

- [J]. 中药新药与临床药理, 2009, 20(2): 123-126.
- [4] 陈建双, 于海荣, 张玉玲, 等. 赤芍根总皂苷对类风湿性关节炎大鼠血清细胞因子的影响[J]. 时珍国医国药, 2012, 23 (5): 1097-1098.
- [5] 姚血明, 陆道敏, 龙小琴, 等. 姜酚对胶原诱导性关节炎的抗炎作用及其机制研究[J]. 中药新药与临床药理, 2013, 24(1): 47-51.
- [6] 申庆亮, 唐启令, 郑凌云. 寻骨风镇痛消炎有效部位研究[J]. 时珍国医国药, 1999, 10(3): 173-174.
- [7] 王勇, 钟兵, 方勇飞, 等. 青藤碱对类风湿关节炎患者炎性细胞因子及抗环瓜氨酸肽抗体的影响[J]. 第三军医大学学报, 2005, 27 (15): 1573-1575.
- [8] 王永中, 郑良朴, 王瑞国, 等. 穿破石对小鼠 CCl₄ 急性肝损伤保护作用实验观察[J]. 福建中医药, 2004, 35(5): 44-46.
- [9] 接力刚, 孙维峰, 徐伟, 等. 清热除痹汤对华南基层部队士兵湿热痹型关节痛的疗效观察[J]. 华南国防医学杂志, 2014, 28(1): 23.
- [10] 林月泉, 孙备, 杨士友, 等. 牛膝引药作用对双氯芬酸钠抗佐剂型关节炎大鼠的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2009, 5: 408-411.
- [11] Strand V, Kavanaugh AF. The role of interleukin-1 in bone restoration in rheumatoid arthritis [J]. Rheumatology, 2004, 43 (13): 220-226.
- [12] Campas-Moya C. Golimumab: A novel anti-TNF- α human monoclonal antibody for rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis and ankylosing spondylitis[J]. Drugs Today(Barc), 2010, 46(1): 13-22.
- [13] 王红权, 陈龙全. 白细胞介素家族在类风湿关节炎中的表达意义[J]. 中国免疫学杂志, 2011, 27(12): 1113-1115.
- [14] Feldmann M, Brennan FM, Foxwell BM, et al. Anti-TNF therapy: where have we got to in 2005[J]. Autoimmune, 2005, 25(suppl): 26-28.
- (编辑: 梁进权)

白藜芦醇诱导鼻咽癌 CNE-1 细胞凋亡及其分子机制

赵 青, 谭宇蕙, 吴映雅, 张广献, 杜标炎, 肖建勇(广州中医药大学基础医学院, 广东 广州 510006)

摘要: 目的 探讨白藜芦醇诱导鼻咽癌 CNE-1 细胞凋亡及其分子机制。方法 噻唑蓝(MTT)比色法检测细胞活力; 活细胞染色法(PI)流式细胞仪分析细胞周期和 PI-AnnexinV 双染色法流式细胞仪检测细胞凋亡; 免疫印迹检测蛋白表达水平。结果 MTT 结果表明白藜芦醇呈浓度和时间依赖性抑制鼻咽癌 CNE-1 细胞活力, 与正常对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$); PI 单染流式细胞仪分析表明白藜芦醇引起 S 期的 CNE-1 比例明显增多, 相应免疫印迹结果显示细胞周期蛋白 Cyclin E 和 Cyclin A 显著下调, 呈药物浓度依赖; PI-Annexin V 双染流式细胞仪分析表明白藜芦醇呈药物浓度依赖诱导 CNE-1 细胞凋亡; 免疫印迹分析显示抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达下调, 而促凋亡蛋白 Bax 表达上调。结论 白藜芦醇能抑制鼻咽癌 CNE-1 细胞的增殖, 使其阻滞在 S 期, 并可能通过线粒体介导的凋亡通路诱导其凋亡。

关键词: 白藜芦醇; 鼻咽癌; 细胞周期; 细胞凋亡

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2014)02-0131-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.02.005

Studied on Resveratrol in Inducing apoptosis of Nasopharyngeal Carcinoma CNE -1 Cells and Its Molecular Mechanism

ZHAO Qing, TAN Yuhui, WU Yingya, ZHANG Guangxian, DU Biaoyan, XIAO Jianyong (School of Basic Medical Sciences, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: Objective To elucidate the effects of resveratrol on inducing apoptosis of nasopharyngeal carcinoma CNE-1 cells and its molecular mechanism. **Methods** The viability of CNE-1 cells was detected by methyl thiazolyl tetrazolium(MTT) assay, cell cycle profile was analyzed by PI single-staining flow cytometer and apoptosis of CNE-1 cells was analyzed by PI-AnnexinV double-staining flow cytometer. The expression level of target proteins was examined by immunoblotting method. **Results** Resveratrol significantly inhibited the viability of CNE-1 cells in

收稿日期: 2013-12-07

作者简介: 赵青, 女, 硕士研究生。研究方向: 中西医结合肿瘤防治。Email: green-666@163.com。通讯作者: 肖建勇, 讲师, 博士, 研究方向: 中西医结合基础及肿瘤药理学。Email: jianyongxiao@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金(81274145); 广东省中医药局科研基金(20121227); 教育部高等学校博士学科点专项科研基金(20124425120012)。

concentration- and time-dependent manner ($P < 0.01$ compared with the normal control group). Treatment with resveratrol resulted in the increased the percentage of S-phase CNE-1 cells in dose-dependent manner. Accordingly, Cyclin E and Cyclin A were downregulated in resveratrol-treated CNE-1 cells. Furthermore, resveratrol dose-dependently induced the apoptosis of CNE-1 cells. Correspondingly, the anti-apoptotic protein Bcl-2 was downregulated and the pro-apoptotic protein Bax was upregulated in CNE-1 cells after treatment with resveratrol.

Conclusion Resveratrol can arrest CNE-1 cells at S phase via downregulating the expression of cyclinE and Cyclin A, and can further induce apoptosis through mitochondrial-mediated intrinsic cell-death pathways.

Keywords: Resveratrol; Nasopharyngeal carcinoma; Cell cycle; Apoptosis

鼻咽癌发病率高, 尤其在中国广东省鼻咽癌发病率远比其他地区高, 因此又叫广东癌^[1-2]。鼻咽癌的发病机制尚未完全明了, 其治疗还受复杂环境因素影响, 因而其预后较差, 5 年生存率仍徘徊在 50% 左右^[3]。因此, 新的治疗手段尤其新药研发仍十分迫切。除了传统医学方式治疗肿瘤外, 中药对肿瘤的治疗越来越受到重视。中药有价格低、种类丰富、毒副作用小等优点, 因而其研究趋热^[4]。白藜芦醇为传统中药虎杖的根茎提取物^[5], 属于蒽醌萜类化合物, 具有抗炎、抗氧化作用^[6-7]。近年来, 有研究^[8-9]表明白藜芦醇有抗肿瘤活性。本文研究了白藜芦醇对鼻咽癌 CNE-1 细胞生长和增殖影响, 以探讨其诱导细胞周期阻滞和凋亡的分子机制。

1 材料与方法

1.1 细胞 人鼻咽癌细胞株(CNE-1)由中山大学赠送, 置于 10 % 小牛血清的 1640 完全培养基, 在 37 °C, 5 % CO₂ 培养箱中培养。

1.2 主要试剂及仪器 1640 细胞培养基, 美国 Gibco 公司, 批号: 1464326; 小牛血清, 德国 PAA 公司, 批号: B00108-2204; 白藜芦醇, 美国 Sigma 公司, 批号: 031M5204V; MTT, 美国 Sigma 公司, 批号: 3544B04; β -actin 抗体, 中国武汉博士德生物工程有限公司, 批号: BM0627; Bax 抗体, 美国 Cell Signaling Technology 公司, 批号: 2772; Bcl-2 抗体, 中国武汉博士德生物工程有限公司, 批号: BA0412; cyclin E 抗体, 美国 Santa Cruz 公司, 批号: sc-198; cyclin A 抗体, 美国 Santa Cruz 公司, 批号: sc-751。酶标仪, 美国 Bio-Rad 公司; 流式细胞仪, 美国 BD 公司; 免疫印迹转印电泳仪, Bio-Rad 公司。

1.3 方法

1.3.1 MTT 比色法 将 CNE-1 细胞按每孔 4×10^3 个

细胞接种于 96 孔板中, 细胞悬液每孔 100 μ L, 培养 24 h 后, 加入 200 μ L 不同浓度白藜芦醇(0, 25, 50, 100, 150 和 200 μ mol $\cdot$ L⁻¹)分别作用 24, 48, 72 h, 复孔为 4。弃上清, 每孔加 100 μ L MTT(0.5 mg $\cdot$ L⁻¹), 置于培养箱中继续孵育 4 h 后, 弃上清, 每孔加 150 μ L 二甲基亚砜(DMSO)溶解, 待完全溶解后, 在酶标免疫测定仪波长为 490 nm 下测量其 OD 值。未加药的 CNE-1 细胞作为对照。计算存活率 = OD_测/OD_对。

1.3.2 细胞周期测定 将 CNE-1 细胞按每孔 2.5×10^5 个细胞接种于 6 孔板中, 细胞悬液每孔 2 mL, 复孔为 3, 待细胞贴壁后, 分别加入 2 mL 不同浓度白藜芦醇(0, 50, 100, 150 μ mol $\cdot$ L⁻¹)作用 48 h。收集细胞, 每管加入 800 μ L 预冷 75 % 乙醇固定。离心, 去上清, 每管加 400 μ L 磷酸盐缓冲液(PBS), 10 μ L 核糖核酸酶 A(RNase A), 140 μ L 碘化丙啶(PI), 37 °C 避光孵育 30 min 后, 流式细胞分析仪检测。

1.3.3 细胞凋亡测定 将 CNE-1 细胞按每孔 2.5×10^5 个细胞接种于 6 孔板中, 细胞悬液每孔 2 mL, 复孔为 3, 待细胞贴壁后, 分别加入 2 mL 不同浓度白藜芦醇(0, 50, 100 和 150 μ mol $\cdot$ L⁻¹)作用 48 h。收集细胞, 每管加入 800 μ L 预冷的 PBS, 离心, 去上清, 加膜联蛋白 V- 异硫氰酸荧光素(Annexin V-FITC)避光 10 min, 离心, 去上清, 加 PI, 流式细胞分析仪检测。

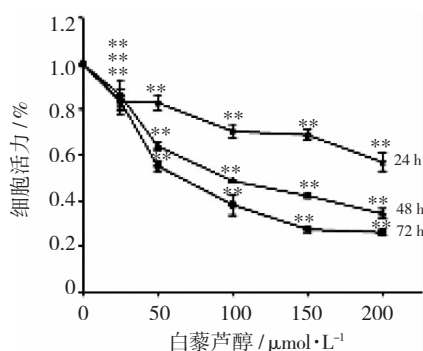
1.3.4 免疫印迹 将 CNE-1 细胞按每孔 2.5×10^5 个细胞接种于 6 孔板中, 细胞悬液每孔 2 mL, 复孔为 4, 待细胞贴壁后, 分别加入 2 mL 不同浓度白藜芦醇(0, 25, 50, 100 和 150 μ mol $\cdot$ L⁻¹)作用 48 h。收集细胞, 每组加入 100 μ L 蛋白裂解液 RIPA 提取总蛋白, 4 °C 离心 10000 r $\cdot$ min⁻¹, 5 min, 取上清, 蛋白定量后, 上样, 用聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶电泳后, 转到聚偏氟乙烯(PVDF)膜上, 5 % 脱脂奶粉封闭

1 h, TBST 洗 3 次, 各 10 min, 分别加入一抗, 4 ℃ 孵育过夜, 一抗回收, TBST 洗 3 次, 各 10 min, 加入跟一抗相对应的二抗孵育 1 h, TBST 洗 3 次, 各 10 min, 曝光, 显影, 扫描分析。

1.4 统计学处理方法 采用 SPSS13.0 统计软件进行统计学分析。所有数据均以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用 *t* 检验, 检验水准 $\alpha = 0.01$ 。

2 结果

2.1 MTT 法检测白藜芦醇对鼻咽癌 CNE-1 细胞活力的影响 见图 1。白藜芦醇作用于鼻咽癌 CNE-1 细胞, 有浓度依赖性和时间依赖性。48 h 的半数抑制浓度 (IC_{50}) 约为 $101 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 72 h 的 IC_{50} 约为 $71 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。



注: 与对照组比较, ** $P < 0.01$ 。

图 1 白藜芦醇对鼻咽癌 CNE-1 细胞活力的抑制作用

Figure 1 Resveratrol inhibited the viability of nasopharyngeal carcinoma CNE-1 cells

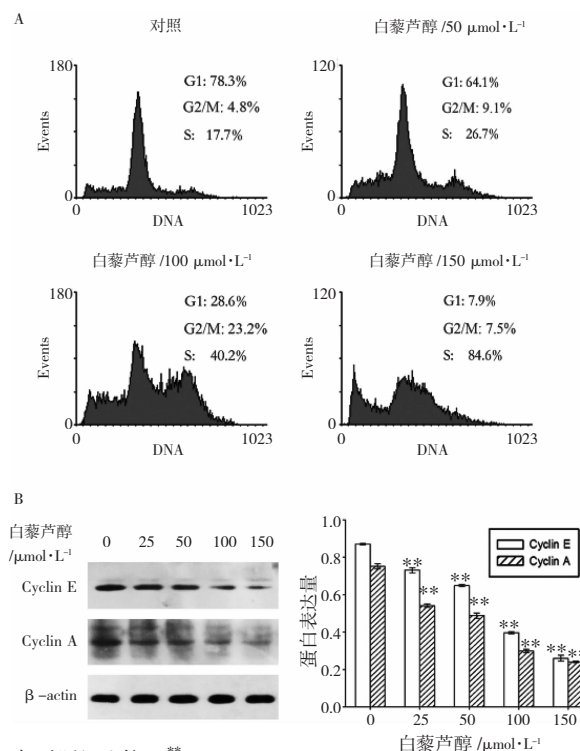
2.2 白藜芦醇对鼻咽癌细胞 CNE-1 细胞周期的影响

2.2.1 流式细胞术检测白藜芦醇对鼻咽癌细胞 CNE-1 细胞周期的影响 见图 2A。不同浓度白藜芦醇作用鼻咽癌 CNE-1 细胞 48 h 后, 其细胞周期 S 期的细胞比例从 17.7 % 分别增加到 26.7 %, 40.2 % 和 84.6 %。而 G1 期的细胞比例从 78.3 % 分别下降到 64.1 %, 28.6 %, 7.9 %。提示白藜芦醇能阻滞 CNE-1 细胞周期于 S 期, 从而抑制细胞生长和增殖。

2.2.2 免疫印迹检测白藜芦醇对周期蛋白表达的影响 见图 2B。与对照组比较, 白藜芦醇处理后引起 Cyclin A 和 Cyclin E 蛋白表达水平下调, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.3 白藜芦醇诱导鼻咽癌 CNE-1 细胞凋亡作用

2.3.1 流式细胞术检测白藜芦醇诱导鼻咽癌 CNE-1 凋亡 见图 3A。不同浓度白藜芦醇作用鼻咽癌 CNE-1 细胞 48 h, 早期凋亡的细胞从 9.53 % 分别增加到 13.97 %, 27.65 % 和 40.58 %, 中晚期凋亡的细胞从 8.84 % 分别增加到 10.23 %, 15.51 % 和 11.75 %。以



注: 与对照组比较, ** $P < 0.01$ 。

A. 流式细胞术检测白藜芦醇诱导鼻咽癌 CNE-1 细胞周期

B. 白藜芦醇处理引起鼻咽癌 CNE-1 中 Cyclin E 和 Cyclin A 蛋白表达

图 2 白藜芦醇对鼻咽癌 CNE-1 的细胞周期的影响

Figure 2 The effect of resveratrol on the cell cycle of nasopharyngeal carcinoma CNE-1 cells

上数据提示白藜芦醇能够呈浓度梯度诱导鼻咽癌 CNE-1 细胞凋亡。

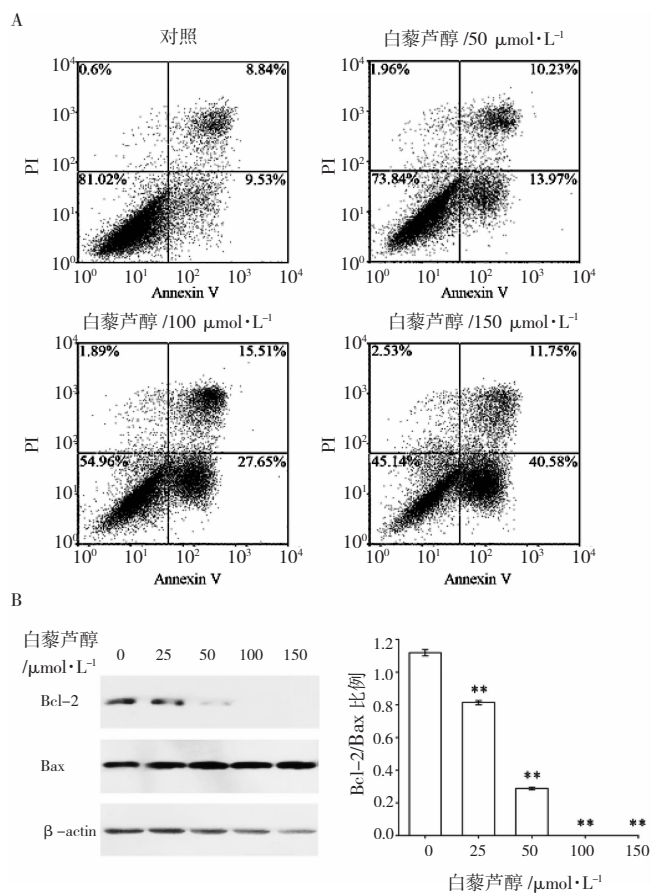
2.3.2 免疫印迹检测白藜芦醇处理后凋亡相关蛋白 Bax 和 Bcl-2 表达水平 见图 3B。随着白藜芦醇浓度的增加, Bax 蛋白表达上调, 相反, Bcl-2 蛋白随着白藜芦醇浓度的增加显著下调。与对照组比较, Bcl-2/Bax 比例显著降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。结果提示, 线粒体凋亡通路参与介导了白藜芦醇诱导 CNE-1 细胞凋亡。

3 讨论

中国南方是鼻咽癌的高发地区, 由于白藜芦醇抗肿瘤研究近年来趋热, 其对鼻咽癌的作用也备受关注。有研究报道^[10-11]白藜芦醇对鼻咽癌细胞生长和凋亡的影响, 但对其分子机制的研究很少。

本研究表明白藜芦醇抑制鼻咽癌细胞 CNE-1 细胞活力, 48 h 的 IC_{50} 约为 $101 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 72 h 的 IC_{50} 约为 $71 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。说明白藜芦醇对鼻咽癌细胞有一定生长抑制作用。

Cyclin E 和 Cyclin A 为细胞周期蛋白, Cyclin E



注：与对照组比较，** $P < 0.01$ 。

A. 流式细胞术检测白藜芦醇诱导鼻咽癌 CNE-1 细胞凋亡

B. 白藜芦醇处理引起鼻咽癌 CNE-1 细胞中 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达量

图 3 白藜芦醇诱导鼻咽癌 CNE-1 细胞凋亡

Figure 3 Resveratrol induced apoptosis of nasopharyngeal carcinoma CNE-1 cells

的表达高峰在 G_1 期与 S 期交界处，与 CDK2 一起发挥其蛋白激酶的活性，是细胞从 G_1 期进入 S 期的关键性周期蛋白^[12]。Cyclin A 在 S 期开始合成，在 G_2 期达到最高，Cyclin A 不仅与 CDK2 结合还能与 CDK1 结合，分别在 S 期后期和 G_2 期发挥调控作用，在推动 S/ G_2 期转化的过程中发挥着关键性作用^[13-15]。本研究表明，白藜芦醇处理 CNE-1 细胞后，Cyclin E 和 Cyclin A 均下调，结合流式细胞仪分析细胞周期的结果，白藜芦醇使 G_1 期细胞显著减少，S 期细胞显著增加，说明白藜芦醇能使细胞停滞在 S 期中期（早期 Cyclin E 表达仍较高，晚期 Cyclin A 表达应较高），难于进入 G_2 /M 期，最终在 S 期诱导凋亡。

Bcl-2 主要位于线粒体膜内外侧。Bcl-2 是抑癌基因，在细胞凋亡过程中主要表现为 Bcl-2 表达减少，Bax 表达增多，Bcl-2/Bax 比例下降。Bax 主要分布在细胞浆中或疏松的结合在疏水槽中^[16]。当细胞受

到外界损害刺激时，凋亡信号能使 Bax 的结构发生变化，导致 Bax 转位到线粒体外膜并与之结合，形成渗透性膜转移孔复合物，建立线粒体膜通道，介导线粒体发生释放反应，包括：细胞色素 C，凋亡诱导因子(AIF)，促凋亡蛋白等。细胞色素 C 等与凋亡促进因子 -1 (Apaf-1) 和 Caspase-9 结合形成复合体，在 ATP 参与下，使 Caspases-3 等蛋白酶家族发生酶解级联激活，最后执行凋亡过程^[17-21]。本研究结果表明，Bcl-2 表达下降，Bax 有上调的趋势，Bcl-2/Bax 比例下降，细胞凋亡遵循线粒体凋亡途径。有报道^[22]白藜芦醇是通过抑制 NF- κ B，导致细胞周期阻滞，进而抑制肿瘤细胞的增殖。Clement 等^[23]也报道了白藜芦醇通过 CD95-CD95L 途径(即 Fas-FasL 途径)诱导 HL-60 细胞株和人乳腺癌细胞株 T47D 凋亡。但白藜芦醇通过线粒体介导凋亡途径未见报道。此外，体外实验研究发现，高表达 Bcl-2 的肿瘤细胞对放、化疗不敏感，是放化疗失败的主要原因^[19]。白藜芦醇能明显抑制 Bcl-2 表达，推测这将会对鼻咽癌放疗的疗效起很好的协同促进作用，值得进一步的研究证实。

参考文献：

- [1] Wei WI, Sham JS. Nasopharyngeal carcinoma[J]. Lancet, 2005, 365 (9476): 2041-2054.
- [2] Chan AT, Teo PM, Johnson PJ. Nasopharyngeal carcinoma[J]. Ann Oncol, 2002, 13(7): 1007-1015.
- [3] 王大成. 鼻咽癌：分子标志物的发现推动早期诊断和个体化治疗[J]. 生物化学与生物物理进展, 2008, 35(1): 5-6.
- [4] LIN H, LIU J, ZHANG Y. Developments in cancer prevention and treatment using traditional Chinese medicine[J]. Front Med, 5(2): 127-133.
- [5] Baur JA, Sinclair DA. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence[J]. Nat Rev Drug Disco, 2006, 5(6): 493-506.
- [6] Das DK, Maulik N. Resveratrol in cardioprotection: a therapeutic promise of alternative medicine[J]. MolInterv, 2006, 6(1): 36-47.
- [7] Pervaiz S, Holme AL. Resveratrol: its biologic targets and functional activity[J]. Antioxid Redox Signal, 2009, 11(11): 2851-2897.
- [8] Athar M, Back JH, Tang X, et al. Resveratrol: a review of preclinical studies for human cancer prevention[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2007, 224(3): 274-283.
- [9] Bishayee A. Cancer prevention and treatment with resveratrol: from rodent studies to clinical trials[J]. Cancer Prev Res (Phila), 2009, 2 (5): 409-418.
- [10] 唐旭东, 周克元, 赵南. 白藜芦醇对鼻咽癌细胞株 CNE-2Z 增殖和凋亡的影响[J]. 中草药, 2004, 35(3): 287.
- [11] 唐旭东, 周克元, 陈小文, 等. 白藜芦醇诱导鼻咽癌细胞 CNE-2Z 凋亡过程中 caspase-6 的活化[J]. 中国免疫学杂志, 2003,

- 19(2): 100.
- [12] Ohtsubo M, Roberts JM. Cyclin-dependent regulation of G1 in mammalian fibroblasts [J]. *Science*, 1993, 259(5103): 1908-1912.
- [13] Jeffrey, PD, Russo AA, Polyak K, et al. Mechanism of CDK activation revealed by the structure of a cyclin A-CDK2 complex[J]. *Nature*, 1995, 376: 313-320.
- [14] Knoblich JA, Lehner CF. Synergistic action of Drosophila cyclins A and B during the G2-M transition[J]. *The EMBO Journal*, 1993, 12: 65-74.
- [15] Pagano MR, Pepperkok, Fulvia Verde, et al. Cyclin A is required at two points in the human cell cycle[J]. *The EMBO Journal*, 1992, 11: 961-971.
- [16] Deniaud A, Hoebeke J, Briand JP, et al. Peptido-targeting of the mitochondrial transition pore complex for therapeutic apoptosis induction[J]. *Curr Pharm Des*, 2006, 12(34): 4501-4511.
- [17] Cory S, Huang DC, Adams JM. The Bcl-2 family: roles in cell survival and oncogenesis [J]. *Oncogene*, 2003, 22(53): 8590-8607.
- [18] 段小娴, 欧盛敬, 李媛, 等. 树鼯实验肝癌形成过程中 p53 和 bcl-2 蛋白表达及其与细胞凋亡之间的关系[J]. *中国肿瘤临床*, 2004, 31(18): 1057-1059.
- [19] Kariya S, Ogawa Y, Yoshida S, et al. X-irradiation enhances the expression of Bcl-2 in HL-60 cells: the resulting effects on apoptosis and radiosensitivity[J]. *Int J Mol Med*, 1999, 3(2): 145-152.
- [20] Garrido C, Galluzzi L, Brunet M, et al. Mechanisms of cytochrome c release from mitochondria [J]. *Cell Death Differ*, 2006, 13(9): 1423-1433.
- [21] Sharpe JC, Arnoult D, Youle RJ. Control of mitochondrial permeability by Bcl-2 family members[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1644(2-3): 107-113.
- [22] Liao NF, Kuo CD, Yang YC, et al. Resveratrol enhances radio-sensitivity of human non-small cell lung cancer NCI-H838 cells accompanied by inhibition of nuclear factor-kappa B activation [J]. *Radiat Res(Tokyo)*, 2005, 46(4): 387-393.
- [23] Clement MV, Hirpara JL, Chawdhury SH, et al. Chemopreventive agent resveratrol, a natural product derived from grapes, triggers CD95 signaling-dependent apoptosis in human tumor cell[J]. *Blood*, 1998, 92(3): 996-1002.

(编辑: 邓响潮)

甘草提取物对小鼠肝脏核因子 E2 相关因子 2 及其下游基因表达的影响

龚 慧^{1,2}, 颜 苗^{1,2}, 李焕德^{1,2}, 江 沛^{1,2}, 李瑞丰^{1,2}, 孙 莉^{1,2} (1. 中南大学湘雅二医院临床药学研究室, 湖南 长沙 410011; 2. 中南大学药学院, 湖南 长沙 410013)

摘要: **目的** 考察甘草提取物对核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)信号通路及其下游基因尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 1A1(UGT1A1)、 γ 谷氨酰半胱氨酸合成酶(γ GCS)、多药耐药相关蛋白 1(MRP1)和多药耐药相关蛋白 2(MRP2)的影响。**方法** 12 只小鼠随机分为对照组和甘草提取物组(150 mg·kg⁻¹)。给药后 24 h 处死取肝组织, 采用 qRT-PCR 技术检测小鼠肝中 Nrf2、UGT1A1、 γ GCS、MRP1 和 MRP2 mRNA 的表达; Western blot 技术测定 Nrf2 蛋白的表达。**结果** 与对照组比较, 甘草提取物显著诱导了小鼠肝脏中 Nrf2 mRNA 和蛋白的表达, 同时 Nrf2 下游基因 UGT1A1、 γ GCS、MRP1 和 MRP2 mRNA 的表达也显著提高(均 $P < 0.05$)。**结论** 甘草提取物诱导了小鼠肝脏中 II 相解毒酶 UGT1A1、 γ GCS 及转运体 MRP1、MRP2, 其机制可能与上调 Nrf2 转录因子的表达, 激活 Nrf2 细胞信号转导通路有关。

关键词: 甘草; 核因子 E2 相关因子 2; 尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 1A1; γ 谷氨酰半胱氨酸合成酶; 多药耐药相关蛋白 1; 多药耐药相关蛋白 2

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)02-0135-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.02.006

Effects of Licorice Extract on Expression of Mice Hepatic Nuclear Factor E2 -related Factor 2 and Its Downstream Genes

GONG Hui^{1,2}, YAN Miao^{1,2}, LI Huande^{1,2}, JIANG Pei^{1,2}, LI Ruifeng^{1,2}, SUN Li^{1,2} (1. Clinical Pharmacy Institute,

收稿日期: 2013-11-01

作者简介: 龚慧, 女, 硕士研究生, 研究方向: 临床中药学。Email: feelgonghui@126.com。通讯作者: 李焕德, 教授, 博士生导师, 研究方向: 临床中药学。Email: lihuande1953@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金项目(81202985); 中央高校基本科研业务管理费中南大学青年教师助推项目(2012QNZT151)。