

红景天苷联合羟基喜树碱对肝癌细胞HepG-2增殖的抑制作用研究

孙安琪 张倩

武汉工程大学邮电与信息工程学院 湖北武汉 430072

摘要: 目的: 体外观察红景天苷联合羟基喜树碱用药, 对肝癌HepG-2细胞增殖的抑制作用。方法: 将红景天苷和羟基喜树碱单独或联合用于肝癌HepG-2细胞, 利用MTT比色法计算不同条件下HepG-2细胞增殖抑制率, 按照金氏公式判断两药联用的效应。结果: 联合应用红景天苷及羟基喜树碱, 对肝癌细胞HepG-2的增殖均具有抑制作用, 并且红景天苷与羟基喜树碱的浓度(μM)为50+0.25、100+0.5、300+5、500+25、600+50、800+100时, q 值大于等于0.85, 说明两者联用可以产生相加效应。结论: 红景天苷对肝癌细胞HepG-2的增殖具有抑制作用, 联合应用红景天苷与羟基喜树碱在抗肝癌细胞HepG-2增殖方面还存在药效相加作用。

关键词: 红景天苷; 羟基喜树碱; 肝癌细胞; 细胞增殖

Inhibitory effect of salidroside combined with hydroxycamptothecin on proliferation of hepatocellular carcinoma cell line HepG-2

Anqi Sun, Qian Zhang

School of Posts, Telecommunications and Information Engineering, Wuhan Institute of Technology, Wuhan, Hebei, 430072, China

Abstract: Objective: To observe the inhibitory effect of salidroside combined with hydroxycamptothecin on the proliferation of hepatocellular carcinoma HepG-2 cells in vitro. **Methods:** Salidroside and hydroxycamptocampin were used in HepG-2 cells alone or in combination. MTT colorimetric method was used to calculate the proliferation inhibition rate of HepG-2 cells under different conditions, and Kim's formula was used to judge the effect of the combination of the two drugs. **Results:** The combined application of salidroside and hydroxycamptothecin could inhibit the proliferation of HepG-2 cells, and when the concentration of salidroside and hydroxycamptothecin was 50+0.25, 100+0.5, 300+5, 500+25, 600+50, 800+100, the Q value was greater than or equal to 0.85. It shows that the combination of the two can produce additive effect. **Conclusion:** Salidroside can inhibit the proliferation of HepG-2 cells, and the combination of salidroside and hydroxycamptocampin has additive effect on the proliferation of HepG-2 cells.

Keywords: salidroside; Hydroxycamptothecin; Hepatocellular carcinoma cells; Cell proliferation

传统化疗治疗类药物不仅仅开发极其昂贵, 且药物毒性和免疫抑制作用对人体正常组织细胞也会产生严重毒副作用。探究天然药物作为治疗肿瘤的候选和辅助药物, 中药在肿瘤防治方面具有广阔的开发前景^[1]。联合

应用中药抗肿瘤主要有两种方式: 一是中药和疗效较好的药物合用, 产生协同效应; 另一种是中药自身组合发挥协同作用^[2]。

红景天苷^[3]具有保护心血管系统、抗哮喘、保护神经元细胞、保护皮肤等多种药理作用。研究发现, 红景天苷通过多种途径控制癌基因, 引诱肝癌细胞凋亡^[4]。羟基喜树碱是常见的抗肿瘤药物, 治疗初期传统药物的

依托项目: 湖北省教育厅科学研究计划指导性项目(编号: B2021441)

作用靶点单一, 肿瘤细胞易逃脱药物治疗, 使疗效大幅度下降, 因此考虑与低浓度天然药物针对不同靶点联合应用。故本文探讨单独应用红景天苷及红景天苷联合羟基喜树碱对肝癌 HepG-2 细胞增殖的抑制作用, 判定药物之间相互作用的效果, 为进一步研究和临床应用提供科学依据。

1 材料与仪器

1.1 细胞株

HepG-2 肝癌细胞株购自 ATCC (美国模式培养物集存库)。

1.2 主要试剂与仪器

红景天苷 (武汉信嘉和诚药物化学有限公司); 羟基喜树碱 (上海秦巴化工有限公司); DMEM 培养基 (HyClone 公司); 胎牛血清 (AusGeneX); MTT (BioSharp 公司); 酶标仪 (biotec elx800); 细胞培养箱 (上海力申科学仪器有限公司); 96 孔板 (耐思生物科技有限公司)。

2 方法

2.1 细胞培养

肝癌 HepG-2 细胞培养至密度可达 80%-90% 时, 经细胞消化分散后, 将 96 板孔布满在含 10% 胎牛血清条件下生长的细胞里, 使 96 板孔中的每个孔都约含有 8000-10000 个细胞, 均匀地推动铺满细胞的 96 板孔, 将细胞均匀地分布到细胞培养容器中, 然后将其小心放入培养箱。

2.2 药物分组

当细胞完全贴壁时, 先在 DMEM 培养基中将红景天苷配制在含 10% 胎牛血清的条件下成以下浓度: 1000 μM , 800 μM , 600 μM , 500 μM , 400 μM , 300 μM , 200 μM , 100 μM , 50 μM ; 羟基喜树碱组配制以下浓度梯度: 250 μM , 100 μM , 50 μM , 25 μM , 12.5 μM , 5 μM , 2.5 μM , 0.5 μM , 0.25 μM ; 配制完成后析出 96 板孔中原有的溶液, 依次添加红景天苷溶液和羟基喜树碱溶液, 以及两者的混合溶液, 把每个浓度都设置六个重复孔。

2.3 MTT 法检测细胞增殖

经过 3-5 天的处理过后, 取出 96 孔板进行观察, 然

后在每个孔中均匀加入 0.02mL 的 MTT 溶液, 加溶液时要严格操作, 全过程必须在生物安全柜中进行, 谨慎避光, 振荡混匀, 置于细胞培养箱中培养和观察 4 小时。经过 4h 的培养过后, 小心在细胞培养箱中取出 96 孔板, 仔细摄取其中的溶液, 除去结晶物质, 再分别加入无菌的 100 μL 水溶液, 微微震荡 15 分钟后, 使结晶过程完全溶化。使用 490 nm 波长的酶标仪读取数据并记录保存。

2.4 结果判定

结果用金氏公式代入计算, 求出 q 值, 以此确定两

药的联合作用, $q = \frac{E_{A+B}}{E_A + E_B - E_A \times E_B}$, E_{A+B} 表示合并两药物使用的抑制率; E_A 、 E_B 表示两种药物分开使用对细胞的抑制率。当 $q \geq 0.85$ 时, 则两药物联合用药会产生药效相加的效果。

2.5 统计分析

数据用平均数 \pm 标准差 (mean \pm SD) 表示, 利用 GraphPad Prism7 进行统计学分析, 采用 SPSS 17.0 进行方差分析。

3 结果

3.1 红景天苷对肝癌细胞 HepG-2 的生长具有明显的抑制作用

根据研究结果可得, 中、高浓度的红景天苷组, 其 OD 值与空白对照组的差异均达极显著水平 ($P < 0.01$), 低浓度的红景天苷组 (除 50 μM 外) OD 值与空白对照组差异达显著水准 ($P < 0.05$), 并且红景天苷浓度越低, 细胞生长抑制率越低。这恰恰说明剂量是影响 HepG-2 细胞生长的重要因素; 利用 SPSS 软件分析得到红景天苷作用 HepG-2 细胞的 IC50 为 1871.01 μM 。

肝癌细胞 HepG-2 的生长受羟基喜树碱的抑制作用, 同时也受其浓度的影响呈正相关; 利用 SPSS 软件分析得到羟基喜树碱作用 HepG-2 细胞的 IC50 为 10.824 μM 。

3.2 联合应用红景天苷及羟基喜树碱对肝癌细胞 HepG-2 抑制率的影响

红景天苷和羟基喜树碱联用对 HepG-2 肝癌细胞增殖的抑制率除 3 组和 5 组外, 均高于单独使用各药物时的抑制率 (表 1, 图 1)。并且红景天苷 + 羟基喜树碱的浓度

表 1 单独使用红景天苷、羟基喜树碱以及联合使用两药对细胞增殖的抑制率 (%)

浓度组编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
红景天苷组	4.77	8.80	8.88	10.03	17.49	17.67	20.57	31.10	44.51
羟基喜树碱组	13.63	15.52	35.06	39.10	55.06	57.41	59.37	60.19	60.85
联合用药组	15.57	21.31	30.97	45.22	51.73	61.02	61.42	61.44	61.49
q 值	0.88	0.93	0.76	1.00	0.82	0.94	0.91	0.85	0.79

(μM) 为 50+0.25、100+0.5、300+5、500+25、600+50、800+100 时, q 值大于等于 0.85, 说明两者联用可以产生相加效应。

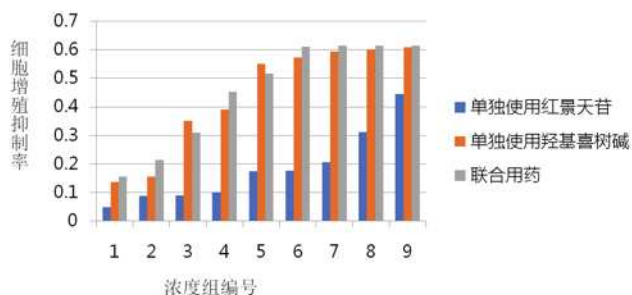


图1 各浓度红景天苷、羟基喜树碱及联合应用对肝癌细胞 HepG-2 细胞增殖抑制率的影响

4 讨论

根据实验数据证实, 红景天苷对肝癌细胞 HepG-2 的增殖具有抑制作用, 联合应用红景天苷与羟基喜树碱在抗肝癌细胞 HepG-2 增殖方面还存在药效相加作用。如今抗肿瘤药物慢慢从细胞毒性作用的药物演变为目标靶向药物。然而, 靶向药物在临床上通常疗效短, 迅速表现出耐药性和明显的毒性副作用。作为首次提高疗效的最重要方法之一, 联合用药成为首选。由于联合药物同时在多种途径运行, 肿瘤细胞不易躲避治疗的影响。中药协同抗肿瘤作用的研究主要侧重于细胞凋亡信号的轨迹、肿瘤多重耐药逆转、入侵和转化。中药中的多种成分可以提高细胞内活性氧的水平, 增加化学药物的效果。在中医指导下对中药抗肿瘤药物进行研发, 抗癌中药能

够减低化疗药物毒副作用, 协同应用, 提高机体免疫力。

综上所述, 红景天苷与羟基喜树碱联合作用肝癌细胞 HepG-2 细胞, 对于单独用药的情况下对肝癌细胞均具有抑制作用, 当两药物联合应用时对肝癌 HepG-2 细胞生长抑制作用显著增强, 证明两者联用能产生相加作用。目前研究提示红景天苷对肝癌治疗有一定的作用, 但是其联合用药效应研究少有报道。因此本项目考虑将红景天苷与传统抗肿瘤药物合理配伍联合使用, 观察药物相互作用的疗效, 在肝癌的临床治疗和相关研究方面具有较大的应用价值。

参考文献:

- [1]Li J, Lin H, Wang X, et al.The molecular mechanism of traditional Chinese medicine resculpture effect on the process of tumor immunoediting[J].World Sci Tch, 2009, 11(5): 747-752.
- [2]Li S,Zhang B,Jiang D,et al.Herb network construction and co-module analysis for uncovering the combination rule of traditional Chinese herbal formulae[J].BMC Bioinformatics, 2010, 11(Suppl11):s6.
- [3]Chiang H M, Chen H C, Wu C S, et al. Rhodiola plants: Chemistry and biological activity[J].J Food Drug Anal, 2015, 23(3): 359-369.
- [4]吕红梅, 张庆江.红景天苷对人肝癌 HepG-2 细胞 MMP-1 的表达及粘附能力的影响[J].中医药学报, 2015, 43(4): 65-66.