

基因联合顺铂治疗为探索提高结肠癌细胞对化疗药的敏感性提供了实验依据。尽管以 STAT3 为靶点的基因治疗在肿瘤研究中有其优越性,但目前的研究仍停留在细胞学水平,而如何拓展到动物学水平,提高转染效率,优化特异性,探索高效导入肿瘤细胞同时不影响正常细胞的方法,还有待进一步的动物研究。

REFERENCES

- [1] GIRAUD A S, MENHENIOTT T R, JUDD L M. Targeting STAT3 in gastric cancer [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2012, 16(9): 889-901.
- [2] KUNIGAL S, LAKKA S S, SODADASU P K, et al. STAT3-siRNA induces Fas-mediated apoptosis *in vitro* and *in vivo* in breast cancer [J]. *Int J Oncol*, 2003, 4(5): 1209-1220.
- [3] RAMACHANDRAN P V, IGNACIMUTHU S. RNA interference as a plausible anticancer therapeutic tool [J]. *Asian Pac J*

- Cancer Prev*, 2012, 13(6): 2445-2452.
- [4] SANSONE P, BROMBERG J. Targeting the interleukin-6/Jak/stat pathway in human malignancies [J]. *Clin Oncol*, 2012, 30(9): 1005-1014.
- [5] HAFTCHENARY S, AVADISIAN M, GUNNING P T. Inhibiting aberrant STAT3 function with molecular therapeutics: a progress report [J]. *Anticancer Drugs*, 2011, 22(2): 115-127.
- [6] PAGE B D, BALL D P, GUNNING P T. Signal transducer and activator of transcription 3 inhibitors: a patent review [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2011, 21(1): 65-83.
- [7] JOHNSTON P A, GRANDIS J R. STAT3 signaling: anticancer strategies and challenges [J]. *Mol Interv*, 2011, 11(1): 18-26.
- [8] MA X T. STAT3 signal transduction pathway and tumor resistance research [J]. *Cancer Res Prev Treat(肿瘤防治研究)*, 2011, 38(4): 474-476.
- [9] HUANG C, YANG G, JIANG T, et al. Down-regulation of STAT3 expression by vector-based small interfering RNA inhibits pancreatic cancer growth [J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17(25): 2992-3001.

收稿日期: 2013-03-14

辐射增敏剂 Wortmannin 促进组蛋白去乙酰化酶抑制剂诱导的 MOLT-4 细胞凋亡

楼炜¹, 刘斌², 宋宜^{2*} (1.浙江中医药大学附属第三医院, 杭州 310005; 2.军事医学科学院放射与辐射医学研究所, 北京 100850)

摘要: 目的 探讨选择性磷脂酰肌醇激酶相关蛋白激酶家族(PIKKs)的小分子抑制剂 Wortmannin 对组蛋白去乙酰化酶抑制剂(HDIs)诱导的细胞凋亡的影响,并探讨 DNA 损伤功能信号级联在 HDIs 类药物抗肿瘤效应中的功能机制。方法 流式细胞术分析加药后不同时间点的细胞周期分布和细胞凋亡情况;荧光显微镜下观察用药后的细胞核形态;免疫印迹法检测加药前后 Caspase-2, Caspase-3, Caspase-7 和 Survivin 蛋白表达情况。结果 低剂量 Wortmannin 单独作用对肿瘤细胞生存率未见显著影响,但能够激活 G₁/S 细胞周期阻滞、抑制 TSA 引发的 G₂/M 阻滞、并显著促进肿瘤细胞凋亡。在此过程中, Wortmannin 促进凋亡效应分子 Caspase-2, Caspase-3 和 Caspase-7 的激活并抑制 Survivin 的表达。结论 PIKKs 家族的小分子抑制剂 Wortmannin 通过下调 Survivin 并促进 Caspase 信号级联而促进 TSA 诱导的肿瘤细胞凋亡。

关键词: Wortmannin; 组蛋白去乙酰化酶抑制剂; 曲古抑菌素 A; 肿瘤; 凋亡

中图分类号: R963 **文献标志码:** A **文章编号:** 1007-7693(2013)12-1280-06

Wortmannin Enhances Trichostatin A-Induced Tumor Cells Apoptosis Through Downregulation of Survivin and Acceleration of Caspase-cascades

LOU Wei¹, LIU Bin², SONG Yi^{2*} (1.The Third Affiliated Hospital of the Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310005, China; 2.Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the interaction between Wortmannin, a selective inhibitor of PIKKs, and TSA, to explore the role of DNA damage signals in HDIs induced tumor cell death. **METHODS** The cell cycle distribution and cell apoptosis were detected by flow cytometry. The expression level of Caspase-2, 3, 7 and Survivin were determined by Western

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30572145, 30970683); 医院科研基金资助项目(ZS11ZA04)

作者简介: 楼炜,男,副主任药师 Tel: (0571)88393509 E-mail: louyfl12@163.com *通信作者: 宋宜,女,博士,副研究员 Tel: (010)66931218 E-mail: songyibj@sina.com

blotting with the antibody against each protein. **RESULTS** While low-dose Wortmannin alone had little effect on the tumor cell viability, it inhibited Trichostatin A (TSA) induced G₂/M arrest and enhanced TSA induced apoptosis. TSA induced human acute lymphoblastic leukemia (MOLT-4) cells apoptosis through activation of Caspase-2, 3, 7. When pretreatment with Wortmannin, activation of Caspase-2, Caspase-3, and Caspase-7 by TSA was accelerated, and Survivin, a member of inhibitor of apoptosis protein (IAP) family, was also significantly decreased coincident with the acceleration of cells apoptosis. **CONCLUSION** As a PIKKs inhibitor, wortmannin has been proposed as a potential anti-neoplastic agent. Wortmannin enhances TSA-induced tumor cells apoptosis through down-regulation of Survivin and activation of Caspase-cascades.

KEY WORDS: Wortmannin; histone deacetylase inhibitor; trichostatin A(TSA); tumor; apoptosis

研究抗肿瘤药物凋亡诱导作用的信号转导途径对于推测化疗效果、合理用药十分重要。组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylase inhibitor, HDIs)类药物能够选择性的诱导多种类型的肿瘤细胞分化和凋亡, 作为极具应用前景的抗肿瘤药物已进入临床实验, 用于多种实体瘤和血液病的治疗^[1]。

HDIs 类药物对恶性细胞具有选择性作用^[2], 例如单个癌基因 E1A 表达诱导的细胞转化就能够使正常的成纤维母细胞对 HDIs 类药物曲古抑菌素 A(trichostatin A, TSA)和 SAHA 敏感性显著增高, 药物作用后 48 h 诱导的细胞凋亡率从 15%增至 75%。近年来研究发现: 在肿瘤细胞发生恶性转化(包括癌基因的表达、抑癌基因的失活等)的早期, 会激活细胞中的 DNA 损伤信号转导网络, 包括 ATM-Chk2、ATR-Chk1 等损伤监视信号途径的激活, p53、NF- κ B 等应激反应效应分子的活化等, 该信号网络构成机体的肿瘤防御屏障, 并可能影响肿瘤细胞的放化疗反应性^[3]。辐射增敏剂 Wortmannin 是靶向磷脂酰肌醇激酶(PI3KK)超家族成员 ATM、ATR、DNA-PKcs 的小分子抑制剂。ATM、ATR、DNA-PKcs 是起始调控 DNA 损伤反应信号转导网络的重要开关分子^[4-5], 它们能催化多种底物蛋白的磷酸化, 包括在细胞应激、DNA 损伤修复、细胞周期阻滞及凋亡调控中具有重要功能意义的核转录因子 p53^[6]、调控细胞周期 G₁/G₂ 期阻滞和 DNA 损伤修复的检测点激酶 1(checkpoint kinase 1, Chk1)、检测点激酶 2(checkpoint kinase 2, Chk2)、NBS1 与 BRCA1 等。其相关信号转导通路障碍与细胞自稳平衡机制、细胞辐射敏感性以及肿瘤的放化疗反应性密切相关^[7-9]。

因此, 本研究通过辐射增敏剂 Wortmannin 抑制肿瘤细胞中 DNA 损伤信号转导网络分子核心主导激酶 ATM、ATR、DN-PKcs 等的激活, 再用 TSA 作用于肿瘤细胞, 分别检测细胞单独用药和联合用药后的细胞凋亡情况和相关信号转导通路, 探

讨肿瘤细胞中 DNA 损伤信号转导网络分子的激活是否参与调控 HDIs 类药物对恶性细胞的选择性, 揭示靶向 DNA 损伤信号分子是否能调控肿瘤细胞对 HDIs 类肿瘤治疗药物的敏感性, 并为深入研究 DNA 损伤信号网络与表遗传修饰在肿瘤发生、发展、治疗中的功能机制提供新思路。

1 材料

1.1 细胞

MOLT-4 细胞购自中科院上海细胞库。

1.2 试剂与抗体

p53、Caspase-2、Caspase-3、Caspase-7、Survivin、actin 抗体购自 Santa Cruz 公司; Wortmannin(批号: W1628-1MG)和 TSA(批号: T8552-1MG)购自 Sigma 公司; 细胞凋亡检测试剂盒(批号: KGA1013)购自凯基生物公司。

2 方法

2.1 细胞培养

细胞在 37 °C, 5%CO₂ 的 1640 培养液中培养。将处于对数生长期的 MOLT-4 细胞加入 150 nmol·L⁻¹ TSA 或 1 μ mol·L⁻¹ Wortmannin。联合用药时先加 Wortmannin, 作用 30 min 后再加 TSA。分别在药物作用的 6, 12, 18 和 24 h, AnnexinV 法检测细胞凋亡率, 并进行细胞形态学及细胞周期分析, 以未加 TSA 和 Wortmannin 的培养细胞作为对照。

2.2 细胞核形态学观察

药物作用预定时间后, PBS 冲洗细胞 1 次, 吸净上清后 4%多聚甲醛室温固定 10 min, 而后 Hoechst 33258 染色 10 min, 荧光显微镜观察细胞核的形态特征。重点关注核固缩、核碎裂等凋亡特征性核形态。

2.3 流式细胞术检测药物对细胞周期的影响

利用流式细胞术检测 Wortmannin、TSA 以及 Wortmannin 和 TSA 联合作用后 6, 12, 18, 24 h 的 MOLT-4 细胞的细胞周期分布情况。采集细胞 $\geq 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$, 1 500 r·min⁻¹ 离心 10 min 收集细胞,

室温 PBS 洗 2 次后用 70%乙醇在-20℃固定过夜,再离心,弃去上清液, PBS 溶液洗 2 次后,再 1 500 r·min⁻¹ 离心 10 min。弃去上清液,将细胞重悬于 500 μL PBS 溶液中,加入 10×PI 染液 10 μL 和 5 μL 的 1 μg·μL⁻¹ RNaseA 贮存液, 37℃避光孵育 30 min 后,流式细胞仪检测细胞中的 DNA 含量以确定细胞周期分布情况。

2.4 Western 印迹检测药物对 MOLT-4 细胞中凋亡相关分子 Caspase2、3、7 和 Survivin 表达水平的影响

Wortmannin、TSA 和 Wortmannin 和 TSA 联合作用后 24 h 后收集细胞,超声裂解,蛋白定量(Pierce BCA,按操作说明进行),SDS-PAGE 电泳,电转至硝酸纤维素膜,相应抗体检测目的蛋白表达情况。Pro-Caspase 的切割(蛋白量降低)提示 Caspase 的激活。

2.5 统计学方法

根据资料性质,试验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 SPSS 10 专业数据分析统计软件进行配对 *t* 检验处理。

3 结果

3.1 Wortmannin 促进 TSA 诱导的 MOLT-4 细胞凋亡

对照组、1 μmol·L⁻¹ Wortmannin 处理组、150 nmol·L⁻¹ TSA 处理组以及 Wortmannin 和 TSA 联合处理组的 MOLT-4 细胞在给药后 24 h 离心收集, PBS 冲洗后按操作手册进行 Annexin V 标记,而后流式细胞仪计数细胞凋亡率。结果显示:辐射增敏剂 Wortmannin 显著促进 TSA 对白血病细胞 MOLT-4 的凋亡诱导作用;且联合用药后的细胞凋亡率显著高于单独用药组的叠加,提示具有协同作用,结果见图 1。同时,各组细胞经多聚甲醛固定 10 min 后用 Hoechst 33258 在室温对细胞核进行染色, 10 min 后冲去染液,在荧光显微镜下观察用药前后 MOLT-4 细胞的细胞核形态,发现药物作用后的 MOLT-4 细胞核出现明显的核固缩、核碎裂等凋亡特征性形态学改变,而 Wortmannin 与 TSA 联合作用的 MOLT-4 细胞中,这些凋亡特征性核形态明显多于单独用药,结果见图 2。结果表明, Wortmannin 具有促进 TSA 诱导的 MOLT-4 细胞凋亡的作用。

3.2 Wortmannin 联合 TSA 作用对 MOLT-4 细胞周期的影响

照射后 6, 12, 18 和 24 h 不同药物作用组细

胞和对照细胞的周期分布情况见表 1。结果可见: Wortmannin 作用后 18 h, G₀/G₁ 期细胞比例显著增加,而 S 期细胞减少,提示 MOLT-4 细胞出现较为显著的 G₁/S 细胞周期阻滞, Wortmannin 作用可能影响细胞周期 G₁/S 期的调控。TSA 作用后 12 h 开始 G₂/M 期细胞比例显著增加,而 G₀/G₁ 期细胞和 S 期细胞减少,提示 TSA 诱导 MOLT-4 细胞出现较为显著的 G₂/M 细胞周期阻滞(该结果与以往研究报导一致^[11])。Wortmannin 和 TSA 联合作用的细胞出现与 Wortmannin 类似的显著 G₁/S 细胞周期阻滞,而未见 G₂/M 细胞周期阻滞。

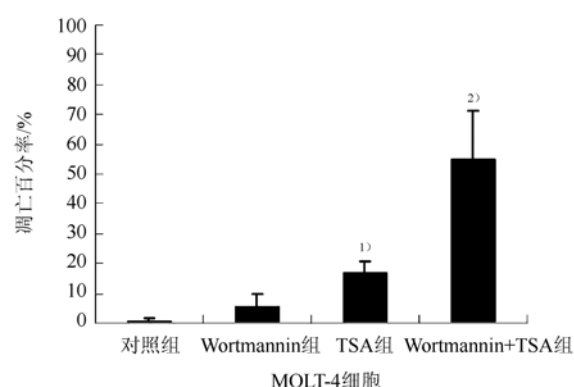


图 1 处理 24 h 后 Wortmannin 对 TSA 诱导 MOLT-4 细胞凋亡的影响($n \geq 3$)

与对照组比较, ¹⁾ $P < 0.05$; 与 TSA 组比较, ²⁾ $P < 0.01$

Fig 1 The effect of Wortmannin on MOLT-4 cells' apoptosis induced by TSA after 24 h of administration($n \geq 3$)

Compared with control group, ¹⁾ $P < 0.05$; compared with TSA group, ²⁾ $P < 0.01$

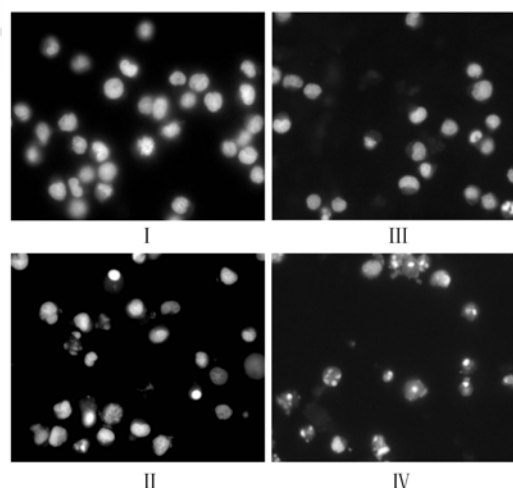


图 2 处理 24 h 后 Wortmannin 对 TSA 诱导 MOLT-4 细胞凋亡的细胞核形态图($n \geq 3$)

I-对照组; II-TSA 组; III-Wortmannin 组; IV-Wortmannin+TSA 组

Fig 2 Nuclear morphology of apoptosis MOLT-4 cells which were treated with Wortmannin and TSA after 24 h

I -control group; II -TSA group; III -Wortmannin group; IV -Wortmannin+TSA group

表 1 流式细胞术检测药物对 MOLT-4 细胞周期的影响
Tab 1 The effect of drugs on MOLT-4 cell cycle detected by flow cytometry

组 别	作用时间/h	G ₀ /G ₁ /%	G ₂ /M/%	S/%
对照组		38.90	10.53	50.58
TSA 组	6	38.37	10.37	51.26
	12	27.56	22.81	49.62
	18	23.57	27.76	48.66
	24	24.13	22.95	52.92
Wortmannin 组	6	42.41	6.33	51.26
	12	46.52	10.71	42.77
	18	55.25	10.15	34.59
	24	60.53	11.04	28.43
Wortmannin+TSA 组	6	38.36	11.33	50.31
	12	38.56	12.03	49.41
	18	48.99	6.56	44.45
	24	61.64	0.00	38.36

3.3 Wortmannin 通过下调 Survivin、促进 Caspase 信号级联促进 TSA 诱导的 MOLT-4 细胞凋亡

为进一步探讨 Wortmannin 协同 TSA 诱导白血病细胞 MOLT-4 凋亡的分子机制, 通过 Caspase 信号通路抑制剂 z-VAD-fmk 抑制细胞中 Caspase 信号级联的激活, 评估 Caspase 在此信号途径中的功

能。结果表明, Caspase 信号通路广谱抑制剂 z-VAD-fmk 能够有效抑制 TSA 诱导的 MOLT-4 细胞凋亡, 结果见图 3。免疫印迹检测相关信号转导分子的表达和激活情况, 发现相较于 TSA 单独处理组的细胞, Wortmannin 联合 TSA 处理组细胞中的 Caspase-2, Caspase-3 和 Caspase-7 激活显著增加, Survivin 表达显著抑制提示 Wortmannin 调控 MOLT-4 细胞对 TSA 诱导凋亡的敏感性和此 2 种因素相关, 结果见图 4。

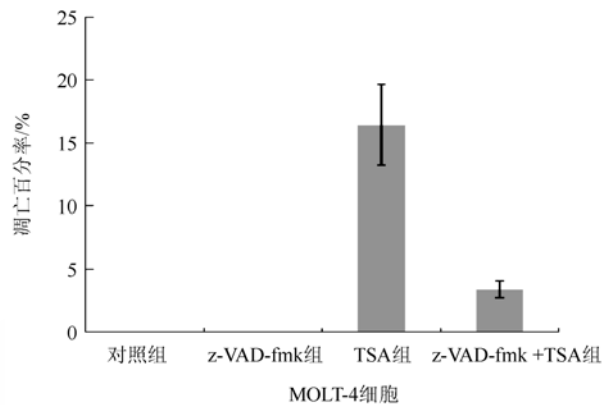


图 3 Caspase 广谱抑制剂 z-VAD-fmk 对 TSA 诱导的 MOLT-4 细胞凋亡的影响
Fig 3 The effect of Caspase broad-spectrum inhibitor z-VAD-fmk on MOLT-4 cells' apoptosis induced by TSA

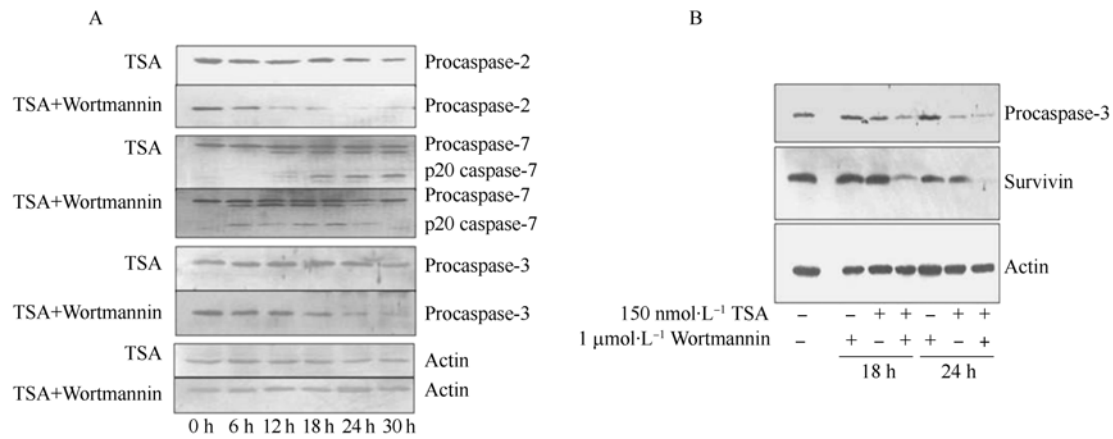


图 4 Wortmannin 通过促进 Caspase-2, Caspase-3 和 Caspase-7 激活(A)并抑制 Survivin 表达(B)从而增加 MOLT-4 细胞对 TSA 诱导凋亡的敏感性
Fig 4 Wortmannin improved the sensitivity of MOLT-4 cells on TSA inducing apoptosis by accelerating activation of Caspase-2, Caspase-3, and Caspase-7 and decreasing Survivin

4 讨论

肿瘤是当前疾病致死的主要原因之一。随着细胞生物学、遗传学和分子生物学的发展, 对肿瘤细胞学和遗传学特性的认识逐渐深入, 新型治疗药物和治疗策略不断涌现。有关肿瘤发生发展

机制的研究已证实: 肿瘤细胞内多种生理病理过程的细胞学反应信号转导调控发生异常。由此, 开展肿瘤发生与病理过程中的重要特异性信号分子的功能调控机制研究, 筛选肿瘤治疗新靶点已逐渐成为肿瘤分子生物学研究的重要课题。近十

年,随着表遗传学调控异常与肿瘤发生发展机制研究的进展,HDIs等表遗传修饰药物的研发蓬勃发展,已成为肿瘤分子生物学研究领域的热点^[10-11]。

丁酸钠、SAHA、MS-275、depsipeptide等多种已进入I期或II期临床研究的HDACi类药物显著抑制多种组织来源的肿瘤细胞增殖,显示出极佳的研究及应用前景,其中Vorinostat(SAHA)已被美国FDA批准上市用于皮肤T细胞淋巴瘤的治疗^[12]。但此类药物抗肿瘤作用的分子机制及其肿瘤细胞特异性的分子机制研究却相对滞后。深入研究HDACi类药物作用于肿瘤细胞后的信号途径和调控机制,无疑能够推进此类药物的研发及应用。

2003年Cancer Research发表的研究结果首次发现:HDIs对周期检查点分子p21WAF1/CIP1的转录诱导依赖于毛细血管扩张共济失调症突变蛋白ATM(ataxia telanglelectasia muted)的蛋白激酶活性^[9];此后,一系列研究均证实HDACi作用于肿瘤细胞后,能够激活多种DNA损伤信号转导分子(如ATM, H2AX等)。但HDACi激活的DNA损伤反应信号级联的活化在此类药物抗肿瘤作用中的功能意义及分子调控机制尚未见报道。本研究借助能够抑制DNA损伤信号反主导激酶ATM、ATR、DNA-PKcs激活的小分子辐射增敏剂Wortmannin探讨DNA损伤信号网络激活在HDACi调控肿瘤细胞周期进程及选择性诱导凋亡中的功能机制进行探索。发现Wortmannin能显著促进HDIs类药物TSA对肿瘤细胞MOLT-4的凋亡诱导,联合用药的肿瘤杀伤效果高于单独用药的叠加。在另一种肿瘤细胞HeLa细胞中进行的研究也获得了类似的结果。研究结果提示:小分子辐射增敏剂具有与HDIs类药物联用于肿瘤治疗的应用前景。需要提出的是,本研究中使用的TSA因其毒性较大而并未用于临床。如果能够进一步研究辐射增敏剂对已进入临床使用的HDIs药物(如FK228、MS275、SAHA等)的调控功能可能将更有助于推进临床药物的研发和应用。

已有文献报道果结显示HDIs类药物能够选择性的诱导多种类型的肿瘤细胞衰老、分化和凋亡。本研究的检测结果与以往报道一致,证实TSA能激活MOLT-4的G₂/M周期阻滞(12 h)和凋亡(24 h)。本课题组在以往的研究中曾发现:TSA诱导的MOLT-4细胞G₂/M阻滞和凋亡反应之间存在明显的剂量和时间效应关系,蛋白酶体抑制剂

MG132处理在增进细胞G₂/M阻滞反应的同时延缓细胞凋亡的发生,提示G₂/M阻滞可能帮助肿瘤细胞赢得时间,促进修复而对抗药物诱导的细胞凋亡。本研究中,Wortmannin单独作用引发一过性的G₂/M期细胞减少(6 h)和其后缓慢的G₀/G₁细胞增多(18 h);Wortmannin联合TSA作用时则出现缓慢的G₀/G₁细胞增多和显著的G₂/M耗竭。提示小分子辐射增敏剂Wortmannin极可能通过抑制G₂/M阻滞的发生而增加细胞对TSA诱导凋亡的敏感性。由于Wortmannin对PI3KK蛋白激酶家族成员具有广谱抑制作用,因此具体通过何种信号途径发挥作用还有待进一步研究。依据本实验所使用的Wortmannin的剂量范围,推测极可能是通过抑制ATM而发挥功能(文献报道的对DNA-PKcs和ATR的抑制剂量高于我们所用的剂量)。通过Caspase广谱抑制剂z-VAD-fmk的研究提示HDIs类药物激活了肿瘤细胞中的Caspase介导的细胞凋亡信号途径,Wortmannin能够促进HDIs药物诱导的细胞凋亡途径的激活和细胞存活通路分子Survivin的抑制;因此HDACi激活的DNA损伤信号途径可能是肿瘤细胞产生化疗抗性的一种自我保护机制。该试验结果不仅为进一步研究HDACi作用于肿瘤细胞后的信号转导网络和化疗抗性产生机制提供了线索,更为小分子辐射增敏剂联合HDACi协同应用于肿瘤治疗的策略提供了理论依据。

综上,尽管HDIs类药物显示出极佳的应用前景,但此类药物抗肿瘤作用的分子机制研究却相对滞后。本研究发现提示小分子辐射增敏剂具有与HDIs类药物联用于肿瘤治疗的潜在应用前景。在此基础上进一步通过物模型评估小分子辐射增敏剂与HDIs类药物(SAHA, TSA)联合用药的肿瘤杀伤作用并开展HDIs类药物激活的DNA损伤反应信号级联在肿瘤耐药中的功能作用机制研究不仅能够为HDIs类药物在肿瘤治疗中的应用提供实验数据参考,还能为相关药物研发和应用提供理论指导。

REFERENCES

- [1] MINUCCI S, PELICCI P G. Histone deacetylase inhibitors and the promise of epigenetic (and more) treatments for cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2006, 6(1): 38-51.
- [2] HENDERSON C, MIZZAU M, PARONI G, et al. Role of caspases, Bid, and p53 in the apoptotic response triggered by

- histone deacetylase inhibitors trichostatin-A (TSA) and suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(14): 12579-12589.
- [3] SONG Y, SUN Z J. DNA double-strand breaks damage response and its medical significance [J]. *Prog Biochem Biophys*(生物化学与生物物理进展), 2007, 34(9): 929-934.
- [4] ROBERT T A. PI3-kinase related kinases: 'big' players in stress-induced signaling pathways [J]. *DNA Repair*(Amst), 2004, 3(8/9): 883-887.
- [5] SHILOH Y. ATM and related protein kinases: safeguarding genome integrity [J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(3): 155-168.
- [6] PAPA A, CORDON-CARDO C, BERNARDI R, et al. Compound *in vivo* inactivation of Pml and p53 uncovers a functional interaction in angiosarcoma suppression [J]. *Genes Cancer*, 2012, 3(9/10): 599-603.
- [7] SONG Y, MENG X B, LIU B, et al. Direct phosphorylation of p21 with ATM in DNA damage response [J]. *Chin J Biochem Mol Biol*(中国生物化学与分子生物学杂志), 2002, 18(3): 277-281.
- [8] SONG Y, TIAN B L, ZHENG X F, et al. The role of inter-chromosomal domain compartmentalized nuclear structure PML-NB in DNA damage responses [J]. *Chem Life* (生命的化学), 2013, 33(3): 245-249.
- [9] JU R, MULLER M T. Histone deacetylase inhibitors activate p21(WAF1) expression via ATM [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(11): 2891-2897.
- [10] SHOGREN-KNAAK M, ISHII H, SUN J M, et al. Histone H4-K16 acetylation controls chromatin structure and protein interaction [J]. *Science*, 2006, 311(5762): 844-847.
- [11] SONG Y, LIU M J, ZHAO G W, et al. The mechanisms of p21wAF1/Cip-1 expression in MOLT-4 cell line induced by TSA [J]. *J Exp Hematol*, 2005, 13(2): 174-181.
- [12] CHAVAN A V, SOMANI R R. HDAC inhibitors-new generation of targets specific treatment [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2010, 10(13): 1263-1276.

收稿日期: 2013-06-18

葡萄籽原花青素及其组合物对家兔实验性动脉粥样硬化的抑制作用

邓茂芳¹, 廖丽娜², 张敏敏², 蒋国军^{1,3*} (1.浙江医学高等专科学校, 杭州 310053; 2.第二军医大学药学院, 上海 200433; 3.浙江萧山医院药剂科, 杭州 311201)

摘要: 目的 研究葡萄籽原花青素及其组合物对家兔实验性动脉粥样硬化的抑制作用。方法 喂养高脂饲料建立实验性动脉粥样硬化家兔模型, 实验分为正常对照组、模型组、原花青素组、原花青素与茶多酚组合物组、原花青素与姜黄素组合物组和辛伐他汀组; 造模成功后灌胃给药 4 周, 取血测定血脂水平, 然后麻醉, 取肝脏和部分主动脉做透射电镜检查和油红 O 脂肪染色。结果 原花青素及其组合物可显著降低动脉粥样硬化家兔血清甘油三酯、总胆固醇和低密度脂蛋白水平; 显著减轻血管内皮损伤, 减轻血管和肝脏的脂滴沉积。结论 原花青素及其组合物通过保护血管内皮细胞和降低血管的脂质沉积发挥抗动脉粥样硬化作用。

关键词: 原花青素; 茶多酚; 姜黄素; 动脉粥样硬化

中图分类号: R969.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)12-1285-05

Study on the Inhibition of Experimental Atherosclerosis in Rabbits by Grape Seed Proanthocyanidin and Its Composition

DENG Maofang¹, LIAO Lina², ZHANG Minmin², JIANG Goujun^{1,3*} (1.Zhejiang Medical College, Hangzhou 310053, China; 2.School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 3.Department of Pharmacy, Zhejiang Xiaoshan Hospital, Hangzhou 311201, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effect of grape seed proanthocyanidin and its compositions with tea polyphenol or curcumin on rabbit model of atherosclerosis. **METHODS** The rabbit model of atherosclerosis was established by high-fat diet. Rabbits were divided into six groups: normal control group, atherosclerosis model group, proanthocyanidin group, proanthocyanidin and tea polyphenol group, proanthocyanidin and curcumin group, and simvastatin group. After atherosclerosis rabbit model established, the rabbits were given proanthocyanidin compositions for four weeks. The blood-lipid level was measured. Hepatic tissue and aortic atherosclerosis were observed by transmission electron microscope and the Oil red staining.

基金项目: 浙江省药学会医院药学科科研项目(2010ZYY15); 杭州市卫生局卫生科技计划重点项目(2011Z019)

作者简介: 邓茂芳, 男, 副教授 Tel: (0571)87692627 E-mail: dmf945@163.com *通信作者: 蒋国军, 男, 硕士, 主任药师 Tel: (0571)83865516 E-mail: jiangguojun999@163.com