

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003年8月15日 第11卷 第8期

(Volume 11 Number 8)



8/2003

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 8 月 15 日 第 11 卷 第 8 期 (总第 112 期)

述 评

- 1073 乙型肝炎病毒基因组结构与功能复杂性的新认识 成军, 董菁
1081 重视溃疡性结肠炎的诊断和个体化规范化治疗 江学良

病毒性肝炎

- 1083 乙型肝炎病毒中国流行株全基因的克隆与序列分析 成军, 董菁, 洪源, 钟彦伟, 刘妍, 王刚, 王琳
1091 乙型肝炎病毒基因组中前-S 区编码基因的界定 董菁, 成军
1097 乙型肝炎病毒基因组中前-X 编码基因的界定 董菁, 成军
1102 羧基末端截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式激活基因 1 的克隆化研究 刘妍, 成军, 王琳, 王建军, 陆荫英, 李克
1107 乙型肝炎病毒 X 蛋白激活基因 1 的克隆化与序列分析 刘妍, 成军, 王琳, 王建军, 陆荫英, 李克
1114 乙型肝炎病毒前-S2 蛋白结合蛋白基因 S2-29 的克隆化研究 陆荫英, 陈天艳, 成军, 梁耀东, 王琳, 刘妍, 李克, 张健, 邵清, 张玲霞
1118 酵母双杂交技术筛选鉴定乙型肝炎病毒 e 抗原结合蛋白 E-19 的研究 陆荫英, 邵清, 成军, 陈天艳, 王琳, 梁耀东, 刘妍, 张健, 李克, 张玲霞
1122 酵母双杂交技术筛选鉴定乙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白新基因 C-12 的研究 陆荫英, 陈天艳, 成军, 邵清, 梁耀东, 王琳, 刘妍, 张健, 李克, 张玲霞
1126 乙型肝炎病毒 X 蛋白与去唾液酸糖蛋白受体 2 突变体相互作用的研究 陆荫英, 陈天艳, 成军, 梁耀东, 王琳, 刘妍, 张健, 邵清, 李克, 张玲霞
1131 羧肽酶 N 调节乙型肝炎病毒核心启动子表达活性的研究 张忠东, 成军, 钟彦伟, 杨倩, 王业东, 董菁, 杨艳杰, 张树林
1135 丙型肝炎病毒 NS5A 基因变异与干扰素疗效的关系 张琳, 赵桂珍, 石理兰, 曹丽
1139 汉族人 IL-12b 和 IL-10 启动子区基因多态性与 HBV 感染的相关性 李永纲, 刘明旭, 王福生, 金磊, 洪卫国

基础 研 究

- 1144 肝外胆管癌组织 BAG-1 与 BAD 表达与凋亡调控的原位定量研究 闫庆国, 师建国, 黄高昇, 张传山, 李青, 胡沛臻, 王文亮
1148 牛磺酸脱氧胆酸损伤线粒体诱导 HepG2 细胞凋亡 李光明, 谢青, 周霞秋, 俞红, 郭清, 廖丹, 李定国
1152 肝硬化大鼠肝部分切除后肝细胞生长周期的调控 陈平, 李昆, 董家鸿, 韩本立
1156 苦参碱对大鼠原位肝移植冷缺血再灌注中肝窦内皮细胞损伤的影响 仇毓东, 朱新华, 史敏科, 丁义涛
1160 犬肝动脉输注阿霉素联合血液灌流的研究 张志友, 张文怡, 钱绍诚
1164 中国人金属基质蛋白酶组织抑制因子-1 基因的克隆与表达 刘双虎, 谭德明, 侯珏, 胡国龄
1168 卡托普利对肝纤维化模型鼠 MMP-2, 3 TIMP-2, 3 表达的影响 李乾, 张桂英, 李新华, 徐美华
1172 垂体后叶素和特利加压素降低门胆汁性肝硬化大鼠门静脉高压对肝组织氧分压的影响 祝建波, 邓利群, 王思元
1175 电泳法检测肝和血清中醇脱氢酶同工酶 宓庆梅, 曹鲁宁, 高春芳
1178 肝细胞生成素核受体的确定及特性 王阁, 陈东风, 胡铭, 王军, 樊丽琳, 张晓荣
1182 PD98059 对乙醛刺激的大鼠肝星状细胞增生的影响 马洪德, 蒋明德, 钟显飞, 解方为, 曾维政
1185 雌二醇对肝纤维化大鼠 I, III 型胶原及 TGF β_1 表达的影响 许君望, 龚均, 冯新利, 茆新明, 罗金燕, 董蕾, 贾皓, 徐贵平
1189 大鼠急性酒精性脂肪肝造模方法的改进 冯志强, 沈志祥, 谭诗云, 罗和生, 漆楚波, 郭洁, 李海霞
1193 丁酸钠联合穿琥宁对人大肠癌细胞 HCT-8 增生的影响 布立民, 纪欣, 韩英, 陈刚, 王志红, 孙淑红
1197 大肠癌组织胸苷磷酸化酶 / 血小板衍生内皮细胞生长因子的表达及意义 余细球, 邓长生, 朱尤庆, 程芳洲
1200 多粘菌素 B 及其模拟肽体外抗内毒素的实验研究 万志红, 王宇明, 刘国栋
1203 肥大细胞在胃嗜酸性肉芽肿发病中的作用 高振军, 罗和生, 操寄望, 余保平, 宋刘来

临床研究	1207 鱼腥草治疗初发型溃疡性结肠炎的临床研究 江学良, 权启镇, 孙自勤, 王要军, 尚瑞莲, 齐凤 1211 奥沙拉秦钠治疗慢性反复发作型溃疡性结肠炎随机对照研究 江学良, 权启镇, 孙自勤, 王要军, 尚瑞莲, 齐凤 1214 抗栓灵含片治疗伴有血小板活化的难治性溃疡性结肠炎 江学良, 权启镇, 孙自勤, 王要军, 尚瑞莲, 齐凤 1219 胃癌前病变演变过程中凋亡相关蛋白和PCNA的表达意义 伍银桥, 王孟薇, 吴本俨, 尤纬缔, 祝庆孚 1223 汉防己甲素抑制肝癌细胞增生的作用 荆绪斌, 李涛, 杨绮华, 郭光华, 胡辉, 陈素钻 1227 美蓝染色放大电子结肠镜观察结肠息肉与组织病理学的关系 苏鲁, 潘洪珍, 翁敬飏, 徐艺华, 陈芳, 洪梅燕 1230 肝硬化患者血浆胃动素、胆囊收缩素、生长抑素及其胃电的改变 张蓉, 闻勤生, 黄裕新, 赵海峰, 田力 1234 肠易激综合征 402 例发病时间分布及症状特征 许小幸, 李定国, 宋光辉, 周惠清, 刘清华
焦点论坛	1237 乙型肝炎病毒基因组结构与功能复杂性的研究进展 成军 1238 准种是乙型肝炎病毒存在的基本方式 成军, 董菁, 刘妍, 王琳, 钟彦伟, 王刚 1240 乙型肝炎病毒 X 基因启动子结构及调节研究 邵清, 成军, 白雪帆 1242 乙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白的研究 梁耀东, 成军, 陆荫英, 吴君, 程明亮 1245 羧基末端截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式激活作用的研究 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩 1248 乙型肝炎病毒 X 蛋白反式激活作用的研究 杨倩, 刘妍, 成军, 王建军, 洪源, 张树林 1250 乙型和丙型肝炎病毒蛋白对于细胞周期素 A 的调节研究 成军, 刘妍, 王琳, 钟彦伟, 王刚 1255 乙型和丙型肝炎病毒对细胞周期素及细胞周期素依赖性蛋白激酶的调节 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩 1258 乙型和丙型肝炎病毒对 MAPKK 信号转导的影响 张忠东, 成军, 钟彦伟, 张树林 1261 乙型和丙型肝炎病毒蛋白对蛋白酪氨酸激酶信号转导的影响 张忠东, 成军, 钟彦伟, 张树林 1264 RNA 干扰与抗肝炎病毒治疗前景的研究 成军, 刘妍, 王琳, 钟彦伟, 王刚
临床经验	1222 一氧化碳中毒伴筋膜间隙综合征的综合治疗 邹淑杭, 马丽萍, 金镇勋, 贺红, 王一玲, 李冰 1267 胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤 21 例 樊丽琳, 陈东风
病例报告	1143 成人不典型郎格罕组织细胞增生症 1 例 王巍峰, 黄启阳, 王志强, 杨云生 1147 慢性酒精性肝损伤致 Gilbert 综合征样改变 1 例 张文瑾, 王晓峰, 赵景民 1192 小肠血管结构不良 2 例 冯瑞娥, 赵大春, 陈杰
消 息	1080 欢迎订阅 2003 年度世界华人消化杂志 1090 欢迎订阅 2003 年度 World Journal of Gastroenterology® 1130 世界华人消化杂志获得 2001 年度百种中国杰出学术期刊 1155 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 1226 WJG 搭建我国消化学基础和临床研究惟一国际交流的平台
封面故事	1138 溃疡性结肠炎的基础和临床研究

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名
陈可冀 题写版权刊名
(月刊)

创刊 1993-01-15
改刊 1998-01-25
出版 2003-08-15
原刊名 新消化病学杂志

总顾问 陈可冀
黄象谦
黄志强
黎介寿
刘耕陶
裘法祖
汤钊猷
王宝恩
危北海
吴孟超
吴咸中

社长总编辑 马连生
中文编辑 潘伯荣
王瑾晖
英文编辑 朱丽虹
排版 李少华
校对 李天华

张金哲
张学庸
赵东海
周殿元

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会
030001, 山西省太原市双塔西街 77 号
E-mail:wcjd@wjgnet.com

出版 世界胃肠病学杂志社
100023, 北京市 2345 信箱
E-mail: wcjd @ wjgnet.com
http://www.wjgnet.com
电话 (010)85381892
传真 (010)85381893

印刷 北京科信印刷厂

发行 国内 北京报刊发行局
国外 中国国际图书贸易总公司
(100044, 北京 399 信箱)

订购 全国各地邮电局

邮购 世界胃肠病学杂志社发行部
(100023, 北京市 2345 信箱)
电话:(010)85381892
传真:(010)85381893

2003 年版权归世界胃肠病学杂志社所有

本刊已被国内外
检索系统收录

美国《化学文摘(CA)》
荷兰《医学文摘库/医学文摘(EM)》
俄罗斯《文摘杂志(PJ)》
中国科技论文统计与分析
中国学术期刊文摘
中国中医药信息服务网
中国生物医学文献光盘数据库
《中文科技资料目录(医药卫生)》
中国生物医学期刊目次数据库
中国医学文摘外科学分册(英文版)
中国医学文摘内科学分册(英文版)

特别声明
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.

ISSN 1009-3079
CN 14-1260/R

邮发代号 82-262

国外代号 M 4481

国内定价 每期 24.00 元 全年 288.00 元

广告经营 14010040

50

www.wjgnet.com

丁酸钠联合穿琥宁对人大肠癌细胞 HCT-8 增生的影响

布立民, 纪欣, 韩英, 陈刚, 王志红, 孙淑红

布立民, 纪欣, 韩英, 王志红, 北京军区总医院消化内科 北京市 100700
陈刚, 北京军医学院 北京市 100700
孙淑红, 河北省承德医学院 河北省承德市 067000
布立民, 男, 1971-03-12 生, 河北省承德市人, 满族, 1995 年承德医学院本科毕业, 硕士生。主要从事大肠癌防治研究。
项目负责人: 韩英, 100700, 北京市东城区南门外 5 号, 中国人民解放军北京军区总医院消化内科。
电话: 010-66721168
收稿日期: 2003-03-06 接受日期: 2003-03-28

Effect of sodium butyrate combined with chuanhuning on HCT-8 cell line proliferation

Li-Min Bu, Xin Ji, Ying Han, Gang Chen, Zhi-Hong Wang, Shu-Hong Sun

Li-Min Bu, Xin Ji, Ying Han, Zhi-Hong Wang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese PLA, Beijing Command, Beijing 100700, China
Gang Chen, Beijing Military Medical College, Beijing 100700, China
Shu-Hong Sun, Chengde Medical College, Chengde 06700, Hebei Province, China
Correspondence to: Dr. Ying Han, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese PLA, Beijing Command, 5 Nanmencang, Dongcheng District, Beijing 100700 China.
Received: 2003-03-06 Accepted: 2003-03-28

Abstract

AIM: To study the effect of sodium butyrate in combination with chuanhuning on HCT-8 cell line proliferation.

METHODS: Inhibition of HCT-8 cell line by sodium butyric acid in combination with chuanhuning was detected by MTT assay and growth curve, and apoptosis was determined by morphological assay and flow cytometry (FCM). Apoptotic cells were observed electro-microscopically.

RESULTS: Sodium butyric acid showed inhibitory effect on the proliferation of HCT-8 cell line in dose-dependent and time-dependent manner. The inhibitory rates were 15.7 %, 20.3 %, and 33.3 % ($P < 0.01$) in different groups. Differentiation and apoptosis were observed under electronic microscope. Sub-G1 peak was detected by FCM. Cell cycle was blocked in S phase. The apoptotic rate of combined group 1 were 23.5 %, 48.6 % at 24 h, and 48 h, and the apoptotic rate of combined group 2 were 30.8 %, 54.2 % at 24 h, and 48 h ($P < 0.01$).

CONCLUSION: Sodium butyric acid can induce apoptosis and differentiation of HCT-8 cells of human colorectal carcinoma, and inhibit proliferation of HCT-8 cells. Apoptotic rate was significantly increased when sodium butyric acid was combined with Chuanhuning.

Bu LM, Ji X, Han Y, Chen G, Wang ZH, Sun SH. Effect of sodium butyrate combined with chuanhuning on HCT-8 cell line proliferation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2003;11(8):1193-1196

摘要

目的: 探讨丁酸钠、穿琥宁体外联合应用对结肠癌细胞的影响。

方法: 应用生长曲线、MTT、流式细胞仪、电镜研究丁酸钠、穿琥宁对 HCT-8 的增生抑制及诱导凋亡作用。

结果: 丁酸钠对 HCT-8 细胞有明显抑制作用, 48 h 后各组抑制率分别为 15.7 %, 20.3 %, 33.3 % ($P < 0.01$), 呈现浓度、时间依赖性。电镜下观察可见成熟分化改变及凋亡细胞, 流式细胞仪可检测到亚 G1 峰, 细胞周期分析发现其主要阻滞在 G1 期。穿琥宁与其联合应用, 混合组 1 在 24 h, 48 h 凋亡率为 23.5 %, 48.6 %, 混合组 2 在 24 h, 48 h 凋亡率为 30.8 %, 54.2 % ($P < 0.01$)。

结论: 丁酸钠抑制 HCT-8 细胞增生, 并诱导其成熟分化、凋亡。穿琥宁与其合用使凋亡率增加。

布立民, 纪欣, 韩英, 陈刚, 王志红, 孙淑红. 丁酸钠联合穿琥宁对人大肠癌细胞 HCT-8 增生的影响. *世界华人消化杂志* 2003;11(8):1193-1196
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1193.asp>

0 引言

大肠癌较常见, 随着人民饮食结构的改变, 大肠癌的发病率与死亡率逐年上升严重威胁人们的身心健康, 平均 5 a 生存率低于 40 %^[1,2]。积极探索大肠癌综合治疗的新手段有重要的临床和社会经济意义。晚期转移性或不可切除的结肠癌患者的化疗仍以 5-FU 为主, 但总有效率仍不满意。研究表明, 多种肿瘤的发生与细胞凋亡障碍有关^[3,4], 诱导肿瘤细胞凋亡可能成为肿瘤治疗中有前景的手段之一。丁酸钠作用于大肠癌细胞株, 可抑制其增生, 阻滞细胞周期, 并诱导细胞凋亡^[5-11], 而穿琥宁与其联合应用, 使抑制作用明显增强, 凋亡率增加, 这为大肠癌的治疗及预防提供了新途径。

1 材料和方法

1.1 材料 穿琥宁由哈尔滨制药三厂生产, 有效成分为脱水穿心莲内酯琥珀酸半酯单钾盐, 200 mg 溶于 PBS 溶液 5 mL 中, 4 °C 室温避光保存。丁酸钠 (n-butyric acid sodium) 购自 Sigma 公司, 250 mg 溶于 PBS 溶液 20 mL 中, 4 °C 室温保存, 保存液浓度为 0.11 mol/L, 噻唑兰(MTT)、碘化丙啶(PI) Sigma 公司产品。HCT-8 为结肠腺癌细胞, 由北京药物研究所提供, 贴壁培养于 100 mL/L 胎牛血清和青、链霉素的 RPMI1640 的培养液中, 置 37 °C,

50 mL/L CO₂ 饱和湿度的无菌培养箱中培养。

1.2 方法 将对数期生长细胞用胰酶消化成单个分散细胞,分种到每孔含3 mL培养液的6孔板中,培养24 h后加入穿琥宁溶液和丁酸钠溶液,各组的终浓度分别为:穿琥宁0.4 g/L, 1.2 g/L, 2.4 g/L, 丁酸钠1.1, 3.3, 5.5 mol/L,连续培养5 d,每天每组取3孔进行细胞计数,每组取平均值绘制生长曲线。根据生长曲线观察结果,分为穿琥宁1组(0.4 g/L)、穿琥宁2组(1.2 g/L)、穿琥宁3组(2.4 g/L)、丁酸钠1组(1.1 mol/L)、丁酸钠2组(3.3 mol/L)、丁酸钠3组(5.5 mol/L)及混合组1(穿琥宁1.2 g/L+丁酸钠3.3 mol/L)、混合组2(穿琥宁1.2 g/L+丁酸钠5.5 mol/L)进行细胞毒性试验及流式细胞仪检测。

1.2.1 细胞毒性试验 取对数生长期细胞调整至 5×10^6 /L接种到96孔板,使每孔含培养液100 μ L,细胞数 5×10^4 /孔,培养24 h后,分别加入上述浓度的丁酸钠及穿琥宁,作用48 h后每孔加MTT10 μ L,继续培养4 h后弃上清液,每孔加二甲基亚砜100 μ L,振荡10 min,使各孔结晶充分溶解,30 min后采用波长490 nm在酶标仪上测定各孔A值,每浓度组取8个复孔,取平均值按下式计算抑制率:抑制率(%)=(对照组A值-实验组A值)/对照组A值 $\times 100\%$ 。

1.2.2 流式细胞仪分析 取对数期生长细胞以 5×10^6 /L,接种于50 mL培养瓶中,加等量PBS溶液为阳性对照组,适应性培养24 h后,各实验组分别加入相应浓度的药物,在加药后24、48 h终止培养,胰酶消化成单细胞悬液,进行碘化丙啶(PI)染色,流式细胞仪检测,用M μ Lticycle软件进行DNA含量和细胞周期分析。

1.2.3 透射电镜观察 取正常对照组、丁酸钠3.3 mmol组、穿琥宁1.2 mg组和混合组1在加药后24 h用少量胰酶消化脱壁,25 g/L戊二醛固定后,常规脱水染色,制成超薄切片后进行电镜观察。

统计学处理 采用t检验方法, $P < 0.01$, 数据分析软件为STATA软件。

2 结果

2.1 生长曲线观察 低浓度穿琥宁(0.4 g/L)对细胞生长无明显抑制作用,1.2 g/L穿琥宁对细胞生长有轻度抑制作用,2.4 g/L浓度有一定抑制,但细胞仍可生长(图1)。丁酸钠各浓度均有抑制作用,1.1 mol/L组轻度抑制,3.3 mol/L中度抑制,5.5 mol/L有明显抑制作用(图2)。

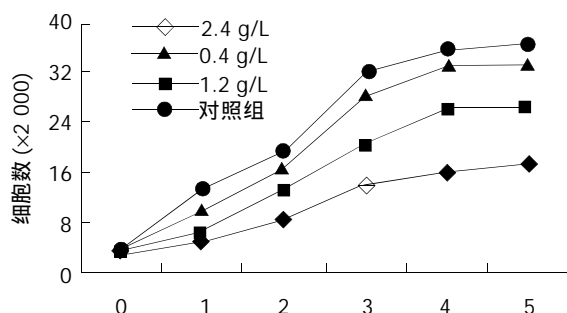


图1 不同浓度穿琥宁的生长抑制曲线。

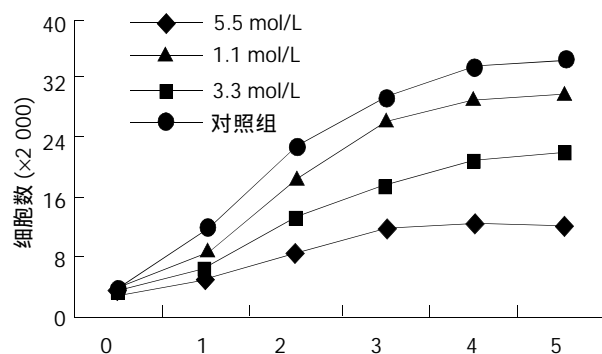


图2 不同浓度丁酸钠的生长抑制曲线。

2.2 细胞毒性试验 根据各组PI值进行抑制率的比较,对照组为3%,穿琥宁0.6 g/L组为7%,穿琥宁1.2 g/L组为13%,穿琥宁2.4 g/L组为24%,丁酸钠1.1 mol/L组为15.7%,丁酸钠3.3 mol/L组为20.3%,丁酸钠5.5 mol/L组为33.3%,混合组1为40%,混合组2为63.1%。穿琥宁各组对HCT-8细胞的毒性作用并不明显,丁酸钠各组随着剂量增加,抑制程度更明显,而混合组抑制明显,超过各组的叠加作用。

2.3 流式细胞仪检测 药物作用后24、48 h分别收集细胞,比较各处理组凋亡率,阴性对照分别为2%,5%,穿琥宁1.2 g/L组为3%,5%,穿琥宁2.4 g/L组为4%,9.2%,丁酸钠3.3 mol/L组为13.7%,17%,丁酸钠5.5 mol/L组为14.1%,23%,混合组1为23.5%,48.6%,混合组2为30.8%,54.2%。且作用48 h后,各混合组均出现明显的亚G1峰,(见图3-6)细胞周期分析显示与对照组比较,穿琥宁对细胞周期无明显影响,而丁酸钠及混合组细胞均可见G1期细胞增加,由54%增加到72%,S期、G2细胞数量下降,由46%下降到28%说明丁酸钠可能影响细胞S期合成,使细胞阻滞在G1期。

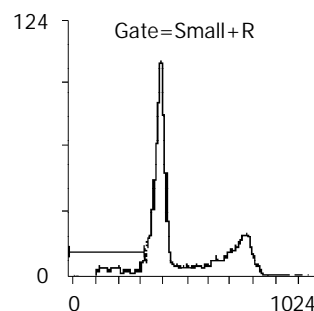


图3 丁酸钠3.3 mol/L作用48 h。

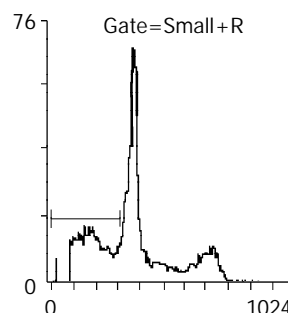


图4 混合组1作用48 h。

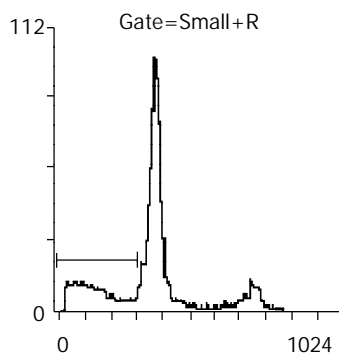


图5 丁酸钠 5.5 mol/L 作用 48 h.

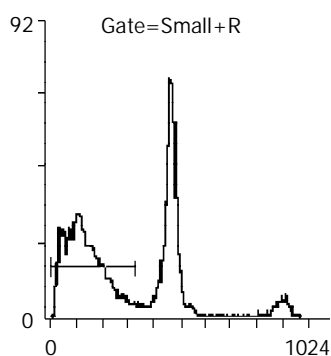


图6 混合组2作用 48 h.

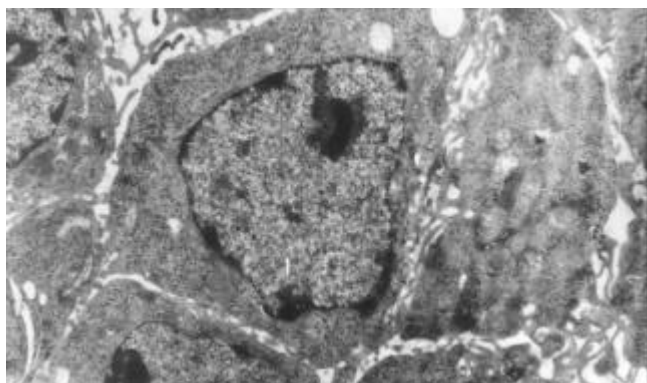


图7 正常 HCT-8 细胞 TEM × 10 000.

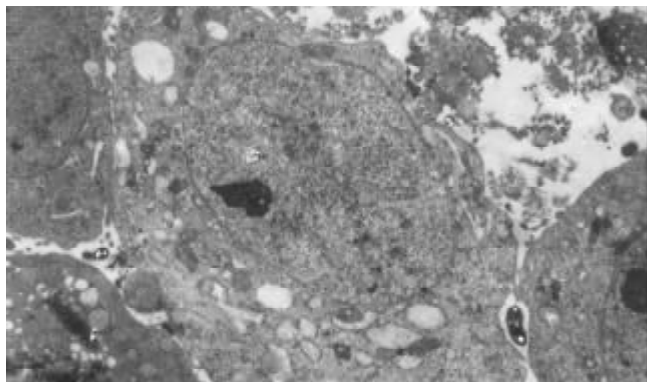


图8 丁酸钠作用 24 h TEM × 10 000.

2.4 电镜下观察 正常 HCT-8 细胞核大, 外形不规则, 细胞质中细胞器稀少, 常染色体丰富, 异染色体散在分布(图 7); 丁酸钠诱导后, 细胞核较规则, 核浆比例

减少, 常染色体向核边浓缩, 异染色质稀少, 多数细胞内质网、高尔基体数量、密度明显增多, 部分细胞细胞质呈大量空泡样改变(图 8). 穿琥宁作用后, 细胞外形圆形改变, 胞膜外微绒毛明显增多, 核浆比例减少(见图 9). 混合组作用后, 可见大量细胞呈凋亡形态, 细胞核皱缩, 染色质浓缩于核边, 呈半月形、环形, 部分细胞细胞质内可见凋亡小体(图 10).

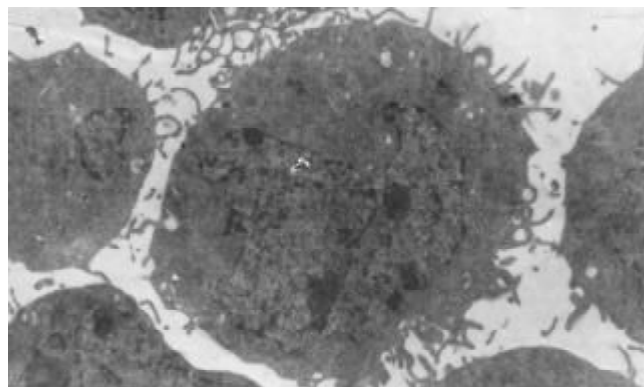


图9 穿琥宁作用 24 h TEM × 10 000.

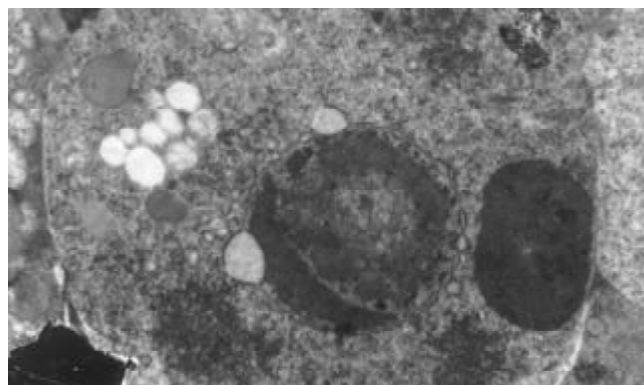


图10 丁酸钠, 穿琥宁联合作用 24 h TEM × 10 000.

3 讨论

大肠癌的发生表现为多基因、多步骤的协同累积作用. 丁酸盐对大肠癌的作用机制是目前研究热点^[12-21]. 丁酸钠可抑制大肠癌细胞生长, 诱导癌细胞成熟分化^[22-24]. 丁酸钠还有诱导多种癌细胞发生凋亡的作用并参与多种基因的表达^[26-28]. 本实验证实, 生理浓度下单独应用丁酸钠不仅可以抑制大肠癌 HCT-8 细胞增生, 而且在一定程度上诱发细胞凋亡, 电镜下可见到细胞核固缩, 染色质浓缩等典型凋亡表现, 未凋亡细胞也有胞核较规则, 核质比例缩小, 异染色质减少, 多数细胞内质网、高尔基体数量及密度明显增加等成熟分化的表现. G1/G0 期是细胞群比例增加, G1 期延长, G1 期向 S 期过渡是细胞开始分化早期效应, 累积于 G1 期的细胞是一些分化或将要分化的细胞群体^[29, 30]. 丁酸钠抑制大肠癌细胞生长, 诱发凋亡的机制尚未清楚. 已知丁酸钠可导致细胞核内多种变化, 包括组蛋白的超大型乙酰化、DNA 的甲基化及非组蛋白 HMG (high mobility group) 的修饰. 其

中以组蛋白的超乙酰基化最为重要,与基因表达和抑制细胞生长有关.丁酸作为乙酰化酶的抑制剂,使组蛋白超乙酰化后,能够诱导抑制多种基因的转录,促进细胞分化,诱导细胞周期阻滞和细胞凋亡.丁酸钠诱导细胞凋亡的能力可能是饮食中摄入纤维能预防大肠癌发生的机制之一.

穿琥宁为脱水穿心莲内酯琥珀酸半酯单钾盐的干粉制剂,对W256细胞有一定的抑制作用,其精氨酸复盐能抑制大鼠乳腺癌SHZ-88细胞株生长,随浓度加大,抑制作用加强并能抑制其DNA合成,硒化穿心莲内酯对小鼠肉瘤180的抑制率为74-80%,此外穿心莲内酯具有较强的促急性骨髓白血病M1细胞分裂活性.穿心莲注射治疗对绒毛上皮癌及恶性葡萄胎有一定疗效,有报道穿琥宁静滴能使HCG迅速下降,于治疗后后期辅以抗癌药疗效更佳.

我们曾做过中药提取物与化疗药品联合应用对大肠癌细胞株的相关研究^[31],作者认为单独应用丁酸钠对人大肠癌HCT-8细胞有一定抑制作用,且随时间、剂量的增加而增强,透射电镜及流式细胞式均可检测到细胞凋亡,与相关文献报道相同.单独应用穿琥宁对HCT-8细胞,低浓度无明显抑制作用,高浓度有轻度抑制作用.单独应用穿琥宁不会导致细胞凋亡.穿琥宁与丁酸钠合用,与单独应用丁酸钠相比,对HCT-8细胞有显著抑制作用,与单独应用丁酸钠对照,细胞凋亡率明显增高.穿琥宁对丁酸钠增敏作用的机制尚未清楚.明确丁酸钠和穿琥宁联合对大肠癌HCT-8细胞的作用机制,将为大肠癌的预防与治疗提供一种新途径.

4 参考文献

- 1 李世荣. 进一步提高我国大肠癌的早期诊断水平. 世界华人消化杂志 2001;9:737-738
- 2 Fernandez E, Porta M, Malats N, Belloc J, Gallen M. Symptom-to-diagnosis interval and survival in cancers of the digestive tract. *Dig Dis Sci* 2002;47:2434-2440
- 3 Strul H, Arber N. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and selective apoptotic anti-neoplastic drugs in the prevention of colorectal cancer: the role of super aspirins. *Isr Med Assoc J* 2000;2:695-702
- 4 高虎, 张方信, 梁君蓉. 药物诱导细胞凋亡与胃癌治疗. 世界华人消化杂志 2000;8:795-796
- 5 Avivi-Green C, Polak-Charcon S, Madar Z, Schwart ZB. Different molecular events account for butyrate-induced apoptosis in two human colon cancer cell lines. *J Nutr* 2002;132:1812-1818
- 6 Wang Q, Li N, Wang X, Kim MM, Evers BM. Augmentation of sodium butyrate-induced apoptosis by phosphatidylinositol 3'-kinase inhibition in the KM20 human colon cancer cell line. *Clin Cancer Res* 2002;8:1940-1947
- 7 Hinnebusch BF, Meng S, Wu JT, Archer SY, Hodin RA. The effects of short-chain fatty acids on human colon cancer cell phenotype are associated with histone hyperacetylation. *J Nutr* 2002;132:1012-1017
- 8 Oliver L, Cordel S, Barbieux I, LeCabellec MT, Meflah K, Gregoire M, Vallette FM. Resistance to apoptosis is increased during metastatic dissemination of colon cancer. *Clin Exp Metastasis* 2002;19:175-180
- 9 Tan S, Seow TK, Liang RC, Koh S, Lee CP, Chung MC, Hooi SC. Proteome analysis of butyrate-treated human colon cancer cells (HT-29). *Int J Cancer* 2002;98:523-531
- 10 Giermasz A, Grzela T, Nowis D, Makowski M, Czaika A, Stoklosa T, Lasek W, Dabrowski A, Wlznierowicz M, Macklewlcz A, Jakoolsiak M. Butyric acid enhances in vivo expression of hTNF-alpha in transduced melanoma cell line. *Anticancer Res* 2001;21:4001-4004
- 11 Salomone B, Ponti R, Gasco MR, Ugazio E, Quaglini P, Osella-Abate S, Bernengo MG. In vitro effects of cholesteryl butyrate solid lipid nanospheres as a butyric acid pro-drug on melanoma cells: evaluation of antiproliferative activity and apoptosis induction. *Clin Exp Metastasis* 2000;18:663-673
- 12 Sasahara Y, Mutoh M, Takahashi M, Fukuda K, Tonaka N, Sugimura T, Wakabayashi K. Suppression of promoter-dependent transcriptional activity of inducible nitric oxide synthase by sodium butyrate in colon cancer cells. *Cancer Lett* 2002;177:155-161
- 13 Leng SL, Leeding KS, Gibson PR, Bach LA. Insulin-like growth factor-II renders LIM 2405 human colon cancer cells resistant to butyrate-induced apoptosis: a potential mechanism for colon cancer cell survival in vivo. *Carcinogenesis* 2001;22:1625-1631
- 14 Hernandez A, Thomas R, Smith F, Sandberg J, Kim S, Chung DH, Evers BM. Butyrate sensitizes human colon cancer cells to TRAIL-mediated apoptosis. *Surgery* 2001;130:265-272
- 15 Iacomino G, Tecce MF, Grimaldi C, Tosto M, Russo GL. Transcriptional response of a human colon adenocarcinoma cell line to sodium butyrate. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;285:1280-1289
- 16 Rosato RR, Wang Z, Gopalkrishnan RV, Fisher PB, Grant S. Evidence of a functional role for the cyclin-dependent kinase-inhibitor p21WAF1/CIP1/MDA6 in promoting differentiation and preventing mitochondrial dysfunction and apoptosis induced by sodium butyrate in human myelomonocytic leukemia cells (U937). *Int J Oncol* 2001;19:181-191
- 17 Wachtershauser A, Akoglu B, Stein J. HMG-CoA reductase inhibitor mevastatin enhances the growth inhibitory effect of butyrate in the colorectal carcinoma cell line Caco-2. *Carcinogenesis* 2001;22:1061-1067
- 18 Bidon N, Brichory F, Thomas D, Cavalier A, Caulet-Maugendre S, Bourguet P, Dazord L. Sodium butyrate induces growth inhibition and modulates galectin-8 expression in human lung carcinoma cells. *Anticancer Res* 2001;21:1049-1055
- 19 Miyake H, Hara S, Arakawa S, Kamidono S, Hara I. Overexpression of Bcl-2 regulates sodium butyrate- and/or docetaxel-induced apoptosis in human bladder cancer cells both in vitro and in vivo. *Int J Cancer* 2001;93:26-32
- 20 Rabizadeh E, Bairey O, Aviram A, Ben-Dror I, Shaklai M, Zimra Y. Doxorubicin and a butyric acid derivative effectively reduce levels of BCL-2 protein in the cells of chronic lymphocytic leukemia patient. *Eur J Haematol* 2001;66:263-271
- 21 Bras-Goncalves RA, Pocard M, Formento JL, Poirson-Bichat F, De Pinieux G. Synergistic efficacy of 3n-butyrate and 5-fluorouracil in human colorectal cancer xenografts via modulation of DNA synthesis. *Gastroenterology* 2001;120:874-888
- 22 Wachtershauser A, Stein J. Butyrate-induced differentiation of Caco-2 cells occurs independently from p27. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;281:295-299
- 23 Wu JT, Archer SY, Hinnebusch B, Meng S, Hodin RA. Transient vs. prolonged histone hyperacetylation: effects on colon cancer cell growth, differentiation, and apoptosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001;280:G482-490
- 24 Milovic V, Teller IC, Turchanowa L, Caspary WF, Stein J. Effect of structural analogues of propionate and butyrate on colon cancer cell growth. *Int J Colorectal Dis* 2000;15:264-270
- 25 Karasawa Y, Murakami A, Okisaka S. Apoptosis after butyrate-induced differentiation in retinoblastoma cell line Y-79. *Jpn J Ophthalmol* 2000;44:601-609
- 26 Hara I, Miyake H, Hara S, Arakawa S, Kamidono S. Sodium butyrate induces apoptosis in human renal cell carcinoma cells and synergistically enhances their sensitivity to anti-Fas-mediated cytotoxicity. *Int J Oncol* 2000;17:1213-1218
- 27 Tsai LC, Hung MW, Chang GG, Chang TC. Apoptosis induced by the sodium butyrate in human gastric cancer TMK-1 cells. *Anticancer Res* 2000;20:2441-2448
- 28 Litvak DA, Hwang KO, Evers BM, Townsend CM Jr. Induction of apoptosis in human gastric cancer by sodium butyrate. *Anticancer Res* 2000;20:779-784
- 29 李丰. 丁酸钠诱导的人大肠癌细胞成熟分化中的表型变化. 中国医科大学学报 2000;29:404-407
- 30 DiGiuseppe JA, Weng LJ, Yu KH, Fu S, Kastan MB, Samid D, Gore SD. Phenylbutyrate-induced G1 arrest and apoptosis in myeloid leukemia cells: structure-function analysis. *Leukemia* 1999;13:1243-1253
- 31 邹明, 韩英, 纪欣. 当归促进大肠癌 HCT-8 细胞增生及抑制 5-氟尿嘧啶致凋亡的作用. 世界华人消化杂志 2000;8:475-476



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

