

黄芩素联合紫杉醇对人肺癌细胞的生长抑制作用

原少斐, 朱林佳, 郑维镠, 陈文俊* (温州医科大学附属第三医院肿瘤中心, 浙江 瑞安 325200)

摘要: 目的 探讨黄芩素联合紫杉醇对人肺癌细胞株 QG-56 的影响。方法 以不同浓度的黄芩素、紫杉醇分别组成单药组和联合用药组, 另设不加药的空白对照组, 分别作用于 QG-56 细胞 24, 48, 72 和 96 h, 观察细胞数量和形态的变化, MTT 法检测各组对 QG-56 细胞的增殖抑制作用, 用流式细胞仪检测各组细胞凋亡率的改变。结果 不同浓度的各实验组作用后细胞数量明显减少、形态不规则, 部分细胞核固缩和胞质减少, 而对照组细胞生长状态良好。黄芩素、紫杉醇单用与联用均能抑制 QG-56 细胞增殖, 呈剂量-时间依赖效应, 联用组细胞抑制率较单药组明显增高, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。黄芩素、紫杉醇单用与联用均能诱导 QG-56 细胞凋亡, 联合组更为明显 ($P<0.05$)。结论 黄芩素可显著抑制人肺癌细胞株 QG-56 细胞生长, 并能有效增强紫杉醇对人肺癌 QG-56 细胞的增殖抑制作用; 两者具有协同作用。

关键词: 黄芩素; 紫杉醇; 肺癌细胞; 凋亡

中图分类号: R979.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)12-1306-05

Effect of Baicalein Combined Paclitaxel on Proliferation of Human Lung Carcinoma Cell

YUAN Shaofei, ZHU Linjia, ZHENG Wei'e, CHEN Wenjun* (Cancer Center, the Third Affiliated Hospital, Wenzhou Medical College, Rui'an 325200, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the effect of baicalein combined with paclitaxel on human lung carcinoma cell line QG-56. **METHODS** QG-56 cells were treated with baicalein, paclitaxel alone or their combination, with the untreated cells used as control. After 24, 48, 72, 96 hours of treatment, the cell growth condition was observed by invert microscope and inhibition rate was studied by MTT assay. The apoptosis was analyzed by flow cytometry. **RESULTS** The cell population decreased and shape, size changed after treating with different concentration of experimental groups. Baicalein and paclitaxel used alone or in combination both inhibited the proliferation of QG-56 cells. The inhibition ratio of their combination was more higher ($P<0.05$), and a synergistic effect of the two agents was noted in their combined action ($P<0.05$). Combined treatment of the cells resulted in significantly higher apoptosis rate than that alone ($P<0.05$). **CONCLUSION** Baicalein can significantly inhibit QG-56 cell growth. It can act synergistically with paclitaxel to inhibit the tumor proliferation of QG-56 cells. A synergistic effect is observed between them.

KEY WORDS: baicalein; paclitaxel; lung cancer cell; apoptosis

肺癌是对人类健康与生命危害最大的恶性肿瘤之一^[1], 其发病率逐年上升, 居大、中城市恶性肿瘤发病率的首位, 其中 2/3 的患者确诊时已属中晚期, 失去了手术治疗的机会, 化疗成为晚期肺癌的主要治疗方法。紫杉醇是肺癌化疗的有效药物, 但不管是紫杉醇单药还是联合化疗, 对肺癌的化疗效果仍然欠佳^[2]。因此寻求一种有效的手段增强肺癌细胞对紫杉醇的敏感性以增加紫杉醇的疗效, 从而改善患者预后显得尤为重要。近年来祖国传统医学的有些药物用于抗癌研究受到极大关注。黄芩素是传统中药黄芩的主要成分之一, 近年来因为其具有良好的抗肿瘤、抗氧化和抗病毒活性而备受广大学者关注。黄芩素在体内外的抗肿瘤活性已经通过实验得到广泛证实^[3-4]。一些

研究显示^[5-6]黄芩素可以通过以下途径发挥抗肿瘤作用: 清除氧自由基; 减弱 NF- κ B 活动; 抑制调节细胞周期的重要基因, 诱导凋亡; 抑制环氧合酶 2 及脂氧合酶基因表达等。目前关于黄芩素与化疗药物的联合作用尚未见报道。本研究观察黄芩素单独及与紫杉醇合用对体外肺癌 QG-56 细胞株生长的影响, 为临床用药提供有益的实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞与试剂

人肺癌细胞系 QG-56 为笔者所在医院中心实验室传代保存。紫杉醇注射液购自北京华素制药股份有限公司(批号: 20121105, 规格: 5 mL : 30 mg), 黄芩素(批号: 111595-201304)购自上海信裕生物科技公司; RPMI-1640 培养液、10%新生小牛血清、

作者简介: 原少斐, 男, 硕士, 讲师 Tel: (0577)65866342
(0577)65866345 E-mail: cwj2233@126.com

E-mail: ysf1004@163.com

*通信作者: 陈文俊, 男, 主任医师 Tel:

0.25%胰酶溶液均购自 Gibco 公司; 噻唑蓝(MTT)、分析纯二甲基亚砷(DMSO)购自 Sigma 公司; PI 染色试剂盒(深圳精美公司, 批号: 130622-2)。CO₂ 孵箱(Thermo 公司); 倒置相差显微镜(日本 Olympus 公司); 全自动酶标仪(Anthos 公司); 流式细胞仪(Becton Dickinson 公司)。

1.2 药物

黄芩素(纯度>98%)用 DMSO 配制成 0.2 mmol·L⁻¹, -20 °C 冰箱保存。紫杉醇用无菌生理盐水配成 0.2 mol·L⁻¹。DMSO 的终浓度<0.1%。

1.3 倒置显微镜观察细胞形态的变化

取对数生长期 QG-56 细胞, 2×10⁵·孔⁻¹接种于 6 孔板, 4 h 后加入不同浓度的黄芩素(10, 20, 40, 80, 160 μg·mL⁻¹), 不同浓度的紫杉醇(0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 μg·mL⁻¹), 以及两者联合用药, 药物处理后 24, 48, 72, 96 h 在倒置显微镜下连续观察细胞形态学变化并拍摄记录细胞形态。

1.4 MTT 法检测各组细胞的增殖抑制作用

取对数生长期 QG-56 细胞, 以 5×10³·孔⁻¹的密度接种于 96 孔板, 37 °C、5% CO₂ 培养 4 h。之后每孔加入不同浓度的药物(设置同“1.3”项下), 另设不加药的对照组, 每个剂量设 5 个复孔。分别培养 24, 48, 72, 96 h 后每孔加入 5 mg·mL⁻¹的 MTT 20 μL, 继续培养 4 h。终止培养, 弃上清, 每孔加 150 μL DMSO, 振荡 10 min, 使结晶物充分溶解, 测定各孔的吸光度 *A* 值, 以对照组细胞活力为 100%, 计算各组抑制率。抑制率(%)=(对照组 *A*₄₉₀ 值-实验组 *A*₄₉₀ 值)/对照组 *A*₄₉₀ 值×100%。

1.5 流式细胞术检测各组细胞的凋亡

取对数生长期 QG-56 细胞, 2×10⁵·孔⁻¹接种于 6 孔板, 4 h 后加入不同浓度药物(同“1.3”项下), 另设不加药的对照组, 每一药物浓度设 4 个复孔, 用胰酶收集各药物诱导不同时间后的样本。体积分数 75%的乙醇 4 °C 固定过夜, PBS 洗 2 次, 1 mg·mL⁻¹ RNase A 37 °C 消化 30 min, 100 μg·mL⁻¹ 碘化丙啶 4 °C 染色 20 min。用流式细胞仪分析, 每组样本计数分析 10⁴ 个细胞。应用 ModFit T V2.0 软件处理数据。

1.6 药物联合作用效应计算

对每一种药物所用的浓度不同则有不同的作用效应, 即抑制率(*f*_a)=1-实验组平均 OD 值/对照组平均 OD 值。根据中效方程式 $f_a/f_u=(D/D_m)^m$, 两

边取对数: $\log f_a/f_u = m \log D - m \log D_m$ 。设 $Y = \log f_a/f_u$, $x = \log D$, $a = -m \log D_m$ (m 为斜率= b) 得到直线方程式 $Y = bx + a$ 其中 $f_u = 1 - f_a$, D 为药物浓度, D_m 表示中效浓度(即 0.5 效应时的药物浓度)。计算出两种药物单用及合用时各自的中效浓度 $D_m(\log D_m = -a/b)$, 然后可计算出两药合用时在各种效应时的合用指数 $CI = D_1/Dx_1 + D_2/Dx_2 + \alpha D_1 D_2 / Dx_1 Dx_2$, D_1 、 D_2 为合用时产生 X 效应时两药各自所需的浓度, Dx_1 、 Dx_2 为两药单用时产生 X 效应时各自的浓度。 $\alpha=1$ 为两种相互非排斥性药物, $\alpha=0$ 为两种相互排斥性药物。 $CI < 1$ 为协同, $CI = 1$ 为相加, $CI > 1$ 为拮抗^[7]。

1.7 统计学处理

采用 SPSS13.0 软件处理系统进行统计学分析。均数比较采用 One-way ANOVA、post hoc test 交互效应分析采用 factorial analysis。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 QG-56 细胞形态的改变

加药前对照组与实验组 QG-56 细胞数量和形态基本一致; 加药 24, 48, 72, 96 h 后, 对照组细胞生长良好、数量随生长时间延长而增多, 细胞大小均匀、形态一致, 高倍镜下可见细胞染色质疏松、胞质丰富。实验组细胞培养 48 h 后, 各实验组均可见细胞数量明显减少, 细胞大小不一, 形态不规则, 高倍镜可见细胞核固缩、胞质减少以及胞质内出现空泡, 部分细胞脱壁呈半悬浮状态, 以上细胞数量及形态改变与药物作用时间和浓度呈正相关, 结果见图 1。

2.2 各组 QG-56 细胞生长的抑制作用

黄芩素、紫杉醇单药对 QG-56 细胞增殖的抑制作用呈时间和浓度依赖性, 随浓度的增加和作用时间的延长, 其对细胞增殖的抑制作用逐渐增强。黄芩素和紫杉醇联合作用于 QG-56 细胞后, 对细胞增殖的抑制作用较两药单独使用时明显增强, 差异具有统计学意义(P<0.05), 两药联用具有交互效应(P<0.05), 且为协同作用, 结果见表 1。

2.3 各组 QG-56 细胞凋亡的影响

各实验组均出现不同程度的呈时间和剂量依赖性, 并对时间和剂量增加, 细胞凋亡增加(P<0.05)。在相同时间段, 各不同浓度组间差异均具有统计学意义(P<0.01); 纵向比较, 相同浓度作用于 QG-56 细胞, 各不同时间组间差异均具有统计学意义(P<0.05)。结果见表 2、图 2。

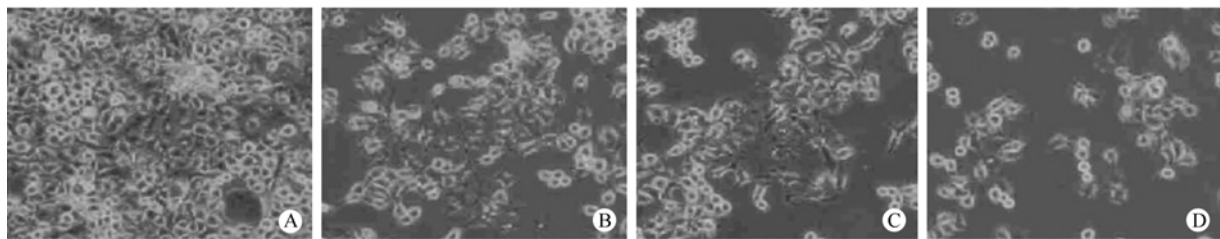


图 1 黄芩素联合紫杉醇作用致 QG-56 细胞的形态变化
A-对照组; B-黄芩素作用后 48 h; C-紫杉醇作用后 48 h; D-紫杉醇联合黄芩素作用后 48 h

Fig 1 The shape change of QG-56 after treated with baicalein combined with paclitaxel
A-control group; B-after baicalein effect 48 h; C-after paclitaxel effect 48 h; D-after baicalein combined with paclitaxel effect 48 h

表 1 各组对 QG-56 细胞增殖的抑制作用($n=5$, $\bar{x} \pm s$)
Tab 1 The inhibitory effects of Baicalein and paclitaxel on proliferation of QG-56 cells($n=5$, $\bar{x} \pm s$)

组 别	24 h	48 h	72 h	96 h
黄芩素/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$				
10	10.4 $\pm$ 1.0	12.7 $\pm$ 1.2	13.8 $\pm$ 1.1	15.5 $\pm$ 1.4
20	12.9 $\pm$ 1.3 ¹⁾	17.3 $\pm$ 1.4 ¹⁾	18.0 $\pm$ 1.3 ¹⁾	19.3 $\pm$ 1.6 ¹⁾
40	14.4 $\pm$ 1.2 ¹⁾	21.4 $\pm$ 1.4 ¹⁾	23.4 $\pm$ 1.5 ¹⁾	24.5 $\pm$ 1.6 ¹⁾
80	16.6 $\pm$ 1.3 ¹⁾	23.9 $\pm$ 1.6 ¹⁾	26.9 $\pm$ 1.5 ¹⁾	28.1 $\pm$ 2.0 ¹⁾
160	20.8 $\pm$ 1.5 ¹⁾	25.5 $\pm$ 1.5 ¹⁾	32.6 $\pm$ 1.8 ¹⁾	40.6 $\pm$ 2.0 ¹⁾
紫杉醇/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$				
0.1	20.7 $\pm$ 1.5	25.8 $\pm$ 1.6	32.1 $\pm$ 1.4	40.5 $\pm$ 1.7
0.2	22.9 $\pm$ 1.6 ¹⁾	30.5 $\pm$ 1.7 ¹⁾	38.6 $\pm$ 1.4 ¹⁾	45.4 $\pm$ 1.5 ¹⁾
0.4	26.3 $\pm$ 1.9 ¹⁾	35.3 $\pm$ 1.6 ¹⁾	47.1 $\pm$ 1.9 ¹⁾	50.9 $\pm$ 1.8 ¹⁾
0.8	32.6 $\pm$ 1.8 ¹⁾	40.2 $\pm$ 1.9 ¹⁾	53.7 $\pm$ 1.6 ¹⁾	55.1 $\pm$ 2.0 ¹⁾
1.6	37.3 $\pm$ 1.9 ¹⁾	48.6 $\pm$ 2.0 ¹⁾	58.9 $\pm$ 2.0 ¹⁾	65.0 $\pm$ 1.9 ¹⁾
紫杉醇+黄芩素/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$				
0.1 10	31.4 $\pm$ 1.6	39.5 $\pm$ 1.5	46.4 $\pm$ 1.8	55.7 $\pm$ 2.0
0.2 20	33.9 $\pm$ 1.8 ¹⁾	41.8 $\pm$ 2.1 ¹⁾	52.6 $\pm$ 2.0 ¹⁾	59.6 $\pm$ 2.0 ¹⁾
0.4 40	40.1 $\pm$ 1.7 ¹⁾	46.5 $\pm$ 1.8 ¹⁾	61.0 $\pm$ 2.1 ¹⁾	69.9 $\pm$ 2.0 ¹⁾
0.8 80	46.9 $\pm$ 1.6 ¹⁾	59.3 $\pm$ 2.1 ¹⁾	68.8 $\pm$ 1.6 ¹⁾	73.2 $\pm$ 2.1 ¹⁾
1.6 160	53.9 $\pm$ 2.2 ¹⁾	65.4 $\pm$ 1.9 ¹⁾	78.5 $\pm$ 2.0 ¹⁾	84.3 $\pm$ 2.1 ¹⁾

注: 与对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$
Note: Compared with the control group, ¹⁾ $P<0.05$

表 2 各组作用后 QG-56 细胞凋亡率的改变($n=4$, $\bar{x} \pm s$)
Tab 2 The apoptosis rates of QG-56 cells treated with Baicalein and paclitaxel($n=4$, $\bar{x} \pm s$)

组 别	24 h	48 h	72 h	96 h
黄芩素/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$				
10	4.6 $\pm$ 0.4	6.7 $\pm$ 0.4	8.1 $\pm$ 0.6	8.6 $\pm$ 0.7
20	6.8 $\pm$ 0.3 ¹⁾	7.8 $\pm$ 0.5 ¹⁾	9.6 $\pm$ 0.4 ¹⁾	12.5 $\pm$ 0.6 ¹⁾
40	7.9 $\pm$ 0.5 ¹⁾	8.5 $\pm$ 0.4 ¹⁾	11.8 $\pm$ 0.6 ¹⁾	13.8 $\pm$ 0.3 ¹⁾
80	8.3 $\pm$ 0.3 ¹⁾	11.6 $\pm$ 0.4 ¹⁾	14.7 $\pm$ 0.6 ¹⁾	15.3 $\pm$ 0.5 ¹⁾
160	10.1 $\pm$ 0.8 ¹⁾	14.3 $\pm$ 0.6 ¹⁾	17.9 $\pm$ 1.1 ¹⁾	20.5 $\pm$ 1.5 ¹⁾
紫杉醇/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$				
0.1	5.5 $\pm$ 0.2	6.7 $\pm$ 0.4	8.3 $\pm$ 0.5	11.2 $\pm$ 0.4
0.2	6.9 $\pm$ 0.3 ¹⁾	8.9 $\pm$ 0.6 ¹⁾	11.8 $\pm$ 0.4 ¹⁾	12.5 $\pm$ 0.4 ¹⁾
0.4	8.4 $\pm$ 0.6 ¹⁾	11.8 $\pm$ 0.8 ¹⁾	14.1 $\pm$ 0.6 ¹⁾	15.6 $\pm$ 0.7 ¹⁾
0.8	9.8 $\pm$ 0.8 ¹⁾	13.7 $\pm$ 0.6 ¹⁾	15.6 $\pm$ 0.7 ¹⁾	18.9 $\pm$ 0.8 ¹⁾
1.6	12.7 $\pm$ 1.0 ¹⁾	16.5 $\pm$ 0.9 ¹⁾	19.3 $\pm$ 0.9 ¹⁾	23.8 $\pm$ 1.2 ¹⁾
紫杉醇+黄芩素/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$				
0.1 10	7.6 $\pm$ 0.4 ¹⁾	8.4 $\pm$ 1.0 ¹⁾	10.8 $\pm$ 1.1 ¹⁾	16.6 $\pm$ 0.9 ¹⁾
0.2 20	8.8 $\pm$ 0.3 ¹⁾	9.7 $\pm$ 0.9 ¹⁾	13.5 $\pm$ 1.1 ¹⁾	18.4 $\pm$ 1.1 ¹⁾
0.4 40	10.1 $\pm$ 1.0 ¹⁾	14.8 $\pm$ 0.6 ¹⁾	16.8 $\pm$ 0.6 ¹⁾	21.5 $\pm$ 1.3 ¹⁾
0.8 80	13.4 $\pm$ 0.9 ¹⁾	18.3 $\pm$ 0.4 ¹⁾	20.8 $\pm$ 1.0 ¹⁾	24.6 $\pm$ 0.9 ¹⁾
1.6 160	15.6 $\pm$ 1.4 ¹⁾	21.4 $\pm$ 2.0 ¹⁾	23.8 $\pm$ 2.1 ¹⁾	29.6 $\pm$ 1.9 ¹⁾

注: 与对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$
Note: Compared with the control group, $P<0.05$

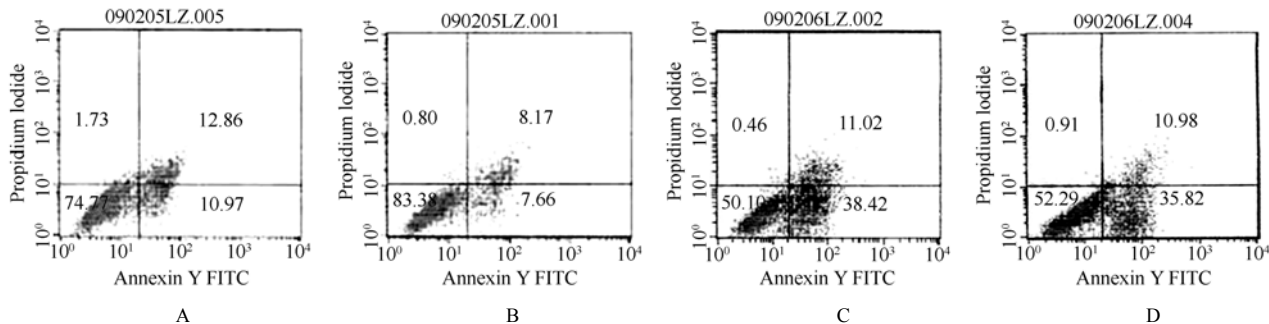


图 2 黄芩素联合紫杉醇作用后 QG-56 细胞凋亡的改变
A-对照组; B-黄芩素作用后 48 h; C-紫杉醇作用后 48 h; D-紫杉醇联合黄芩素作用后 48 h

Fig 2 The apoptosis of QG-56 after treating with Baicalein combined with paclitaxel
A-control group; B-after baicalein effect 48 h; C-after paclitaxel effect 48 h; D-after baicalein combined paclitaxel effect 48 h

2.4 计算合用指数 CI

两药合用时, 计算在不同效应时的合用指数 CI, 判断两药在不同效应时所需药物浓度之间的相互作用是协同、相加还是拮抗。结果表明, 黄芩素联合紫杉醇在<0.4 效应水平时, $CI>1$ 。在>0.4 效应水平时, 尤其是较高药物浓度时, $CI<1$, 相互之间表现为协同作用。

3 讨论

黄芩素是黄芩的主要活性成分之一, 也是其发挥药理作用的物质基础。研究证明, 黄芩素不仅具有抗炎、抗病毒、抗菌、抗氧化、抗过敏等药理作用^[8], 还对乳腺癌、白血病、结肠癌等肿瘤具有广谱的化学预防和治疗作用, 是一种理想的抗肿瘤药物^[9-11]。研究发现传统中药黄芩以其不良反应较小、疗效多样性等特点, 为寻找安全有效的抗癌药物提供了新的思路, 逐渐受到研究者的关注和重视。但是关于黄芩素对人肺癌细胞的抑制作用研究, 国内外报道较少。筛选有效的抗肿瘤药物, 对提高肺癌治疗效果、改善其预后, 无疑具有重要的理论意义和临床应用价值。

本实验在体外培养 QG-56 细胞的基础上, 利用 MTT 法观察黄芩素、紫杉醇以及两者联用对肺癌细胞增殖的影响, 结果表明两者单用及联用对 QG-56 肺癌细胞的增殖都具有明显的抑制作用, 随着药物浓度的增加和作用时间的延长, 这种抑制作用也逐渐增强, 并且呈现一定的时间剂量依赖关系; 而且联用比单用显示出更强的抑制作用, 表明两者有明显的协同作用, 同时细胞凋亡检测显示细胞凋亡率变化也呈时间和剂量依赖趋势。

目前有报道称黄芩素可诱导多种癌细胞和肿瘤细胞的凋亡, 其作用机制为: ①作用于凋亡相关的基因和蛋白: 用黄芩素对人的前列腺癌细胞 MiaPaCa-2 和 AsPC-1 进行治疗时发现^[12], 抗凋亡蛋白 Bcl-2 和 Mcl-1 显著降低, 而前凋亡蛋白 Bax 显著升高。黄芩素还可通过降低细胞周期依赖性激酶 4(cdk4)、细胞周期蛋白 B1 和细胞周期蛋白 D1, 来终止人肺鳞癌 CH27 细胞周期, 诱导细胞凋亡, 同时伴有 Bcl-2 和 Caspase-3 前体的降低。还可通过调节 Caspase-3 和 Fas 基因表达水平, 选择性地诱导人白血病 K562 细胞的凋亡, 呈剂量和时间依赖性, 但 Bcl-2 不变^[13]。②黄芩素通过线粒

体途径阻断细胞增殖并诱导细胞凋亡: 黄芩素可抑制 HepG2 细胞生长周期的 S 相, 使线粒体跨膜电位降低及细胞膜完整性破坏和 DNA 碎片的增加^[14]。③黄芩素通过抑制 IkB 的磷酸化, 接着减少 IL-6 和 XIAP 基因表达和 Caspase-9、Caspase-3 的激活, 对骨髓瘤细胞有抗增殖作用, 特别是对不成熟的 MPC-1 骨髓瘤细胞有抑制作用。④通过特异性抑制 12-LOX 发挥其抗肿瘤活性^[15]。⑤通过抑制 COX-2 抑制癌细胞增殖: COX-2 可使 AA 转化成 PGE2, 而在人类颈鳞状上皮细胞(HNSCC)中可见 PGE2 的高度表达, 黄芩素可通过抑制 HNSCC(SCC-25 和 KB 细胞株)中 COX-2 来抑制 PGE2 的过度表达及癌细胞的增殖^[16]。

在研究黄芩素对细胞周期的影响中, 笔者发现, 采用不同浓度的黄芩素作用于人肺癌细胞系 QG-56 后, 肿瘤细胞生长受到明显抑制, 黄芩素可诱导细胞凋亡, 且随黄芩素浓度的增高, S 期细胞数量明显减少, 而 G₂ 期, 即 DNA 复制完成到有丝分裂开始之前的一段时间的细胞比例明显降低, 这种现象说明了黄芩素可能主要是通过 G₂/M 期阻滞, 诱导细胞发生凋亡来实现对肺癌 QG-56 细胞的生长抑制作用的。细胞周期是一个复杂有序并受严格调控的过程, 细胞通过两个限制点(G₁/S 期和 G₂/M 期)保证细胞的复制。细胞周期调控机制的失控, 特别是 G₁/S 期和 G₂/M 期限制点的突变在细胞癌变过程中起着至关重要的作用。G₂/M 期阻滞可以增加损伤 DNA 的修复, 减少染色体畸变。本实验证实黄芩素可选择性地将细胞周期阻滞于 G₂/M 期, 保护细胞不因 DNA 损伤而突变产生异常增殖。黄芩素的肿瘤细胞 M 期阻滞作用, 对临床应用黄芩素抗肿瘤, 尤其与 M 期特异性化疗药物协同抗肿瘤有重要的理论意义。紫杉醇是四环二硝酸胺类化合物。它作用于细胞分裂过程中形成纺锤体的微管蛋白。能诱导与促进微管蛋白聚合、微管装配与微管稳定。从而阻止肿瘤细胞的生长, 特异作用于 G₂/M 期。在化疗药物的应用上, 周期特异性药物对杀伤处于此药敏感时相的肿瘤细胞有重要意义。如果能延缓肿瘤细胞周期进程, 阻止细胞从某一时相进入下一时相, 导致细胞暂时性蓄积。此时如给予对这一时相具有杀伤作用的药物将能明显增效。本研究结

果显示,黄芩素与抗癌药紫杉醇联合使用,能明显增强其对 QG-56 细胞的细胞毒活性,可能与黄芩素将肺癌细胞 QG-56 阻滞于 G₂/M 期,使这一时相的细胞蓄积从而有利于增强紫杉醇对肿瘤细胞的杀伤作用有关。

其他实验发现^[17],黄芩素通过降低 CDK4 和细胞周期蛋白 B1 和 D1 的表达,从而使人肺鳞状细胞癌细胞 CH27 生长阻滞在 S 期。而 ZHANG 等^[18]发现,黄芩素可以使人头颈鳞状细胞癌 SCC-25 和 KB 细胞生长阻滞在 G₂/M 期。这种黄芩素诱导的凋亡与细胞周期的关系,在不同肿瘤之间,结果不尽一致,黄芩素阻滞细胞周期时相可能与细胞种类及药物浓度有关,黄芩素呈时间、剂量依赖性抑制肺癌 QG-56,细胞增殖及改变细胞周期的机制需要进一步探讨和研究。

目前,有关黄芩素的一些制剂已在临床上广泛应用于呼吸道感染、急性扁桃体炎、咽炎、慢性阻塞性肺疾病、传染性肝炎等多种疾病的治疗,并显示出较好的疗效。包括本实验在内的大量研究表明,黄芩素在体内外抗肿瘤方面治疗效果也颇为理想,具有能作用于肿瘤细胞,而对正常细胞影响甚微的特点,对抗肺癌的治疗有一定应用价值。随着对黄芩素抗肿瘤作用研究的进一步深入,黄芩素将成为国内外抗肿瘤药物研究的一项新的热点。

REFERENCES

- [1] LI D M, WEI Y C, LIU Y A, et al. Pharmacist clinical thinking of diagnosis and treatment of lung cancer and pulmonary fungal infections [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2011, 31(7): 601-603.
- [2] RINALDI M, CAUCHI C, GRIDELLI C. First line chemotherapy in advanced or metastatic NSCLC [J]. Ann Oncol, 2006, 17(5): v64-67.
- [3] HELMERICK EC, LOFTUS J P, WAKSHLAG J J. The effects of baicalein on canine osteosarcoma cell proliferation and death [J]. Vet Comp Oncol, 2012, 10(11): 1011-1014.
- [4] CAI Q L, WANG Y, CUI B, et al. *In vitro* effect of banxiaxixin-decoction and different combinations on the metabolic activities of baicalin and baicalein in rat liver

- microsomes [J]. Zhong Yao Cai, 2012, 35(8): 1286-1290.
- [5] ZONG J, ZHANG D P, ZHOU H, et al. Baicalein protects against cardiac hypertrophy through blocking MEK-ERK1/2 signaling [J]. J Cell Biochem, 2013, 114(5): 1058-1065.
- [6] ZHANG Y, SONG L, CAI L, et al. Effects of baicalein on apoptosis, cell cycle arrest, migration and invasion of osteosarcoma cells [J]. Food Chem Toxicol, 2013, 53(2): 325-333.
- [7] CHOU T C. Drug combination studies and their synergy quantification using the Chou-Talalay method [J]. Cancer Res, 2010, 70(2): 440-446.
- [8] JOHARI J, KIANMEHR A, MUSTAFA M R, et al. Antiviral activity of baicalein and quercetin against the Japanese Encephalitis virus [J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(12): 16785-16795.
- [9] CHEN F L, WANG X Z, LI J Y, et al. 12-Lipoxygenase induces apoptosis of human gastric cancer AGS cells via the ERK1/2 signal pathway [J]. Dig Dis Sci, 2008, 53(1): 181-187.
- [10] LEUNG H W, YANG W H, LAI M Y, et al. Inhibition of 12-lipoxygenase during baicalein-induced human lung nonsmall carcinoma H460 cell apoptosis [J]. Food Chem Toxicol, 2007, 45(3): 403-411.
- [11] KIM S J, KIM H J, KIM H R, et al. Antitumor actions of baicalein and wogonin in HT-29 human colorectal cancer cells [J]. Mol Med Rep, 2012, 6(6): 1443-1449.
- [12] MIOCINOVIC R, MCCABE N P, KECK R W, et al. *In vivo* and *in vitro* effect of baicalein on human prostate cancer cells [J]. Int J Oncol, 2010, 26(1): 241-246.
- [13] WANG A M, KU H H, LIANG Y C, et al. The autonomous notch signal pathway is activated by baicalin and baicalein but is suppressed by niclosamide in K562 cells [J]. J Cell Biochem, 2009, 106(4): 682-692.
- [14] LIANG R R, ZHANG S, QI J A, et al. Preferential inhibition of hepatocellular carcinoma by the flavonoid baicalein through blocking MEK-ERK signaling [J]. Int J Oncol, 2012, 41(3): 969-978.
- [15] CHOU D S, HSIAO G, LAI Y A, et al. Baicalein induces proliferation inhibition in B16F10 melanoma cells by generating reactive oxygen species via 12-lipoxygenase [J]. Free Radic Biol Med, 2009, 46(8): 1197-1203.
- [16] CHANDRASHEKAR N, SELVAMANI A, SUBRAMANIAN R, et al. Baicalein inhibits pulmonary carcinogenesis-associated inflammation and interferes with COX-2, MMP-2 and MMP-9 expressions *in vivo* [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2012, 261(1): 10-21.
- [17] LEE H Z, LEUNG H W, LAI M Y, et al. Baicalein induced cell cycle arrest and apoptosis in human lung squamous carcinoma CH27 cells [J]. Anticancer Res, 2005, 25(2A): 959-964.
- [18] ZHANG H B, LU P, GUO Q Y, et al. Baicalein induces apoptosis in esophageal squamous cell carcinoma cells through modulation of the PI3K/Akt pathway [J]. Oncol Lett, 2013, 5(2): 722-728.

收稿日期: 2013-03-03