h, 快速取下气管, 置于 Krebs 液中, 剥离外周组织后, 每 2~3 个软骨环剪一个螺旋, 制备成 3 mm × 20 mm 的气管螺旋条。将其一端连于挂钩, 另一端与张力换能器相连后置于通有 95%的 O₂ 和 5%的 CO₂ 的 Krebs 液的浴槽中, 描记时加大负荷至 0.009 8 N, 平衡 1 h, 每 20 min 换 1 次液体, 待稳定后先记录一段正常收缩曲线, 然后加入 1 mmol·L⁻¹ 乙酰胆碱 0.1 mL, 每次用药间隔 15 min。

观察并记录曲线变化。以各组给药前后气管螺旋条张力变化值进行比较。

1.5 统计方法

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组间显著性差异比较用方差分析, 采用 SPSS 11.0 for Windows 统计软件进行统计。

2 结果

2.1 香青兰总黄酮的镇咳作用

与对照组相比, 香青兰总黄酮能剂量依赖性地延长小鼠咳嗽潜伏期, 减少小鼠 2 min 内咳嗽次数($P < 0.05$ 或 0.01), 提示香青兰总黄酮具有明显镇咳作用。结果见表 1。

表 1 香青兰总黄酮对氨水所致小鼠咳嗽的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Tab 1 The antitussive action of moldavica total flavone on the cough model induced by ammonia water in mice($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	咳嗽 潜伏期/s	2 min 内 咳嗽次数/次
对照组	—	17.4±3.1	40.2±4.9
香青兰总黄酮	130	21.3±3.7 ¹⁾	35.3±3.6 ¹⁾
	260	24.2±4.2 ²⁾	31.2±4.1 ²⁾
	520	28.5±5.1 ²⁾	29.4±4.3 ²⁾

注: 与对照组比较: ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

2.2 香青兰总黄酮的平喘作用

香青兰总黄酮中、高剂量组和阳性药氨茶碱组豚鼠的引喘潜伏期明显比空白对照组有所延长($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 香青兰总黄酮高剂量组与氨茶碱组比较差异没有显著性意义($P > 0.05$), 说明香青兰总黄酮对组胺引起的豚鼠支气管痉挛具有一定的对抗作用。结果见表 2。

表 2 香青兰总黄酮对组胺引起的豚鼠支气管痉挛的对抗作用($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab 2 The antiasthmatic action of moldavica total flavone on the asthma model induced by histamine-acetylcholine chloride in cavies($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	引喘潜伏期/s
对照组	—	51.3±19.8
香青兰总黄酮	80	68.8±24.3
	160	79.4±29.4 ¹⁾
	320	98.3±28.6 ²⁾
氨茶碱组	50	112.7±31.5 ²⁾

注: 与对照组比较, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

2.3 香青兰总黄酮对大鼠血清 OVA 特异性 IgE 的影响

与正常对照组比较,模型组血清 OVA 特异性 IgE 含量明显升高($P<0.01$);与模型组比较,香青兰总黄酮可剂量依赖性地降低大鼠血清 OVA 特异性 IgE 水平($P<0.01$);香青兰总黄酮高剂量组血清 OVA 特异性 IgE 含量与地塞米松组比较差异没有显著性意义($P>0.05$)。结果见表 3。

2.4 香青兰总黄酮对哮喘大鼠 BALF 中白细胞分类计数的影响

哮喘模型组 BALF 中 EOS、中性粒细胞和淋巴细胞数均明显高于正常对照组($P<0.01$),说明哮喘模型建立成功。香青兰总黄酮中、高剂量组及地塞米松组与模型组比较, EOS 数明显减少

表 4 香青兰总黄酮对哮喘大鼠 BALF 中白细胞分类计数的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 4 The effects of moldavica total flavone on white blood cell counts in bronchoalveolar lavage fluid of ovalbumin-induced asthmatic rats($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	淋巴细胞	嗜酸性粒细胞	中性粒细胞	单核细胞
正常对照组		29.2±4.8	4.2±1.5	15.7±4.8	50.6±6.8
模型组		56.2±5.2 ¹⁾	9.2±2.1 ¹⁾	23.2±4.21 ¹⁾	11.9±3.9 ¹⁾
香青兰总黄酮	90	51.3±6.3	8.0±2.4	19.8±3.8	21.7±4.9 ²⁾
	180	48.5±5.6 ²⁾	6.2±1.9 ²⁾	17.4±3.5 ²⁾	27.9±5.2 ²⁾
	360	42.6±4.4 ²⁾	5.2±1.8 ²⁾	16.5±3.9 ²⁾	36.3±4.7 ²⁾
地塞米松组	1	35.6±3.2 ²⁾	4.7±1.8 ²⁾	16.1±3.7 ²⁾	43.4±5.2 ²⁾

注:与正常对照组比较,¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较,²⁾ $P<0.01$

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.01$

2.5 香青兰总黄酮对哮喘大鼠离体气管张力的影响

与正常对照组比较,模型组气管螺旋条张力变化值明显升高($P<0.01$);与模型组比较,香青兰总黄酮中、高剂量组及地塞米松组气管螺旋条张力变化值明显减小($P<0.05$ 或 0.01);香青兰总黄酮高剂量组与地塞米松组比较,差异没有显著性意义($P>0.05$)。结果见表 5。

表 5 香青兰总黄酮对哮喘大鼠离体气管螺旋条张力的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 5 The effects of moldavica total flavone on the contraction of tracheal smooth muscle in ovalbumin-induced asthmatic rats($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	气管螺旋条张力变化值/mg ⁻¹
正常对照组		0.201±0.048
模型组		0.675±0.183 ¹⁾
香青兰总黄酮	90	0.562±0.112
	180	0.485±0.108 ²⁾
	360	0.351±0.091 ³⁾
地塞米松组	1	0.291±0.063 ³⁾

注:与正常对照组比较,¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较,²⁾ $P<0.05$,³⁾ $P<0.01$

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$

($P<0.01$),提示香青兰总黄酮中、高剂量可明显抑制哮喘炎症 EOS 浸润。结果见表 4。

表 3 香青兰总黄酮对支气管哮喘大鼠血清 OVA 特异性 IgE 的影响

Tab 3 The effects of moldavica total flavone on the levels of serum OVA specific IgE in ovalbumin-induced asthmatic rats

组别	剂量/mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	IgE/μg·mL ⁻¹
正常对照组		9.90±0.54
模型组		13.92±1.37 ¹⁾
香青兰总黄酮	90	12.31±1.29 ²⁾
	180	11.03±0.75 ²⁾
	360	10.82±1.05 ²⁾
地塞米松组	1	10.37±0.57 ²⁾

注:与正常对照组比较,¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较,²⁾ $P<0.01$

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.01$

3 讨论

香青兰作为一种传统的维吾尔族药用植物,具有镇咳、祛痰、平喘作用^[2]。香青兰总黄酮是本课题组从香青兰中提取的有效部位,本次实验表明:香青兰总黄酮中、高剂量能明显延长氨水引起的小鼠咳嗽潜伏期和减少 2 min 内发生咳嗽反应的次数,同时明显延长组胺和氯化乙酰胆碱引起的豚鼠引喘潜伏期,说明香青兰总黄酮具有明显的镇咳、平喘作用。

支气管哮喘为 IgE 介导的 I 型变态反应,血清 IgE 是检测快速且敏感的指标^[3]。本试验表明:香青兰总黄酮可降低哮喘大鼠血清 OVA 特异性 IgE 水平,提示香青兰总黄酮可抑制由 IgE 介导的 I 型变态反应,从而起到改善哮喘症状的目的。

支气管哮喘是多种原因引起的以 EOS 为主的炎症细胞浸润^[4],表现为支气管高反应性和反复可逆性气流阻塞为特征的气道炎症性疾病。研究表明,哮喘鼠在吸入变应原后的迟发反应相时, BALF 中 EOS 数量明显增多,活化的 EOS 可释

放多种碱性蛋白和脂质体造成气道上皮损伤、气道反应性增高、黏液分泌增多,以及间歇性气道阻塞;EOS 尚能释放多种细胞因子,影响其它细胞功能^[5]。本实验表明:香青总黄酮中、高剂量组可明显减少哮喘大鼠 BALF 中 EOS 数量,减小气管螺旋条张力变化值,提示香青兰总黄酮可抑制哮喘发病过程中 EOS 浸润、改善哮喘气道炎症及高反应性。动物实验的结果为香青兰总黄酮的新药开发奠定了基础。

REFERENCES

- [1] ZHOU D Y, CAO Q, HUANG M, et al. Effect of grape seed proanthocyanidin extract on airway inflammation and hyperresponsiveness in a murine model of asthma [J]. Acta

Univ Med Nanjing(Nat Sci)(南京医科大学学报:自然科学版), 2011, 31(7): 981-985

- [2] LIU Y M. Collection of Uygur Medicine(维吾尔药志) [M]. Xinjiang Urumqi: Science and technology Health Publishing House of Xinjiang, 1999: 405-407
- [3] WANG Z X, YANG G Z, SONG L J, et al. The effect of glycyrrhizin on serum IgE level of asthmatic rat model and patients with asthma [J]. Chin J Immunol(中国免疫学杂志), 2003, 19(2): 124-127
- [4] WANG S L, DU F F, WANG L L, et al. Effects of Cordyceps polysaccharide on the OVA-induced airway inflammation and hyperresponsiveness in a murine asthmatic model [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(12): 1090-1094.
- [5] KULKARNI N S, HOLLINS F, SUTCLIFFE A, et al. Eosinophil protein in airway macrophages: A novel biomarker of eosinophilic inflammation in patients with asthma [J]. J Allergy Clin Immunol, 2010, 126(1): 61-69.

收稿日期: 2012-06-18

地西他滨联合丙戊酸钠促胃癌 MGC-803 细胞 nm23-H1 基因表达及机制研究

张国强, 彭敏霞, 王晔恺, 周吉航, 曾芳(舟山医院, 浙江 舟山 316004)

摘要: 目的 探讨地西他滨(DCA)和丙戊酸钠(VPA)联用对胃癌细胞株 MGC-803 的作用及对 non-metastasis 23-H1 基因(nm23-H1)的表达调控的影响。方法 DCA 1.5 及 3.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, VPA 1.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, DCA 1.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ +VPA 1.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, DCA 3.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ +VPA 1.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 作用 MGC-803 细胞 72 h。Annexin V/PI 法检测细胞凋亡, 实时荧光定量 PCR 检测 nm23-H1 mRNA 表达, 焦磷酸测序法检测 nm23-H1 启动子上随机选取的两个 CpG 岛位点甲基化状态。结果 VPA 1.5 +DCA 1.5 联合用药组[早期: (33.58±3.88)%, 晚期: (31.52±4.20)%]和 VPA 1.5 +DCA 3.0 联合用药组[早期: (42.61±4.23)%, 晚期: (38.01±3.86)%]凋亡率均高于其相应单药组, 差异具有统计学意义($P<0.01$)。nm23-H1 mRNA 在 VPA 1.5 +DCA 1.5 联合用药组(1.84±0.46)和 VPA 1.5 +DCA 3.0 联合用药组(2.88±0.42)的表达水平均高于其相应单药组, 差异具有统计学意义($P<0.01$)。VPA 1.5 +DCA 1.5 联合用药组[位点 1: (53.50±3.39)%, 位点 2: (51.17±2.71)%]和 VPA 1.5 +DCA 3.0 联合用药组[位点 1: (41.17±2.14)%, 位点 2: (39.83±2.56)%]nm23-H1 启动子两位点甲基化阳性率均低于其相应单药组, 差异具有统计学意义($P<0.01$)。VPA 1.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、VPA 1.5+DCA 1.5、VPA 1.5+DCA 3.0 这 3 组的 HDAC 酶活性均低于正常对照、DCA 1.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、DCA 3.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 任一组, 差异具有统计学意义($P<0.01$)。结论 DCA 联合 VPA 能显著上调 nm23-H1 基因的表达, 其机制与启动子上的甲基化水平降低和去乙酰化酶活性降低有关。

关键词: nm23-H1 基因; MGC-803 细胞; 丙戊酸钠; 地西他滨

中图分类号: R965.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)03-0238-05

Synergistic Effect of Decitabine and Valproic Acid on Non-metastasis 23-H1 Expression in Gastric MGC-803 Cells

ZHANG Guoqiang, PENG Mingxia, WANG Yekai, ZHOU Jihang, ZENG Fang(Zhoushan Hospital, Zhoushan 316004, China)

基金项目: 舟山市科技局科技计划项目(No.06577)

作者简介: 张国强, 男, 主任医师 Tel: 13506805168 E-mail: zgq5168.p@163.com