

基础研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2012.06.017

三七总皂苷对棕榈酸诱导的 HepG2 细胞炎症反应的保护作用

宋 勇¹, 张琪娟¹, 肖晓秋², 李继斌¹

(重庆医科大学 1. 公共卫生与管理学院营养与卫生学教研室; 2. 生命科学研究院药物工程研究中心, 重庆 400016)

【摘要】目的: 观察三七总皂苷(Panax notoginseng saponins, PNS)对棕榈酸(Palmitic acid, PA)诱导的 HepG2 细胞炎症反应的作用, 探讨 PNS 在抗炎作用中可能的机制。方法: 体外培养 HepG2 细胞, 根据实验要求设置对照组、PA 处理组、PNS 预保护组。采用 MTT 实验检测 PA 和 PNS 对 HepG2 细胞增殖的影响; 油红 O 染色检测 HepG2 胞内脂质沉积; Real time PCR 检测 HepG2 细胞肿瘤坏死因子 α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α) 基因表达水平; ELISA 法检测 TNF- α 释放水平; 免疫荧光检测核转录因子(Nuclear factor kappa B, NF- κ B)激活。结果: PA 处理可诱导 HepG2 细胞凋亡、脂质沉积及炎症反应; PNS 预处理则能够显著抑制 PA 诱导的 HepG2 细胞 TNF- α 表达及释放; PNS 预处理组 NF- κ B 激活被显著抑制。结论: PNS 对 PA 诱导的 HepG2 细胞 TNF- α 表达及释放具有抑制作用, 提示 PNS 具有减轻肝细胞炎症反应的作用, 抑制细胞 NF- κ B 信号途径可能是该保护作用机制之一。

【关键词】非酒精性脂肪性肝炎; 三七总皂苷; 棕榈酸; 炎症; NF- κ B 信号通路

【中国图书分类法分类号】R962

【文献标志码】A

【收稿日期】2011-12-12

Protective effects of Panax Notoginseng Saponins on palmitic acid induced inflammation in HepG2 cells

SONG Yong¹, ZHANG Qijuan¹, XIAO Xiaoqi², LI Jibin¹

(1. Department of Nutrition and Food Hygiene, Public Health and Management Institute; 2. Pharmaceutical Engineering Research Center, Institute of Life Science Research, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To observe the protective effects of panax notoginseng saponins (PNS) on palmitic acid (PA) induced inflammation in HepG2 cells and to discuss the possible mechanism of PNS against inflammation. Methods: HepG2 cells were cultured in vitro. The control group, palmitic acid treatment group (PA group) and PNS treatment group were established according to the experimental requirements. The effects of PA and PNS on the proliferation of HepG2 cells were measured with MTT assay. Lipid accumulation was evaluated morphologically by oil red O staining. Real-time PCR was applied to determine the TNF- α mRNA expression. TNF- α in the cell-free culture supernatants was measured with highly specific enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits according to the manufacturer's directions. Nuclear factor kappa B (NF- κ B) activation was examined with immunofluorescence technique. Results: Palmitic acid treatment can induce apoptosis, lipidosis and inflammation in HepG2 cells while PNS pretreatment can suppress the TNF- α expression and releasing induced by PA. NF- κ B activation induced by PA was also inhibited by PNS pretreatment. Conclusions: PNS has anti-inflammation effect on hepatocyte. The mechanism of PNS protective effect is partially due to the inhibition of NF- κ B activation and TNF- α expression.

【Key words】nonalcoholic steatohepatitis; Panax Notoginseng Saponins; palmitic acid; inflammation; nuclear factor kappa B

非酒精性脂肪性肝炎 (Nonalcoholic steatohepatitis, NASH) 是指除酒精和其他明确的损肝因素外所致的、以弥漫性肝实质细胞大泡性脂肪变性和小叶内炎症反应为主的临床病理综合征^[1]。因 NASH 和以肥胖、2 型糖尿病等胰岛素抵抗为特征的代谢综合征 (Metabolic syndrome, MS) 关系密切, 故被认为是 MS 在肝脏的表现形式^[2]。肝脏是脂肪代谢的重要场所, 机体存在胰岛素抵抗时, 血中游离脂肪酸 (Free

fatty acid, FFA) 水平升高, 导致肝细胞内脂质沉积继而出现炎症反应。

三七是五加科人参属植物, 有活血化瘀、消肿抗炎的功效, 三七总皂苷 (Panax notoginseng saponins, PNS) 是其主要活性成分^[3]。本研究拟通过体外实验培养 HepG2 细胞, 培养基中添加棕榈酸 (Palmitic acid, PA) 和 PNS, 观察 PNS 对 PA 诱导的肝细胞炎症反应的抑制作用, 并进一步探讨 PNS 在降低炎症反应作用中的信号通路和可能机制, 为发掘有效防治 NASH 的药物提供理论依据。

作者介绍: 宋 勇 (1982-), 男, 硕士,

研究方向: 植物化学物与健康。

通信作者: 李继斌, 男, 副教授, Email: ljb21st@126.com。

1 材料和方法

1.1 材料

HepG2 细胞购自中科院上海细胞所,低糖 DMEM 培养基和胎牛血清购自美国 Hyclone 公司;PNS 由澳门大学中华医药研究所提供(PNS 纯度大于 90%,其中人参皂苷 Rb1 大于 30%、人参皂苷 Rg1 大于 20%、三七皂苷 R1 大于 5%);棕榈酸(Palmitic acid,PA)和胎牛血清白蛋白(Bovine serum albumin,BSA)购自美国 Sigma 公司;Trizol 试剂购自美国 Invitrogen 公司;RNA 反转录试剂盒购自宝生物工程大连(有限)公司;核转录因子(Nuclear factor kappa B,NF- κ B)激活-核转运检测试剂盒购自碧云天公司;SYBR Green 购自美国 Bio-Rad 公司;人类肿瘤坏死因子 α (Tumor necrosis factor- α ,TNF- α)ELISA 检测试剂盒购自美国 Cusabio 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 将 HepG2 细胞接种于 50 ml 细胞培养瓶,培养基为含 10%胎牛血清的低糖 DMEM(葡萄糖浓度为 1.1 g/L)。培养瓶置 37 °C 二氧化碳培养箱中,细胞生长至铺满瓶底 90%左右时用 0.125%胰酶 1:3 消化、传代。

1.2.2 PA 脂性培养基配制 PA 脂性培养基的配制详见参考文献[4],其简要步骤为:准确称取 0.051 2 g PA 固体粉末,加入 10 ml 浓度为 0.01 mol/L 的 NaOH 溶液中,置 70 °C 水浴 30 min 直至 PA 完全溶解,即配制成 20 mmol/L 的 PA 溶液;配制 30%不含游离脂肪酸的 BSA 溶液,置 55 °C 水浴 30 min;分别取浓度为 20 mmol/L PA 溶液 200、400 μ l 与 330 μ l 浓度为 30%的 BSA 溶液混合,加入 20 ml 低糖 DMEM 培养基,过滤除菌,配制成终浓度为 0.2、0.4 mmol/L 的 PA 脂性培养基。

1.2.3 MTT 法检测 PA 和 PNS 对 HepG2 细胞生长的影响

将 HepG2 细胞接种于 96 孔板,接种密度为 5 000 个/孔,分为 5 组,每组设置 3 个复孔。对照组为 CON 组;PA1 组和 PA2 组分别加入 0.2、0.4 mmol/L 的 PA 培养基;PNS 预保护组(PNS 组)加入 10 mg/L 的 PNS 预保护 2 h,再加入 0.4 mmol/L 的 PA;同时设置单独加入 10 mg/L PNS 的 P 组。各组培养 24 h 后,每孔加入 20 μ l 的 MTT 试剂(5 mg/ml),继续培养 4 h,吸弃培养基,每孔加入 150 μ l 的 DMSO。充分震荡后酶标仪 A₄₉₀ nm 测定各孔 A 值。各组 A 值除以对照组 A 值,乘以 100%,得出各组细胞相对于对照组的存活率。

1.2.4 油红 O 染色检测 PA 诱导的 HepG2 细胞脂质沉积

HepG2 细胞接种于爬片,分为对照组(CON 组),棕榈酸处理组(PA 组),PNS 预保护组(PNS 组)。细胞融合至 40%左右时,PNS 组先加入 10 mg/L 的 PNS 预保护 2 h,PA 组和 PNS 组再分别加入终浓度为 0.2 mmol/L 的 PA 脂性培养基。各组培养 24 h 后吸弃培养基,中性甲醛固定 15 min,油红 O 染色 30 min,60%异丙醇分化,苏木素复染胞核,显微镜 400 $\times$ 观察及采集图像。

1.2.5 Real time PCR 检测基因转录水平 HepG2 细胞接种于 6 孔板,分为 3 个组:对照组(CON 组),棕榈酸处理组(PA 组),PNS 预保护组(PNS 组)。细胞融和至 70%左右时 PNS 组加入 10 mg/L 的 PNS 预处理 2 h。PA 组和 PNS 组再分别加入终浓度为 0.4 mmol/L 的 PA,培养 12 h 后,采用 Trizol 法提取细胞总 RNA,反转录试剂盒制备 cDNA。用 Real-time PCR 法检测 TNF- α 的基因表达水平。采用 Primer Express 3.0 软件设计引物,TNF- α 上游序列:5'-CTGAGGTCAATCTGCC-CAAGTAC-3',下游序列:5'-CTTCACAGAGCAATGACTC-CAAAG-3',引物由上海鼎安公司合成。Real-time PCR 反应条件为预变性 95 °C 3 min;变性 95 °C 10 s;退火 60 °C 30 s;返回 95 °C 10 s,扩增 39 个循环;65 °C~95 °C,每 0.5 °C 5 s 梯度递增;终止反应。采用荧光定量 PCR 分析软件 Bio-Rad CFX manager 分析结果。

1.2.6 ELISA 检测炎症因子水平 HepG2 细胞接种于 6 孔板,分为 3 个组:对照组(CON 组),棕榈酸处理组(PA 组),PNS 预保护组(PNS 组),每组设 3 个复孔。细胞融和至 60%左右时 PNS 组加入 10 mg/L 的 PNS 预处理 2 h,PA 组和 PNS 组再分别加入终浓度为 0.4 mmol/L 的 PA,培养 24 h 后采用人类 TNF- α ELISA 检测试剂盒进行检测。参照说明书提供步骤,将标准品及各组上清液加至包被孔 37 °C 孵育 2 h;各孔加入酶标抗体 37 °C 孵育 1 h;加入生物素抗体 37 °C 孵育 1 h;加底物显色液 37 °C 孵育 20 min;终止液终止反应,采用酶标仪 A₄₅₀ nm 测定各孔吸光值。

1.2.7 NF- κ B 激活-核转运检测 HepG2 细胞接种于爬片,分为 3 个组:对照组(CON 组),棕榈酸处理组(PA 组),PNS 预保护组(PNS 组)。细胞融和至 40%左右时 PNS 组加入 10 mg/L 的 PNS 预处理 2 h,PA 组和 PNS 组再分别加入终浓度为 0.4 mmol/L 的 PA,培养 1 h 后,根据 NF- κ B 激活-核转运检测试剂盒说明进行操作:用固定液固定爬片细胞 15 min,封闭液封闭 1 h,NF- κ B 一抗于 4 °C 孵育过夜,红色荧光素标记二抗室温避光孵育 1 h,DAPI 避光染胞核 5 min,送荧光显微镜 400 $\times$ 观察并采集图像。图片由软件 Image J 1.40 分析处理。

1.2.8 统计学分析 各组数据采用 SAS 9.0 软件分析。各组数据用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组结果比较采用方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PNS 对 PA 诱导的 HepG2 细胞脂毒性的保护作用

MTT 结果见表 1、图 1,0.2 mmol/L 和 0.4 mmol/L 的 PA 均对 HepG2 细胞有明显的脂质毒性作用($P < 0.05$),且 0.4 mmol/L 的 PA 比 0.2 mmol/L 的 PA 脂毒性作用更明显($P < 0.05$);10 mg/L PNS 对 HepG2 细胞生长无明显影响,但对于 0.4 mmol/L PA 诱导的细胞凋亡有轻微的保护作用($P < 0.05$)。

表 1 MTT 法检测各组 HepG2 细胞增殖情况 ($\bar{x} \pm s$)Tab.1 Proliferation of HepG2 cells measured by MTT among groups ($\bar{x} \pm s$)

处理组	A值
CON组	1.06 ± 0.03
PA1组	0.89 ± 0.07 ^{*#}
PA2组	0.69 ± 0.06 [*]
PNS组	0.77 ± 0.02 [#]
P组	1.04 ± 0.03

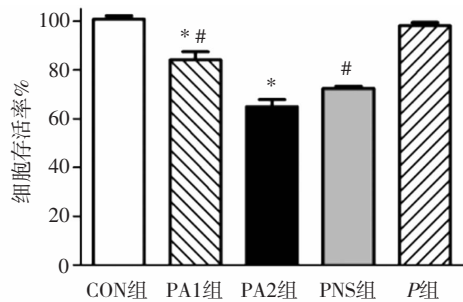
注:*,与 CON 组比较, $P < 0.05$;#,与 PA2 组比较, $P < 0.05$ *:与 CON 组比较, $P < 0.05$;#:与 PA2 组比较, $P < 0.05$

图 1 PA 和 PNS 对 HepG2 细胞存活率的影响

Fig.1 Effect of PA and PNS on the surviving rate of HepG2 cells

2.2 PNS 对 PA 诱导的 HepG2 细胞脂质沉积的影响

油红 O 染色结果见图 2。正常 HepG2 细胞呈不规则或卵圆形抱团生长,胞内无明显红染。0.2 mmol/L 的 PA 作用 HepG2 细胞 24 h 后能明显诱导细胞内红色脂滴增多,发生脂质沉积,但是 PNS 对其无明显的保护作用。

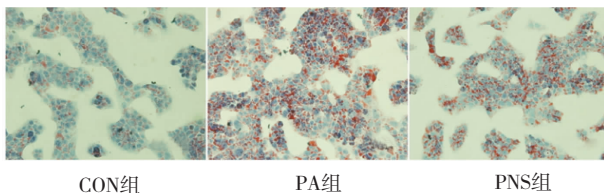


图 2 各组 HepG2 细胞内脂质沉积情况 (油红 O 染色,400 ×)

Fig.2 Fat accumulation in HepG2 cells among groups (Oil red O staining,400 ×)

2.3 PA 致 HepG2 细胞炎症作用及 PNS 的保护效应

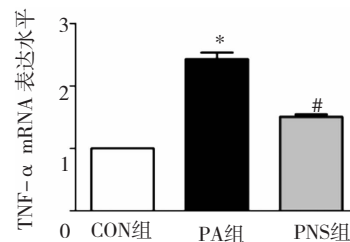
2.3.1 PA 及 PNS 对 HepG2 细胞炎症因子 TNF- α 基因转录水平的影响 根据 MTT 实验结果,选择采用 0.4 mmol/L 水平进一步观察 PA 对 HepG2 细胞的致炎症作用,Real-time PCR 结果见表 2,图 3。以 0.4 mmol/L 水平 PA 处理细胞 12 h 后,HepG2 细胞 TNF- α 表达水平较 CON 组明显升高,该差异有统计学意义($P < 0.05$);给予 HepG2 细胞 PNS 预保护后(PNS 终浓度为 10 mg/L),再采用 0.4 mmol/L 水平 PA 进行刺激,与 PA 组相比,HepG2 细胞 TNF- α 基因表达降低,有统计学差异($P < 0.05$)。

2.3.2 PNS 对 PA 诱导的 HepG2 细胞炎症因子释放的抑制效应 人类 TNF- α ELISA 试剂盒检测结果见表 3、图 4。0.4 mmol/L PA 刺激细胞 24 h 后,相比 CON 组 HepG2 的 TNF- α

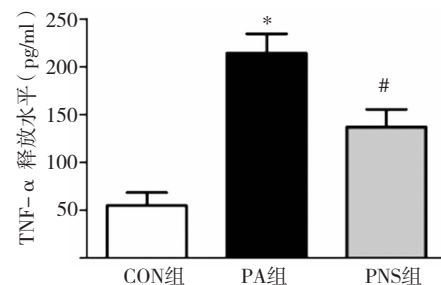
释放水平明显升高,有统计学差异($P < 0.05$),PNS 组的 TNF- α 释放水平比 PA 组有明显降低($P < 0.05$),说明 PNS 对 PA 诱导的 TNF- α 释放有明显的抑制作用。

表 2 各组 HepG2 细胞 TNF- α 基因表达水平 ($\bar{x} \pm s$)Tab.2 mRNA expression of TNF- α in HepG2 cells among groups ($\bar{x} \pm s$)

处理组	TNF- α 相对表达水平
CON组	1.00 ± 0.00
PA组	2.43 ± 0.15 [*]
PNS组	1.51 ± 0.06 [#]

注:*,与 CON 组比较, $P < 0.05$;#,与 PA 组比较, $P < 0.05$ *: $P < 0.05$,与 CON 组比较;#:与 PA 2 组比较图 3 各组 HepG2 细胞 TNF- α 基因表达水平Fig.3 mRNA expression of TNF- α in HepG2 cells among groups表 3 各组 HepG2 细胞 TNF- α 释放水平 ($\bar{x} \pm s$)Tab.3 TNF- α Production in HepG2 cells among groups ($\bar{x} \pm s$)

处理组	TNF- α 释放水平 (pg/ml)
CON组	55.36 ± 23.83
PA组	214.89 ± 34.70 [*]
PNS组	137.46 ± 32.44 [#]

注:*,与 CON 组比较, $P < 0.05$;#,与 PA 组比较, $P < 0.05$ *:与 CON 组比较, $P < 0.05$;#:与 PA 组比较, $P < 0.05$ 图 4 各组 HepG2 细胞的 TNF- α 释放水平Fig.4 TNF- α Production in HepG2 cells among groups

2.3.3 PNS 对 PA 诱导的 NF- κ B 激活的抑制作用 NF- κ B 转运激活实验结果见图 5。CON 组 HepG2 细胞的核蛋白 NF- κ B 聚集在细胞胞浆中呈暗红色,胞核呈蓝色。PA 组加入 0.4 mmol/L 的 PA 刺激 1 h 后,NF- κ B 大量转运进入细胞核,胞核呈现粉红色;PNS 组加入 10 mg/L PNS 预处理 2 h 后,再加入 0.4 mmol/L 水平 PA 刺激 1 h,NF- κ B 转运进入细胞核明显受到抑制。

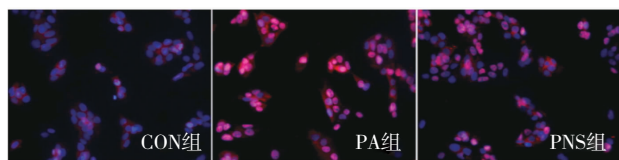


图 5 各组 HepG2 细胞 NF-κB 转录激活状态 (400 ×)

Fig. 5 NF-κB activation in HepG2 cells among groups (400 ×)

3 讨论

近年来大量研究表明,NASH 与肥胖、2 型糖尿病、高血压等胰岛素抵抗相关疾病关系密切,胰岛素抵抗在 NASH 发生发展过程中起着关键作用^[5,6]。机体存在胰岛素抵抗时,脂蛋白脂酶活性及甘油三酯合成能力减弱,脂肪组织分解释放 FFA 增多^[7]。且胰岛素抵抗状态下,可促进肝脏过量摄入 FFA、脂肪酸 β 氧化增加、氧化应激加重,肝脏经该“首次打击”发生脂肪肝^[8-10]。因此,普遍认为在“首次打击”中,胰岛素抵抗所致肝细胞内脂质沉积是产生脂肪肝的关键步骤。脂肪肝发生后,一些新的危险因素如 TNF-α 增加、炎症细胞活化、活性氧大量产生等导致脂质过氧化,以上多环节的病理过程构成了对肝脏的“二次打击”^[11,12]。由此可见,二次打击进一步加剧对肝细胞的损伤,最终导致 NASH 的发生。因此,在 NASH 的发病过程中,FFA 在肝细胞的损伤过程中扮演着重要的角色。

在本研究中发现 PA 可导致 HepG2 细胞生长受抑并引起炎症反应,与机体在胰岛素抵抗状态下,FFA 水平增高引发肝脏细胞损害的病理过程相符。近年来的研究资料表明,PNS 含有数十种皂苷类物质,其中主要活性成分为人参皂苷 Rb1、人参皂苷 Rg1、三七皂苷 R1 等,PNS 有明显的降血脂、清除自由基、抗炎、抗氧化等药理作用,临床应用甚广。在本次实验中,给予 10 mg/L 的 PNS 预保护后,PNS 对 PA 诱导的 HepG2 细胞的凋亡有轻微的保护作用,对脂质沉积没有明显的保护作用,但是细胞炎症因子基因表达和炎症因子释放受到显著抑制,初步显示了 PNS 在防治非酒精性脂肪肝方面的应用前景。

为进一步探讨 PNS 的抗炎作用可能机制,观察了 NF-κB 激活状态以确定 PA 及 PNS 对肝细胞炎症反应的作用途径。NF-κB 在炎症反应中扮演着重要角色^[13],作为一种存在于多种细胞内的核转录因子,NF-κB 广泛参与多种基因的转录表达调节,其中炎症因子基因即为其主要调节靶点。NF-κB 未激活时一般与抑制物 IκB 结合,以无活性复合物形式

位于细胞胞浆中。致炎症因素可通过不同信号传导途径,使 IκB 磷酸化、泛素化并降解,从而暴露 NF-κB 核定位信号,转移至胞核内与特定靶基因启动子结合,调控下游炎症基因 TNF-α、IL-6、IL-8 表达^[9,14]。前期研究表明,FFA 可通过 IKK、JNK 途径激活 NF-κB。在本研究中,以 0.4 mmol/L 的 PA 刺激肝细胞 1 h,即观察到 NF-κB 大量转入核内,提示 PA 致 HepG2 细胞炎症因子 TNF-α 表达及释放增多涉及对 NF-κB 信号途径的激活。PNS 预处理细胞后,能明显抑制 TNF-α 表达和释放;同时 NF-κB 转运进入细胞核明显受到抑制,提示 PNS 抑制 PA 诱导的炎症反应的作用机制可能是通过抑制 NF-κB 信号激活实现的。

综上所述,本次研究通过体外培养细胞模型观察到 PNS 对 PA 诱导的肝细胞炎症损伤具有保护作用,抑制细胞 NF-κB 信号途径激活可能是该保护作用机制之一;同时,也为 PNS 应用于 NASH 的临床治疗提供了理论依据。

(感谢澳门大学中华医药研究院李绍平教授提供三七总皂苷。)

参 考 文 献

- [1] Hojo M, Watanabe S. Pharmacological therapy of nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Hepatol Res*, 2011, 41(3): 209-216.
- [2] Cornier M A, Dabelea D, Hernandez T L, et al. The metabolic syndrome[J]. *Endocr Rev*, 2008, 29(7): 777-822.
- [3] 石磊,葛锋,刘迪秋,等.三七总皂苷生物合成与关键酶调控的研究进展[J]. *西北植物学报*, 2010, 30(11): 2358-2364.
- [4] Shi L, Ge F, Liu D Q, et al. Advances on biosynthesis of panax notoginseng saponins and regulation of key enzymes[J]. *Acta Bot. Boreal*, 2010, 30(11): 2358-2364.
- [5] Martinez S C, Tanabe K, Cras-Ménéur C, et al. Inhibition of Foxo1 protects pancreatic islet beta-cells against fatty acid and endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis[J]. *Diabetes*, 2008, 57(4): 846-859.
- [6] Almeda-Valdés P, Cuevas-Ramos D, Aguilar-Salinas C A. Metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Annals of Hepatology*, 2009, 8(s1): 18-24.
- [7] Anstee Q M, Goldin R D. Mouse models in non-alcoholic fatty liver disease and steatohepatitis research[J]. *Int J Exp Pathol*, 2006, 87(1): 1-16.
- [8] 孙莉,宋海燕,季光.非酒精性脂肪肝代谢调控与炎症反应的共同通路[J]. *中华肝脏病杂志*, 2011, 19(5): 395-397.
- [9] Sun L, Song H Y, Ji G. The joint pathway of metabolism and inflammation in nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Chin J Hepatol*, 2011, 19(5): 395-397.
- [10] Akazawa Y, Cazanave S, Mott J L, et al. Palmitoleate attenuates palmitate-induced Bim and PUMA up-regulation and hepatocyte lipopapoptosis[J]. *J Hepatol*, 2010, 52(4): 586-593.

基础研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2012.06.018

CUG 连接蛋白 1 基因在前列腺癌的表达及其功能研究

段宝民¹, 逯锦涛¹, 王卫民¹, 李 兵¹, 牛保华²

(1. 开封市第一人民医院急诊科, 开封 475000; 2. 河南大学医学院病理学教研室, 开封 475000)

【摘要】目的:探讨 CUG 连接蛋白 1(CUG-Binding Protein 1, CUGBP1)基因在前列腺癌的表达及其蛋白功能。方法:用定量 RT-PCR 法在前列腺癌组织和癌旁组织中检测 CUGBP 的 mRNA 水平。Western blot 法检测 4 种前列腺癌细胞株(22RV1, PC-3, DU145, LNCaP clone FGC)中 CUGBP1 的表达。利用 RNA 干扰技术检测 PC-3 细胞在 CUGBP1 基因沉默后细胞的增殖与凋亡状态。利用定量 RT-PCR 法确定其下游调控基因的 mRNA 水平。结果:CUGBP1 在 PC-3 和 22RV1 细胞株中高表达。CUGBP1 的 mRNA 在前列腺癌组织中较癌旁组织显著增高。CUGBP1 基因 shRNA 导致 CUGBP1 基因沉默后抑制了 PC-3 细胞株的增殖并诱导其凋亡;同时,使前列腺癌细胞在细胞周期上发生 G₁ 期阻滞。CUGBP1 基因被干扰以后,PC-3 细胞株中 CDKN1A 的 mRNA 水平发生明显上调,同时 BCL2、PCNA、MCM2 和 MCM3 基因的 mRNA 水平发生明显下调。结论:CUGBP1 基因和前列腺癌相关。CUGBP1 基因可能通过上调/下调下游基因来调节前列腺癌细胞的凋亡,改变细胞的增殖和细胞周期。

【关键词】前列腺癌;CUG 连接蛋白 1 基因;增殖;凋亡**【中国图书分类法分类号】**R737.31**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2012-01-03

Expression and function of CUG-binding protein 1 gene in prostate carcinoma

DUAN Baomin¹, LU Jintao¹, WANG Weimin¹, LI Bing¹, NIU Baohua²

(1. Department of Emergency, the First People's Hospital in Kaifeng City;

2. Teaching and Research Section of Pathology, Medical College, Henan University)

【Abstract】Objective: To study on the expression and function of CUG-binding protein 1(CUGBP1) in prostate carcinoma. **Methods:** The CUGBP1mRNA levels in the prostate carcinoma specimen and the adjacent non-carcinoma tissues were detected by quantitative RT-PCR. The expressions of four kinds prostate carcinoma cell strains(22RV1, PC-3, DU145, LNCaP clone FGC) in CUGBP1 were detected by Western blot. The proliferation and apoptosis of cell line PC-3 after silencing CUGBP1 were examined by RNA interference technique. The mRNA levels of downstream related genes in cell line PC-3 were determined by quantitative RT-PCR. **Results:** CUGBP1 was highly expressed in PC-3 and 22RV1. The CUGBP1 mRNA level in prostate carcinoma tissues was higher than that in adjacent non-carcinoma tissues. The CUGBP1 gene silencing, which was induced by shRNA lentivirus, suppressed the proliferation and apoptosis of cell line PC-3 and increased the proportion of cells in G₁ phase. The mRNA level of CDKN1A in PC-3 cell line was up-regulated while that of BCL2, PCNA, MCM2 and MCM3 was down-regulated after CUGBP1 gene silencing. **Conclusion:** CUGBP1 gene may regulate the apoptosis, proliferation and cell cycle of prostate carcinoma cells through up-regulating and down-regulating downstream genes.

作者介绍:段宝民(1967-),男,副主任医师,在读硕士,
研究方向:内科急诊。

【Key words】prostate cancer; CUG-binding protein 1 gene; proliferation; apoptosis

[9] Joshi-Barve S, Barve S S, Amancherla K, et al. Palmitic acid induces production of proinflammatory cytokine interleukin-8 from hepatocytes[J]. Hepatology, 2007, 46(3): 823-830.

[10] Neuschwander-Tetri B A. Nonalcoholic steatohepatitis and the metabolic syndrome[J]. Am J Med Sci, 2005, 330(6): 326-335.

[11] Yan E, Durazo F, Tong M, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: pathogenesis, identification, progression, and management[J]. Nutr Rev, 2007, 65(8 Pt 1): 376-384.

[12] 汪春燕, 郭传勇. 非酒精性脂肪肝的研究新进展[J]. 保健医学研究与实践, 2011, 8(1): 68-73.

Wang C Y, Guo C Y. New achievements in researches on non-alcoholic

liver disease[J]. Health Medicine Research and Practice, 2011, 8(1): 68-73.

[13] Didonato J A, Mercurio F, Karin M. NF- κ B and the link between inflammation and cancer[J]. Immunol Rev, 2012, 246(1): 379-400.

[14] 杨季云, 张思仲, 郭 红, 等. 肿瘤坏死因子 α 通过激活 NF- κ B 信号通路加快肝细胞周期进程[J]. 生物化学与生物物理进展, 2007, 34(6): 604-610.

Yang J Y, Zhang S Z, Guo H, et al. TNF- α promotes cell cycle progression by activating NF- κ B signal pathway in hepatic cell line L-02[J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2007, 34(6): 604-610.

(责任编辑:唐秋姗)