

胃炎 I 号对胃癌前病变大鼠 Wnt 信号通路 Wnt1, Wnt3a, Cyclin D1 表达的影响

曾进浩¹, 潘华峰¹, 刘友章¹, 严 艳¹, 赵自明², 任金玲¹, 胡 霞¹, 李海文¹, 赖秋华¹(1. 广州中医药大学, 广东 广州 510006; 2. 广东省中医研究所, 广东 广州 510095)

摘要: **目的** 探讨健脾化痰解毒复方胃炎 I 号对胃癌前病变(GPL)的疗效及其分子学机制。**方法** 将 SD 大鼠随机分为空白对照组, 模型组, 维酶素组($0.2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 胃炎 I 号组 ($7.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。采用 N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(MNNG)水溶液自由饮用、饥饿失常、耗气泻下法复制 GPL 大鼠模型。观察胃炎 I 号连续治疗 10 周后对 GPL 大鼠 Wnt 信号通路 Wnt1、Wnt3a、细胞周期蛋白 D1(Cyclin-D1)表达的影响。**结果** 模型组大鼠胃黏膜上皮的 Wnt1、Wnt3a、Cyclin D1 表达评分均较空白对照组显著增加 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 胃炎 I 号能显著拮抗模型组出现的上述变化($P < 0.01$)。**结论** 胃炎 I 号能下调 Wnt 信号通路 Wnt1, Wnt3a, Cyclin D1 的表达, 抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路的异常激活, 能在一定程度上阻断和逆转胃黏膜恶性转变。

关键词: 胃炎 I 号; 胃癌前病变; Wnt 信号通路; Wnt1; Wnt3a; 细胞周期蛋白 D1

中图分类号: 285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)04-0397-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.04.003

Effects of *Weiyao* Recipe 1 on Expression of Wnt1, Wnt3a and Cyclin D1 in Wnt Signaling Pathway in Rats with Gastric Precancerous Lesions

ZENG Jinhao¹, PAN Huafeng¹, LIU Youzhang¹, YAN YAN¹, ZHAO Ziming², REN Jinling¹, HU Xia¹, LI Haiwen¹, LAI Qiuhua¹ (1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 2. Guangdong Provincial Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To study the effects of *Weiyao* Recipe 1, which has the actions of strengthening spleen, resolving stasis and removing toxins, on gastric precancerous lesions(GPL), and to explore the related molecular mechanism. **Methods** SD rats were randomly divided into blank control group, model group, Vitacoenzyme Tablets ($0.2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) group, and *Weiyao* Recipe 1($7.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) group. The GPL rat model was established by spontaneous intake of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG) solution, irregular diet and intragastric administration of purgative herbs. After treatment for 10 weeks, the expression levels of the upstream regulators Wnt1, Wnt3a and Cyclin D1 in gastric mucosal epithelial cells were observed in all of the groups. **Results** In contrast with the blank control group, the scores of Wnt1, Wnt3a and Cyclin D1 expression in gastric mucosal epithelial cells of the model group were significantly increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), but decreased dramatically in *Weiyao* Recipe 1 groups ($P < 0.01$). **Conclusion** *Weiyao* Recipe 1 could inhibit the aberrant activation of Wnt/ β -catenin signaling pathway through down-regulating the expression of the upstream regulators Wnt1, Wnt3a and Cyclin D1, thus to block or reverse the malignant transformation of gastric mucosa to a certain extent.

Keywords: *Weiyao* Recipe 1; Gastric precancerous lesions; Wnt signaling pathway; Wnt1; Wnt3a; Cyclin D1

胃癌前病变(gastric precancerous lesions, GPL) 发于慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG), 是指胃黏膜出现肠上皮化生、异形增生的病变, 常继 与胃癌(gastric cancer, GC)的发生有直接联系。中

收稿日期: 2013-12-16

作者简介: 曾进浩, 男, 博士研究生, 研究方向: 消化系统疾病与肿瘤的研究。Email: zengjinhao0018@126.com。通讯作者: 潘华峰, 医学博士, 教授, 从事中西医结合治疗脾胃系疾病研究。Email: gzphf@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81273739); 广东省研究生教育创新计划项目(2013JDXM20)。

医药在治疗胃癌前病变显示良好的疗效，因此，运用中医药早期干预胃癌前病变，阻断病程的进一步发展，是降低胃癌发病率的关键措施。我们既往从临床及实验研究^[1-3]探讨了胃炎 I 号干预萎缩性胃炎及胃癌前病变的机制。本实验在以往研究基础上，以 Wnt 信号转导通路的关键靶因子 Wnt1 蛋白、Wnt3a 蛋白、细胞周期蛋白 D1(Cyclin D1)为切入点，进一步探讨胃炎 I 号对 Wnt 信号通路的干预作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF 级雄性 SD 大鼠，6~8 周龄，体质量 140~170 g，中山大学实验动物中心，许可证号：SCXK(粤)2011-0029。

1.2 药品及试剂 N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(MNNG)，日本东京株式会社，批号：ZG4T1-FP。胃炎 I 号(党参 30 g，当归 10 g，白芍 15 g，砂仁 10 g，鸡骨香 15 g，莪术 15 g，蒲公英 15 g，蛇舌草 30 g，重楼 15 g，珍珠层粉 3 g，甘草 6 g)及小承气汤(大黄 12 g，厚朴 6 g，枳实 9 g)饮片购自广州中医药大学门诊部，由广东省中医研究所药物制剂室批量制备。维酶素，四川大冢制药有限公司，批号：120711。Wnt1 rabbit pAb，美国 abcam 公司，批号：GR68137-1；Wnt3a rabbit pAb，美国 millipore 公司，批号：2116021；Cyclin D1 rabbit pAb，美国 abcam 公司，批号：GR92375-1。

1.3 仪器 RM2135 切片机、TP1020 组织脱水机、EG1140 石蜡包埋机、HI1210 摊片机及烘片机，均为德国徕卡公司；CX21-BIM 生物显微镜，日本奥林巴斯公司。

1.4 模型复制及治疗 将大鼠随机分为空白对照组(n=10)，模型组(n=10)，维酶素组(n=13)，胃炎 I 号组(n=13)。空白对照组常规喂养，其余各组参考文献^[4]复制模型：采用 200 μg·mL⁻¹MNNG 溶液自由饮用、饥饱失常及耗气泻下法(小承气汤灌胃)复制 GPL 大鼠模型，连续 18 周。第 9 周开始灌胃给药，空白对照组与模型组大鼠每天灌胃蒸馏水 2 mL，维酶素组按 0.2 g·kg⁻¹、胃炎 I 号组按 7.5 g·kg⁻¹(1 倍成人临床等效量)灌胃共 10 周。

1.5 检测 Wnt1、Wnt3a、Cyclin D1 的表达 于第 18 周末，禁食禁水 12 h 后，处死大鼠。取全胃，沿大弯剪开，取 1 mm³ 大小的胃小弯体-窦交界部胃黏膜组织。免疫组化 EnVision 法^[5]检测 Wnt1、Wnt3a、Cyclin D1 的表达。结果判断：细胞质及细胞核见棕黄色或棕色颗粒定义为 Wnt1、Wnt3a、Cyclin

D1 染色阳性。400 倍光镜下随机选取 5 个视野，运用 image pro plus6.0 图像软件进行分析，选取光密度均值(density mean)、面积比总和值(per area sum)、累积光密度均值(integral optical density mean)进行阳性表达评分。

1.6 统计学处理方法 采用 SPSS19.0 统计软件，计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。多组间比较采用单因素方差分析，若方差齐时，组间均值两两比较采用 SNK 法(Student Newman Keuls 检验)；方差不齐时，改用 Dunnett T3 检验， $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 空白对照组未出现死亡，模型组、维酶素组、胃炎 I 号组大鼠死亡数分别为 1 只、2 只、2 只。

2.2 各组大鼠胃黏膜上皮细胞 Wnt1 的表达 见表 1 及图 1。模型组 Wnt1 阳性表达的光密度均值、面积比总和、累积光密度均值等评分均较空白对照组明显增加($P<0.05$ ， $P<0.01$)。与模型组比较，维酶素组 Wnt1 阳性表达的面积比总和值评分显著降低($P<0.05$)，光密度均值、累积光密度均值评分有下降趋势，但差异无统计学意义($P>0.05$)；胃炎 I 号组 Wnt1 阳性表达的面积比总和值评分、累积光密度均值评分显著降低($P<0.01$)，光密度均值有下降趋势，但差异无统计学意义($P>0.05$)。与维酶素组比较，胃炎 I 号组 Wnt1 阳性表达的光密度均值、面积比总和值、累积光密度均值评分进一步降低，但差异无统计学意义($P>0.05$)。空白对照组大鼠胃黏膜上皮偶见 wnt1 阳性表达，表达位于细胞质(图 1A)；模型组 wnt1 主要表达于细胞质及细胞核，阳性表达细胞染色较深，密集分布于胃黏膜全层(图 1B)；给药组 wnt1 表达水平较模型组有不同程度降低，阳性表达细胞染色变浅，数量减少，以胃炎 I 号组改善较

表 1 各组大鼠胃黏膜上皮 Wnt1 的表达评分比较($\bar{x}\pm s$)
Table1 Expression scores of Wnt1 in gastric mucosal epithelium of rats in different groups

组别	n	剂量 /g·kg ⁻¹	光密度均值	面积比总和值	累积光密度均值
空白对照组	10		0.101±0.058	0.008±0.006	9.385±6.025
模型组	9		0.182±0.043*	0.223±0.044**	56.401±13.662**
维酶素组	11	0.2	0.173±0.049	0.166±0.026 [△]	42.341±17.906
胃炎 I 号组	11	7.5	0.148±0.051	0.141±0.032 ^{△△}	25.529±9.136 ^{△△}

注：与空白对照组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ；与模型组比较，[△] $P<0.05$ ，^{△△} $P<0.01$ 。

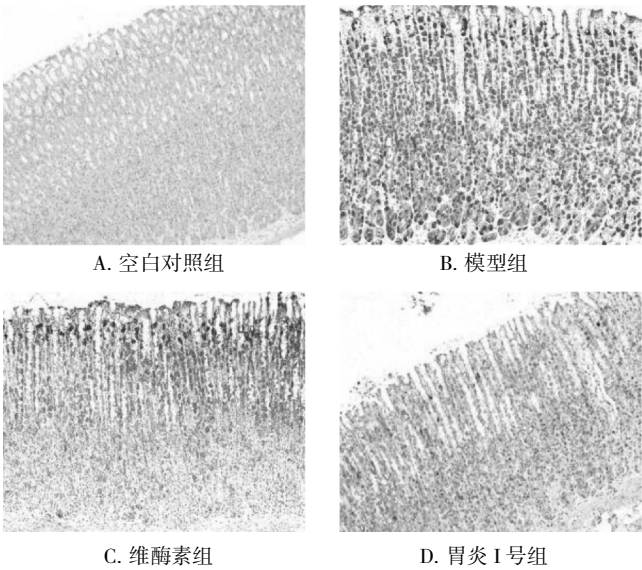


图 1 Wnt1 在各组胃黏膜组织中的表达(免疫组化法, ×100)
Figure 1 Expression of Wnt1 in gastric mucosa tissues in different groups(by immunohistochemical method, ×100)

明显(图 1C、D)。

2.3 各组大鼠胃黏膜上皮细胞 Wnt3a 的表达 见表 2 及图 2。模型组 Wnt3a 阳性表达的光密度均值、面积比总和值、累积光密度均值等评分均较空白对照组显著增加($P < 0.01$)。与模型组比较, 维酶素组、胃炎 I 号组 Wnt3a 阳性表达的光密度均值评分差异无统计学意义($P > 0.05$); 维酶素组 Wnt3a 阳性表达的面积比总和值、累积光密度均值评分有下降趋势, 但无统计学意义($P > 0.05$); 胃炎 I 号组 Wnt3a 阳性表达的面积比总和值、累积光密度均值评分显著降低($P < 0.01$)。与维酶素组比较, 胃炎 I 号组 Wnt3a 阳性表达的面积比总和值、累积光密度均值评分显著降低($P < 0.05, P < 0.01$), 光密度均值评分无显著性差异($P > 0.05$)。空白对照组大鼠胃黏膜上皮偶见 wnt3a 阳性表达, 表达于细胞质(图 2A); 模型组 wnt3a 主要表达于细胞质及细胞核, 阳性表达细胞染

表 2 各组大鼠胃黏膜上皮 Wnt3a 的表达评分比较($\bar{x} \pm s$)
Table2 Expression scores of Wnt3a in gastric mucosal epithelium of rats in different groups

组别	n	剂量 /g·kg ⁻¹	光密度均值	面积比总和值	累积光密度均值
空白对照组	10		0.044 ± 0.045	0.012 ± 0.019	4.630 ± 4.492
模型组	9		0.202 ± 0.059**	0.271 ± 0.077**	65.539 ± 16.441**
维酶素组	11	0.2	0.203 ± 0.053	0.222 ± 0.054	48.778 ± 15.661
胃炎 I 号组	11	7.5	0.192 ± 0.048	0.131 ± 0.041 [△]	26.365 ± 4.968 ^{△△}

注: 与空白对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$; 与维酶素组比较, [▲] $P < 0.05$, ^{▲▲} $P < 0.01$ 。

色较深, 密集分布于胃黏膜全层, 并以基底侧为主(图 2B); 给药组 wnt3a 表达水平较模型组有不同程度降低, 阳性表达细胞染色变浅, 数量减少, 呈散在分布, 以胃炎 I 号组改善最明显(图 2C、D)。

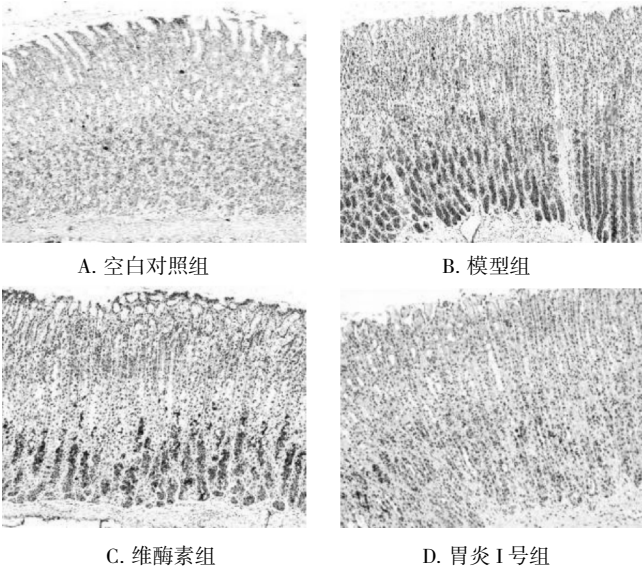


图 2 Wnt3a 在各组胃黏膜组织中的表达(免疫组化法, ×100)
Figure 2 Expression of Wnt3a in gastric mucosa tissues in different groups(by immunohistochemical method, ×100)

2.4 各组大鼠胃黏膜上皮细胞 Cyclin D1 的表达 见表 3 及图 3。模型组 Cyclin D1 阳性表达的光密度均值、面积比总和值、累积光密度均值等评分均较空白组明显增加($P < 0.01$)。与模型组比较, 维酶素组 Cyclin D1 阳性表达的光密度均值、面积比总和值、累积光密度均值等评分均有下降趋势, 但差异无统计学意义($P > 0.05$); 胃炎 I 号组 Cyclin D1 表达的光密度均值、面积比总和值、累积光密度均值等评分均显著降低($P < 0.01, P < 0.05$)。与维酶素组比较, 胃炎 I 号组 Cyclin D1 阳性表达的面积比总和值评分显著降低($P < 0.01$), 光密度均值、累积光密度均值评分有下降趋势, 但差异无统计学意义($P > 0.05$)。空白对

表 3 各组大鼠胃黏膜上皮 Cyclin D1 的表达评分比较($\bar{x} \pm s$)
Table 3 Expression scores of Cyclin D1 in gastric mucosal epithelium of rats in different groups

组别	n	剂量 /g·kg ⁻¹	光密度均值	面积比总和值	累积光密度均值
空白对照组	10		0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000
模型组	9		0.117 ± 0.037**	0.166 ± 0.067**	40.555 ± 12.586**
维酶素组	11	0.2	0.103 ± 0.039	0.121 ± 0.037	29.535 ± 10.224
胃炎 I 号组	11	7.5	0.074 ± 0.012 [△]	0.064 ± 0.014 ^{△▲}	19.128 ± 4.481 ^{△△}

注: 与空白对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$; 与维酶素组比较, [▲] $P < 0.05$, ^{▲▲} $P < 0.01$ 。

照组大鼠胃黏膜上皮 Cyclin D1 呈阴性表达(图 3A); 模型组 Cyclin D1 主要表达于细胞质, 部分细胞核也可见阳性表达, 阳性表达细胞染色较深, 密集分布于胃黏膜上皮基底侧(图 2B); 治疗组 Cyclin D1 表达水平较模型组有不同程度降低, 阳性表达细胞染色变浅, 数量减少, 呈散在分布, 以胃炎 I 号组改善最明显(图 3C、D)。

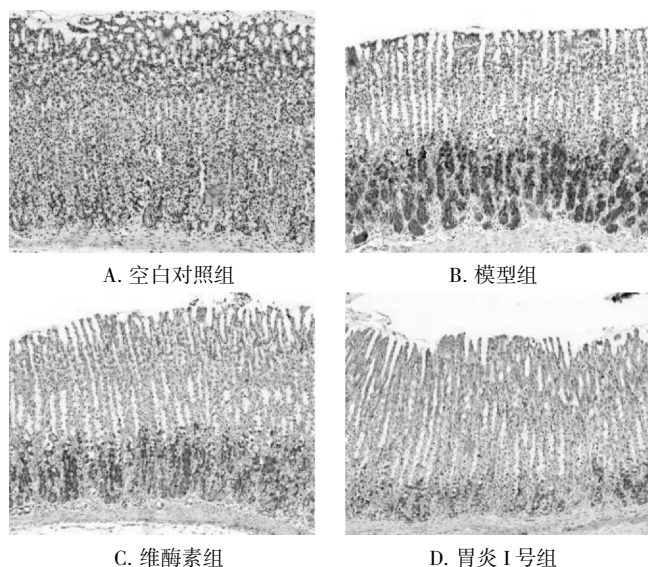


图 3 Cyclin D1 在各组胃黏膜组织中的表达(免疫组化法, $\times 100$)

Figure 3 Expression of Cyclin D1 in gastric mucosa tissues in different groups(by immunohistochemical method, $\times 100$)

3 讨论

Wnt 信号通道是多种蛋白质参与、相互影响的高度保守的信号转导通路, 在细胞分化、增殖、凋亡、迁移中具有重要调节作用^[6]。Wnt 信号通道除了参与胚胎生长及组织修复再生等生理活动外, 平时一般处于关闭状态, 当通路靶基因突变或异常表达时, 可激活 Wnt 信号通路, 进而导致细胞的异常分化、增殖、转移, 在肿瘤的生长、侵袭、转移中起到重要的作用^[7]。

Wnt 蛋白是一类分泌性糖蛋白, 它们是 Wnt 信号通路的启动因子^[8]。Wnt1 是 Wnt 蛋白家族中的第一个成员, 研究发现, 在 OKAJIMA 细胞系(胃癌细胞系)中存在 Wnt-1mRNA 高表达现象^[9], Wnt1 表达水平与胃癌的肿瘤大小、分化程度、浸润深度、淋巴结转移、pTNM 分期及 5 年生存率有密切联系, 而在正常胃组织中表达缺如或微弱^[10]。说明 Wnt1 蛋白的异常表达在胃癌前病变及胃癌中起重要作用。

Wnt3a 蛋白作为 Wnt 蛋白家族的一员, 也是 Wnt 信号通路上游的启动因子, 研究发现^[11]Wnt3a 在胃癌组织中的表达水平明显增高, 并且 Wnt3a 的过度表达与胃癌患者的年龄、淋巴结转移及 TNM 分期相关, 说明 Wnt3a 的异常表达及 Wnt 信号通路的激活在胃癌的发生进展也占有重要地位。细胞周期的调节失控是恶性肿瘤的重要特征之一, Cyclin D1 不仅是调节细胞 G1 期→S 期转换的关键蛋白, 也是 Wnt 信号通路的下游关键靶因子。Cyclin D1 的过度表达与胃癌的发生有密切联系^[12], Arici DS 等^[13]研究发现 Cyclin D1 在 72 % (31/43) 胃癌组织、55.8 % (24/41) 癌前病变组织中阳性表达, 并且随着胃黏膜病变程度的加重(腺体萎缩-肠上皮化生-异型增生-胃癌), Cyclin D1 表达水平逐渐升高, 表明 Cyclin D1 的过度表达可能导致细胞的异常增殖、分化, 进而导致胃癌的发生。综上所述, Wnt1、Wnt3a、Cyclin D1 作为 Wnt 信号通道的重要靶因子及肿瘤正向调节因子, 其异常表达与经典 Wnt/ β -catenin 通路的异常激活相关^[14], 可促进胃黏膜上皮细胞异常分化、增殖、迁移, 进而导致胃癌的发生进展。Wnt1、Wnt3a、Cyclin D1 是评价胃癌发生发展的良好标志物, 其异常表达是 Wnt 信号通路活化的关键的事件之一, 但关于 Wnt 信号通道靶因子 Wnt1、Wnt3a、Cyclin D1 在胃癌前病变中相关研究则较少, 这也是本次研究的创新点。

胃癌前病变属于中医“痞证”、“胃脘痛”范畴, 临床常表现为胃脘胀闷, 或隐痛, 纳差, 嗳气, 大便秘结, 消瘦, 疲乏等, 胃炎 I 号是广东省名中医刘友章教授经过几十年临床研究, 进而总结出来的治疗慢性萎缩性胃炎及胃癌前病变的经验方^[15]。本方针对萎缩性胃炎及胃癌前病变“气阴两虚, 瘀毒滞胃”的病机, 以党参、白芍健脾益气、养阴柔肝为君; 蒲公英、白花蛇舌草、七叶一枝花、莪术、当归、珍珠层粉解毒化瘀、养血活血为臣; 鸡骨草、砂仁理气和胃为佐; 甘草调和诸药为使, 全方具有健脾益气、化瘀解毒的功效。

本研究发现, 模型组胃癌前病变大鼠胃黏膜上皮 Wnt1、Wnt3a、Cyclin D1 的染色主要位于细胞质及细胞核, 其表达水平显著高于空白对照组, 表明在胃癌前病变阶段, Wnt1、Wnt3a、Cyclin D1 所介导的 Wnt 信号通路处于异常激活状态, 也提示胃癌前病变大鼠胃黏膜上皮细胞可能具有恶性细胞的特点, 处于不同程度的分化异常、过度增殖、凋亡减少状态。另外, 我们发现随着胃黏膜病变程度的加

重, Wnt1、Wnt3a、Cyclin D1 的表达水平也随之升高, Wnt1、Wnt3a、Cyclin D1 的过度表达可能与胃黏膜癌变倾向呈正相关。维酶素组及胃炎 I 号组 Wnt1、Wnt3、Cyclin D1 的表达水平均有不同程度下降, 并以胃炎 I 号组疗效最佳。另外, 我们发现治疗组上皮细胞 wnt1、wnt3a 蛋白阳性染色面积较染色强度下降更显著, 这可能也是光密度均值无统计学意义的原因。综上所述, 健脾化痰解毒复方胃炎 I 号能下调 Wnt1、Wnt3a、Cyclin D1 的异常表达, 阻断 Wnt 信号通路的异常活化, 进而抑制胃黏膜上皮细胞的恶性转变, 从而起到防治胃癌前病变的作用。

参考文献:

- [1] 刘友章, 姬爱冬. 胃炎 I 号对萎缩性胃炎患者胃黏膜影响的电镜观察 [J]. 广州中医药大学学报, 2006, 23(6): 461-464.
- [2] 韦玉娜, 覃潇, 郭亚蕾, 等. 胃炎 I 号对慢性萎缩性胃炎的疗效及其分子机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(11): 276-279.
- [3] 韦玉娜, 张伦, 刘友章. 胃炎 I 号含药血清对胃癌细胞株 SGC-7901 增殖及凋亡的作用 [J]. 广东医学, 2012, 33(19): 2888-2889.
- [4] 陈小野, 邹世洁, 樊雅莉, 等. 大鼠慢性萎缩性胃炎证病结合模型胃黏膜病理研究 [J]. 上海实验动物科学, 2002, 22(1): 35-38.
- [5] Sabatini E, Bisgaard K, Ascani S, et al. The EnVision™ system: a new immunohistochemical method for diagnostics and research. Critical comparison with the APAAP, ChemMate™, CSA, LABC, and SABC techniques [J]. Journal of Clinical Pathology, 1998, 51 (7): 506-511.
- [6] Johnson ML, Rajamannan N. Diseases of Wnt signaling [J]. Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders, 2006, 7(1-2): 41-49.
- [7] Polakis P. Wnt signaling in cancer [J]. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2012, 4(5): 1-13.
- [8] Polakis P. Wnt signaling and cancer [J]. Genes & development, 2000, 14 (15): 1837-1851.
- [9] Katoh M. Expression and regulation of WNT1 in human cancer: up-regulation of WNT1 by beta-estradiol in MCF-7 cells [J]. International Journal of Oncology, 2003, 22(1): 209-212.
- [10] Zhang H, Xue Y. Wnt pathway is involved in advanced gastric carcinoma [J]. Hepato-gastroenterology, 2008, 55(84): 1126-1130.
- [11] 官文华, 杨堃, 赵文君, 等. Wnt3、Wnt3a 在胃癌组织中的表达及意义 [J]. 世界华人消化杂志, 2013, 21(7): 624-628.
- [12] Takasu S, Tsukamoto T, Ushijima T, et al. Cyclin D1 overexpression in N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced rat gastric adenocarcinomas [J]. Experimental and Toxicologic Pathology, 2007, 59 (3-4): 171-175.
- [13] Arici DS, Tuncer E, Ozer H, et al. Expression of retinoblastoma and cyclin D1 in gastric carcinoma [J]. Neoplasma, 2009, 56 (1): 63-67.
- [14] Logan CY, Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease [J]. Annual review of Cell and Developmental Biology, 2004, 20: 781-810.
- [15] 蓝惠玲, 刘友章, Thongdavanh S. 胃炎 I 号方治疗慢性萎缩性胃炎 30 例疗效观察 [J]. 广州中医药大学学报, 2005, 22(3): 170-173, 178.

(编辑: 邓响潮)

β-细辛醚与冰片对 Aβ₁₋₄₂ 损伤 PC12 细胞自噬相关蛋白 LC3 和线粒体功能的影响

薛中峰^{1,2}, 何玉萍¹, 方永奇¹ (1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广东 广州 510405; 2. 三亚市中医院, 海南 三亚 572000)

摘要: **目的** 观察 β-细辛醚与冰片对 β-淀粉样蛋白₁₋₄₂(Aβ₁₋₄₂)诱导 PC12 细胞损伤自噬相关蛋白轻链 3(LC3)的作用, 以及对细胞内钙离子浓度和线粒体膜电位(MMP)的影响。 **方法** 体外培养 PC12 细胞, β-细辛醚与冰片预处理, 用终浓度为 1.25 μmol·L⁻¹ Aβ₁₋₄₂ 诱导细胞产生自噬, 光镜观察细胞形态, 3-(4, 5-二甲基噻唑-2)-2, 5-二苯基四氮唑溴盐比色法(MTT 法)检测细胞活力, 流式细胞仪检测 LC3 蛋白的表达、细胞内钙离子浓度及 MMP, 电镜观察细胞超微结构。 **结果** 与模型组比较, β-细辛醚组、冰片组及其 β-细辛醚+冰片组能提高细胞活力($P < 0.05$), 升高 LC3 蛋白的含量($P < 0.05$), 降低细胞内钙离子浓度及升高 MMP($P < 0.05$), 减

收稿日期: 2013-10-27

作者简介: 薛中峰, 男, 博士, 研究方向: 中医药治疗脑病及其作用机理研究。Email: xuezhongfeng@foxmail.com。通讯作者: 方永奇, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 中医药治疗脑病及其作用机理研究。Email: fangyq2@163.com。

基金项目: 广东省科学技术厅、广东省中医药科学院联合科研专项(2012A032400006)。