

研究表明, GIVM 患者出现病灶局部 Slit2, Robo1, VEGF 表达增高现象, 可能与 GIVM 发病相关。而沙利度胺可以抑制其表达, 这可能是沙利度胺抑制血管生成, 治疗 GIVM 的机制之一。

REFERENCES

- [1] BARNERT J, MESSMANN H. Diagnosis and management of lower gastrointestinal bleeding [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2009, 6(11): 637-646.
- [2] GE Z Z, CHEN H M, XIAO S D, et al. Long-term effects of thalidomide for recurrent gastrointestinal bleeding due to vascular malformation: an open-label, randomized, parallel controlled study [J]. *Gastroenterology*, 2011, 141(5): 1629-1637.
- [3] JUNQUERA F, SAPERAS E, DE TORRES I, et al. Increase expression of angiogenic factors in human colonic angiodysplasia [J]. *Am J Gastroenterol*, 1994, 94(12): 1070-1076.
- [4] WANG B, RAO Y, GENG J G, et al. Induction of tumor angiogenesis by Slit-Robo signaling and inhibition of cancer growth by blocking Robo activity [J]. *Cancer Cell*, 2003, 4(1): 19-29.
- [5] FERRARA N, GERBER H P, LECOUTER J. The biology of VEGF and its receptors [J]. *Nat Med* 2003, 9(7): 669-676.
- [6] D'AMATO R J, LOUGHNAN M S, FLYNN E, et al. Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 26(9): 4082-4085.
- [7] CHEN H M, GE Z Z, LIU W Z. The mechanisms of thalidomide in treatment of angiodysplasia due to hypoxia [J]. *Chin J Int Med(中华内科杂志)*, 2009, 48(4): 295-298.
- [8] TAN H H, CHEN H M, GE Z Z, et al. Role of vascular endothelial growth factor in angiodysplasia: an interventional study with thalidomide [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2012, 27(6): 1094-1101.
- [9] LEBRIN F, SRUN S, RAYMOND K, et al. Thalidomide stimulates vessel maturation and reduces epistaxis in individuals with hereditary hemorrhagic telangiectasia [J]. *Nat Med*, 2010, 16(4): 420-428.
- [10] KRAMER S G, KIDD T, SIMPSON J H, et al. Switching repulsion to attraction: changing responses to slit during transition in mesoderm migration [J]. *Science*, 2001, 292(17): 737-740.
- [11] YANG X M, HAN H X, GENG J G, et al. Slit-Robo signaling mediates lymphangiogenesis and promotes tumor lymphatic metastasis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 396(2): 571-577.
- [12] ZHOU W Y, YU W Z, XIE W K, et al. The role of Slit-Robo signaling in proliferative diabetic retinopathy and retinal pigment epithelial cells [J]. *Mol Vis*, 2011, 17(1): 1526-1536.
- [13] HAN X, ZHANG M C. Potential anti-angiogenic role of Slit2 in corneal neovascularization [J]. *Exp Eye Res*, 2010, 90(6): 742-749.
- [14] GUIJARRO-MUÑOZ I, CUESTA A M, ALVAREZ-CIENFUEGOS A, et al. The axonal repellent Slit2 inhibits pericyte migration: potential implications in angiogenesis [J]. *Exp Cell Res*, 2012, 15(4): 371-378.
- [15] BAUDITZ J, LOCHS H, VODERHOLZER W. Macroscopic appearance of intestinal angiodysplasias under antiangiogenic treatment with thalidomide [J]. *Endoscopy*, 2006, 38(10): 1036-1039.

收稿日期: 2012-08-30

姜黄素逆转非小细胞肺癌吉非替尼耐药的研究

盛琦¹, 陈建^{2*}, 李茵²(1.浙江省血液中心, 杭州 310006; 2.浙江大学医学院附属第一医院, 杭州 310003)

摘要: 目的 研究姜黄素对吉非替尼耐药非小细胞肺癌细胞株 PC9/G2 耐药性的影响及作用机制。方法 MTT 法测定姜黄素对 PC9/G2 的无毒剂量及对 PC9/G2 对吉非替尼耐药的逆转效应, 实时荧光定量法测定姜黄素对 EGFR 下游通路中 PI3K 表达水平的影响, 分光光度法测定姜黄素对凋亡蛋白 Caspase-3 活性的影响。结果 姜黄素对 PC9/G2 的无毒剂量为 $4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 姜黄素联合吉非替尼组细胞存活率比单用吉非替尼组降低 13%~22%, 姜黄素使 PI3K 的表达水平明显下降, Caspase-3 凋亡蛋白活性显著提高。结论 姜黄素对 PC9/G2 具有耐药逆转作用, 作用机制可能是通过下调 PI3K 的表达水平, 诱导更多的凋亡蛋白 Caspase-3 而实现。

关键词: 姜黄素; 吉非替尼耐药; 逆转; 机制

中图分类号: R961

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)04-0360-05

Experimental Study of Curcumin on the Reversal of Gefitinib Resistance in Non-small Lung Cancer Cell Line

SHENG Qi¹, CHEN Jian^{2*}, LI Jun²(1.Zhejiang Blood Centre, Hangzhou 310006, China; 2.The First Affiliate Hospital,

基金项目: 浙江省中医药科学研究基金计划(2011ZB065; 2010ZA051)

作者简介: 盛琦, 女, 主管技师 Tel: 13606628212 E-mail: shengqi0986@163.com *通信作者: 陈建, 男, 硕士, 主管药师 Tel: 13588084969 E-mail: cj21_0503@163.com

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effect and its mechanism of the curcumin on the reversal of gefitinib resistance in non-small lung cancer cell line PC9/G2. **METHODS** The non-toxic dosage of PC9/G2 to curcumin and the reversal of drug resistance were determined with MTT method. The expression of PI3K, which acted in EGFR downstream signal path, was tested with Real-time quantitative PCR. The activity of apoptosis proteins Caspase-3 was determined with spectrophotometry. **RESULTS** The non-toxic dosage of PC9/G2 to curcumin was $4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. The cell survival rate in curcumin combining gefitinib group was 13%–22% less than gefitinib group. The expression level of PI3K dropped significantly, and Caspase-3 apoptosis proteins activity increased significantly. **CONCLUSION** Curcumin can reverse the gefitinib resistance cell line PC9/G2 in a certain extent, which may be attributed to down regulating of PI3K expression and inducing more apoptosis proteins of Caspase-3.

KEY WORDS: curcumin; gefitinib resistance; reversion; mechanism

肺癌是发病率和死亡率居于首位的恶性肿瘤,酪氨酸酶抑制剂(TKI)是针对细胞表皮生长因子受体(EGFR)开发出的靶向抗肿瘤药物,耐药是制约 TKI 靶向药物的主要问题。TKI 的耐药不仅与 EGFR T790M 突变有关,更与 EGFR 下游信号通路转导子改变密切相关^[1-2]。由于 EGFR 下游信号通路有多个关键转导子,因此寻找一种有“多靶点”功效,可以改善 EGFR 下游信号通路传导的药物是逆转 TKI 耐药的有效策略。姜黄素是从姜黄、郁金、莪术、菖蒲等中药的根茎中提取的一种酚类色素,文献报道具有抗氧化、清除自由基、调节免疫、保护神经系统等“多靶点”作用^[3]。本研究观察姜黄素对吉非替尼耐药非小细胞肺癌细胞株 PC9/G2 耐药性的影响,并进一步明确姜黄素逆转 PC9/G2 耐药的作用机制。

1 材料和方法

1.1 试剂与材料

StepOne TM 实时荧光定量仪(美国应用生物系统公司); Model 680 酶标仪(BIORAD 公司); Allegra TMX-12R 高速低温离心机(Beckman 公司); CJ-1100 水套式 CO₂ 培养箱(长沙长棉应用技术研究所以)。

原料药姜黄素(上海国药试剂有限公司,粉剂,相对分子质量 368.38,批号: F20050102,纯度>98%),以 DMSO(Sigma 公司)溶解为 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 保存于 -20°C 冰箱备用;吉非替尼(山东贵创生物科技公司,粉剂,相对分子质量 449.90,批号: 700320,纯度>98%),以 DMSO 溶解为 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 保存待用;四氮甲唑蓝(methylthazol tetrazolium, MTT)(SERVA 公司);RNA 提取试剂盒(R6814-00 型)(Omega 公司);cDNA 合成试剂盒(Promega 公司);qPCR 测定试剂盒(SYBR Green I)(TaKaRa 公司);RPMI-1640 培养基(GIBCOBRL 公司);新生牛血

清(杭州四季青)。

1.2 细胞来源和培养

吉非替尼耐药非小细胞肺癌细胞系 PC9/G2 购自同济大学附属上海市肺科医院肿瘤科^[4],细胞培养于含 10%新生牛血清、 $100 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 青霉素和 $100 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 链霉素的 RPMI-1640 培养液中, 37°C 、5%CO₂ 培养箱中常规培养,2~3 d 传代 1 次,待 3 代后稳定,取对数生长期细胞用于实验。

1.3 姜黄素无毒剂量试验

取对数生长期的 PC9/G2 细胞($2 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$, $100 \mu\text{L}\cdot\text{孔}^{-1}$)接种于 96 孔板内,浓度由低到高分别加入姜黄素 5, 10, 15, 20, $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,每个浓度设 3 个平行复孔,并设阴性对照组,分别共同孵育 24, 48, 72 h 后,更换新鲜培养液,每孔加入 MTT ($5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) $20 \mu\text{L}$,继续培养 4 h,低温离心($500 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 10 min),弃上清液,可见蓝紫色结晶,加入 DMSO $100 \mu\text{L}$,摇匀,振荡 10 min,在酶标仪测定 490 nm 处的吸光度 OD。抑制率计算公式: $(1 - \text{OD 实验组} / \text{OD 对照组}) \times 100\%$ 。拟合姜黄素剂量浓度-抑制率曲线,分别计算 IC₅₀ 和 IC₁₀ 值,取 IC₁₀ 作为姜黄素后续实验工作浓度。

1.4 姜黄素逆转 PC9/G2 耐药试验

将对数生长期 PC9/G2 细胞用含 10%小牛血清的 RPMI-1640 培养液调整细胞数为 $2 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ 。取 2 块 96 孔板,先加入无毒性剂量姜黄素 30 min 后,由低到高浓度加入吉非替尼 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,每个浓度设 3 个平行复孔;同时设只加入吉非替尼(浓度梯度同上)的阳性对照组;以及加入生理盐水的阴性对照组。每组均进行药物孵育,其余方法均与“1.3”项下内容相同,用酶标仪检测 OD 值(490 nm 吸收值)。存活率计算公式: $\text{OD 实验组} / \text{OD 对照组} \times 100\%$

1.5 实时荧光定量法测定 PI3K mRNA

PC9/G2 分别经工作浓度的姜黄素+0.1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 吉非替尼、0.1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 吉非替尼单药(阳性对照组)、生理盐水(阴性对照组)处理 48 h 后,收集细胞制成 $1\times 10^6\text{ mL}^{-1}$ 的细胞悬液,低温离心收集底部细胞。取出 6 孔板按 Trizol 试剂盒说明书提取各组总 RNA,按 PrimeScript RT reagent Kit 说明书进行逆转录反应,获取 cDNA 后各组按 SYBR Premix Ex Taq、目的基因/内参基因上游引物、目的基因/内参基因下游引物、cDNA、灭菌蒸馏水分别为 12.5, 0.5, 0.5, 2.0, 9.5 μL 配成 25 μL 反应体系在荧光定量 PCR 仪上扩增,先 95 $^{\circ}\text{C}$ 10 min 预变性,然后按 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s、60 $^{\circ}\text{C}$ 60 s 扩增 40 个循环。在 PCR 仪上读取 Ct 值,Ct 值代表目标扩增产物达到设定阈值所经历的循环数, ΔCt 值代表目的基因的 Ct 值减去内参基因 Ct 值的差值, $\Delta\Delta\text{Ct}$ 值代表实验组 ΔCt 值减去对照组 ΔCt 值的差值。计算 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 值代表相对表达量。

内参基因 GAPDH 引物序列为:上游 5'-GAGTCAACGGATTGGTCGT-3',下游 5'-TTGATTTTGAGGGATCTCG-3'。

目标基因 PI3K 引物序列为:上游 5'-CATCAC TTCCTCCTGCTCTAT-3',下游 5'-CAGTTGTTGG CAATCTTCTTC-3'。

1.6 分光光度法检测 Caspase-3 活性

PC9/G2 分别经工作浓度的姜黄素、生理盐水(阴性对照组)处理 12, 24, 48 h 后,收集细胞制成 $1\times 10^6\text{ mL}^{-1}$ 的细胞悬液,低温离心收集底部细胞。按以下步骤操作:用 PBS 洗涤细胞 2 次($2000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,离心 5 min)收集 $3\sim 5\times 10^6$ 个细胞;用 50 μL 冰冷裂解液悬浮细胞;置冰上 20 min;4 $^{\circ}\text{C}$, $10000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,离心 3 min;把离心上清液转移至新的试管中,并放置冰上,测定蛋白浓度;吸取 50 μL 含 50~200 μg 蛋白的细胞裂解上清液;如体积不足 50 μL 用裂解液补足至总体积 50 μL ;加入 50 μL 的 2 $\times$ Reaction Buffer(使用前每 50 μL 2 $\times$ Reaction Buffer 加入 0.5 μL DTT);加入 5 μL Caspase-3 底物并于 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 4 h;用酶标仪或分光光度计(100 μL 的比色皿)在波长 405 nm 或 400 nm 测定其吸光值。通过计算 OD(诱导剂)/OD(阴性对照)的倍数来确定姜黄素对 Caspase-3 活化程度。

1.7 统计分析

计量资料数据统计用 $\bar{x}\pm s$ 表示;两组均数之间比较采用 *t* 检验;多组均数之间比较用方差分析

(*F* 检验)。采用 SPSS 11.0 统计软件包统计分析。

2 结果

2.1 姜黄素对 PC9/G2 的无毒剂量

MTT 检测结果显示,姜黄素各组的吸光度(OD 值)随药物浓度增加呈下降趋势,抑制率呈增高趋势,具有剂量依赖性。经拟合后的线性方程为 $Y=1.9149X+1.8712$, $r=0.9923$ 。经计算姜黄素对 PC9/G2 细胞的 IC_{50} 为 $25.1\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, IC_{10} 为 $4.25\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。因此选用 $4\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 作为姜黄素后续实验工作浓度。结果见表 1。

表 1 姜黄素作用 48 h 后对 PC9/G2 细胞系的抑制作用

组别	吸光度值(OD)	细胞抑制率/%
阴性对照组	1.331 $\pm$ 0.31	0
姜黄素 $5\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	1.232 $\pm$ 0.21	7.4
姜黄素 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	1.051 $\pm$ 0.22	21.0
姜黄素 $15\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	0.882 $\pm$ 0.11	33.7
姜黄素 $20\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	0.754 $\pm$ 0.13	43.4
姜黄素 $40\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	0.317 $\pm$ 0.25	76.2

2.2 姜黄素对 PC9/G2 的逆转作用

MTT 检测结果显示,工作浓度的姜黄素联合吉非替尼比单用吉非替尼对 PC9/G2 有更明显的抑制作用($P<0.05$ 或 $P<0.01$),结果见图 1。

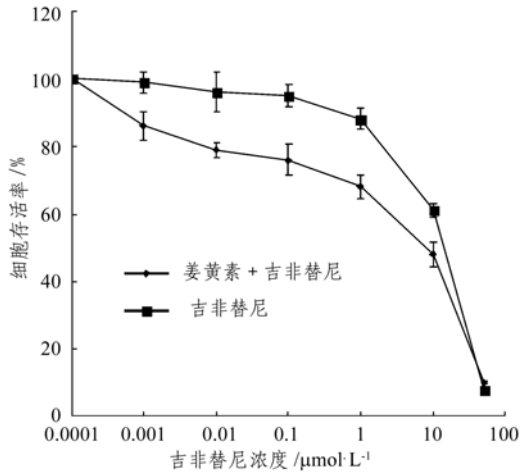


图 1 姜黄素对耐吉非替尼细胞系 PC9/G2 的逆转作用

Fig 1 Reversal effect of Curcumin on Gefitinib resistance in PC9/G2

2.3 实时荧光定量法测定 PI3K mRNA 结果

姜黄素组+吉非替尼组、吉非替尼组及阴性对照组的 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 值分别为 0.235 ± 0.05 , 0.692 ± 0.04 和 1.00 ± 0.05 , 差异均具有统计学意义($P<0.05$)。联合作用组的值明显低于单用组和阴性对照组。

该结果表明姜黄素明显下调了 PI3K 的表达水平, 结果见表 2。

表 2 姜黄素作用 48 h 后 PC9/G2 细胞系 PI3K mRNA 表达的变化

Tab 2 The changes of PI3K mRNA expression in PC9/G2 cell line after curcumin incubation for 48 h

组别	PI3K Ct 值	GAPDH Ct 值	Δ Ct 值	$\Delta\Delta$ Ct 值	$2^{-\Delta\Delta Ct}$
姜黄素+ 吉非替尼组	26.98±0.05	20.21±0.02	6.77±0.05	2.09±0.05	0.235±0.05
吉非替尼组	25.57±0.04	20.36±0.03	5.21±0.04	0.53±0.04	0.692±0.04
阴性对照组	24.82±0.05	20.14±0.06	4.68±0.06	0±0.06	1.000±0.05

2.4 分光光度法检测 Caspase-3 活化程度

姜黄素组作用 12, 24 或 48 h 后 PC9/G2 的 Caspase-3 活性的相对值分别为(1.86±0.05)、(3.65±0.03)和(7.14±0.08), 与阴性对照组(1.00±0.04)相比, 差异有统计学意义($P<0.05$)。该结果表明姜黄素明显提高了 Caspase-3 凋亡蛋白的活性, 结果见图 2。

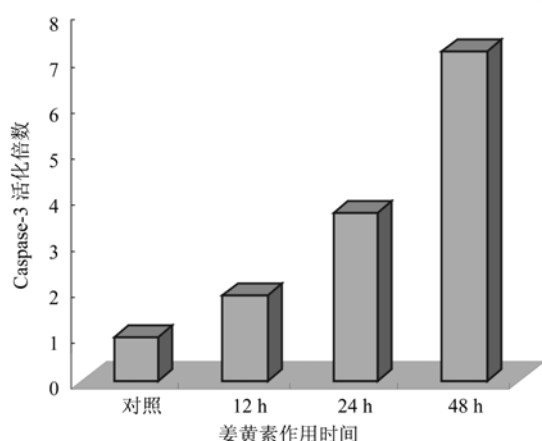


图 2 姜黄素对 PC9/G2 细胞系 Caspase-3 活性的影响

Fig 2 The effect of curcumin on activity of Caspase-3 in PC9/G2 cell line

3 讨论

非小细胞肺癌约占肺癌病例的 80%。传统治疗晚期非小细胞肺癌以化疗为主要手段, 但随着靶向药物研究日趋增多, 目前已发现 EGFR 突变的非小细胞肺癌患者采用 TKI 抑制剂, 如吉非替尼、厄洛替尼等可以获得明显的疾病缓解和生存期的改善, 但有效病例经过 9~12 个月缓解期后仍会出现疾病进展, 发生获得性耐药^[5-6]。耐药仍是制约 TKI 靶向药物疗效的主要问题。

姜黄素具有多方面的药理活性, 特别是在调控肿瘤相关基因表达上有明显的作用: Bhaumik

等观察到姜黄素联合 FOLFOX 方案处理结肠癌 HCT-16 细胞系 48 h 后可以明显减少残存的耐药细胞, 逆转机制主要是通过下调 EGFR、HER-2、Akt 等致癌因子^[7]。Dorothy 等在头颈部肿瘤体外试验发现姜黄素通过抑制 Akt 通路中 NFκB 促进肿瘤细胞凋亡^[8]。Kim 等则在前列腺癌的研究中发现姜黄素通过抑制 EGFR 信号通路诱导肿瘤细胞发生凋亡^[9]。上述研究均表明姜黄素能调控 EGFR 相关信号通路上多个靶基因, 提示姜黄素作为 TKI 耐药逆转剂开发的极大潜力。

本实验为了探讨姜黄素逆转非小细胞肺癌 TKI 耐药的作用及机制, 采用耐吉非替尼非小细胞肺癌细胞株 PC9/G2 为靶细胞进行逆转研究, 发现姜黄素在 4 μmol·L⁻¹ 的无细胞毒剂量下能够提高吉非替尼的细胞毒作用, 姜黄素联合吉非替尼组细胞存活率比单用吉非替尼组降低 13%~22%, 这说明姜黄素对 PC9/G2 细胞株具有明显的逆转耐药作用。

EGFR 属于蛋白酪氨酸激酶受体家族, 其异常高表达或突变与肿瘤的恶性生物学行为和患者不良预后密切相关。TKI 正是针对 EGFR 开发出的靶向抗肿瘤药物^[10]。目前多认为 EGFR 二次突变 T790M 与 EGFR 下游通路信号转导子的改变是 TKI 靶向药物耐药的主要机制^[11-12]。其中 PI3K-Akt 是 EGFR 下游非常重要的信号通路, PI3K 是通路中的重要转导子。PI3K 在细胞膜内侧能将磷脂酰 4, 5-二磷酸肌醇磷酸化成磷脂酰肌醇三磷酸, 后者进一步与 Akt 结合后, 活化下游相关凋亡蛋白 Caspase-3, 引起细胞凋亡。可见 PI3K 基因水平及其所调控的 Caspase-3 酶活性在 TKI 耐药机制中有着重要作用。本实验通过实时荧光定量法检测了 PI3K 基因表达水平, 分光光度法检测了 Caspase-3 酶活性, 结果发现 PI3K 的表达水平明显下降, 而 Caspase-3 凋亡蛋白活性显著提高。这提示了下调 PI3K 表达、升高 Caspase-3 酶活性可能是姜黄素逆转肺癌 PC9/G2 耐 TKI 的机制。

综上所述, 姜黄素对吉非替尼耐药细胞株 PC9/G2 具有耐药逆转作用, 其逆转作用机制可能是通过下调 EGFR 下游信号通路中 PI3K 的表达水平, 从而诱导更多的凋亡蛋白 Caspase-3 而实现的。姜黄素作为非小细胞肺癌吉非替尼耐药逆转剂的使用为临床肺癌治疗开拓了新的思路, 但还需更多的基础和临床研究进一步探索证实。

REFERENCES

- [1] ERCAN D, ZEJNULLAHU K, YONESAKA K, et al. Amplification of EGFR T790M causes resistance to an irreversible EGFR inhibitor [J]. *Oncogene*, 2010, 29(16): 2346-2356.
- [2] JAIN A, TINDELL C A, LAUX I, et al. Epithelial membrane protein-1 is a biomarker of gefitinib resistance [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(33): 11858-11863.
- [3] CHEN L, LV P, PAN J C, et al. Effects of curcumin on adrenal gland, ACTH in serum and immune function in chronically stressed rats [J]. *J Wenzhou Med Coll(温州医学院学报)*, 2008, 38(1): 22-24.
- [4] SU B, SU C X, ZHANG H P, et al. Selection and establishment of gefitinib-resistant PC9 cell line and its gene expression profile [J]. *Tumor(肿瘤)*, 2008, 28(7): 552-557.
- [5] SUTANI A, NAGAI Y, UDAGAWA K, et al. Gefitinib for non-small-cell lung cancer patients with epidermal growth factor receptor gene mutations screened by peptide nucleic acid-locked nucleic acid PCR clamp [J]. *Br J Cancer*, 2006, 95(11): 1483-1489.
- [6] FELIP E, CEDRES S, PERALTA S, et al. Adjuvant chemotherapy in non-small cell lung cancer (NSCLC) [J]. *Ann Oncol*, 2007, 18(suppl 9): ix 143-146.
- [7] PATEL B B, GUPTA D, ELLIOTT A A, et al. Curcumin targets FOLFOX-surviving colon cancer cells via inhibition of EGFRs and IGF-IR [J]. *Antivan Res*, 2010, 30(2): 319-326.
- [8] DOROTHY W, MYSORE S V, KERRY S, et al. Liposome-encapsulated curcumin suppresses growth of head and neck squamous cell carcinoma in vitro and in xenografts through the inhibition of nuclear factor kB by an AKT-independent pathway [J]. *Clin Can Res*, 2008, 14(19): 6228-6236.
- [9] KIM J H, XU C J, KEUM Y S, et al. Inhibition of EGFR signaling in human prostate cancer PC-3 cells by combination treatment with β -phenylethyl isothiocyanate and curcumin [J]. *Carcin*, 2006, 27(3): 475-482.
- [10] XUE L, BAI Y J. Progress of EGFR mutation and EGFR-targeted therapy [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2012, 29(4): 311-314.
- [11] JONES H E, GODDARD L, GEE J M, et al. Insulin-like growth factor-1 receptor signaling and acquired resistance to gefitinib (ZD1839, Iressa) in human breast and prostate cancer cells [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2004, 11(4): 793-814.
- [12] KOKUBO Y, GEMMA A, NORO R, et al. Reduction of PTEN protein and loss of epidermal growth factor receptor gene mutation in lung cancer with natural resistance to gefitinib (Iressa) [J]. *Br J Cancer*, 2005, 92(9): 1711-1719.

收稿日期: 2012-08-05

雷贝拉唑对氯吡格雷在大鼠体内药动学的影响

王军¹, 付翠香¹, 吴伟明¹, 王增寿¹, 胡国新^{2*} (1.温州医学院附属第二医院药学部, 浙江 温州 325027; 2.温州医学院药学院药理学教研室, 浙江 温州 325027)

摘要: 目的 研究雷贝拉唑对氯吡格雷在大鼠体内的药动学的影响。方法 将 16 只大鼠随机分成 2 组, 单独给予氯吡格雷(I 组)和联用雷贝拉唑(II 组), 于给药后不同时间点采集血样, HPLC-DAD 法测定血浆中氯吡格雷代谢产物 SR26334 的浓度, 用 DAS 药动学软件对 SR26334 血药浓度-时间数据采用非房室模型分析, 求得氯吡格雷在大鼠体内主要的药动学参数, 并对其进行统计分析。结果 与单用组比较, 联用雷贝拉唑组的主要药动学参数($AUC_{(0-48)}$, $AUC_{(0-\infty)}$, $MRT_{(0-48)}$, $t_{1/2}$, CL/F , C_{max}) 差异均无统计学意义($P>0.05$), t_{max} 由 $(1.17 \pm 0.41)h$ 减少为 $(0.58 \pm 0.20)h$ ($P<0.01$)。结论 雷贝拉唑加快氯吡格雷在体内代谢为 SR26334 的速度, 但对于其代谢程度没有显著性影响。

关键词: 氯吡格雷; 雷贝拉唑; SR26334; 药动学

中图分类号: R945.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)04-0364-05

Effects of Rabeprazole on Pharmacokinetics of Clopidogrel in Rats

WANG Jun¹, FU Cuixiang¹, WU Weiming¹, WANG Zengshou¹, HU Guoxin^{2*} (1.Department of Pharmacy, The Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, China; 2.Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effect of rabeprazole on pharmacokinetics of clopidogrel in rats. **METHODS** A total of 16 rats were divided into two groups: one was administrated with clopidogrel, and another with the combination of rabeprazole. Concentrations of clopidogrel's metabolite SR26334 in plasma were determined by HPLC-DAD. The plasma

基金项目: 温州市科技计划项目(Y20100262)

作者简介: 王军, 男, 硕士, 主管药师 Tel: (0577)88002652

E-mail: feyzjs@126.com

*通信作者: 胡国新, 男, 教授, 硕士

Tel:

(0577)86689986 E-mail: wzhhgx@yahoo.com.cn