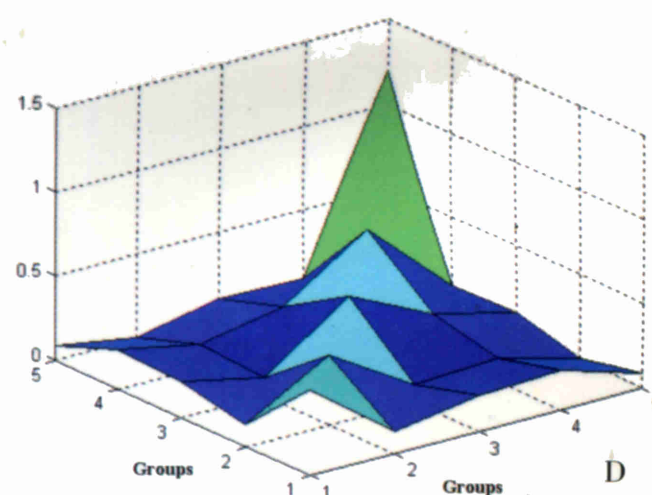
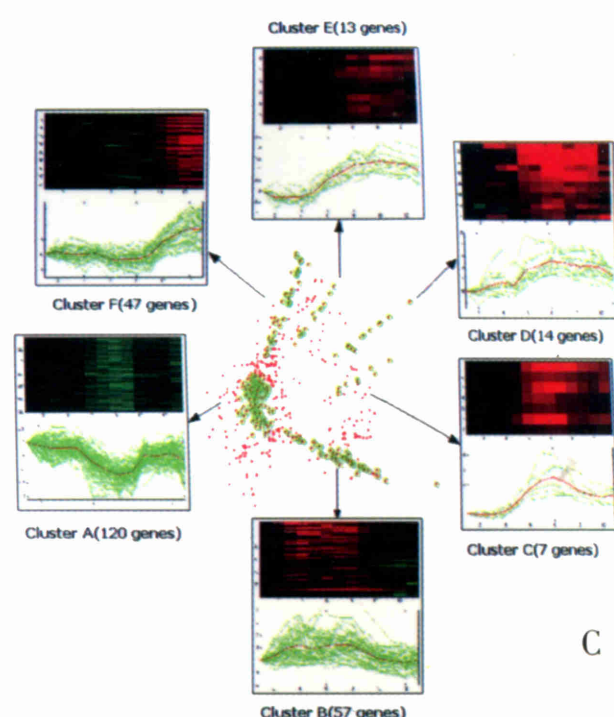


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003 年 10 月 15 日 第 11 卷 第 10 期 (Volume 11 Number 10)



10/2003

ISSN 1009-3079



名誉总编辑
潘伯荣
总编辑
马连生

World Journal of Gastroenterology® 被 SCI®-E, Research Alert®, Current Contents®/Clinical Medicine, Journal Citation Reports® Index Medicus, MEDLINE, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2002 年 JCR® 报告 WJG 影响因子 2.532. 世界华人消化杂志® 被 Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2001 年中国科技期刊引证报告: 世界华人消化杂志® 影响因子 3.733, WJG 影响因子 2.920.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ●		2003 年 10 月 15 日 第 11 卷 第 10 期 (总第 114 期)
述 评	1465 复杂性疾病生物信息学研究的策略与方法 李梢, 张学工, 季梁, 李衍达	
幽门螺杆菌	1470 幽门螺杆菌黏附素基因 babA ₂ 的克隆、序列测定及其生物信息学分析 白杨, 黄文, 王继德, 张兆山, 周殿元, 张亚历 1475 幽门螺杆菌 HspA 与大肠杆菌 LTB 基因融合及表达 郭红, 邹全明, 赵晓晏, 吴超 1480 人幽门螺杆菌热休克蛋白 A 编码基因的克隆、表达及抗原性研究 姜政, 蒲丹, 黄爱龙, 陶小红, 王丕龙 1485 幽门螺杆菌对克拉霉素耐药的分子基础 郝庆, 李岩, 高红, 张显忠	
基础研究	1488 氧化苦参碱对四氯化碳诱导的大鼠肝纤维化 I, III, IV 型胶原表达的影响 陆伦根, 曾民德, 茅益民, 李继强, 邱德凯, 杨文卓, 贾一韬, 曹爱平 1492 粉防己碱、大黄与潘生丁抗肝纤维化作用比较 王如涛, 陈颖伟, 卫新革, 徐芹芳, 李定国 1497 珍珠梅水提物对大鼠肝损伤的保护作用 张学武, 朴龙, 刘超, 孙权, 金海玲, 尹宗柱 1500 乙型肝炎病毒 S 基因系列单突变克隆人工构建 余祖江, 杨东亮, 张俊, 郝友华, 王宝菊, 郝连杰 1505 急性胰腺炎大鼠肝脏 NF-κB 对 ICAM-1 表达的调控及其意义 石力, 田伏洲, 黄大熔, 李旭, 赵碧, 顾大勇, 唐旭东, 王雨 1508 丁酸钠对结肠癌细胞株 HT-29 组织蛋白酶 D 表达水平的影响 李曦, 罗和生, 李凡 1511 国人青年结直肠癌解剖部位分布及临床病理特点 谢正勇, 卿三华 1515 慢性乙型肝炎病毒清除自杀基因平衡制约载体系统的构建 阙全程, 余祖江, 雷延昌, 杨东亮, 郝连杰 1520 人工构建含丙型肝炎病毒核糖体插入位点的双顺反子表达载体 阙全程, 余祖江, 雷延昌, 杨东亮, 郝连杰 1524 溃疡性结肠炎患者肠黏膜 Th1/Th2 类细胞因子 m-RNA 的表达 崔海宏, 陈村龙, 杨玉捷, 张祚建, 张耀东, 崔耀升	
临床研究	1528 自膨胀金属支架治疗晚期食管癌吞咽困难 26 例 张朋彬, 赵晓晏, 李宜辉, 达四平 1531 胃癌组织 CD ₄₄ v9 和 MMP-2 基因的表达 张翠萍, 田宇彬, 赵清喜, 武军, 梁永信 1535 奥沙利铂综合治疗胃癌的疗效及机制 林万隆, 李定国, 陈强, 陆汉民, 马小明, 孙培龙 1540 聚合酶链反应检测 SEN 病毒 D 型和 H 型方法的建立及初步应用 唐蔚, 彭晓谋, 张瑛, 王辉, 蒋晓玲, 周伯平 1544 肝病患者血清 IGF-I 和 IGF-II 的变化 邵静鸣, 俞丽芬, 张曙, 吴云林 1547 ERCP 对儿童胰腺炎的诊断与治疗价值 李兆申, 许国铭, 施新岗, 邹晓平, 金震东, 孙振兴 1550 急性胆源性胰腺炎内镜诊治疗效及安全性 王东, 李兆申, 张文俊, 潘雪, 孙振兴, 邹晓平 1554 胰腺癌组织 ChAT, GAD65 和 PKC 酶活性的表达 杨竹林, 王群伟, 邓星辉, 李代强, 吕芳, 李永国 1558 国人胆囊结石的形态结构特征 吴杰, 杨海珉, 李静仪, 宋一德, 刘刚 1563 结核性腹膜炎与恶性腹水端粒酶活性 赵金满, 李福才, 于继红, 崔巍, 傅宝玉, 沙文阁	
科研方法	1566 山莨菪碱联用地塞米松治疗腹部外科疾病并发 MODS 临床研究的操作方案 岳茂兴	
文献综述	1569 门脉高压性肠病 尹朝晖, 刘浔阳 1572 肝纤维化治疗研究进展 叶方鹏, 肖冰, 张万岱 1576 现代肝脏局部解剖在活体部分肝移植应用的研究进展 方驰华, 朱新勇 1581 生长抑素类似物治疗肝细胞肝癌的抗肿瘤作用及其机制 冒海蕾, 黄介飞 1588 胰头部解剖在扩大胰十二指肠切除术中的应用 方驰华, 马俊勋, 钟世镇 1593 p53 基因在肿瘤基因治疗中的研究进展 张艳, 何凤田 1597 血管抑素的研究进展 陈建发, 黄宗海 1601 TGF β-Smad 信号转导通路与肝纤维化 吴晓玲, 曾维政, 王丕龙 1606 消化管发育中上皮细胞凋亡研究进展 李均, 汪维伟 1609 生物芯片技术及其在消化系统疾病研究中的应用 蒋业贵, 李兆申	

文献综述	1614 Wilson病的诊断和治疗 林连捷, 郑长青 1618 E- 钙粘蛋白与食管癌侵袭转移的关系 吴静, 薛群基, 刘维民, 王爱勤, 寇伟 1621 胰腺癌的光动力学治疗 丁新民, 顾瑛, 刘凡光 1624 Ets 转录因子家族在发育和肿瘤发生中作用的研究进展 张健, 高福祿, 刘芝华 1628 核因子-κB 与细胞凋亡关系的研究进展 於亮亮, 于皆平, 罗和生, 于红刚
研究快报	1632 paxillin 在胃腺癌中的表达及临床意义 田素芳, 熊永炎, 余少平, 汪必成 1634 丹参对 TGF-β1 刺激的 NIH/3T3 细胞 <i>c-fos</i> mRNA 表达和 AP1 蛋白结合活性的影响 胡旭东, 王晓玲, 童普德, 吴小江, 刘平 1636 左旋精氨酸对大鼠肝脏缺血再灌注损伤的保护作用 郝悦, 周新民 1638 端粒酶在大肠癌细胞中的活性表达及临床意义 鲁明良, 林富林, 郑国宝, 姜朝晖 1640 多种因子在门脉高压大鼠结肠黏膜中的表达 尹朝晖, 刘浚阳, 黄飞舟, 黄穰浪, 任树平 1642 黄连素对 HT-29 人结肠癌细胞系 Ca ²⁺ 的抑制作用 台卫平, 罗和生 1645 DPC4 蛋白在不同病理分期的结肠肿瘤中的表达 唐朝晖, 邹声泉, 杨想平, 陈启奇 1646 Genistein 和 PD98059 对 aFGF 及 bFGF 诱导的 CCL229 细胞增生的抑制作用 尚海, 张颐, 单吉贤 1649 CO ₂ 气腹对肠道菌群生物学特性影响的实验研究 周丁华, 卫冰, 李宁, 黎介寿 1652 CO ₂ 气腹对大鼠胃肠肌电作用的实验研究 周丁华, 卫冰, 李宁, 黎介寿 1654 CO ₂ 气腹对胃黏膜血管活性肠肽及 P 物质含量的影响 周丁华, 卫冰, 李宁, 黎介寿
临床经验	1656 腹腔严重感染致多器官功能障碍的临床救治新对策 岳茂兴 1657 解毒固本冲剂治疗腹腔感染合并全身炎性反应综合征的临床研究 姜玉峰, 岳茂兴 1659 TIPSS 和 EVS 治疗食管静脉曲张破裂出血的临床分析 诸葛宇征, 王英德, 刘丽娜, 宫爱霞, 赵钢
消 息	1504 中国科技期刊走向世界的步伐正在加快 1568 欢迎订阅 2004 年度世界华人消化杂志 1571 欢迎订阅 2004 年度 World Journal of Gastroenterology® 1580 世界华人消化杂志获得 2001 年度百种中国杰出学术期刊 1613 WJG 搭建我国消化学基础和临床研究惟一国际交流的平台 1655 世界胃肠病学杂志英文版获得 2003-2004 年国家自然科学基金重点学术期刊专项基金资助
封面故事	1553 清华大学生物信息学研究所、生物信息学教育部重点实验室

<div><h1>世界华人消化杂志</h1><p>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</p><div><div>吴阶平 题写封面刊名</div><div>陈可冀 题写版权刊名</div><div>(月刊)</div><div>创刊 1993-01-15</div><div>改刊 1998-01-25</div><div>出版 2003-10-15</div><div>原刊名 新消化病学杂志</div></div><div><div>总顾问 陈可冀</div><div>黄象谦</div><div>黄志强</div><div>黎介寿</div><div>刘耕陶</div><div>裘法祖</div><div>汤钊猷</div><div>王宝恩</div><div>危北海</div><div>吴孟超</div><div>吴咸中</div><div>张金哲</div><div>张学庸</div><div>赵东海</div><div>周殿元</div><div>社长总编辑 马连生</div><div>中文编辑 潘伯荣</div><div>王瑾晖</div><div>英文编辑 朱丽虹</div><div>排版 李少华</div><div>校对 李天华</div></div></div>	<div><div>编辑 世界华人消化杂志编辑委员会</div><div>030001, 山西省太原市双塔西街 77 号</div><div>E-mail: wcjd@wjgnet.com</div><div>出版 世界胃肠病学杂志社</div><div>100023, 北京市 2345 信箱</div><div>E-mail: wcjd @ wjgnet.com</div><div>http://www.wjgnet.com</div><div>电话: 010-85381892</div><div>传真: 010-85381893</div><div>印刷 北京科信印刷厂</div><div>发行 国内: 北京报刊发行局</div><div>国外: 中国国际图书贸易总公司</div><div>(100044, 北京 399 信箱)</div><div>订购 全国各地邮电局</div><div>邮购 世界胃肠病学杂志社发行部</div><div>(100023, 北京市 2345 信箱)</div><div>电话: 010-85381892</div><div>传真: 010-85381893</div><div>2003 年版权归世界胃肠病学杂志社所有</div></div>	<div><div>本刊已被国内外</div><div>检索系统收录</div><div>美国《化学文摘(CA)》</div><div>荷兰《医学文摘库/医学文摘(EM)》</div><div>俄罗斯《文摘杂志(P Ж)》</div><div>中国科技论文统计与分析</div><div>中国学术期刊文摘</div><div>中国中医药信息服务网</div><div>中国生物医学文献光盘数据库</div><div>《中文科技资料目录(医药卫生)》</div><div>中国生物医学期刊目次数据库</div><div>中国医学文摘外科学分册(英文版)</div><div>中国医学文摘内科学分册(英文版)</div><div>特别声明</div><div>本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.</div></div>
---	---	--

ISSN 1009-3079	邮发代号	国外代号	国内定价	广告经营许可证
CN 14-1260/R	82-262	M 4481	每期 24.00 元 全年 288.00 元	1401004000050

- 9 Sanders KM, Ward SM. Nitric oxide as a mediator of nonadrenergic noncholinergic neurotransmission. *Am J Physiol* 1992;262:G379-392
- 10 Levin ER. Endothelins. *N Engl J Med* 1995;333:356-363
- 11 Lazaratos S, Kashimura H, Nakahara A, Fukutomi H, Osuga T, Urushidani T, Miyauchi T, Goto K. Gastric ulcer induced by submucosal injection of ET-1: role of potent vasoconstriction and intraluminal acid. *Am J Physiol* 1993;265(3Pt 1):G491-G498
- 12 Lopez-Talavera JC, Cadelina G, Olchowski J, Merrill W, Groszmann RJ. Thalidomide inhibits tumor necrosis factor alpha, decreases nitric oxide synthesis, and ameliorates the hyperdynamic circulatory syndrome in portal-hypertensive

- rats. *Hepatology* 1996;23:1616-1621
- 13 Ohta M, Tarnawski AS, Itani R, Pai R, Tomikawa M, Sugimachi K, Sarfeh IJ. Tumor necrosis factor alpha regulates nitric oxide synthase expression in portal hypertensive gastric mucosa of rats. *Hepatology* 1998;27:906-913
- 14 Marsden PA, Brenner BM. Transcriptional regulation of the endothelin-1 gene by TNF-alpha. *Am J Physiol* 1992;262(4 Pt 1):C854-C861
- 15 Stephens KE, Ishizaka A, Larrick JW, Raffin TA. Tumor necrosis factor causes increased pulmonary permeability and edema. Comparison to septic acute lung injury. *Am Rev Respir Dis* 1988;137:1364-1370

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2003 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 研究快报 •

黄连素对 HT-29 人结肠癌细胞系 Ca^{2+} 的抑制作用

台卫平, 罗和生

台卫平, 罗和生, 武汉大学人民医院消化内科 湖北省武汉市 430060
项目负责人: 罗和生, 430060, 湖北省武汉市武昌区解放路 238 号, 武汉大学人民医院消化内科. luotang@public.wh.hb.cn
电话: 027-88041919-2134
收稿日期: 2003-01-10 接受日期: 2003-02-19

摘要

目的: 探讨黄连素对人结肠癌细胞系 HT-29 的作用及与 Ca^{2+} 有关的机制, 为黄连素作为一种新的结肠癌化学治疗药物进行理论上的准备和提供相关实验结果。

方法: 0.1 $\mu\text{mol/L}$, 0.3 $\mu\text{mol/L}$, 3.0 $\mu\text{mol/L}$, 30.0 $\mu\text{mol/L}$ 的黄连素加入到 HT-29 结肠癌细胞系培养液中. 分别在第 1 d, 第 2 d, 第 3 d 测量各有关值. 以 bapta-AM (33 $\mu\text{mol/L}$) 为细胞内 Ca^{2+} 螯合剂, verapamil (50 mmol/L) 为细胞膜 Ca^{2+} 通道拮抗剂, 分别抑制细胞内 Ca^{2+} 和细胞膜 Ca^{2+} 通道, 对比观察黄连素对细胞内 Ca^{2+} 的影响及结肠癌细胞在不同 Ca^{2+} 浓度条件下各有关值. 细胞计数检测细胞的生长和增生, 用免疫荧光分光光度法检测细胞内 Ca^{2+} 浓度。

结果: 黄连素在浓度大于 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 时则有明显的量效关系抑制结肠癌细胞的生长. 黄连素在浓度大于 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 时对细胞内 Ca^{2+} 的释放有抑制作用。

结论: 黄连素能够抑制 Ca^{2+} 的释放可能为黄连素抑制 HT-29 细胞生长和增生的一个机制。

台卫平, 罗和生. 黄连素对 HT-29 人结肠癌细胞系 Ca^{2+} 的抑制作用. 世界华人消化杂志 2003;11(10):1642-1644

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1642.asp>

0 引言

结肠癌是常见的恶性肿瘤之一, 他严重地危害着人们的身体健康. 目前临床上结肠癌常用的化疗药物毒副作用

用大, 寻找新的化疗效果好、毒副作用小的药物, 可以提高结肠癌患者的治疗效果, 提高患者的生存期及生存质量. 已有研究证实黄连素(berberine, ber)对平滑肌细胞内 Ca^{2+} 有作用^[1]. Ca^{2+} 作为第二信使可能以某种形式参与肿瘤生长和繁殖的调节^[2]. 本题采用细胞培养的方法, 将黄连素加入到结肠癌细胞培养环境中, 观察培养上清中细胞内 Ca^{2+} 的改变, 同时观察 ber 对结肠癌细胞生长、增生的影响, 为 ber 作为一种新的结肠癌化疗药物进行理论上的研究。

1 材料和方法

1.1 材料 细胞系: HT-29 细胞系购自中南大学湘雅医学院肿瘤研究所, 该细胞系由该所引自 ATCC. 主要试剂和仪器: berberine (Sigma), Fura-2/AM (Sigma), bapta-AM (Sigma), verapamil (Sigma), 日本产岛津 RF-5000 荧光分光光度计。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 HT-29 以 RPMI-1640 为培养液, 加入 100 mL/L 热灭活的 FBS 及青霉素和链霉素, HT-29 细胞置于 37 $^{\circ}\text{C}$, 50 mL/L CO_2 培养箱中培养, 以 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 细胞接种 24 h 后, 分组加药: 终浓度为 0.1 $\mu\text{mol/L}$, 0.3 $\mu\text{mol/L}$, 3.0 $\mu\text{mol/L}$, 30.0 $\mu\text{mol/L}$ 的 ber 加入到 HT-29 结肠癌细胞系培养液中. 以 bapta-AM (33 $\mu\text{mol/L}$) 为细胞内 Ca^{2+} 螯合剂, verapamil (30 mmol/L) 为细胞膜 Ca^{2+} 通道拮抗剂, 分别抑制胞内 Ca^{2+} 及胞膜钙通道, 对比观察黄连素对细胞内 Ca^{2+} 的影响. 24 h 后测量钙离子浓度。

1.2.2 生长曲线的绘制 采用氮兰四唑盐实验(MTT)法, 取对数生长期的 HT-29 细胞按传代方式制成单细胞悬液, 以每孔 4×10^3 个细胞接种于 96 孔培养板中, 培养 24 h 后, 弃去原细胞培养液, 实验组每孔加入 ber

母液,使其浓度为0.1 $\mu\text{mol/L}$ 、0.3 $\mu\text{mol/L}$ 、3.0 $\mu\text{mol/L}$ 、30.0 $\mu\text{mol/L}$,对照组不加药,换成与实验组相同体积的培养液.每组每个时间点设6个平行孔,继续培养箱内培养,培养6 d,每组各取6孔加入MTT溶液(5 mg/mL) 20 μL ,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育4 h后弃去孔内培养液,每孔加入15 μL DMSO 震荡10 min.以空白孔调零,在酶联免疫检测仪上测490 nm波长处的每孔吸光度值(aborbance, A值),求其平均值.

1.2.3 免疫荧光分光光度法检测钙离子浓度 经典的Fura-2/AM负载测钙^[2]方法:用无血清的培养液洗涤细胞,将 10^6 细胞悬浮于1 mL含2.5 mmol/L Fura-2/AM和2 g/L BSA的BSS液中,37 $^{\circ}\text{C}$ 温浴80 min,并不断振荡.用冷BSS洗涤细胞2次,去除胞外游离的Fura-2/AM.将细胞悬浮在冷BSS中.连续测定340 nm、380 nm波长激发光交替激发时,490 nm发射新的荧光强度F,同时记录荧光强度比值R($R = F_{340}/F_{380}$).扫描结果由Super Ion Probe Software软件自动分析,依据公式 $[\text{Ca}^{2+}]_i = K_d (R_{\text{min}} - R) / (R - R_{\text{max}}) \times (F_{f2}/F_{b2})$,其中 K_d 为Fura-2/AM与钙离子结合反应的解离平衡常数. F_{f2}/F_{b2} 分别为钙离子游离与饱和时380 nm的荧光强度.自发荧光以未负载Fura-2/AM的细胞同样方法测得,计算时减去.

统计学处理 采用统计软件SPSS10.0分析.根据资料性质,实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用t检验处理, $P < 0.05$ 为有统计学差异.

2 结果

2.1 ber对HT-29细胞生长、增生的影响 不同浓度的ber对HT-29细胞干预后的生长曲线如图1.细胞接种后,对照组细胞几乎呈线性生长,72 h后细胞数量大约增加8倍.ber干预后呈剂量依赖性抑制细胞增生,生长曲线向右移,3.0 $\mu\text{mol/L}$ 及30.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度抑制细胞增生较明显.

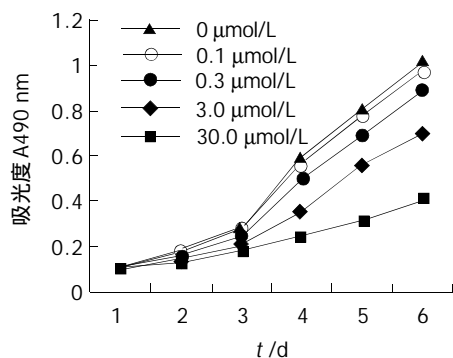


图1 不同浓度ber对HT-29细胞干预后的生长曲线.

2.2 ber对HT-29 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的影响 不同浓度的ber及verapamil、Bapta-AM对HT-29 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的影响见表1.结果显示当ber浓度在0.3–30 $\mu\text{mol/L}$ 之间时,对 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 有抑制作用,但作用强度比胞膜 Ca^{2+} 拮抗剂verapamil弱,比胞内 Ca^{2+} 螯合剂Bapta-AM更弱.

表1 Ber和verapamil、Bapta-AM对HT-29 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的影响($n = 6$)

组别	浓度($\mu\text{mol/L}$)	$[\text{Ca}^{2+}]_i(\text{nmol/L})$
对照		145.5 ± 10.7
Ber	0.1	141.3 ± 9.5
	0.3	123.7 ± 7.5^a
	3.0	120.7 ± 10.3^a
	30.0	118.8 ± 8.5^a
Verapamil	50	110.3 ± 8.7^a
Bapta-AM	33	20.1 ± 5.4^b

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 对照组.

3 讨论

黄连素是从毛茛科黄连素(Coptis chinensis)根状茎中提取的一种季胺类化合物,属于异喹啉生物碱,主要用于肠道炎症伴发热,其毒副作用很小.近年来有研究证实ber对肿瘤细胞系也有作用^[3].关于ber对肿瘤细胞的作用机制,以前侧重于ber与细胞凋亡的关系^[4]. Ca^{2+} 作为一种第二信使,在细胞信号传导中起着重要作用^[5].

细胞钙以结合钙(如与带负电的脂质及蛋白质结合)和游离钙两种形式存在.在通常情况下,细胞外液约50–60%是结合钙,游离钙浓度约0.1–10 mmol/L,细胞内钙则99.9%以上为结合钙,主要分布于细胞核、线粒体、内质网/肌浆网和质膜,而胞内游离钙极少.细胞在非激活状态时,胞内游离钙浓度仅为0.1 $\mu\text{mol/L}$ 左右,但胞内游离钙浓度的改变却是细胞生理功能的关键环节.钙库如内质网、线粒体中的 Ca^{2+} 缓冲能力很大,在调节细胞质内 Ca^{2+} 浓度中起着重要作用.当一种刺激使胞外即使少量的 Ca^{2+} 进入胞内溶质或钙库释放稍有增加时,均可以导致胞质内 Ca^{2+} 浓度大幅度增加,继而引起一系列生理生化反应,而起到传递细胞外信号的作用^[6].由此可见,胞内游离钙浓度的变化是细胞生理功能的重要物质基础,胞内游离钙浓度的调节也就成为信息传递过程中的关键环节^[7,8].

细胞游离钙浓度的变化是 Ca^{2+} 跨膜转运的结果.胞外 Ca^{2+} 内流:钙在细胞内外的电化学梯度大于其他许多离子,细胞外 Ca^{2+} 可通过被动扩散进入细胞内,但控制胞外 Ca^{2+} 内流最主要的途径还是通过细胞膜上的钙通道.钙通道的种类很多,但对其确切的分子结构大多还不清楚,目前认为有五大钙通道:(1)电压操纵的钙通道(voltage-operated calcium channels, VOCs):常见于应激细胞,其活动受膜电压变化的影响,存在于心肌、骨骼肌、神经元及内分泌等不同细胞中^[9].(2)受体操纵的钙通道(receptor-operated calcium channels, RCCs):见于神经元与其靶细胞之间的突触传递^[10].(3)第二信使操纵的钙通道(second messenger operated calcium channels, SMOCs):受控于细胞的第二信使,其电导很小^[11].(4)机械操纵的钙通道(mechanically operated calcium channels, MOCs):内皮细胞上有牵张刺激的钙通道,这一通道也

存在于平滑肌与骨骼肌中^[12]。(5)漏流钙通道(leak calcium channels, LCCs):也称为静息钙通道或背景钙通道,存在于平滑肌与心肌细胞膜中,在无电学或机械刺激时,参与静息钙电流,协助调节静息细胞内 Ca^{2+} 浓度^[13]。

细胞内钙主要储存于内质网(endoplasmic reticulum, ER)/肌浆网(sarcoplasmic reticulum, SR)内。目前已知 ER/SR 有两类钙库,即 IP₃ 敏感(IP₃-sensitive calcium pools, IsCaP)和 IP₃ 不敏感钙库(lisCaP),分别通过上面的 IP₃ 受体通道和 ryanodine 受体通道释放 Ca^{2+} ^[14]。

本研究发现浓度大于 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 时黄连素可以降低胞内 Ca^{2+} 浓度,结果如表所示。在正常培养环境中,胞内 Ca^{2+} 浓度为 $145.5 \pm 10.7 \text{ nmol/L}$, verapamil 50 $\mu\text{mol/L}$ 可以使胞内 Ca^{2+} 浓度降至 $110.3 \pm 8.7 \text{ nmol/L}$ 。而 verapamil 的作用位点为 VOCs,这说明在 HT-29 细胞膜上存在 VOCs,这一点与 Jamie et al^[14]的研究结果相一致;由于 RCCs 仅见于神经元与其靶细胞之间的突触传递;SMOCs 由于受控于细胞的第二信使;MOCs 仅见于血管内皮细胞、平滑肌和骨骼肌;LCCs 仅存于心肌和平滑肌细胞膜,参与静息钙电流。故在 HT-29 细胞中黄连素降低 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 胞外钙离子内流环节可能涉及到的通道为 VOCs 和 SMOCs。而在细胞内钙离子动员方面, Bischof et al^[15] 已经证实 HT-29 细胞胞内钙可以通过 ER/SR 钙库动员。故本实验推测黄连素降低细胞内钙离子浓度其机制可能是通过 VOCs 或 SMOCs 或抑制 ER、SR 胞内钙离子的释放进而降低胞内钙离子浓度;在观察的 0.1-10.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内,其抑制用的强度弱于 50 $\mu\text{mol/L}$ 的细胞膜 L-通道拮抗剂 verapamil (30 $\mu\text{mol/L}$ 黄连素组 vs 50 $\mu\text{mol/L}$ verapamil 组, $P > 0.05$, 无显著性差异),更不如 33 $\mu\text{mol/L}$ 的胞内钙离子螯合剂 bapta-AM (30 $\mu\text{mol/L}$ 黄连素组 vs 33 $\mu\text{mol/L}$ bapta-AM 组, $P < 0.05$, 差异有显著性)。

4 参考文献

- 1 Cao JW, Luo HS, Yu BP, Huang XD, Sheng ZX, Yu JP. Effects of berberine on intracellular free calcium in smooth muscle cells of Guinea pig colon. *Digestion* 2001;64:179-183
- 2 Scott DA, de Souza W, Benchimol M, Zhong L, Lu HG, Moreno SN, Docampo R. Presence of a plant-like proton-pumping pyrophosphatase in acidocalcisomes of *Trypanosoma cruzi*. *J Biol Chem* 1998;273:22151-22158
- 3 Li XK, Motwani M, Tong W, Bornmann W, Schwartz GK. Huanglian, A Chinese herbal extract inhibits cell growth by suppressing the expressing of cyclinB1 and inhibiting CDC2 kinase activity in human cancer cells. *Mol Pharmacol* 2000;58:1287-1293
- 4 Lin HL, Liu TY, Wu CW, Chi CW. Berberine modulates expression of mdr1 gene product and the responses of digestive track cancer cells to Paclitaxel. *Br J Cancer* 1999;81:416-422
- 5 Shen MR, Chou CY, Browning JA, Wilkins RJ, Ellory JC. Human cervical cancer cells use Ca^{2+} signalling, protein tyrosine phosphorylation and MAP kinase in regulatory volume decrease. *J Physiol* 2001;537(Pt 2):347-362
- 6 刘景生. 细胞信息与调控. 第1版. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998:169-170
- 7 Gomez-Lagunas F, Melishchuk A, Armstrong CM. Block of Shaker potassium channels by external calcium ions. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:347-351
- 8 Kindzelskii AL, Petty HR. Intracellular calcium waves accompany neutrophil polarization, formylmethionylleucylphenylalanine stimulation, and phagocytosis: a high speed microscopy study. *J Immunol* 2003;170:64-72
- 9 Yoshida M, Ishikawa M, Izumi H, De Santis R, Morisawa M. Store-operated calcium channel regulates the chemotactic behavior of ascidian sperm. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:149-154
- 10 Mao L, Wang JQ. Group I metabotropic glutamate receptor-mediated calcium signalling and immediate early gene expression in cultured rat striatal neurons. *Eur J Neurosci* 2003;17:741-750
- 11 Mitra P, Slaughter MM. Calcium-induced transitions between the spontaneous miniature outward and the transient outward currents in retinal amacrine cells. *J Gen Physiol* 2002;119:373-388
- 12 Jorgensen NR, Teilmann SC, Henriksen Z, Civitelli R, Sorensen OH, Steinberg TH. Activation of L-type calcium channels is required for gap junction-mediated intercellular calcium signaling in osteoblastic cells. *J Biol Chem* 2003;278:4082-4086
- 13 Subramani S, Vijayanand C, Tharion E. Differential effects of organic calcium-channel blockers on diastolic SR calcium-handling in the frog heart. *Br J Pharmacol* 2002;137:756-760
- 14 Jamie H, Dyason K, Milne PJ, Grant G, Graz CJ. The influence of acetoacetate and butyrate on calcium influx and ATP concentrations in HT-29 cells. *Pharmazie* 2001;56:332-336
- 15 Bischof G, Brenman J, Bredt DS, Machen TE. Possible regulation of capacitative Ca^{2+} entry into colonic epithelial cells by NO and cGMP. *Cell Calcium* 1995;17:250-262



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

