

# 丹参注射液和三七总皂甙对大鼠肝癌细胞及自杀基因旁观者效应的影响

谭宇蕙, 杜标炎, 吴映雅, 李杰芬, 刘晓东, 钟富有

谭宇蕙, 吴映雅, 刘晓东, 钟富有, 广州中医药大学生化教研室 广东省广州市 510405

杜标炎, 广州中医药大学病理教研室 广东省广州市 510405

李杰芬, 广州中医药大学中医基础实验中心 广东省广州市 510405

谭宇蕙, 女, 1966-04-22生, 广东省恩平市人, 汉族, 1991年中山大学分子生物学硕士, 2005年广州中医药大学中西医结合专业博士, 副教授, 生化教研室主任, 主要从事中西医结合分子肿瘤学研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30171201

广州市科技计划项目, No. 2002J1-C7041

通讯作者: 杜标炎, 510405, 广东省广州市机场路12号, 广州中医药大学病理教研室. tyuhui@gzhtcm.edu.cn

电话: 020-36585454

收稿日期: 2005-08-06 接受日期: 2005-08-26

## Effects of *Danshen* and Total Saponins of *Panax Notoginseng* on rat hepatocarcinoma cells and bystander effect of suicide gene

Yu-Hui Tan, Biao-Yan Du, Ying-Ya Wu, Jie-Fen Li, Xiao-Dong Liu, Fu-You Zhong

Yu-Hui Tan, Ying-Ya Wu, Xiao-Dong Liu, Fu-You Zhong, Department of Biochemistry, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China  
Biao-Yan Du, Department of Pathology, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China

Jie-Fen Li, Basic Experiment Center of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China

Supported by National Natural Science Foundation of China, No. 30171201, and the Science and Technology Plan of Guangzhou City, No. 2002J1-C7041

Correspondence to: Biao-Yan Du, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, 12 Jichang Road, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China. tyuhui@gzhtcm.edu.cn

Received: 2005-08-06 Accepted: 2005-08-26

### Abstract

**AIM:** To explore the effects of *Danshen* and Total Saponins of *Panax Notoginseng* (PNS) on rat hepatocarcinoma cells and the bystander effect of herpes simplex virus thymidine kinase gene/ganciclovir (HSV-*tk*/GCV).

**METHODS:** Rat hepatocarcinoma cell line CBRH7919 (*tk*<sup>-</sup>), CBRH7919 (*tk*<sup>+</sup>) and the 5-10% *tk*<sup>+</sup> mixed cells were treated with diverse concentrations of *Danshen* injection, PNS, GCV separately, or *Danshen* injection plus GCV and PNS plus GCV ( $n = 3, 6$ ). The survival rate of the cells in each group was examined by MTT

method, and  $q$ -value analysis was used to estimate the synergistic effect of traditional Chinese medicine on the suicide gene system. The  $q$ -value was equal to the ratio of the actual effect of combined treatment to its theoretical effect. The effect was classified into three categories: antagonistic effect ( $q \leq 0.85$ ), additive effect ( $0.85 \leq q < 1.15$ ), and synergistic effect ( $q \geq 1.15$ ).

**RESULTS:** After the treatment of 5, 10, 20, 40 mL/L *Danshen* injection for 72 h, the survival rate of CBRH7919 (*tk*<sup>-</sup>) was  $81.0 \pm 17.3\%$ ,  $55.6 \pm 12.0\%$ ,  $14.6 \pm 4.4\%$ , and  $11.5 \pm 0.9\%$ , respectively.  $IC_{50}$  was 11.4 mL/L. The survival rate of the hepatocarcinoma cells was  $78.9 \pm 27.9\%$  in the 5% *tk*<sup>+</sup>/GCV group, and  $84.3 \pm 18.2\%$  in the GCV group, and the survival rate in the former was 7.6% lower than that in the latter. The survival rate of the cells was  $47.8 \pm 16.5\%$  ( $q = 1.60$ ) in the group of 5 mL/L *Danshen* injection combined with 5% *tk*<sup>+</sup>/GCV, and  $72.8 \pm 4.5\%$  in the group of 5 mL/L *Danshen* injection combined with GCV, and the survival rate in the former was 34.3% lower than that in the latter. The survival rate was  $12.2 \pm 5.9\%$  ( $q = 1.46$ ) in the group of 10 mL/L *Danshen* injection combined with 5% *tk*<sup>+</sup>/GCV, and  $36.5 \pm 2.7\%$  in the group of 10 mL/L *Danshen* injection combined with GCV, and the survival rate in the former was 66.3% lower than that in the latter. The survival rate of CBRH7919 (*tk*<sup>-</sup>) was  $104.1 \pm 3.7\%$ ,  $107.6 \pm 3.1\%$ ,  $69.7 \pm 8.5\%$ , and  $59.3 \pm 2.9\%$ , respectively, after the treatment of 10, 50, 100, and 140 mg/L PNS for 72 h.  $IC_{50}$  was 220 mg/L. The survival rate in the 10% *tk*<sup>+</sup>/GCV group was 17.2% ( $P < 0.05$ ) lower than that in the GCV group. In the group of 50 mg/L and 100 mg/L PNS combined with 10% *tk*<sup>+</sup>/GCV ( $q = 0.89, 0.87$ ), the survival rates were 17.7% and 18.3% lower than those in the corresponding groups of PNS combined with GCV, respectively.

**CONCLUSION:** *Danshen* injection can inhibit the proliferation of hepatocarcinoma cells significantly, and can synergically enhance the killing and bystander effect of *tk*/GCV system. PNS can also inhibit the proliferation of hepatocarcinoma cells to some extent, but it has only additive effect on the *tk*/GCV system, while no synergistic effect.

**Key Words:** Suicide gene; Bystander effect; Hepatocarcinoma; *Danshen* injection; Total Saponins of *Panax Notoginseng*

Tan YH, Du BY, Wu YY, Li JF, Liu XD, Zhong FY. Effects of *Danshen* and Total Saponins of *Panax Notoginseng* on rat hepatocarcinoma cells and bystander effect of suicide gene. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(21):2540-2544

## 摘要

**目的:** 探讨丹参注射液和三七总皂甙对大鼠肝癌细胞及自杀基因旁观者效应影响。

**方法:** 丹参注射液和三七总皂甙以不同浓度与GCV分别或共同作用于大鼠肝癌CBRH7919的 $tk^-$ 细胞, 以及含5-10%  $tk^+$ 细胞的 $tk^+$ 和 $tk^-$ 混合细胞, MTT检测各组存活率( $n = 3, 6$ ), 两两比较分析各组存活率的差异, 并用 $q$ 值分析中药与自杀基因系统联合的相互作用是否具有协同性。 $q$ 值为联合用药时实测药效与理论药效的比值,  $q \leq 0.85$ 为拮抗作用,  $0.85 \leq q < 1.15$ 为相加作用,  $q \geq 1.15$ 为协同作用。

**结果:** 5, 10, 20, 40 mL/L的丹参注射液作用于CBRH7919细胞, 72 h存活率分别为 $81.0 \pm 17.3\%$ ,  $55.6 \pm 12.0\%$ ,  $14.6 \pm 4.4\%$ ,  $11.5 \pm 0.9\%$ ;  $IC_{50}$ 为11.4 mL/L。丹参注射液联合 $tk/GCV$ 系统对肝癌细胞的作用: 5%  $tk^+/GCV$ 组存活率为 $78.9 \pm 27.9\%$ , GCV组为 $84.3 \pm 18.2\%$ , 前者比后者仅多了5%  $tk^+$ 细胞, 相对抑制率7.6%; 5 mL/L丹参联合5%  $tk^+/GCV$ 组存活率为 $47.8 \pm 14.5\%$  ( $q = 1.60$ ), 5 mL/L丹参+GCV组的存活率为 $72.8 \pm 4.5\%$ , 前者比后者唯一差异条件也是多了5%  $tk^+$ 细胞, 相对抑制率34.3% ( $P = 0.049$ ); 10 mL/L丹参联合5%  $tk^+/GCV$ 组的存活率为 $12.2 \pm 5.9\%$  ( $q = 1.46$ ), 10 mL/L丹参+GCV组的存活率为 $36.5 \pm 2.7\%$ , 前者比后者仅多了5%  $tk^+$ 细胞, 相对抑制率66.6% ( $P = 0.003$ )。10, 50, 100, 140 mg/L三七总皂甙作用72 h细胞存活率分别为 $104.1 \pm 3.7\%$ ,  $107.6 \pm 3.1\%$ ,  $69.7 \pm 8.5\%$ ,  $59.3 \pm 2.9\%$ ;  $IC_{50}$ 为220 mg/L。三七总皂甙联合 $tk/GCV$ 系统对肝癌细胞的作用: 10%  $tk^+/GCV$ 组比GCV组存活率下降了17.2% ( $P < 0.05$ ), 50 mg/L和100 mg/L三七总皂甙联合10%  $tk^+/GCV$ 组存活率 ( $q = 0.89, 0.87$ ) 分别比相应的三七总皂甙+GCV组下降了17.7%和18.3%。

**结论:** 丹参注射液有明显抑制癌细胞生长作用, 并能协同性增强 $tk/GCV$ 系统对癌细胞的杀伤作用, 增强自杀基因旁观者效应。三七总皂甙能一定程度抑制癌细胞生长, 但对 $tk/GCV$ 系统杀伤癌细胞只有加和作用, 未发现协同性作用。

**关键词:** 自杀基因; 旁观者效应; 肝癌; 丹参注射液; 三七总皂甙

谭宇蕙, 杜标炎, 吴映雅, 李杰芬, 刘晓东, 钟富有. 丹参注射液和三七总皂甙对大鼠肝癌细胞及自杀基因旁观者效应的影响. 世界华人消化杂志

2005;13(21):2540-2544

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/2540.asp>

## 0 引言

自杀基因系统是目前研究应用最多的肿瘤基因疗法之一, 常用的如单纯疱疹病毒胸苷激酶基因/丙氧鸟苷(HSV- $tk/GCV$ )系统, 其原理是胸苷激酶TK把无毒的前体药物GCV磷酸化生成有毒的核苷类似物GCV-TP, 抑制核酸合成从而杀死转染了 $tk$ 基因的肿瘤细胞。此疗法的一个突出优点是“旁观者效应”(bystander effect), 即导入自杀基因的肿瘤细胞对邻近未导入自杀基因的肿瘤细胞也有杀伤作用<sup>[1]</sup>。体内转染率低造成对肿瘤杀伤力不足是肿瘤自杀基因疗法存在的主要问题, 增强旁观者效应可大大提高其对肿瘤杀伤力, 目前已成为提高自杀基因疗效的重要策略。对旁观者效应机制的大量研究表明, 改善缝隙连接细胞通讯(GJIC)或诱导肿瘤细胞凋亡, 或提高肿瘤机体免疫功能, 都有可能增强旁观者效应<sup>[2-10]</sup>。我们旨在探讨中药的活性成分能否通过GJIC或细胞凋亡机制而增强自杀基因的旁观者效应, 这方面报道很少, 已报道的有丹参脂溶性代表成分丹参酮II A能增强GJIC而提高旁观者效应<sup>[11]</sup>。丹参素、三七皂甙等能诱导多种肿瘤细胞株的凋亡<sup>[13-15]</sup>, 丹参素、芦荟的提取物还能促进GJIC<sup>[12,16]</sup>, 但是否能增强旁观者效应未见报道。我们初步观察了丹参注射液和三七皂甙对大鼠肝癌细胞生长抑制的影响及其对自杀基因 $tk/GCV$ 系统旁观者效应的增效作用, 探讨活血中药成分联合肿瘤自杀基因疗法的可行性。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 大鼠肝癌细胞株CBRH7919购自中山大学实验动物中心, 重组逆转录病毒包装细胞株PT67/ $tk$ 和CBRH7919/ $tk$ 为本研究组构建<sup>[17]</sup>。细胞培养液RPMI 1640, DMEM为Gibco公司产品, GCV(丙氧鸟苷), MTT(四甲基偶氮唑盐)均为Sigma公司产品; 胎牛血清为杭州四季青公司产品。丹参注射液为广东永康药业有限公司生产(国药准字Z44022073), 含生药1.5 kg/L。三七总皂甙由广州中医药大学脾胃研究所提供, 浓度为1.4 g/L。BNA-3210型CO2培养箱(日本ESPEC), 酶标仪(BioRad)。

### 1.2 方法

**1.2.1 丹参注射液和三七总皂甙对CBRH7919细胞的作用** 大鼠肝癌细胞CBRH7919( $tk^-$ )用RPMI 1640培养液培养24 h后传代, 按每孔 $5 \times 10^3$ 个细胞、200  $\mu$ L总体积进行培养, 加入丹参注射液至终浓度为5, 10, 20, 40 mL/L共4个浓度组, 三七总皂甙10, 50, 100, 140 mg/L共4个浓度组, 每一浓度有3个复孔, PBS补足体积, 测定癌细胞对中药的敏感程度, 确定下面实验药物的合适浓度。



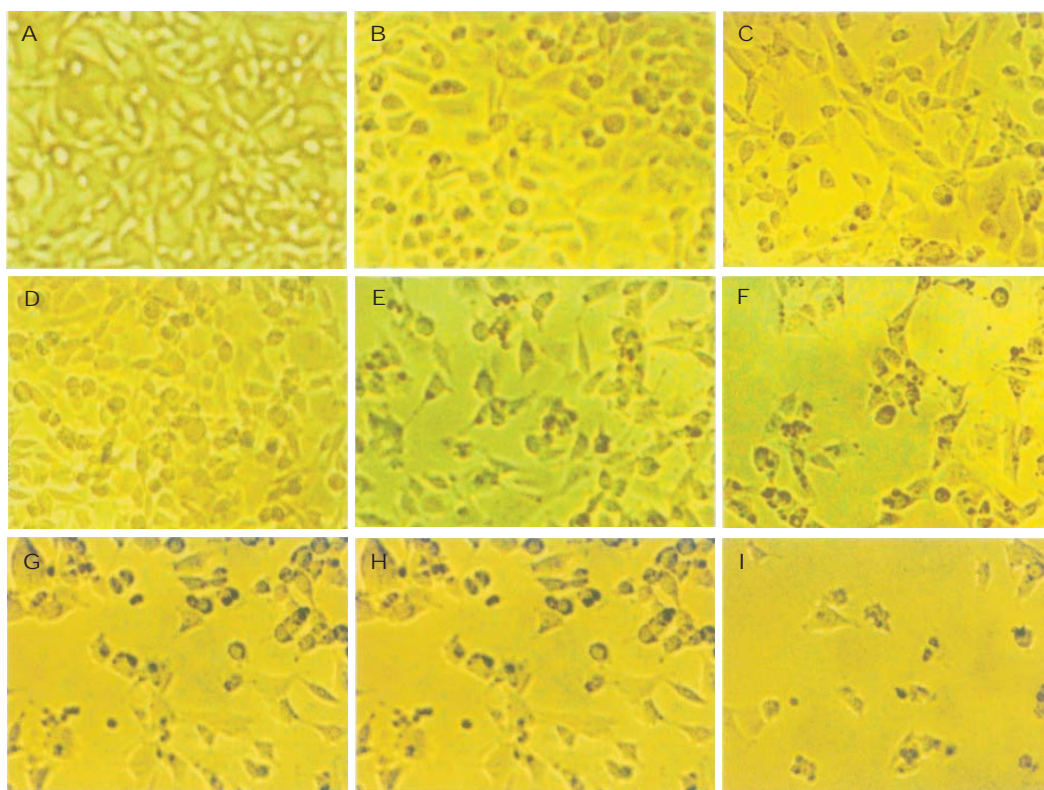


图1 丹参注射液联合5%  $tk^+$ /GCV对大鼠肝癌细胞的作用。A: 对照组; B: GCV; C: 5%  $tk^+$ /GCV; D: 低浓度中药; E: 低浓度中药+GCV; F: 低浓度中药+5%  $tk^+$ /GCV; G: 高浓度中药; H: 高浓度中药+GCV; I: 高浓度中药+5%  $tk^+$ /GCV。

1.2.2 丹参注射液和三七总皂甙联合 $tk$ /GCV系统对肝癌细胞的杀伤作用 把CBRH7919/ $tk$ ( $tk^+$ )和CBRH7919( $tk^-$ )细胞按5%:95%或10%:90%的比例混合,接种到96孔板作为5%或10%  $tk^+$ 对照组、 $tk$ /GCV组和中药联合 $tk$ /GCV组的观察细胞;而100%  $tk^-$ 细胞作为 $tk^-$ 对照组、GCV组、中药组、中药加GCV组的观察细胞,均按每孔 $5 \times 10^3$ 个细胞接种,另各组均设对应浓度药剂的无细胞对照组,以消除丹参注射液等药物本身的吸光背景。培养12 h使细胞贴壁生长后再加中药和GCV, GCV浓度均为5 mg/L,丹参注射液又再分为低浓度5 mL/L和高浓度10 mL/L两组,每组3个复孔。三七总皂甙又再分为50, 100 mg/L两个浓度组,每组设6个复孔。作用72 h后MTT法检测各组细胞的杀伤情况及存活率,并两两比较各加药组存活率差异。

1.2.3 金正均 $q$ 值法<sup>[18]</sup>判断中药与 $tk$ /GCV系统联合作用效果  $q = \text{实际联合药效} E'_{(A+B)} / \text{理论联合药效} E_{(A+B)}$ ,  $E_{(A+B)} = E_A + E_B - E_A \times E_B$ ,  $E_A$ 、 $E_B$ 为单独用药药效。 $q < 0.85$ 为拮抗作用;  $0.85 \leq q < 1.15$ 为相加作用;  $q \geq 1.15$ 为协同作用。

统计学处理 用SPSS统计软件分析,多组间比较用One-Way ANOVA, LSD法。

## 2 结果

2.1 丹参注射液对CBRH7919细胞的作用 镜下可见随着丹参注射液浓度和孵育时间的增加,贴壁细胞逐渐变圆、脱落,至20 mL/L 72 h几乎100%杀死癌细胞。

5, 10, 20, 40 mL/L的丹参注射液作用于CBRH7919细胞72 h, MTT检测各组存活率(%)分别为 $81.0 \pm 17.3$ ,  $55.6 \pm 12.0$ ,  $14.6 \pm 4.4$ ,  $11.5 \pm 0.9$ ;  $IC_{50}$ 为11.4 mL/L。可见丹参注射液对CBRH7919细胞生长有较为明显的抑制效应,且作用呈时间和剂量依赖性。

2.2 丹参注射液联合 $tk$ /GCV系统对肝癌细胞的杀伤作用 为了观察中药对旁观者效应的影响,选择了旁观者效应较低而且MTT法检测与苔盼蓝计数法较吻合的5-10%  $tk^+$ 的混合比例,以及对肿瘤细胞杀伤程度较轻的中药浓度进行实验。结果表明,两种浓度的丹参注射液联合 $tk$ /GCV组的细胞存活率明显比丹参注射液+GCV组和单纯 $tk$ /GCV组低,两两比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ , 表1, 图1),说明丹参注射液联合 $tk$ /GCV系统能显著提高 $tk^+$ 和 $tk^-$ 混合细胞对GCV的敏感性,  $q \geq 1.15$ 说明丹参注射液具有协同性增强 $tk$ /GCV系统杀伤效应的作用。

由于丹参注射液、GCV单独对体外细胞生长都有抑制作用,丹参注射液对 $tk$ /GCV系统的作用是否协同性,还可进行单一差异因素结果的两两比较分析(表2)。两两比较中前者比后者唯一差异因素均是多了5%  $tk^+$ 细胞,可消除丹参、GCV自身的细胞毒影响,结果表明中药的加入大大增强了 $tk$ /GCV系统的杀伤力,也说明丹参注射液与 $tk$ /GCV系统产生了协同性相互作用。

2.3 三七总皂甙对CBRH7919肝癌细胞及 $tk$ /GCV系统杀伤效应的影响 10, 50, 100, 140 mg/L的三七总皂

表1 MTT法测定各组细胞存活率 (mean  $\pm$  SD,  $n = 3$ )

分组		$q$ 值
1 $tk^-$ 对照	100.0 $\pm$ 14.9	
5% $tk^+$ 对照	100.0 $\pm$ 5.6	
2 GCV	84.3 $\pm$ 18.2	1.06
3 5% $tk^+$ /GCV	78.9 $\pm$ 27.9 <sup>a</sup>	
4 低浓度丹参	85.3 $\pm$ 21.4 <sup>a</sup>	1.07
5 低浓度丹参+GCV	72.8 $\pm$ 4.5 <sup>b</sup>	
6 低浓度丹参+5% $tk^+$ /GCV	47.8 $\pm$ 14.5 <sup>bc</sup>	1.60
7 高浓度丹参	50.5 $\pm$ 9.8 <sup>b</sup>	1.14
8 高浓度丹参+GCV	36.5 $\pm$ 2.7 <sup>b</sup>	
9 高浓度丹参+5% $tk^+$ /GCV	12.2 $\pm$ 5.9 <sup>bd</sup>	1.46

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 组1; <sup>c</sup> $P = 0.049 < 0.05$  vs 组5; <sup>d</sup> $P = 0.003 < 0.01$  vs 组8.表2 两两比较存活率和相对抑制率 (mean  $\pm$  SD,  $n = 3$ )

两两比较的分组	相对抑制率 (%)
1 5% $tk^+$ /GCV比GCV	5% $tk^+$ 7.6
2 低浓度丹参+5% $tk^+$ /GCV比低浓度丹参+GCV	5% $tk^+$ 34.3
3 高浓度丹参+5% $tk^+$ /GCV比高浓度丹参+GCV	5% $tk^+$ 66.6

相对抑制率 (%) = (后组存活率 - 前组存活率) / 后组存活率  $\times$  100.表3 MTT法测定各组细胞存活率 (mean  $\pm$  SD,  $n = 6$ )

分组		$q$ 值
1 $tk^-$ 对照	100.00 $\pm$ 6.73	
10% $tk^+$ 对照	100.00 $\pm$ 2.02	
2 GCV	83.79 $\pm$ 3.83 <sup>a</sup>	1.38
3 10% $tk^+$ /GCV	65.96 $\pm$ 6.72 <sup>bc</sup>	
4 50 mg/L三七总皂甙	107.59 $\pm$ 3.13	0.89
5 50 mg/L三七总皂甙+GCV	84.53 $\pm$ 8.05 <sup>a</sup>	
6 50 mg/L三七总皂甙联合10% $tk^+$ /GCV	69.59 $\pm$ 7.28 <sup>a</sup>	0.87
7 100 mg/L三七总皂甙	69.74 $\pm$ 8.54 <sup>a</sup>	
8 100 mg/L三七总皂甙+GCV	64.95 $\pm$ 6.74 <sup>b</sup>	
9 100 mg/L三七总皂甙联合10% $tk^+$ /GCV	53.07 $\pm$ 5.23 <sup>b</sup>	

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 组1; <sup>c</sup> $P = 0.019 < 0.05$  vs 组2.

甙作用下细胞存活率(%)分别为104.1  $\pm$  30.7, 107.6  $\pm$  3.1, 69.7  $\pm$  8.5, 59.3  $\pm$  2.9. 72 h的 $IC_{50}$ 为220 mg/L. 结果表明, 大于100 mg/L的三七总皂甙对肿瘤细胞生长有一定抑制作用, 其诱导细胞凋亡的活性不高. 10%  $tk^+$ /GCV组比GCV组的存活率下降了17.2%, 50 mg/L和100 mg/L三七总皂甙联合10%  $tk^+$ /GCV组存活率分别比相应浓度的三七总皂甙+GCV组下降了17.7%和18.3%. 说明三七总皂甙的加入并没有提高自杀基因系统的杀伤效应; 10%  $tk^+$ /GCV组 $q = 1.38$ , 说明10%  $tk^+$ 比例自杀基因系统自身已有明显的旁观者效应, 而50 mg/L和100 mg/L三七总皂甙联合10%  $tk^+$ /GCV组 $q$ 值分别为0.85, 0.87, 也说明三七总皂甙对 $tk$ /GCV系统

只有相加作用, 未见协同性作用(表3).

### 3 讨论

中药丹参(*Salvia Miltiorrhiza*)有活血化瘀、行气止痛的功效, 是中医临床常用的活血化瘀药. 丹参的主要化学成分为水溶性酚酸类和脂溶性二萜醌类化合物. 丹参的脂溶性有效成分主要为丹参酮, 其中以丹参酮II A含量较高; 水溶性酚酸类成分包括丹参素、原儿茶醛、丹参酚酸A、丹参酚酸B等, 其中丹参素即 $\beta$ -3, 4-二羟基苯乳酸含量较高, 是最主要的水溶性成分<sup>[19,20]</sup>. 丹参的活性成分丹参素、Tan II A有一定抗肿瘤、诱导癌细胞凋亡作用<sup>[21-24]</sup>. 丹参注射液是单味中药材丹参经过水提取、乙醇沉淀、超滤浓缩等工艺过程精制的临床静脉滴注或肌注用制剂, 为澄清透明、浅棕色的水溶液, 是丹参素等多种水溶性成分的混合液. 我们所用丹参注射液含生药1.5 g/mL, 有人用高效液相色谱仪检测丹参生药材的丹参素含量为0.18%<sup>[20]</sup>, 以此推算本实验丹参注射液丹参素含量约为3 mg/mL, 推测本实验丹参注射液5 mL/L组的丹参素含量约为15 mg/L, 10 mL/L组约为30 mg/L, 但药材产地、批次不同, 丹参素含量会有变化. 我们发现丹参注射液体外直接作用于大鼠CBRH7919肝癌细胞有明显抑制生长和杀伤作用, 且有浓度依赖性,  $IC_{50}$ 为11.4 mL/L(估算含丹参素约为34 mg/L),  $IC_{50}$ 浓度较低说明丹参注射液的细胞毒活性较高. 丹参注射液、GCV分别作用和联合作用于 $tk^-$ 癌细胞以及含5%  $tk^+$ 的 $tk^+$ 和 $tk^-$ 混合癌细胞, 发现丹参注射液联合 $tk$ /GCV系统对肝癌细胞的杀伤力明显大于丹参注射液+GCV组和单纯 $tk$ /GCV组, 联合组 $q$ 值均大于1.15, 重复实验得到近似的结果, 丹参注射液对自杀基因系统的增效作用是一种协同性相互作用, 而不是简单加和作用. 丹参注射液很可能通过提高旁观者效应来实现这种协同性增效作用. 使用5-10%  $tk^+$ 是因为模拟临床自杀基因10%左右的低转染率, 还因为考察中药能否增强旁观者效应, 在5-10%  $tk^+$ 细胞的混合比例下MTT法检测灵敏度较高. 三七总皂甙联合 $tk$ /GCV系统对肝癌细胞的作用在两种中药浓度下 $q$ 值均小于1.15, 提示是一种加和作用.

旁观者效应主要由缝隙连接细胞通讯、细胞凋亡和免疫介导, 丹参注射液具体是通过哪一机制增强旁观者效应, 还有待进一步研究. 丹参酮II A也有旁观者效应增效作用<sup>[11]</sup>, 但丹参酮II A的水溶解度很低, 我们使用的注射液是丹参水溶性成分, 丹参酮含量极低, 推测增效作用不是丹参酮引起的, 究竟是哪一种丹参的单体成分发挥主要作用, 是否为水溶性代表成分——丹参素的作用, 还有待进一步研究.



#### 4 参考文献

- 1 Niculescu-Duvaz I, Springer CJ. Introduction to the background, principles, and state of the art in suicide gene therapy. *Mol Biotechnol* 2005; 30: 71-88
- 2 Nicholas TW, Read SB, Burrows FJ, Kruse CA. Suicide gene therapy with Herpes simplex virus thymidine kinase and ganciclovir is enhanced with connexins to improve gap junctions and bystander effects. *Histol Histopathol* 2003; 18: 495-507
- 3 Hamel W, Magnelli L, Chiarugi VP, Israel MA. Herpes simplex virus thymidine kinase/ganciclovir-mediated apoptotic death of bystander cells. *Cancer Res* 1996; 56: 2697-2702
- 4 Carystinos GD, Katabi MM, Laird DW, Galipeau J, Chan H, Alaoui-Jamali MA, Batist G. Cyclic-AMP induction of gap junctional intercellular communication increases bystander effect in suicide gene therapy. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 61-68
- 5 Park JY, Elshami AA, Amin K, Rizk N, Kaiser LR, Albelda SM. Retinoids augment the bystander effect *in vitro* and *in vivo* in herpes simplex virus thymidine kinase/ganciclovir-mediated gene therapy. *Gene Ther* 1997; 4: 909-917
- 6 Robe PA, Jolois O, N'Guyen M, Princen F, Malgrange B, Merville MP, Bours V. Modulation of the HSV-TK/ganciclovir bystander effect by n-butyrate in glioblastoma: correlation with gap-junction intercellular communication. *Int J Oncol* 2004; 25: 187-192
- 7 Huard C, Druesne N, Guyonnet D, Thomas M, Pagniez A, Le Bon AM, Martel P, Chaumontet C. Diallyl disulfide (DADS) enhances gap-junctional intercellular communication by both direct and indirect mechanisms in rat liver cells. *Carcinogenesis* 2004; 25: 91-98
- 8 邢毅飞, 肖亚军, 鲁功成, 曾甫清, 张齐钧, 熊平. 芹黄素提高胸苷激酶基因系统治疗前列腺癌疗效的研究. *中华实验外科杂志* 2003; 20: 1023-1024
- 9 Wang AX, Huang HZ. All-trans retinoic acid augments the bystander effect of herpes simplex virus thymidine kinase/ganciclovir system in the treatment of tongue carcinoma cell line. *Zhonghua KouQiang YiXue ZaZhi* 2003; 38: 24-26
- 10 Robe PA, Princen F, Martin D, Malgrange B, Stevenaert A, Moonen G, Gielen J, Merville M, Bours V. Pharmacological modulation of the bystander effect in the herpes simplex virus thymidine kinase/ganciclovir gene therapy system: effects of dibutyl adenosine 3',5'-cyclic monophosphate, alpha-glycyrrhetic acid, and cytosine arabinoside. *Biochem Pharmacol* 2000; 60: 241-249
- 11 Huang GQ, Song Y, Zhang J, Lu YR, Xiao L, Yang Y, Guo YB. Enhancement of the bystander effect by tanshinone IIA in HSV-tk/GCV system is related to expression of connexin 43 mRNA. *Zhonghua ZhongLiu ZaZhi* 2004; 26: 146-149
- 12 Abdullah KM, Abdullah A, Johnson ML, Bilski JJ, Petry K, Redmer DA, Reynolds LP, Grazul-Bilska AT. Effects of Aloe vera on gap junctional intercellular communication and proliferation of human diabetic and nondiabetic skin fibroblasts. *J Altern Complement Med* 2003; 9: 711-718
- 13 方杰. 丹参素对乳腺癌MCF细胞株的作用. *中国老年学杂志* 2003; 23: 168-169
- 14 睦建, 林枫. 丹参素对胃癌NGCC细胞株的作用. *镇江医学院学报* 1997; 7: 384-385
- 15 王国俊, 周黎明, 王莉, 陶大昌, 朱玲. 三七皂甙R1诱导HL-60细胞凋亡的初步研究. *四川生理科学杂志* 2004; 26: 14-16
- 16 陈晓光, 大谷周造, 李燕, 韩锐. d-宁烯、丹参及姜黄素衍生物对ras基因产物膜结合和细胞间隙信息传导的影响. *药理学报* 1998; 33: 821-827
- 17 杜标炎, 谭宇蕙, 吴映雅, 赵鹏, 周联, 赵亚刚. 逆转录病毒载体介导HSV1-tk/GCV肿瘤自杀基因治疗系统的构建. *广州中医药大学学报* 2004; 21: 395-398
- 18 戴体俊. 合并用药的定量分析. *中国药理学通报* 1998; 14: 479-480
- 19 王娟, 桂常青, 周静, 宋建国. 丹参注射液在鼠体内的毒效药动力学研究. *皖南医学院学报* 2003; 22: 248-250
- 20 朱立彬. 高效液相色谱法测定丹参药材中丹参素的含量. *湖北中医学院学报* 2004; 6: 33-34
- 21 李旭芬, 李天琅. 丹参及复方丹参注射液的体外抗肿瘤作用. *浙江中西医结合杂志* 1999; 9: 291-292
- 22 陈坚. 丹参酮抗肿瘤的研究进展. *复旦学报* 2003; 30: 626-628
- 23 陈良良, 吴良村, 李庆霞, 陈卫星, 沈敏鹤. 丹参注射液对肿瘤浸润淋巴细胞的体外扩增及抗肿瘤作用. *浙江中医学院学报* 2002; 26: 49-54
- 24 李庆彦, 李春忠, 黄智武, 罗远英, 韦光刚, 梅桂色. 3种丹参制剂对Bel-7402细胞和外周血干细胞生长的影响. *实用癌症杂志* 2001; 16: 467-468

电编 张敏 编辑 潘伯荣 审读 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

#### • 消息 •

### 更正与说明专栏

《世界华人消化杂志》为了对同行评议、编辑、校对、审读、文章价值等质量进行跟踪报道, 特设"更正与说明"固定专栏, 包括"事实纠错"、"文字更正"、"解释说明"三个子栏目, 不仅对前一期或近期出现的文字差错和事实错误进行更正、就引发歧义或晦涩难懂之处做解释说明, 而且针对文章的学术水平等进行讨论. 在此, 我们热烈欢迎读者、作者、编委等积极审读《世界华人消化杂志》, 给更正与说明栏目投稿. 投稿者凭文章的编号, 可免费注册(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/new/39.doc>) 使用中国生物医学基金论文摘要库3年. 中国生物医学基金论文摘要库(<http://www.wjgnet.com/cmfa/index.jsp>) 收录了1994-2005年国内发表在1204种生物医学类期刊总计20万以上的论文摘要. 这些论文受国家、军队和省部级自然科学基金、杰出青年基金、重大计划项目基金资助, 内容丰富、数据准确, 体现了我国生物医学的发展历程、脉络和方向, 可为相关领域广大学者和研究人员了解并掌握当前研究动态、开辟新的研究领域提供思路. (世界胃肠病学杂志社)