

狼毒水提液对人 A549 肺癌细胞凋亡的影响 *

杨柯¹ 张京玲² 黄谦² 王义善^{3#}

(1 滨州医学院 山东烟台 264003; 2 山东省巨野县人民医院 巨野 274900;

3 中国人民解放军第 107 医院肿瘤中心 烟台 264002)

关键词:狼毒;A549 肺癌细胞;凋亡

中图分类号:R 285.5

文献标识码:B

doi:10.3969/j.issn.1671-4040.2011.05.067

中药狼毒大戟为大戟科植物狼毒大戟的根,早在几千年以前就有记载,具有散结、逐水、止痛、杀虫的疗效。长期临床研究发现狼毒具有较好的抗肿瘤作用,且能够抑制多种肿瘤细胞的增殖。本实验旨在探讨狼毒大戟诱导体外培养的人 A549 细胞凋亡的作用,以期为临床治疗非小细胞肺癌提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料 中药狼毒水提液由中国人民解放军第 107 医院肿瘤实验中心配置,取得济南军区制剂许可(济联制字 2000BM08046);非小细胞肺癌 A549 细胞购自中科院上海细胞库;1640 培养基、胎牛血清、胰蛋白酶均购自 Gibco 公司;Annexin-V FITC/PI 双染试剂盒、细胞周期检测试剂盒均购自 BD 公司。

1.2 细胞培养 用含 10%胎牛血清的 1640 培养基,于温度为 37℃、5%CO₂ 的饱和湿度恒温培养箱中常规培养,隔日传代,取对数生长期的细胞用于实验。

1.3 分组 将对数生长期的细胞传代分组,分别为空白组、狼毒组(0.8 mg/mL),每组三个复孔,细胞贴壁后给予药物干预,继续常温培养 24 h 后收集细胞用于实验。

1.4 Annexin-V FITC/PI 双染法检测细胞凋亡 离心收集狼毒组和空白组培养 24 h 的人 A549 细胞,2 000 rpm 离心 5 min,弃培养基。用冷 PBS 洗涤细胞两次,每次 2 000 rpm 离心 5 min。用 400 μL Annexin V 结合悬浮细胞,浓度大约为 1 × 10⁶ cells/mL。在细胞悬浮液中加入 5 μL Annexin V FITC 染色液,轻轻混匀后于 2~8℃避光条件下孵育 15 min。加入 10 μL PI 染色液后轻轻混匀,于 2~8℃避光条件下孵育 5 min,流式细胞仪检测细胞凋亡。

1.5 荧光显微镜下观察凋亡细胞 滴 1 滴 Annexin-V FITC/PI 染色后的细胞于载玻片上,盖玻片封片,倒置荧光显微镜下观察凋亡细胞。

2 结果

2.1 狼毒对人 A549 细胞凋亡的影响 流式细胞仪

检测结果表明,狼毒大戟可以较明显地促进人 A549 细胞的凋亡,空白组凋亡率为 0.3%,狼毒组凋亡率为 34.1%。

2.2 荧光显微镜下观察凋亡细胞 倒置荧光显微镜下观察,狼毒组凋亡细胞明显多于空白组。

3 讨论

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一,在欧美国家非小细胞肺癌占肺癌发病率的 70%,并呈逐年上升趋势。肺癌的治疗以放化疗为主,但其毒副作用较大,严重影响肿瘤患者生活质量,且常加快肿瘤的转移。随着中国传统医学的发展,中西医结合治疗肿瘤已经广泛用于临床,医学界也出现了以补充替代为医疗目的的研究^[1]。中医治疗不仅能控制肿瘤发展还能提高机体免疫力,临床研究发现^[2-5]中药狼毒在控制肿瘤发展、提高患者生活质量上显示了重要作用。Wang L 等^[6]研究发现狼毒大戟能显著抑制黑色素瘤的增殖并促进 IL-2 的表达。这些研究充分显示了中药狼毒在治疗肿瘤方面的多靶点双向调节作用。狼毒虽然前景广阔,但是关于狼毒抗肿瘤作用机制及有效单体成分,亟待深入研究。

参考文献

[1]Sankaranarayanan A,Narender T,Kumar S,et al.Alliumsativum constituents:effect on free radical generation from rat neutrophils[J]. Cell Mol Biol(Noisylegrand),2007,53(5):63-67
[2]王义善,郑秋生,贾喜凤,等.狼毒抑制降低癌细胞恶性表型小鼠体内转移及彗星电泳实验研究[J].中医杂志,2007,8(1):1-3
[3]王义善,郑秋生,姜鹏,等.狼毒水提液抗肿瘤的实验研究[J].中华医学进展杂志,2006,4(6):1
[4]王义善.中药灌注 RF 加温 IMCRT 内外治法于临床肿瘤应用研究[J].中华药学与临床,2007,3(3):1
[5]韩丽英,陈枫,张玉高,等.大蒜素对 K562 细胞增殖抑制和诱导凋亡作用的实验研究[J].临床血液学杂志,2006,19(4):2
[6]Wang L,Duan H,Wang Y,et al. Inhibitory effects of Lang-du extract on the in vitro and in vivo growth of melanoma cells and its molecular mechanisms of action [J].Cytotechnology,2010,62 (4): 357-366

(收稿日期: 2011-06-27)

* 基金项目:全军科技攻关项目(06G034)

通讯作者: 王义善,E-mail:wys@107zlzx.com