

白术内酯对小鼠结肠癌细胞增殖能力的影响

高小玲, 汪保英, 陈玉龙, 宰炎冰, 白明

■背景资料

白术具有补气健脾, 燥湿利水, 止汗, 安胎的功效. 现代药理学研究表明, 白术是恶性肿瘤辅助治疗的理想药物, 并且其单方或配伍应用有改善肿瘤患者胃肠功能.

高小玲, 汪保英, 陈玉龙, 宰炎冰, 白明, 河南中医学院 河南省郑州市 450008

高小玲, 主要从事中西医结合的基础研究.

河南中医学院博士启动基金资助项目, No. 2010BSJJ-12

河南省教育厅科学自然基金资助项目, No. 2010B360004

作者贡献分布: 高小玲与汪保英对此文所作贡献均等; 此课题由高小玲、陈玉龙及白明设计; 研究过程由高小玲、汪保英及宰炎冰操作完成; 数据分析由高小玲与汪保英完成.

通讯作者: 白明, 副教授, 450008, 河南省郑州市金水东路1号, 河南中医学院科研处科研实验中心. baiming666@126.com

收稿日期: 2013-06-24 修回日期: 2013-07-13

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-18

Atractylenolide II significantly reduces proliferation of mouse colon cancer cells

Xiao-Ling Gao, Bao-Ying Wang, Yu-Long Chen, Yan-Bing Zai, Ming Bai

Xiao-Ling Gao, Bao-Ying Wang, Yu-Long Chen, Yan-Bing Zai, Ming Bai, Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, Henan Province, China

Supported by: the Doctoral Fund of Henan College of Traditional Chinese Medicine, No. 2010BSJJ-12; the Natural Science Foundation of Educational Department of Henan Province, No. 2010B360004

Correspondence to: Ming Bai, Associate Professor, Henan College of Traditional Chinese Medicine, 1 Jinshui East Road, Zhengzhou 450008, Henan Province, China. baiming666@126.com

Received: 2013-06-24 Revised: 2013-07-13

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To observe the effect of atractylenolides I, II, and III on the proliferation of mouse colon cancer cells.

METHODS: CT26 cells were seeded in 96-well plates and treated with different concentrations of atractylenolide I, II, or III (200, 100, 50, 25, 12.5, or 6.25 $\mu\text{g/mL}$) for 24 h. After culture for an additional 48 h, the proliferation of CT26 cells was detected by MTT assay to screen atractylenolides' active ingredient that had the best inhibitory effect. CT26 cells were then treated with the screened atractylenolides' active ingredient at different doses for different durations (24, 48, 72 h).

RESULTS: Atractylenolide II had the best inhibitory effect on the proliferation of CT26 cells.

The optimal dose was 50 $\mu\text{g/mL}$, and the best delivery time was 48 h.

CONCLUSION: Atractylenolide II can significantly reduce the proliferation of mouse colon cancer cells.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Atractylenolide; Proliferation; CT26 cells

Gao XL, Wang BY, Chen YL, Zai YB, Bai M. Atractylenolide II significantly reduces proliferation of mouse colon cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2690-2693 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2690.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2690>

摘要

目的: 观察白术内酯 I、II、III 对小鼠结肠癌细胞增殖能力的影响.

方法: CT26细胞种植于96孔板, 24 h后分别加入白术内酯 I、II、III 200、100、50、25、12.5、6.25 $\mu\text{g/mL}$, 放置培养箱48 h后, MTT法检测白术内酯 I、II、III 不同剂量对CT26细胞增殖能力的影响; 筛选对CT26抑制效果好的白术有效成分, 检测其不同剂量给药后24、48、72 h后CT26细胞增殖能力的影响.

结果: 白术内酯 II 抑制CT26细胞增殖能力最为明显, 其最合适给药剂量为50 $\mu\text{g/mL}$, 最佳给药时间为48 h.

结论: 白术内酯 II 可能是抑制肿瘤细胞增殖的主要成分之一.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 白术内酯; 增殖; CT26细胞

核心提示: 白术内酯 I、II、III 对小鼠结肠癌细胞均有增殖抑制作用. 以白术内酯 II 效果最为理想, 说明对于消化系统肿瘤, 白术内酯 II 可以起到较好的作用.

■同行评议者

于则利, 教授, 首都医科大学附属北京同仁医院 外科

高小玲, 汪保英, 陈玉龙, 宰炎冰, 白明. 白术内酯对小鼠结肠癌细胞增殖能力的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(26): 2690-2693 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2690.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i26.2690>

0 引言

白术为菊科苍术属(*Atractylodes macrocephala* koidz)多年生草本植物白术的根茎, 为常用中药. 具有补气健脾, 燥湿利水, 止汗, 安胎的功效. 临床多用于脾虚证, 生用或炮制应用^[1]. 现代药理学研究表明, 其主要含有挥发油成分和内酯类成分, 是恶性肿瘤辅助治疗的理想药物, 并且其单方或配伍应用有改善肿瘤患者胃肠功能, 抑制氧化应激及随后触发的炎症反应而起到抗IBD的作用^[2,3], 其中内酯类成分具有抗炎、抗肿瘤作用^[4,5], 并具有调节胃肠道功能和促进营养物质吸收的功效^[6]. 但目前白术中哪些化学成分是抗肿瘤成分尚且没有定论. 由此, 我们选择了小鼠结肠癌CT26细胞, 观察白术有效成分白术内酯 I、II、III对其增殖能力的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 白术内酯 I, 批号MUST-13012005, 白术内酯 II, 批号MUST-13012007, 白术内酯 III, 批号MUST-13012007, 中国科学院成都生物研究所研制; 1640培养基, Lot. No. 20130411, 胰蛋白酶-EDTA消化液, Lot. No. 20130124, solarbio产品; 胎牛血清, 批号: 120509, 浙江天杭生物科技有限公司; MTT、DMSO, Genebase公司产品; 台盼蓝, Sigma公司产品; MTT, Amresco产品; 牛胰岛素insulin: Sigma产品; CT26细胞, 广州中医药大学脾胃研究所赠送; Sigma低温高速离心机, ELX800UV酶标仪.

1.2 方法

1.2.1 CT26细胞的培养传代: 取液氮保存的CT26细胞, 37℃水浴使迅速融化, 将冻存液转移至离心管, 1000 r/min离心5 min, 弃上清, 加入2 mL 1640完全培养液, 重新悬浮沉淀细胞, 接种于培养瓶, 37℃、50 mL/L CO₂培养, 次日换液. 至80%左右融合时, 用0.25%胰酶-0.53 mmol/L EDTA消化传代.

1.2.2 细胞种植及给药: CT26细胞消化计数, 按照 1×10^4 个/孔种植于96孔板, 24 h后分别加入白术内酯 I、II、III 200、100、50、25、12.5、6.25 μ g/mL, 每组3个复孔, 48 h后MTT法检测白术内酯 I、II、III各个剂量对CT26细胞增殖能

力的影响, 选择白术最佳有效成分进行时效实验.

1.2.3 MTT法检测细胞增殖能力: 细胞给药后一定时间, 每孔中各加入20 μ L MTT液(5 mg/mL); 然后在37℃、50 mL/L CO₂培养箱中继续培养4 h, 弃上清, 每孔加入DMSO 150 μ L, 充分振荡10 min; 用酶标仪在570 nm波长处测A值, 同时设置空白对照孔^[7].

统计学处理 采用SPSS11.0软件, 进行方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 白术内酯 I、II、III不同剂量对CT26细胞增殖能力的影响 细胞种植24 h后, 给予不同剂量的白术内酯 I、II、III, MTT法检测给药48 h后CT26细胞增殖能力的变化(图1).

与空白对照组相比, 白术内酯 I、II、III 200、100 μ g/mL剂量均对CT26细胞有明显的抑制作用($P < 0.01$); 白术内酯 II、III 50 μ g/mL均对CT26有抑制作用($P < 0.01$), 实验重复了3次, 结果均表明, 白术内酯 II 50 μ g/mL较白术内酯 I、III 50 μ g/mL抑制作用效果好; 白术内酯 I、II、III 6.25 μ g/mL效果不明显.

2.2 白术内酯 II不同剂量及时间对CT26细胞增殖能力的影响 根据以上结果, 选用白术内酯 II不同剂量进行时效实验. 细胞种植24 h后, 分别给予白术内酯 II 200、100、50、25、12.5 μ g/mL, 给药后24、48、72 h检测CT26细胞增殖能力的变化(图2).

与空白对照组比较, 白术内酯 II 200、100、50 μ g/mL在给药后24、48、72 h抑制效果明确($P < 0.01$), 其中给药后48 h最为明显.

3 讨论

白术是传统的健脾药物, 而白术内酯是从白术中提取的有效成分. 对于白术主要有效成分及白术内酯 I、II、III的作用一直没有明确的定论. 有研究表明^[8,9], 白术可促进肿瘤细胞的凋亡及坏死而具有抑瘤作用, 白术内酯 I能抑制人白细胞株HL-60和小鼠白血病细胞株的P-388的生长^[10], 白术内酯 II能够抑制B16黑色素瘤细胞的增殖^[11], 白术内酯 III可通过诱导肺癌细胞的凋亡来抑制肿瘤的生长和增加乳酸脱氢酶的释放^[12]. 目前, 对于白术内酯 I和III对肿瘤的抑制作用研究较多, 因此, 有学者认为白术内酯 I、白术内酯 III为抗炎、抗癌有效成分^[13].

■研究前沿

研究表明, 内酯类成分具有抗炎、抗肿瘤作用. 但是对白术内酯 I、II、III的作用尚且没有定论.

■相关报道

有研究表明, 白术可促进肿瘤细胞的凋亡及坏死, 认为白术内酯 I、白术内酯 III为抗炎、抗癌有效成分, 也有研究表明, 白术内酯 I可提高大鼠尿中木糖排泄率, 增强淀粉酶活性的作用, 认为白术内酯 I能促进脾虚大鼠胃肠道消化吸收功能, 可能是白术健脾的有效成分之一.

■创新盘点

本实验首次证实,白术内酯 I、II、III 均能抑制 CT26 细胞的增殖,但是以白术内酯 II 效果最为理想。

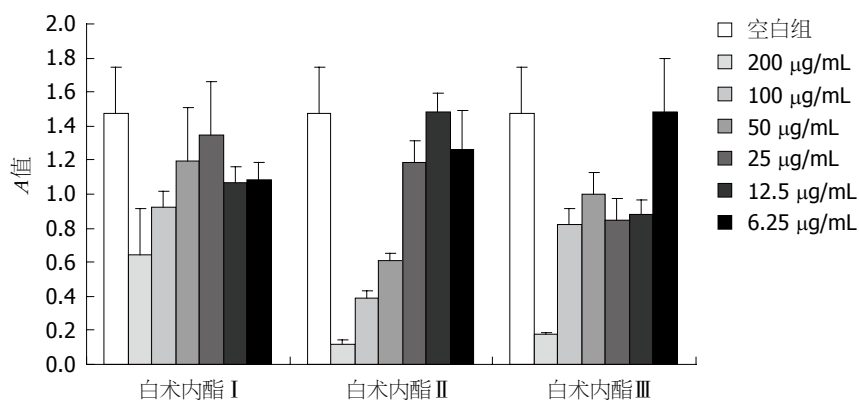


图 1 白术内酯 I、II、III 不同剂量对 CT26 细胞增殖能力的影响。

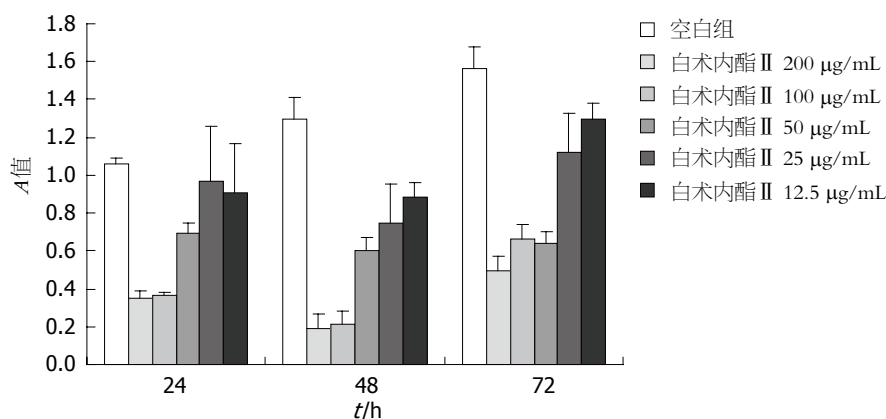


图 2 白术内酯 II 不同剂量及时间对 CT26 细胞增殖能力的影响。

也有研究表明,白术内酯 I 可提高大鼠尿中木糖排泄率,增强淀粉酶活性的作用^[14],促进脾虚大鼠胃肠道消化吸收功能,可能是白术健脾运脾的有效成分之一^[6]。而白术内酯 III 对 PC12 细胞缺氧损伤、兴奋性氨基酸损伤、高钙损伤有不同程度的保护作用^[15]。

我们的研究表明,白术内酯 I、II、III 200、100、50 μg/mL 剂量对小鼠结肠癌细胞增殖抑制效果非常明显。其中以白术内酯 II 效果最为理想,实验重复 3 次结果也比较接近。考虑到药物溶解试剂 DMSO 有一定的毒性,白术内酯 50 μg/mL 已经可以达到预期效果,而且剂量也接近细胞的半数抑制率。在此基础上,我们也对白术内酯 II 不同剂量在不同时间对 CT26 细胞增殖能力的影响,证实了在给药后 48 h 检测细胞的抑制效果比较理想,一方面让药物充分吸收,另一方面也避免了给药时间过久未被抑制的细胞出现的过度增殖。

本实验证实,白术内酯 I、II、III 均能抑制 CT26 细胞的增殖,但是以白术内酯 II 效果最为理想,说明对于结肠肿瘤,白术内酯 II 的效果优

于白术内酯 I、III,白术内酯 II 对于结肠癌的治疗能够起到较好的作用。本实验首次在小鼠结肠癌细胞上进行白术有效成分的抗癌活性研究,为研究白术的抗癌、抗炎活性部位和活性成分提供了药理学的验证。我们也将后续实验中对白术的健脾成分进行研究。

4 参考文献

- 1 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(一部). 2005 年版. 北京: 化学工业出版社, 2005: 68
- 2 游宇, 刘玉晖, 高书亮. 参苓白术散抗小鼠炎症性肠病的机制研究. 中国实验方剂学杂志 2012; 18: 136-140
- 3 向小庆, 叶红. 白术抗肿瘤作用的研究及应用进展. 中国实验方剂学杂志 2013; 19: 367-370
- 4 Liu Y, Jia Z, Dong L, Wang R, Qiu G. A randomized pilot study of atractylenolide I on gastric cancer cachexia patients. *Evid Based Complement Alternat Med* 2008; 5: 337-344 [PMID: 18830451]
- 5 赵桂芝, 洪学智, 戴诗文, 寿旦, 王绪平. 白术内酯的药理学研究进展. 中国药房 2009; 2: 230-240
- 6 郝延军, 桑育黎, 王勤, 李宝林, 贾天柱. 白术内酯 I、III 对脾虚大鼠胃肠道消化吸收的影响. 中华中医药学会第五届中药炮制学术会议论文集 2005: 215-217
- 7 高小玲. CT26 细胞 RPS20 miRNA 干扰及体内干扰条件建立. 广州中医药大学, 2010
- 8 刘映, 叶峰, 邱根全, 章梅, 王锐, 何群英, 蔡云. 白术内

■应用要点

本实验为研究白术的抗癌、抗炎活性部位和活性成分提供了药理学的验证,并未白术的健脾成分的研究提供了基础。

- 酯I对肿瘤恶病质患者细胞因子和肿瘤代谢因子的影响. 第一军医大学学报 2005; 25: 1308-1311
- 9 郑广娟. 白术对小鼠S180肉瘤的抑瘤作用及肿瘤凋亡相关基因bcl-2表达的影响. 生物医学工程研究 2003; 3: 48-50
- 10 Wang CC, Lin SY, Cheng HC, Hou WC. Pro-oxidant and cytotoxic activities of atractylenolide I in human promyeloleukemic HL-60 cells. *Food Chem Toxicol* 2006; 44: 1308-1315 [PMID: 16624472]
- 11 Ye Y, Wang H, Chu JH, Chou GX, Chen SB, Mo H, Fong WF, Yu ZL. Atractylenolide II induces G1 cell-cycle arrest and apoptosis in B16 melanoma cells. *J Ethnopharmacol* 2011; 136: 279-282 [PMID: 21524699]
- DOI: 10.1016/j.jep.2011.04.020]
- 12 Dong H, He L, Huang M, Dong Y. Anti-inflammatory components isolated from *Atractylodes macrocephala* Koidz. *Nat Prod Res* 2008; 22: 1418-1427 [PMID: 19023804 DOI: 10.1080/14786410801931629]
- 13 彭腾, 李鸿翔, 邓赞, 邱建平, 贺钢民, 范静骞. 白术内酯类成分及其药理作用研究进展. 中国药房 2012; 23: 3732-3734
- 14 郝延军, 桑育黎, 李宝林, 王勒, 贾天柱. 白术内酯I及白术内酯III对唾液淀粉酶活性的影响. 时珍国医国药 2006; 7: 1617-1618
- 15 罗兰, 孙悦. 白术内酯III对神经细胞损伤的影响. 时珍国医国药 2012; 23: 560-570

■同行评价

本文写作较为严谨、科学, 有一定创新性, 能较好地反映大肠癌的临床和基础研究的先进水平.

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法. 定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种. 参加核心期刊评审的学科专家达8200多位. 经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录. 在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢! (《世界华人消化杂志》编辑部)