

丹皮酚联合5-FU对食管癌EC9706细胞增殖及凋亡的影响

冯怡锬, 付春景, 黄幼田, 赵继敏, 马俊芬

背景资料
丹皮酚是牡丹皮的主要活性成分, 具有广泛的药理活性, 包括解热、镇痛、抗菌消炎、抗动脉粥样硬化、抑制血小板聚集及增强细胞免疫功能和抗氧化作用。近年来研究发现, Pae有一定的抗肿瘤活性, 体外实验发现他对多种肿瘤细胞株有增殖抑制作用, 灌胃给药对小鼠肝肿瘤有抑制作用。

冯怡锬, 付春景, 黄幼田, 赵继敏, 马俊芬, 郑州大学基础医学院病理生理学教研室 河南省郑州市 450052
冯怡锬, 2007级郑州大学基础医学院病理学与病理生理学专业硕士, 主要从事细胞凋亡方面的研究。

作者贡献分布: 此课题由付春景与冯怡锬设计; 研究过程由冯怡锬操作完成; 实验中得到黄幼田、赵继敏及马俊芬技术支持; 数据分析及论文写作由冯怡锬与付春景完成。

通讯作者: 付春景, 教授, 450052, 河南省郑州市, 郑州大学基础医学院病理生理学教研室. fujing@zzu.edu.cn

电话: 0371-671100981

收稿日期: 2009-12-08 修回日期: 2010-02-08

接受日期: 2010-02-09 在线出版日期: 2010-03-08

Effects of paeonol and 5-FU on the proliferation and apoptosis of human esophageal carcinoma EC9706 cells

Yi-Kun Feng, Chun-Jing Fu, You-Tian Huang, Ji-Min Zhao, Jun-Fen Ma

Yi-Kun Feng, Chun-Jing Fu, You-Tian Huang, Ji-Min Zhao, Jun-Fen Ma, Department of Pathophysiology, Basic Medical College, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Correspondence to: Professor Chun-Jing Fu, Department of Pathophysiology, Basic Medical College, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. fujing@zzu.edu.cn

Received: 2009-12-08 Revised: 2010-02-08

Accepted: 2010-02-09 Published online: 2010-03-08

Abstract

AIM: To investigate the effects of paeonol alone or in combination with 5-fluorouracil (5-FU) on the proliferation and apoptosis of human esophageal carcinoma EC9706 cells.

METHODS: Six different concentrations of paeonol (7.81, 15.63, 31.25, 62.50, 125.00 and 250.00 mg/L, respectively), three different concentrations of 5-FU (12.50, 25.00 and 50.00 mg/L, respectively), and paeonol (31.25 mg/L) in combination with 5-FU (12.50 mg/L) were used to treat EC9706 cells for different durations (24, 48 and 72 h). Untreated EC9706 cells were used as the control group. The proliferation of EC9706 cells was detected by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay after treatment for different durations. After treatment of EC9706 cells with paeonol at concentrations of 31.25, 62.50, 125.00

and 250.00 mg/L for 72 hours, the cell cycle was analyzed by flow cytometry; cell morphological changes were observed using an inverted microscope; the morphology of apoptotic cells was observed by HE staining and light microscopy. The expression of apoptosis-associated proteins Bcl-2 and Bax was detected by immunocytochemistry after treatment of EC9706 cells with paeonol (31.25 mg/L) and 5-FU (12.50 mg/L), alone or in combination, for 48 hours.

RESULTS: Paeonol or 5-FU could significantly inhibit the proliferation of EC9706 cells in a concentration- and time-dependent manner (both $P < 0.05$). Paeonol in combination with 5-FU showed more significant inhibitory effects on the proliferation of EC9706 cells when compared with paeonol or 5-FU alone (both $P < 0.05$). Paeonol (125.00 mg/L) treatment altered the cell cycle distribution of EC9706 cells: the percentages of cells in G_0/G_1 and G_2/M phases decreased, while that of cells in S phase increased (G_0/G_1 phase: $21.18\% \pm 2.28\%$ vs $62.17\% \pm 5.23\%$; G_2/M phase: $0.76\% \pm 0.54\%$ vs $9.92\% \pm 3.10\%$; S phase $78.06\% \pm 2.82\%$ vs $27.91\% \pm 2.13\%$; all $P < 0.05$). Typical apoptotic changes were observed in EC9706 cells treated with paeonol. Both paeonol and 5-FU down-regulated the expression of Bcl-2 and up-regulated the expression of Bax, which was especially prominent in the combination group (2.21 ± 0.14 vs 5.67 ± 0.30 and 4.22 ± 0.34 ; 8.55 ± 0.33 vs 3.90 ± 0.27 and 6.28 ± 0.26 , all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Paeonol can significantly inhibit the proliferation and induce the apoptosis of human esophageal carcinoma EC9706 cells. Paeonol in combination with 5-FU shows a synergistic effect in suppressing the proliferation and promoting the apoptosis of EC9706 cells.

Key Words: Paeonol; 5-Fluorouracil; Esophageal carcinoma; Proliferation; Apoptosis; Bcl-2; Bax

Feng YK, Fu CJ, Huang YT, Zhao JM, Ma JF. Effects of paeonol and 5-FU on the proliferation and apoptosis of human esophageal carcinoma EC9706 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(7): 646-651

同行评议者
马大烈, 教授, 上海第二军医大学长海医院病理科

摘要

目的: 探讨丹皮酚(paeonol, Pae)单独及联合5-FU对人食管癌EC9706细胞的增殖抑制及凋亡诱导作用。

方法: 采用6种浓度的Pae(7.81、15.63、31.25、62.50、125.00、250.00 mg/L)、3种浓度的5-FU(12.50、25.00、50.00 mg/L)及Pae(31.25 mg/L)和5-FU(12.50 mg/L)联合分别处理EC9706细胞24、48、72 h, 同时设对照组(细胞不做处理), 采用MTT法检测各个时间段细胞的增殖情况; 采用流式细胞术检测4种浓度的Pae(31.25、62.50、125.00、250.00 mg/L)处理EC9706细胞72 h后细胞周期的变化; 倒置显微镜下观察各Pae组细胞各时间段形态学变化, HE染色光镜下观察凋亡细胞; 采用免疫细胞化学法检测经Pae(31.25 mg/L)、5-FU(12.50 mg/L)单独和联合作用48 h后细胞中凋亡相关蛋白Bcl-2及Bax的表达。

结果: Pae、5-FU可明显抑制EC9706细胞增殖, 并随着浓度的增加和作用时间的延长而增强($P<0.05$), Pae与5-FU联合用药比单用Pae或5-FU抑制效果更明显($P<0.05$); Pae作用后EC9706细胞中G₀/G₁期和G₂/M期细胞比例下降, S期细胞比例上升(Pae 125.00 mg/L组: G₀/G₁期 $21.18\% \pm 2.28\%$ vs $62.17\% \pm 5.23\%$ 、G₂/M期 $0.76\% \pm 0.54\%$ vs $9.92\% \pm 3.10\%$ 、S期 $78.06\% \pm 2.82\%$ vs $27.91\% \pm 2.13\%$, 均 $P<0.05$); HE染色光镜下可见典型的肿瘤细胞凋亡改变; Pae、5-FU可下调EC9706细胞中Bcl-2蛋白表达, 同时增强EC9706细胞中Bax蛋白的表达, 联合用药组较单药组作用更为明显(2.21 ± 0.14 vs 5.67 ± 0.30 , 4.22 ± 0.34 ; 8.55 ± 0.33 vs 3.90 ± 0.27 , 6.28 ± 0.26 , 均 $P<0.05$)。

结论: Pae可明显抑制人食管癌EC9706细胞的增殖, 促进其凋亡, Pae联合5-FU作用更为明显。

关键词: 丹皮酚; 5-氟尿嘧啶; 食管癌; 增殖; 凋亡; Bcl-2; Bax

冯怡锟, 付春景, 黄幼田, 赵继敏, 马俊芬. 丹皮酚联合5-FU对食管癌EC9706细胞增殖及凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2010; 18(7): 646-651
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/646.asp>

0 引言

食管癌是世界上最常见的六大恶性肿瘤之一, 严重威胁着人类的健康, 其死亡率居整个肿瘤死亡的第6位^[1]. 中国是世界上食管癌发病率和

死亡率最高的国家, 河南省又是中国食管癌发病率和病死率最高的地区. 食管鳞癌侵袭性强, 预后差, 临床进展迅速, 多伴有淋巴结转移, 且易复发. 化疗药5-FU是食管癌治疗中最常用的药物之一, 但是逐渐出现的耐药却成为治疗中的一个难题, 而且5-FU的不良反应较多, 限制了其临床应用及疗效的进一步提高, 因此临床上主张联合用药. 丹皮酚(paeonol, Pae)是牡丹皮的主要活性成分, 具有广泛的药理活性, 包括解热、镇痛、抗菌消炎、抗动脉粥样硬化、抑制血小板聚集及增强细胞免疫功能和抗氧化作用^[2-7]. 近年来研究发现, Pae有一定的抗肿瘤活性, 体外实验发现他对多种肿瘤细胞株有增殖抑制作用, 灌胃给药对小鼠肝肿瘤有抑制作用^[8-11]. 本研究旨在探讨Pae和5-FU联合应用对人食管癌EC9706细胞的抑制作用, 为Pae临床应用于食管癌的治疗提供理论和实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 人食管癌EC9706细胞株, 由中国医学科学院肿瘤医院分子肿瘤学国家重点实验室惠赠; RPMI 1640购于美国Gibco公司; 胎牛血清购于杭州赛乐生物科技有限公司; 胰蛋白酶购于美国Hykelone公司; Pae购自南京金陵药业股份有限公司; 5-FU购自上海旭东海普药业有限公司; 四甲基偶氮唑蓝(MTT)购于Amresco公司; 二甲基亚砜(DMSO)购于美国Sigma公司; 碘化丙啶(PI)购于美国Sigma公司; RNaseA购于天根生化科技有限公司; Bcl-2抗体、Bax抗体、通用型免疫组织化学(SP)染色试剂盒、DAB显色试剂盒均购于北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 食管癌EC9706细胞于RPMI 1640培养液(含100 mL/L胎牛血清, 100 kU/L青霉素和100 kU/L链霉素), 37℃、50 mL/L CO₂细胞培养箱内贴壁培养. 隔天换液, 2-3 d传代1次, 取对数生长期细胞进行以下实验。

1.2.2 MTT法: 按文献描述的方法进行实验^[12], 设不同浓度药物实验组、细胞对照组和空白对照组, 取对数生长期细胞 6×10^7 /L接种于96孔板上, 每组设3个复孔, 每孔接种100 μL, 置37℃、50 mL/L CO₂细胞培养箱中继续培养24 h后, 弃上清, 实验组每孔分别加入200 μL培养液稀释的药物(Pae终浓度为7.81、15.63、31.25、62.50、125.00、250.00 mg/L, 5-FU终浓度为12.50、25.00、50.00 mg/L, 联用组终浓度为Pae 31.25

参考文献

本研究为Pae的临床应用提供了实验依据, 为食管癌患者的中药防治、改善预后和提高生活质量开辟了一条新途径, 但具体用法和剂量还有待进一步研究。

相关报道
有研究发现Pae对多种体外培养的肿瘤细胞有增殖抑制作用, 体内应用有抗肿瘤作用。

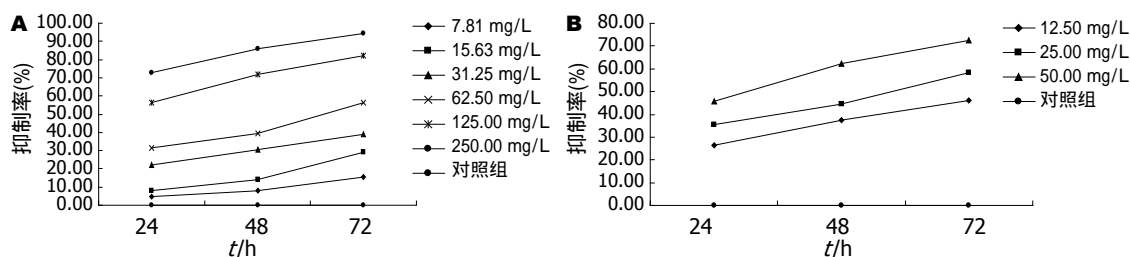


图1 Pae、5-FU不同浓度各时间对EC9706细胞的抑制率。A: Pae; B: 5-FU。

mg/L+5-FU 12.50 mg/L, 两药合用的比例为1:1方案), 细胞对照组和空白对照组只加入等量的培养液, 分别继续培养24、48、72 h, 在终止培养前4 h实验组及对照组每孔加入20 μ L MTT(5 g/L), 再培养4 h后, 小心吸弃上清, 加入150 μ L DMSO溶解MTT沉淀, 用振荡器振荡10 min, 待紫色结晶完全溶解, 酶标仪上570 nm波长处测定吸光度值(A值)。按下式计算药物对肿瘤细胞生长的抑制率: 肿瘤细胞生长抑制率(%) = [1-(实验组A值-空白对照组A值)/(细胞对照组A值-空白对照组A值)] \times 100%。

1.2.3 流式细胞仪检测细胞周期: 消化收集各实验组(Pae浓度分别为31.25、62.50、125.00、250.00 mg/L)及对照组培养72 h的细胞, 3 000 r/min离心10 min, PBS漂洗, 200目滤网过滤, 调整单细胞悬液浓度为 1×10^6 /L。体积分数为700 mL/L的预冷乙醇固定, PBS漂洗, 加入RNase 37 $^{\circ}$ C水浴30 min, 再加入PI染液4 $^{\circ}$ C避光染色30 min, 上机(激发波长488 nm)检测细胞周期。

1.2.4 细胞形态学观察: 倒置显微镜下观察: 取对数生长期EC9706细胞消化传代并延续培养24 h后换含不同浓度Pae(7.81-250 mg/L)的培养液继续培养, 对照组只加等量培养液培养, 倒置显微镜下连续观察细胞生长情况; HE染色: 将细胞涂片用冷丙酮4 $^{\circ}$ C固定20 min, 自然晾干, 水化后用5 mL/L Triton-X 100 PBS溶液处理10 min, 水化后Gill苏木精染2 min, 10 mL/L盐酸乙醇处理1 s, 42 $^{\circ}$ C温水蓝化10 min, 伊红染2 s, 常规脱水封片后光镜下观察形态学变化。

1.2.5 免疫细胞化学法检测凋亡相关蛋白Bcl-2和Bax的表达: 取对数生长期的EC9706细胞用胰酶消化, 加1640培养液制成 1.5×10^6 /L的细胞悬液, 取24孔板放入已消毒玻片, 每孔加0.4 mL细胞悬液, 培养24 h待其贴壁后分为实验组和对照组, 其中实验组分别加入0.5 mL培养液稀释的药物(Pae 31.25 mg/L、5-FU 12.50 mg/L、Pae 31.25 mg/L+5-FU 12.50 mg/L, 两药合用的比例为1:1

方案), 对照组加入等量培养液。培养48 h后吸弃孔内液体, PBS洗3次, 每次3 min, 40 g/L多聚甲醛固定30 min, PBS洗3次, 每次3 min, 取出盖玻片细胞面朝上晾干后用中性树胶固定于载玻片上, PBS洗3次, 每次3 min, 0.3% Triton-X 100(1 g/L柠檬酸钠配制)冰浴中孵育30 min, 其余步骤按SP试剂盒操作说明进行, 每次实验均以PBS代替一抗做阴性对照。最后DAB显色, 光学显微镜下观察, 摄片。

1.2.6 免疫细胞化学结果判定: Bcl-2、Bax蛋白阳性信号呈棕黄色颗粒样物质, 主要位于细胞质内。高倍镜下随机选取10个视野(每个视野观察细胞数不少于100个), 按阳性细胞所占百分比及着色深浅进行结果判定^[13]。评分标准: (1) 阳性细胞数计分: <1%为0分; 1%-25%为1分; 26%-50%为2分; 51%-75%为3分; >76%为4分; (2) 细胞着色强度计分: 无显色为0分; 淡黄色为1分; 棕黄色为2分; 棕褐色为3分。最后综合两部分得分进行综合评分。

统计学处理 应用SPSS11.0统计软件进行统计学处理, 计量资料采用mean \pm SD表示, 采用单因素方差分析, 以 $\alpha = 0.05$ 为显著性标准, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 Pae、5-FU单药对EC9706细胞的增殖抑制作用 与对照组相比, Pae和5-FU各单药组均对EC9706细胞的增殖有明显的抑制作用(均 $P < 0.05$), 药物浓度越高, 作用时间越长, 其抑制作用越强(均 $P < 0.05$, 图1)。

2.2 Pae、5-FU联用对EC9706细胞的增殖抑制作用 与对照组相比, Pae与5-FU联用组明显抑制EC9706细胞的增殖($P < 0.05$), 且其抑制作用强于各同浓度单药组(均 $P < 0.05$, 图2)。

2.3 Pae对人食管癌细胞EC9706细胞周期的影响 当EC9706细胞经系列浓度Pae作用72 h后, 细胞周期分布受到干扰, 与细胞对照组相比, 用药组

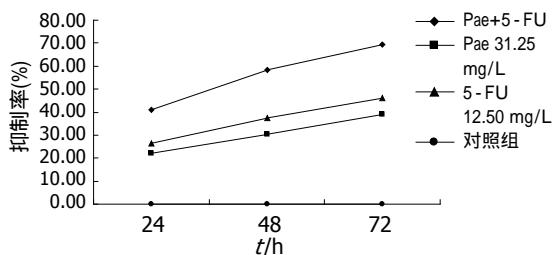


图 2 Pae、5-FU单独及联合应用不同时间对EC9706细胞的抑制率。

表 1 Pae对食管癌EC9706细胞周期的影响 (mean ± SD)

分组	细胞周期分布(%)		
	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
对照组	62.17 ± 5.23	27.91 ± 2.13	9.92 ± 3.10
Pae(mg/L)			
31.25	60.35 ± 1.51	39.48 ± 1.54 ^a	0.17 ± 0.04 ^a
62.5	42.49 ± 1.18 ^{ac}	56.42 ± 0.78 ^{ac}	1.09 ± 0.41 ^a
125	21.18 ± 2.28 ^{ac}	78.06 ± 2.82 ^{ac}	0.76 ± 0.54 ^a
250	17.80 ± 4.40 ^a	80.74 ± 3.88 ^a	1.46 ± 0.68 ^a

^a*P*<0.05 vs 对照组; ^c*P*<0.05 vs 邻近上组。

G₀/G₁期和G₂/M期细胞比例下降, S期细胞比例上升(均*P*<0.05)。而且Pae浓度越高, S期细胞比例也越高, S期细胞周期阻滞作用表现出剂量依赖性(*P*<0.05, 表1)。

2.4 细胞形态学观察 倒置显微镜下观察, 对照组EC9706细胞增殖旺盛, 呈多边形贴壁生长, 胞体大、折光率高, 随着时间延长无明显变化。药物作用24 h后, Pae 7.81、15.63 mg/L组与对照组相比无明显差别, Pae 31.25-250.00 mg/L组细胞增殖减慢, 可见部分细胞变小、变圆, 折光率下降, 贴壁能力降低(贴壁不牢); 药物作用48 h后, 各用药组细胞均可见上述变化, 而且更明显, 细胞间接触变松, 部分细胞浮起; 药物作用72 h后, 各用药组细胞逐渐脱离培养瓶壁, 悬浮于培养液中, 药物浓度越高, 漂浮细胞的数量就越多, Pae 125.00 mg/L组和250.00 mg/L组除少量圆形完整细胞外, 还可见大量悬浮的细胞碎片。HE染色, 对照组正常细胞染色体呈均匀淡蓝色或蓝色, 未见凋亡小体。用药组中Pae 31.25-250.00 mg/L组出现较多的凋亡细胞, 表现为细胞体积缩小, 核固缩、核碎裂、染色变深, 部分裂解形成凋亡小体。而坏死细胞肿胀, 细胞膜呈连续性破坏, 核呈淡蓝色, 甚至蓝色消失。

2.5 Pae、5-FU单独及联合应用对EC9706细胞

表 2 Pae、5-FU单独及联合应用对食管癌EC9706细胞Bcl-2、Bax蛋白表达的影响 (mean ± SD)

分组	Bcl-2	Bax
对照组	7.54 ± 0.19	2.10 ± 0.17
Pae 31.25 mg/L	5.67 ± 0.30 ^a	3.90 ± 0.27 ^a
5-FU 12.5 mg/L	4.22 ± 0.34 ^a	6.28 ± 0.26 ^a
Pae 31.25 mg/L+ 5-FU 12.5 mg/L	2.21 ± 0.14 ^{ac}	8.55 ± 0.33 ^{ac}

^a*P*<0.05 vs 对照组; ^c*P*<0.05 vs 各单药组。

凋亡相关蛋白Bcl-2、Bax表达的影响 Bcl-2、Bax的表达主要位于细胞质, 阳性细胞胞质被染成黄色或棕黄色, 阴性细胞胞质为蓝色。对照组Bcl-2蛋白表达率最高, Bax蛋白表达率最低, 各实验组Bcl-2蛋白表达率均有所下降, Bax蛋白表达率均有所上升, 以联合用药组最为显著, 各实验组与对照组相比差异均有统计学意义(均*P*<0.05), 联合用药组与各单药组相比差异均具有显著性(均*P*<0.05, 表2, 图3)。

3 讨论

Pae又称牡丹酚, 是毛茛科植物牡丹(*paeonia suffruticosa* andr)根皮和萝藦科植物长徐长卿干燥根或全草的主要有效成分。Pae是一种小分子的酚类化合物, 呈白色针状结晶, 具有熔点低(51 °C ± 1 °C)、易挥发及水溶性差的特性^[14-16]。其相对分子质量为166.18 Da, 分子式为C₉H₁₀O₃, 化学名2-羟基-4-甲氧基苯乙酮^[17]。有研究发现Pae对多种体外培养的肿瘤细胞有增殖抑制作用, 体内应用有抗肿瘤作用^[8-11]。本实验以食管癌EC9706细胞为研究对象, 进一步探讨Pae单独及和5-FU联合应用抗肿瘤的可能性。结果显示, Pae和5-FU单独应用对EC9706细胞的增殖均有抑制作用, 随着药物浓度的升高和作用时间的延长, 抑制细胞增殖的作用逐渐增强。Pae与5-FU联合应用对EC9706细胞有协同抑制作用, 抑制率较单用其中一种药物时显著提高。流式细胞仪发现Pae作用于EC9706细胞后细胞周期分布也发生了明显变化, 表现为S期细胞比例上升, G₀/G₁期和G₂/M期细胞比例下降, 且S期细胞周期阻滞作用表现出剂量依赖性。表明Pae对EC9706细胞周期分布的影响主要是阻滞细胞周期中S期向G₂/M期的转变过程, 减少有丝分裂。Pae改变了细胞周期, 使细胞被阻滞在S期, 而5-FU是细胞周期选择性作用药物, 选择作用于

创新盘点

本实验以食管癌EC9706细胞为研究对象, 进一步探讨Pae单独及和5-FU联合应用抗肿瘤的可能性。结果显示, Pae和5-FU单独应用对EC9706细胞的增殖均有抑制作用, 随着药物浓度的升高和作用时间的延长, 抑制细胞增殖的作用逐渐增强, 联合用药效果更明显。

应用要点
若能在临床上联合应用Pae和5-FU治疗食管癌,有可能既降低化疗药物的使用剂量又提高疗效,减轻化疗药物对患者的不良反应。

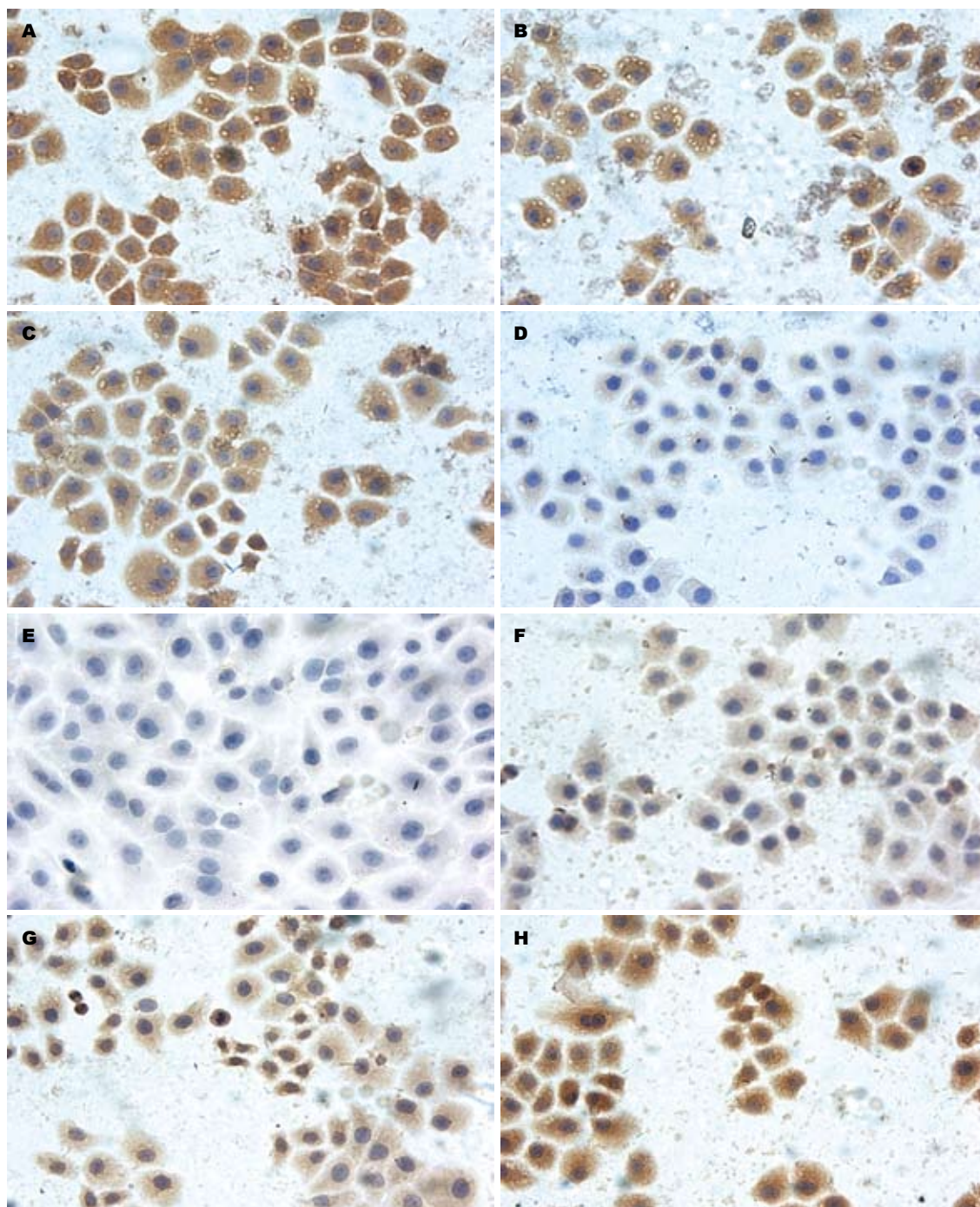


图3 食管癌EC9706细胞中Bcl-2、Bax的表达(SP×400). A-D: Bcl-2; E-H: Bax, A, E: 对照组; B, F: Pae 31.25 mg/L处理组; C, G: 5-FU 12.50 mg/L处理组; D, H: Pae 31.25 mg/L+5-FU 12.50 mg/L组.

S期细胞,两药联合使用使S期细胞明显增多,形成细胞增殖的瓶颈,故两药联合使用具有协同效应,能增强抗肿瘤作用。

细胞凋亡是一个程序化、多基因调控的过程,与细胞凋亡相关的基因大致有Bcl-2家族、P53、Fas、c-Myc、K-ras等,其中Bcl-2是凋亡调控的中心环节。体外实验表明,去除生长因子后,正常细胞便逐渐转向凋亡,而当Bcl-2过度表达时,这一凋亡现象便被抑制^[18-21]。由此可

见, Bcl-2可通过抑制凋亡延长细胞寿命,产生细胞过度增殖和堆积,在肿瘤发生中起始动作用。Bax基因是一种凋亡促进基因,属Bcl-2同一家族^[22,23]。Bax基因的作用与Bcl-2相反,其单体以及Bax/Bax形式的同源二聚体均有促凋亡作用。Bax又可与Bcl-2形成异源二聚体,抑制后者的功能促进凋亡。Bcl-2/Bax两蛋白之间的比例是细胞凋亡发生与否的关键因素^[24,25]。本实验发现, Pae和5-FU能明显下调食管癌EC9706细胞Bcl-2

蛋白的表达, 上调Bax蛋白的表达, 使Bcl-2/Bax比例下降, 而联合用药组效果更为显著, 与单药组相比差异具有显著性。

总之, Pae联合5-FU对食管癌EC9706细胞的增殖抑制有协同作用, 其机制可能在于通过改变细胞周期, 下调Bcl-2的表达, 上调Bax表达, 使得Bcl-2/Bax比值降低诱导凋亡。若能在临床上联合应用Pae和5-FU治疗食管癌, 有可能既降低化疗药物的使用剂量又提高疗效, 减轻化疗药物对患者的不良反应。本研究为Pae的临床应用提供了实验依据, 为食管癌患者的中药防治、改善预后和提高生活质量开辟了一条新途径, 但具体用法和剂量还有待进一步研究。

4 参考文献

- 1 Pisani P, Parkin DM, Bray F, Ferlay J. Estimates of the worldwide mortality from 25 cancers in 1990. *Int J Cancer* 1999; 83: 18-29
- 2 张广饮, 禹志颖, 赵厚长. 丹皮酚对大鼠反复性脑缺血的保护作用. *中药材* 1997; 20: 626-628
- 3 孙言才, 沈玉先, 孙国平. 丹皮酚的主要药理活性研究进展. *中成药* 2004; 26: 579-582
- 4 李薇, 王远亮, 蔡绍哲, 张海雁, 施红艳, 黄凤玲, 曹雪波. 丹皮酚和阿司匹林对大鼠血液流变学影响的比较. *中草药* 2000; 31: 29-31
- 5 李后开, 戴敏, 汪电雷, 唐丽琴. 兔动脉粥样硬化模型的建立及丹皮酚药物作用的实验研究. *中国中医药科技* 2005; 12: 129-130
- 6 孙文芳, 高素洁, 高金霞, 臧玉华. 丹皮酚对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用. *中国临床康复* 2004; 8: 3088-3089
- 7 丘少鹏, 王道虎, 刘卓炜, 李俊彪, 梅骅. 丹皮酚磺酸钠在动物肾缺血再灌注损伤中的作用. *中华肾脏病杂志* 2001; 17: 185-187
- 8 孙国平, 沈玉先, 张玲玲, 王华, 魏伟, 徐叔云. 丹皮酚的体内抗肿瘤作用. *安徽医科大学学报* 2002; 37: 183-185
- 9 孙国平, 沈玉先, 张玲玲, 周爱武, 魏伟, 徐叔云. 丹皮酚对HepA荷瘤小鼠免疫调节和抗肿瘤作用研究. *中国药理学通报* 2003; 19: 160-162
- 10 孙国平, 王华, 沈玉先, 翟志敏, 魏伟, 徐叔云. 丹皮酚诱导K562细胞凋亡的研究. *中国药理学通报* 2004; 20: 550-552
- 11 孙国平, 王华, 沈玉先, 徐叔云. 丹皮酚在体外对4种肿瘤细胞株的增殖抑制作用. *安徽医药* 2004; 8: 85-87
- 12 Sargent JM, Taylor CG. Appraisal of the MTT assay as a rapid test of chemosensitivity in acute myeloid leukaemia. *Br J Cancer* 1989; 60: 206-210
- 13 Krajewska M, Krajewski S, Epstein JI, Shabaik A, Sauvageot J, Song K, Kitada S, Reed JC. Immunohistochemical analysis of bcl-2, bax, bcl-X, and mcl-1 expression in prostate cancers. *Am J Pathol* 1996; 148: 1567-1576
- 14 Riley CM, Ren TC. Simple method for the determination of paeonol in human and rabbit plasma by high-performance liquid chromatography using solid-phase extraction and ultraviolet detection. *J Chromatogr* 1989; 489: 432-437
- 15 赵新峰, 孙毓庆. 胶束电动毛细管色谱法测定牡丹皮及六味地黄丸中丹皮酚的含量. *沈阳药科大学学报* 2002; 19: 35-37, 55
- 16 张纯, 郭澄, 高杰. 丹皮酚 β 环糊精的理化性质. *第二军医大学学报* 1997; 18: 95-96
- 17 李晨旭, 卢景芬, 古力努尔, 波拉提, 尚明英, 杨东辉, 吴军, 屠鹏飞, 蔡少青. 补阳还五汤及其有效成分体外给药对脑细胞膜流动性的影响. *中国药理学杂志* 2001; 36: 528-531
- 18 Garcia I, Martinou I, Tsujimoto Y, Martinou JC. Prevention of programmed cell death of sympathetic neurons by the bcl-2 proto-oncogene. *Science* 1992; 258: 302-304
- 19 Heiser D, Labi V, Erlacher M, Villunger A. The Bcl-2 protein family and its role in the development of neoplastic disease. *Exp Gerontol* 2004; 39: 1125-1135
- 20 Kim R, Emi M, Tanabe K, Toge T. Therapeutic potential of antisense Bcl-2 as a chemosensitizer for cancer therapy. *Cancer* 2004; 101: 2491-2502
- 21 Willis S, Day CL, Hinds MG, Huang DC. The Bcl-2-regulated apoptotic pathway. *J Cell Sci* 2003; 116: 4053-4056
- 22 Adams JM, Cory S. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science* 1998; 281: 1322-1326
- 23 Sumantran VN, Lee DS, Baker VV, Murray S, Strawderman M, Wicha MS. A bcl-x(S) adenovirus demonstrates therapeutic efficacy in an ascites model of human breast cancer. *J Soc Gynecol Investig* 2000; 7: 184-189
- 24 Rossé T, Olivier R, Monney L, Rager M, Conus S, Fellay I, Jansen B, Borner C. Bcl-2 prolongs cell survival after Bax-induced release of cytochrome c. *Nature* 1998; 391: 496-499
- 25 Leung LK, Wang TT. Differential effects of chemotherapeutic agents on the Bcl-2/Bax apoptosis pathway in human breast cancer cell line MCF-7. *Breast Cancer Res Treat* 1999; 55: 73-83

同行评价
本研究结果可靠,
结论可信, 但创新性一般。

编辑 李瑞敏 电编 吴鹏朕