

## 槐定碱对神经胶质瘤 U87 细胞增殖、侵袭及相关信号通路的影响

赵树鹏<sup>a</sup>, 靳彩玲<sup>b</sup>, 高国军<sup>a</sup>, 赵新利<sup>a</sup>, 金保哲<sup>a</sup>, 周文科<sup>a</sup> (新乡医学院第一附属医院 a. 神经外科; b. 肿瘤科, 河南卫辉 453100)

**[摘要]** **目的:** 探讨槐定碱对神经胶质瘤 U87 细胞增殖和侵袭的抑制作用以及 U87 细胞 DNA 拓扑异构酶 I (DNA TOP I)、EGFR-酪氨酸激酶 (EGFR-TK)、基质金属蛋白酶 2 (MMP2) 和氨肽酶 N (APN) 活性的影响。**方法:** 将不同浓度槐定碱加入到神经胶质瘤 U87 细胞株中, 利用 MTT 法测定槐定碱对 U87 细胞和人脑正常星型胶质 HEB 细胞生长的抑制作用, 酶标仪法检测槐定碱对细胞凋亡蛋白 caspase-3 活性, 采用 Transwell 小室法分析 U87 细胞的侵袭能力; 采用非放射性 NF- $\kappa$ B EMSA 试剂盒测定 U87 细胞中 NF- $\kappa$ B 表达。**结果:** 随着槐定碱浓度的增加 (5、10、25、50、100  $\mu$ mol/L), 神经胶质瘤 U87 细胞生长抑制率不断的增加, 但 HEB 细胞的生长并未受到明显的抑制 [ (11.23  $\pm$  1.18)% vs (2.43  $\pm$  0.29)%、(22.48  $\pm$  3.21)% vs (3.65  $\pm$  0.42)%、(43.21  $\pm$  4.09)% vs (4.03  $\pm$  0.55)%、(57.31  $\pm$  5.09)% vs (5.21  $\pm$  0.43)%、(77.98  $\pm$  6.98)% vs (7.22  $\pm$  0.78)% , 均  $P < 0.05$  ]; 与空白组比较, 槐定碱存在下的 U87 细胞侵袭能力明显降低 [ (87.43  $\pm$  7.33)%、(65.12  $\pm$  6.16)%、(50.63  $\pm$  4.56)%、(35.32  $\pm$  4.04)%、(23.46  $\pm$  2.32)% vs (120.32  $\pm$  9.32) , 均  $P < 0.05$  ]。槐定碱对 DNA TOP I、EGFR-TK、APN 和 MMP-2 的半抑制率  $IC_{50}$  分别为 (22.43  $\pm$  2.21)、(31.25  $\pm$  3.09)、(6.32  $\pm$  0.32) 和 (8.23  $\pm$  0.63)  $\mu$ mol/L, 但 U87 细胞中凋亡蛋白 caspase-3 活性呈增强趋势; 槐定碱能够下调 NF- $\kappa$ B 信号的表达。**结论:** 低毒性的槐定碱可能通过降低 DNA TOP I、EGFR-TK、APN 和 MMP-2 活性, 并下调 NF- $\kappa$ B 信号通路和激活凋亡 caspase-3 酶联反应的方式, 对神经胶质瘤 U87 细胞的侵袭、增殖和信号通路产生抑制作用。

**[关键词]** 槐定碱; 神经胶质瘤 U87 细胞; DNA 拓扑异构酶 I; 表皮生长因子受体-酪氨酸激酶; 基质金属蛋白酶 2; 氨肽酶 N

**[中图分类号]** R739.41; R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2016)03-0360-06

## Effect of sophoridine on proliferation, invasion and relative signaling pathways of neuroglioma U87 cell

ZHAO Shupeng<sup>a</sup>, JIN Cailing<sup>b</sup>, GAO Guojun<sup>a</sup>, ZHAO Xinli<sup>a</sup>, JIN Baozhe<sup>a</sup>, ZHOU Wenke<sup>a</sup> (a. Department of Neurosurgery; b. Department of Oncology, the First Hospital Affiliated to Xinxiang Medical University, Weihui 453100, Henan, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore inhibitory effects of sophoridine on DNA topoisomerase I (DNA TOP I), epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase (EGFR-TK), matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) and aminopeptidase N (APN), and the mechanism for that growth and invasion of neuroglioma U87 cells were inhibited by the sophoridine. **Methods:** Sophoridine at different concentrations were added into brain neuroglioma U87 line cells. Inhibitory effect of the sophoridine on growths of the U87 cells and HEB human brain astrocytes was determined with MTT assay, activity of the sophoridine on apoptosis-associated protein caspase-3 in the U87 cells was detected by enzyme-linked turbidimetry assay, Transwell tests were used to determine effect of the sophoridine on invasion ability of the U87 cells. Expression of NF- $\kappa$ B in the U87 cells was examined by a non radioactive EMSA reagent kit. **Results:** Growth inhibitory rate of the neuroglioma U87 cells increased constantly with increase of sophoridine concentration (5, 10, 25, 50 and 100  $\mu$ mol/L), but growth rate of the HEB cells did not inhibited obviously [ (11.23  $\pm$  1.18)% vs (2.43  $\pm$  0.29)% , (22.48  $\pm$  3.21)% vs (3.65  $\pm$  0.42)% , (43.21  $\pm$  4.09)% vs (4.03  $\pm$  0.55)% , (57.31  $\pm$  5.09)% vs (5.21  $\pm$  0.43)% , (77.98  $\pm$  6.9)% vs

**[基金项目]** 河南省医学科技攻关计划基金资助项目 (No. 2011020091)。Project supported by the Medical Science and Technology Research of Henan Province (No. 2011020091)

**[作者简介]** 赵树鹏 (1978 - ), 男, 河南省新乡市人, 硕士, 主治医师, 主要从事神经胶质瘤的诊断与治疗, E-mail: 2743849621@qq.com

**[通信作者]** 金保哲 (JIN Baozhe, corresponding author), E-mail: jinbaozhens@163.com

[  $7.22 \pm 0.78$  ]% , all  $P < 0.05$  ). Compared with the blank control group, invasion ability of the U87 cells was significantly inhibited as presence of the sorphoridine ( [  $87.43 \pm 7.33$  ]% , [  $65.12 \pm 6.16$  ]% , [  $50.63 \pm 4.56$  ]% , [  $35.32 \pm 4.04$  ]% , [  $23.46 \pm 2.32$  ]% vs [  $120.32 \pm 9.32$  ]% , all  $P < 0.05$  ). Half inhibitory rates (  $IC_{50}$  ) of the sorphoridin on DNA TOP I, EGFR-TPK, APN and MMP-2 were ( [  $22.43 \pm 2.21$  ] , [  $31.25 \pm 3.09$  ] , [  $6.32 \pm 0.32$  ] and [  $8.23 \pm 0.63$  ]  $\mu\text{mol/L}$  ) respectively. But activity of apoptosis protein caspase-3 in the U87 cell was enhanced and the sorphoridin down-regulated expression of NF- $\kappa$ B signaling. **Conclusion:** The sorphoridin with low toxicity could reduce activities of DNA TOP I, EGFR-TPK, APN and MMP-2, down-regulate NF- $\kappa$ B signal pathway and activate apoptosis protein caspase-3, by which invasion and proliferation of the neuroglioma U87 cell and its signaling pathway could be inhibited. [ **Key words** ] sorphoridine; neuroglioma U87cell; DNA topoisomerase I; epidemal growth factor receptor-tyrosine kinase; matrix metalloproteinase 2; aminopeptidase N

[ Chin J Cancer Biother, 2016, 23( 3 ): 360-365. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.03.011 ]

神经胶质瘤亦称神经胶质细胞瘤,由神经上皮组织衍化而来,具有发病率高、病死率高和治愈率低的特点<sup>[1]</sup>,手术切除是当前最主要的临床治疗手段。由于神经胶质瘤本身固有的浸润性生长的病理特点,手术后的复发仍不可避免,采用安全有效的方法进行神经胶质瘤的治疗成为亟待解决的问题。天然药物单体化合物可通过抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞分化或凋亡,从而发挥抗肿瘤作用。槐定碱(sorphoridine)是一种从豆科槐属植物苦豆子中提取分离的高效低毒单体生物碱,相关研究<sup>[2-4]</sup>表明,该生物碱具有明显的镇痛、抗肿瘤、抗炎等多种药理活性,其抗肿瘤作用是近年来研究的热点。因此,本课题研究槐定碱对神经胶质瘤 U87 细胞生长和侵袭的抑制作用,并探讨其对 caspase-3、DNA 拓扑异构酶 I ( DNA topoisomerase I, DNA TOP I )、EGFR-酪氨酸激酶( EGFR-TPK )、金属蛋白酶 2( matrix metalloproteinase 2, MMP-2 )和氨肽酶 N( aminopeptidase, APN )活性和信号通路影响机制,为槐定碱研发为高效、低毒的抗神经胶质瘤药物提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞株、主要试剂和仪器

人脑正常星型胶质细胞 HEB 和神经胶质瘤 U87 细胞购自基尔顿生物科技(上海)有限公司,在本实验室进行培养。槐定碱(20 mg,分析纯标准品)购自阿拉丁试剂(上海)有限公司,其标准储备溶液用一定浓度的乙醇溶液进行配制,浓度为 100  $\mu\text{mol/L}$ 。RPMI 1640 培养基购自美国 INVITROGEN 公司,非放射性 NF- $\kappa$ B EMSA 试剂盒、Caspase-Glo<sup>®</sup>3 检测试剂盒购自 Sigma-Aldrich(上海)贸易有限公司,四甲基偶氮唑盐( MTT,  $5 \times 10^3$  mg /L, PBS 配制)购自北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司,琥珀酰明胶、邻苯二胺、L-亮氨酸-P-硝基苯胺

(分析纯)购自阿拉丁试剂(上海)有限公司,Transwell 小室购自美国 Millipore 公司。

### 1.2 MTT 法测定槐定碱对 U87 细胞生长抑制作用

依据文献[5]的方法,把不同浓度的槐定碱(5、10、25、50、100  $\mu\text{mol/L}$ )和神经胶质瘤 U87 细胞、HEB 细胞混合,在 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  中孵育 48 h,之后加入 0.5% 的 MTT 染色液 50  $\mu\text{l}$ ,继续孵育 4 h 后,2 500  $\times$  g 离心 30 min,弃培养基,加入 150  $\mu\text{l}$  DMSO 溶液,振荡器混匀后,利用酶标仪测定 570 nm 处光密度值(  $D$  )值,细胞生长抑制率按下式计算:抑制率( % ) = ( 空白  $D$  值 - 抑制剂  $D$  值 ) / 空白  $D$  值  $\times$  100%。

### 1.3 荧光染色法检测 U87 细胞的形态

根据吖啶橙( AO )、溴化乙锭( EB )与细胞和 DNA 的结合发光特性,选取不同浓度的槐定碱( 10、50、100  $\mu\text{mol/L}$  )处理神经胶质瘤 U87 细胞 24 h 后,对空白组的和槐定碱组的细胞进行 AO/EB 染色,初步观察肿瘤细胞的形态变化,并在用 490 nm 激发波长处激发,通过荧光显微镜进行观察。结果判断:神经胶质瘤 U87 细胞核和细胞质呈现均匀的绿色荧光,为正常细胞;如果肿瘤细胞核或细胞质是碎片黄绿色荧光,为凋亡细胞;最后细胞呈现红色荧光,为坏死细胞<sup>[6]</sup>。

### 1.4 Transwell 小室法检测 U87 细胞侵袭转移能力

依据文献[7]的方法,采用 Transwell 小室法构建体外侵袭模型,用无血清培养液将 U87 细胞浓度调整到  $2 \times 10^5$  个/ml,用槐定碱( 5、10、25、50、100  $\mu\text{mol/L}$  )干预后,取 0.2 ml 到 Transwell 上室,加含 10% 胎牛血清的 DMEM 0.5 ml 到下室,置培养箱 4 h,待细胞贴壁后更换上室培养液,然后置细胞培养箱培养 24 h 取出,以棉签拭去小室滤膜上表面的细胞,用 PBS 洗涤,甲醛固定 15 min 后,常规 H-E 染色,光镜下计数膜背面侵袭的细胞数,并计算穿膜细胞数,用穿过滤膜的细胞数相对于相应孔中细胞数

的比例表示细胞的侵袭能力。

1.5 琼脂糖凝胶电泳法测定槐定碱对 DNA TOP I 活性的影响

按照文献[8]的方法,反应缓冲体系中含有 TOP I 缓冲液 2 μl,0.1% BSA 2 μl,0.5 U TOP I 和 0.252 μg 负超螺旋 pBR322DNA,槐定碱 0.3 μl,浓度分别为(5、10、25、50、100 μmol/L);各试管用蒸馏水定容至 20 μl,混匀后置于 37 °C 恒温箱中反应 30 min,加入 4 °C 预冷的 2.5 μl 的 5 × 终止液来终止反应。1% 琼脂糖凝胶电泳,120 V 电泳 1 h,电泳后以 EB 染色 20 ~ 30 min,260 nm 紫外灯下拍照并观察结果。

1.6 分光光度法检测槐定碱对 MMP-2、APN 和 EGFR-TPK 的影响

反应体系如下:70 μl 的 RT 缓冲液,20 μl 含细胞上清液的 PBS 溶液,使反应系统总体积为 100 μl,在 37 °C 水浴 1 h 后,用洗液清洗 3 次,除去未结合的游离底物,再每孔加入 100 μl 1% BSA,室温封闭 30 min,洗板,每孔加入 50 μl 的 SA-ALP 稀释液(100 ng/ml),37 °C 水浴 1 h,洗板。依据文献[9-11]的 MMP-2、APN 和 EGFR-TPK 活性检测方法,每孔加入 10 μl 不同浓度的槐定碱后,再分别加入底物琥珀酰明胶、L-亮氨酸-P-硝基苯胺和 OPD 后,37 °C 水浴 30 min 进行酶催化反应;加入 0.5 mol/L 的 NaOH 终止反应,用酶标仪分别测定 450、405 和 490 nm 波长处 D 值。酶的抑制作用为实验孔 D 值/空白对照孔 D 值。

1.7 酶标仪法检测 U87 细胞凋亡蛋白 caspase-3 的活性

按照文献[12]的方法,将神经胶质瘤 U87 细胞以每孔  $2 \times 10^5$  个接种于 96 孔板,用不同浓度的槐定碱(5、10、25、50、100 μmol/L)处理 24 h 后,向细

胞培养物中加等体积(1:1)的 Caspase-Glo3 试剂,置于震荡仪,以 400 rpm 转速轻轻震荡混合 30 s,室温孵育 60 min,在 405 nm 波长处测定 D 值,作为 caspase-3 的活性。

1.8 EMSA 法测定神经胶质瘤 U87 细胞 NF-κB 活性

取对数生长期神经胶质瘤 U87 细胞,按  $2 \times 10^6$ /ml 接种于培养瓶,置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养 24 h。实验组加入槐定碱,终浓度为 5、10、25、50 和 100 μmol/L,以加入不含药的细胞培养液组为空白组,培养 24 h 后提取各组细胞核蛋白,应用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。10 μg 核蛋白经 6.5% 聚丙烯酰胺凝胶电泳后,将蛋白电转移至结合膜上,紫外交联固定 DNA,用封闭液封闭结合膜,加 Streptavidin-HRP 反应液与膜结合反应,用洗涤液洗膜 4 次,加入平衡液平衡结合膜,用 Lighten @ HRP 底物液化学发光反应后显影、压片。同等条件下,本实验重复 3 次。

1.9 统计学处理

采用 SPSS15.0 统计软件,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 t 检验或方差分析,以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 槐定碱对神经胶质瘤 U87 细胞生长有良好的抑制作用

MTT 法测定结果(表 1)显示,槐定碱对神经胶质瘤 U87 细胞生长的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)为(37.32 ± 4.76)μmol/L,表现出了良好的抑制 U87 细胞生长的能力。进一步观察到,随着槐定碱浓度的增加,HEB 细胞的生长并未受到明显的抑制,与 U87 细胞生长抑制率相比,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 1 各组的细胞生长抑制率和侵袭能力评价 (n=3,%)

Tab. 1 Cell growth-inhibiting rate and invasion ability in various groups (n=3,%)

Group	Dose [c <sub>B</sub> /(μmol · L <sup>-1</sup> )]	Cell growth-inhibiting rate		Invasion ability
		U87 cell	HEB cell	
Blank control	0	0.14 ± 0.02	0.15 ± 0.02	120.32 ± 9.32
Sophoridine	5	11.23 ± 1.18 <sup>Δ</sup>	2.43 ± 0.29	87.43 ± 7.33*
	10	22.48 ± 3.21 <sup>Δ</sup>	3.65 ± 0.42	65.12 ± 6.16*
	25	43.21 ± 4.09 <sup>Δ</sup>	4.03 ± 0.55	50.63 ± 4.56*
	50	57.31 ± 5.09 <sup>Δ</sup>	5.21 ± 0.43	35.32 ± 4.04*
	100	77.98 ± 6.98 <sup>Δ</sup>	7.22 ± 0.78	23.46 ± 2.32*

<sup>Δ</sup>P < 0.05 vs HEB cell; \*P < 0.05 vs control group

## 2.2 神经胶质瘤 U87 细胞的形态

从荧光染色结果(图 1)可见,空白组肿瘤细胞大小、形态较均一,胞核及胞质呈均匀绿色荧光,均为正常形态的肿瘤细胞。在槐定碱作用后,神经胶质瘤 U87 细胞的形态均可见明显改变,细胞大小、形态的不均一性随着槐定碱浓度的增加逐渐明显,胞核可呈致密浓染或呈现黄绿色荧光碎片,甚至可见核染成红

色荧光的坏死细胞,凋亡细胞逐渐增加。

## 2.3 槐定碱抑制神经胶质瘤 U87 细胞侵袭能力

从穿过 Transwell 小室滤膜细胞数(图 2)可看出,与空白组相比,随着槐定碱浓度(5、50、100  $\mu\text{mol/L}$ )增大,槐定碱组穿过的神经胶质瘤 U87 细胞数目不断地减少。

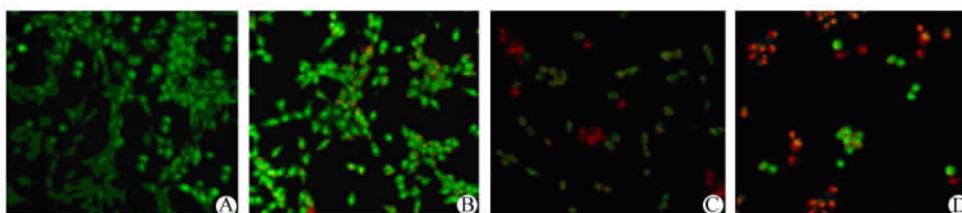


图 1 神经胶质瘤 U87 细胞的形态特征( AO-EB 染色,  $\times 100$  )

Fig. 1 Morphological characters of glioma U87 cells ( AO-EB staining,  $\times 100$  )

A: Blank control group, B-D: 5, 50, 100  $\mu\text{mol/L}$  sophoridine treatment

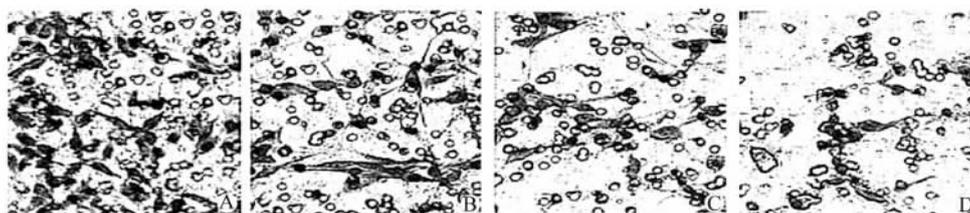


图 2 神经胶质瘤 U87 细胞体外侵袭能力 (  $\times 100$  )

Fig. 2 Invasion ability of glioma U87 cells *in vitro* (  $\times 100$  )

A: Blank control group, B-D: 5, 50, 100  $\mu\text{mol/L}$  sophoridine treatment

## 2.4 槐定碱明显抑制 DNA TOP I 的活性

DNA 电泳图及其条带(图 3)分析结果中可以看出槐定碱对 TOP I 活性的影响,超螺旋 DNA (pBR322 DNA)在 TOP I 作用后变为线性 DNA (TOP I),随槐定碱浓度的不断增加(1~5),TOP I 的活性在逐渐受到抑制,当槐定碱的浓度达到 10  $\mu\text{mol/L}$  时已有明显抑制作用,表现为环状缺口和线性 DNA 减少,其半抑制浓度  $\text{IC}_{50}$  为(22.43  $\pm$  2.21)  $\mu\text{mol/L}$ 。

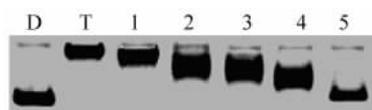


图 3 槐定碱对 DNA TOP I 的抑制作用

Fig. 3 Inhibitory effect of sophoridine on DNA TOP I

D: pBR322 DNA; T: pBR322 DNA with DNA TOP I;  
1-5: 5, 10, 25, 50, 100  $\mu\text{mol/L}$  sophoridine treatment

## 2.5 槐定碱抑制 EGFR-TPK、APN 和 MMP-2 活性

图 4 所示,随着抑制剂槐定碱浓度(0~100  $\mu\text{mol/L}$ )的增加,EGFR-TK、APN 和 MMP-2 的相对活性在不断下降,解析槐定碱对 EGFR-TPK、APN 和 MMP-2 的半数抑制浓度分别为(31.25  $\pm$  3.09)、(6.32  $\pm$  0.32)和(8.23  $\pm$  0.63)  $\mu\text{mol/L}$ ,槐定碱对 EGFR-TPK、APN 和 MMP-2 显示出了较好的抑制效果。

## 2.6 槐定碱致使 U87 细胞中凋亡蛋白 caspase-3 活性增加

细胞活力检测结果(图 4)显示,槐定碱在低剂量下(0~10  $\mu\text{mol/L}$ ),caspase-3 活性增加不显著,之后随着槐定碱浓度的增加,神经胶质瘤 U87 细胞中凋亡蛋白 caspase-3 活性也在不断地增加。

## 2.7 槐定碱抑制核转录因子蛋白 NF- $\kappa$ B 的活化

TNF 家族诱导凋亡与 NF- $\kappa$ B 的活化密切相关,为了进一步说明槐定碱诱导凋亡的信号通路

机制,以不加槐定碱的细胞为空白组,在槐定碱作用48 h后提取核蛋白后进行EMSA检测。结果(图5)显示:槐定碱可以抑制NF-κB的活化,且有剂量依赖性。

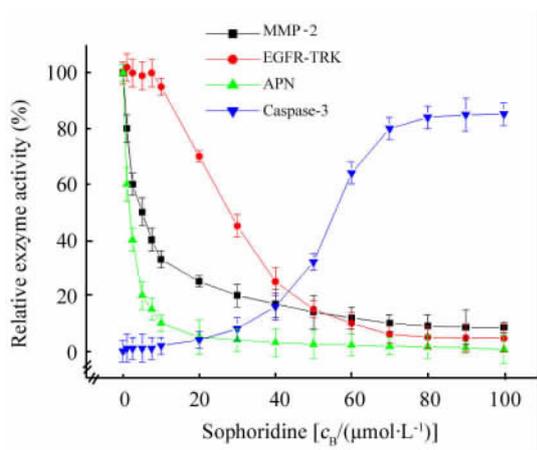


图4 槐定碱对EGFR-TPK、APN、MMP-2和caspase-3活性的影响

Fig. 4 Effect of sophoridine on the activities of EGFR-TPK, APN, MMP-2 and caspase-3

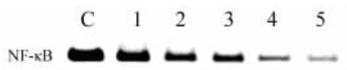


图5 NF-κB蛋白表达的EMSA检测结果

Fig. 5 EMSA assay result of the protein expression of NF-κB

C: Blank control group, 1-5: 5, 10, 25, 50, 100 μmol/L sophoridine treatment

### 3 讨论

随着神经胶质瘤患者日益增多,而化疗药物治疗容易产生耐药性和不良反应,因此,从天然药用植物中寻找抗肿瘤的新型药物逐渐成为研究的热点。槐定碱作为具有多种药理活性的生物碱被广泛研究,有研究<sup>[7]</sup>发现,槐定碱对肺癌A549细胞体外增殖和侵袭有抑制作用,槐定碱能够通过基因调控对人肝癌HepG-2细胞起到诱导凋亡作用。本课题通过研究槐定碱对神经胶质瘤U87细胞中与细胞凋亡相关的酶(DNA TOP I、EGFR-TPK、APN、MMP-2)活性的影响,探讨槐定碱诱导神经胶质瘤凋亡机制,并对槐定碱的细胞毒性和NF-κB介导的抗凋亡通路进行研究,为槐定碱的安全用药和多靶点、多通路抗神经胶质瘤提供了良好的理论依据。

DNA TOP I能够引起DNA单链的断裂,在肿瘤

细胞中,尤其在卵巢癌、结肠癌、子宫颈癌等DNA TOP I的含量比正常细胞的含量高的多<sup>[13]</sup>,就此而言, TOP I被视为抗肿瘤药物研究的重要酶靶点。EGFR基因的突变和EGFR的异常高表达可以在多种实体恶性肿瘤中检测到<sup>[14]</sup>。EGFR蛋白的异常高表达促使肿瘤细胞活化,长期处于无限增殖状态,是肿瘤形成的重要原因之一。氨肽酶N是贝他定主要的作用靶点,后者可诱导多种肿瘤细胞的凋亡,作者发现,槐定碱与贝他定有一定的结构相似性。MMP-2活性检测发现,槐定碱对MMP-2的抑制作用也是具有浓度依赖性,且与其诱导U87细胞的凋亡和细胞转移的抑制作用具有一定的相似性。进一步研究发现,U87细胞的凋亡和转移能力的降低与其细胞内的MMP-2活性下降有关。本实验通过对槐定碱的抑制EGFR-TPK、APN和MMP-2能力和抑制U87细胞增殖能力进行了评估,发现槐定碱对DNA TOP I、EGFR-TPK、APN、MMP-2和U87细胞增殖都具有良好的抑制作用;上述4种酶活性的降低在一定程度上遏制了脑胶质瘤细胞的生长,延迟了肿瘤细胞的活化时间,降低了细胞基质的降解和新血管的生成速度;此外还发现,槐定碱对HEB细胞具有较低的细胞毒性,这为槐定碱的临床安全用药提供了依据。

信号通路下调与肿瘤的发生、转移息息相关。研究<sup>[15]</sup>显示,众多癌症预后不良均与某些信号通路有关,同时肿瘤组织也会通过内源性因子的调控促进肿瘤细胞的生长<sup>[16]</sup>。因此,阻截信号通路下调已成为肿瘤靶向治疗的重要手段之一。众所周知,在细胞凋亡过程中,酶联反应的终末因子是由caspase-3和caspase-9共同组成的<sup>[17-18]</sup>。Caspase-3活性的增加是导致细胞凋亡的重要原因,这意味着槐定碱激活caspase-3活性,进而对酶联反应进行有效的调控,降低了U87肿瘤细胞的穿透能力,使诱导肿瘤细胞穿过人工基底膜的能力下降,很好地阻碍了U87肿瘤细胞的转移。由本实验结果发现,槐定碱改变表达基因参与的可能信号通路为Caspase级联反应的诱导凋亡通路和NF-κB介导的抗凋亡通路等,这表明槐定碱诱导凋亡的机制是多靶点和多通路的。

### [参考文献]

[1] 苏勤勇, 李晓梅, 姚景春, 等. 牛蒡子苷元对大鼠脑胶质瘤的作用及初步作用机制探讨[J]. 中国药理学通报, 2015, 31(6): 805-809. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1978.2015.06.014.  
 [2] 严继贵, 王迎新, 杨宇清, 等. 槐定碱对骨癌痛大鼠脊髓NR2B mRNA和nNOS mRNA表达的影响[J]. 中成药, 2014,

- 36(6): 1142-1146. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2014.06.007.
- [3] HUANG X, LI B, SHEN L, et al. Studies on the anti-inflammatory effect and its mechanisms of sophoridine [J]. J Anal Methods Chem, 2014, 20(14): 1-6. DOI: 10.1155/2014/502626.
- [4] 梁锦屏, 谢建宁, 周娅. 槐定碱抑制内毒素血症小鼠肺组织 LPS 模式识别受体的表达 [J]. 中国免疫学杂志, 2012, 28(12): 1087-1095. DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2012.12.007.
- [5] 周红祖, 徐丽霞, 余惠旻, 等. 左金方、黄连、吴茱萸诱导人胃癌细胞 SGC-7901 凋亡的作用比较 [J]. 药物分析杂志, 2015, 35(7): 1160-1165. DOI: 10.16155/j.0254-1793.2015.07.06.
- [6] 叶茂, 唐伟, 常启跃, 等. 胞浆转导肽介导抑癌基因 NPRL2 对肾癌细胞凋亡及 Bax-Caspase3 凋亡通路的影响 [J]. 重庆医科大学学报, 2015, 40(8): 1101-1107. DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000631.
- [7] 李明潺, 王玉丽, 董林易, 等. 槐定碱对肺癌 A549 细胞体外增殖和侵袭抑制作用及机制的研究 [J]. 中国药理学杂志, 2015, 50(13): 1111-1116. DOI: 10.11669/epj.2015.13.009.
- [8] 林菁, 王希. 黄葵素对拓扑异构酶的影响及联合羟喜树碱的抗肿瘤作用 [J]. 药学学报, 2011, 46(4): 390-394. DOI: 0513-4870(2011)04-0390-05.
- [9] WANG Y J, HAN E, XING Q H, et al. Baicalein upregulates DDIT4 expression which mediates mTOR inhibition and growth inhibition in cancer cells [J]. Cancer Lett, 2015, 358(2): 170-179. DOI: 10.1016/j.canlet.2014.12.033.
- [10] LIU Y, SHANG L, FANG H, et al. Design, synthesis, and preliminary studies of novel N-Cinnamoyl-L-aspartic acid derivatives as aminopeptidase N/CD13 inhibitors [J]. Bioorg Med Chem, 2009, 17(20): 7398-7404. DOI: 10.1016/j.bmc.2009.07.014.
- [11] 蒋超, 蒙凌华, 齐清, 等. 螺旋藻提取物对表皮生长因子受体酪氨酸激酶的抑制作用及诱导 HL-60 细胞凋亡 [J]. 癌症, 2000, 19(12): 1101-1104. DOI: 10.3321/j.issn:1000-467X.2000.12.009.
- [12] 杨辉, 谢辉, 洪明, 等. 组蛋白去乙酰化酶抑制剂联合芬维 A 胺诱导人肝癌细胞凋亡的研究 [J]. 临床医学工程, 2012, 19(11): 1881-1883. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4659.2012.11.1881.
- [13] GILES G I, SHARMA R P. Topoisomerase enzymes as therapeutic targets for cancer chemotherapy [J]. Med Chem, 2006, 32(1): 283-294. DOI: 10.2174/1573406054368738.
- [14] KIM S J, RABBANI Z N, DONG F, et al. Phosphorylated epidermal growth factor receptor and cyclooxygenase-2 expression in localized non small cell lung cancer [J]. Med Oncol, 2010, 27(1): 91-97. DOI: 10.1007/s12032-009-9178-z.
- [15] AL-NAJAR A, AL-SANABANI S, KORDA J B. Microvessel density as a prognostic factor in penile squamous cell carcinoma [J]. Urol Oncol, 2012, 30(3): 325-329. DOI: 10.1016/j.urolonc.2010.03.016.
- [16] SENGER D R, GALLI S J, DVORAK A M, et al. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid [J]. Science, 1983, 219(4587): 983-985. DOI: 10.1126/science.6823562.
- [17] 倪晓辰, 赵志红, 马永良. 桉木醇诱导人肾透明细胞癌 786-O 细胞凋亡及其机制研究 [J]. 中国肿瘤临床, 2015, 42(1): 43-46. DOI: 10.3969/j.issn.1000-8179.20141412.
- [18] 王晶. 槲皮素对人肺癌细胞 A549 凋亡影响 [J]. 中国公共卫生, 2015, 31(4): 464-466. DOI: 10.11847/zgggws2015-31-04-25.
- [收稿日期] 2015-12-20 [修回日期] 2016-03-24  
[本文编辑] 党瑞山

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 文稿中计量单位使用的要求

本刊严格执行国务院颁发的《中华人民共和国法定计量单位》, 全面贯彻国家标准 GB3100-3102-1993《量和单位》的规定, 正确使用量和单位的名称和符号。(1)量符号以斜体拉丁和希腊字母表示 (pH 用正体除外), 例如  $m$  (质量)、 $t$  (时间)、 $c$  (浓度)、 $V$  (体积)、 $p$  (压力)、 $F$  (力) 等。(2)单位符号一律以正体拉丁或希腊字母表示, 例如 kg (千克)、m (米)、h (小时)、mol/L (摩尔每升) 等。(3)表示人体检验指标的量浓度或质量浓度时, 一般使用 L (升) 作为检验组成含量单位的分母。(4)表示用药剂量单位时, 不能写成 mg/kg/d 的形式, 应写成 mg/(kg·d) 或  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  的形式。(5)单位符号常见书写错误: 长度单位符号 A° (埃) 已不用, 应写作 0.1 nm; 时间单位“小时”符号为 h (不是 hr)、“秒”符号为 s (不是 sec); 转速单位符号为 r/min (不是 rpm); 量浓度单位符号为 mol/L (不是 M、N, 也不是 mol/mm<sup>3</sup>); 力的单位“牛顿”符号为 N (不是 dyn (达因))、kgf (千克力), 换算 1 dyn = 10<sup>-5</sup> N; 热量单位“焦耳”符号为 J (不是 cal (卡)、kcal (千卡)), 换算 1 cal = 4.187 J; 放射性活度单位符号为 Bq (不是 Ci (居里)), 换算 1 Ci = 3.7 × 10<sup>10</sup> Bq]。

(本刊编辑部)