

TABLE OF CONTENTS

目 录

The Implementation and Application of CPMG NMR Pulse Sequence for Measuring T_2 Relaxation Time with Clinical MRI Scanner

(液体 T_2 弛豫时间测量 CPMG 磁共振脉冲序列实现与应用)

Z. J. ZHAO, J. X. WANG, B. NIE, C. Z. SHAN, Y. PAN, J. LIU.....73

The Inhibition Effects of Oridonin on Bcap-37 Cells

(冬凌草甲素对 Bcap-37 细胞生长的抑制作用)

Y. YU, Y. L. LIU, X. F. WANG, G. QIAN, W. YOU.....79

期刊信息

期刊中文名称:《生物医学》

期刊英文名称: **Hans Journal of Biomedicine**

期刊缩写: **HJBM**

出刊周期: 季刊

语 种: 中文

出版机构: 汉斯出版社(Hans Publishers, www.hanspub.org)

编辑单位:《生物医学》编辑部

主 编: 李孟森, 北京大学教授

网 址: <http://www.hanspub.org/journal/hjbm>

订阅信息

通过中国教育图书进出口有限公司订购

订阅邮箱: sub@hanspub.org

订阅价格: 180 美元每年

广告服务

联系邮箱: adv@hanspub.org

版权所有: 汉斯出版社(Hans Publishers)

Copyright©2017 Hans Publishers, Inc.

版权声明

文章版权和重复使用权说明

本期刊版权由汉斯出版社所有。

本期刊文章已获得知识共享署名国际组织(Creative Commons Attribution International License)的认证许可。

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

单篇文章版权说明

文章版权由文章作者与汉斯出版社所有。

单篇文章重复使用权说明

注: 著作权者准许任选 CC BY 或 CC BY-NC 作为文章的重复使用权, 请慎重考虑。

权责声明

期刊所刊载的评论、意见、观点等均出自文章作者个人立场, 不代表本出版社的观点或看法。对于文章任何部分及文内引用材料给任何个人、机构、及其财产所带来的任何损失及伤害, 本出版社均不承担任何责任。我们郑重声明, 本出版社的出版业务, 不构成对任何产品商业性能的保证, 也不表示本社业已承认本社出版物中所述内容适用于某特定用途。如有疑问, 请寻找专业人士协助。

The Implementation and Application of CPMG NMR Pulse Sequence for Measuring T_2 Relaxation Time with Clinical MRI Scanner

Zijian Zhao¹, Jinxi Wang^{1*}, Bin Nie², Changzheng Shan¹, Yang Pan¹, Jin Liu¹

¹Department of Radiology, Taishan Medical College, Tai'an Shandong

²Department of Medical Information Engineering, Taishan Medical College, Tai'an Shandong

Email: zjzh@tsmc.edu.cn, *wjx941@163.com

Received: Sep. 18th, 2017; accepted: Oct. 2nd, 2017; published: Oct. 9th, 2017

Abstract

Objective: To implement Carr-Purcell-Meiboom-Gill pulse sequence for T_2 relaxation measuring in i_Open 0.36T clinical MRI scanner. **Methods:** Pascal language is engaged to edit source code. Waveform, phase, amplitude and maintaining time of the excited RF pulse, spacing time of echoes, number of times of data sampling, sampling points, sampling time, and so on are all controlled by sequence parameters. Data logging form was arranged to meet the need of T_2 inversion. Source code of sequence was compiled to executable file and is loaded to RINMR software. Comparison was taken between measuring time of sample of CuSO_4 solution with our pulse sequence and the given standard value. **Results:** Source code of CPMG sequence was done as well as the exe file can run with commercial MRI instrumentation. The measuring T_2 relaxation time of sample was 197.479 ms. **Conclusion:** The T_2 value computed with our data acquired by our CPMG sequence is consistent with the given nominal value. The CPMG sequence adequately satisfies the practical application and the method can be used to implement the pulse sequence.

Keywords

Nuclear Magnetic Resonance, Pulse Sequence, CPMG, Implementation and Application

液体 T_2 弛豫时间测量CPMG磁共振脉冲序列实现与应用

赵子剑¹, 王进喜^{1*}, 聂斌², 单常征¹, 潘洋¹, 刘锦¹

¹泰山医学院放射学院, 山东 泰安

*通讯作者。

²泰山医学院医学信息工程学院, 山东 泰安
Email: zjzh@tsmc.edu.cn, wjx941@163.com

收稿日期: 2017年9月18日; 录用日期: 2017年10月2日; 发布日期: 2017年10月9日

摘要

目的: 探讨在 i_Open 0.36T 医用磁共振成像 (MRI) 系统上开发测试液体 T_2 横向弛豫时间 Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) 序列的可行性与实现方法。**方法:** pascal 语言编辑源程序, 可调参数控制激发脉冲波形, 相位, 幅度, 持续时间等属性, 回波间隔, 数据采集次数, 采样点数, 采样时间等, 编排数据记录方式, 满足反演求 T_2 的需要。编译源程序, 上机调试实验, 测试样品 T_2 , 与标准值比较。**结果:** 完成了 CPMG 序列源代码, 编译的可行性文件能够在商业磁共振成像仪上运行, 测得的 CuSO_4 溶液样品的 T_2 值为 197.479 ms。**结论:** 利用该方法实现的 CPMG 序列所测样品 T_2 值与标称值一致, 满足实际应用需要, 利用该方法实现 CPMG 序列是可行的。

关键词

核磁共振, 脉冲序列, CPMG, 实现应用

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)现象自被发现以来, 应用领域不断扩大, 应用层次不断深化, 已发展成为许多领域举足轻重的技术[1] [2] [3]。物质的弛豫时间是与 NMR 技术应用相关的两个重要属性, CPMG 序列是测量样品本征横向弛豫时间的主要方式。NMR 技术的核心是脉冲序列[4] [5], 近十几年来, 我国科研工作者开始关注序列开发实现技术[6] [7] [8], 但技术核心仍然掌握在发达国家手中。出于利益考虑, 各大厂商的脉冲序列实现方法一直是商业机密。因此, 研究脉冲序列的实现方法对于磁共振商业机器硬件核心的国产化具有很重要的商业价值和实际意义。本文探讨基于 RI 谱仪的 CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill, CPMG) 脉冲序列实现方法, 并给出对样品的测试结果。

2. 方法

2.1. 序列时序

CPMG 脉冲序列的时序示意图如图 1 所示。X 方向 90° 射频脉冲后间隔 $TE/2$ 时间施加 Y 方向 180° 翻转脉冲, 适时开启采样命令, 对信号进行采样, TE 时刻出现回波峰值, $-Y$ 方向施加 180° 脉冲, 采集回波, $\pm Y$ 方向依次连续施加多个 180° 脉冲, 在相应时间窗口依次对相应回波采样, 每隔 TR 时间重复上述过程, 循环 NS 次(NS 为叠加次数, 即单一的序列执行次数), 原始数据(RAW data)依次存入序列预先开辟的内存空间(k 空间), 完成回波数据的采集。数据可以用命令行方式以约定格式存储到硬盘, 方便后续的调用和处理[9] [10]。

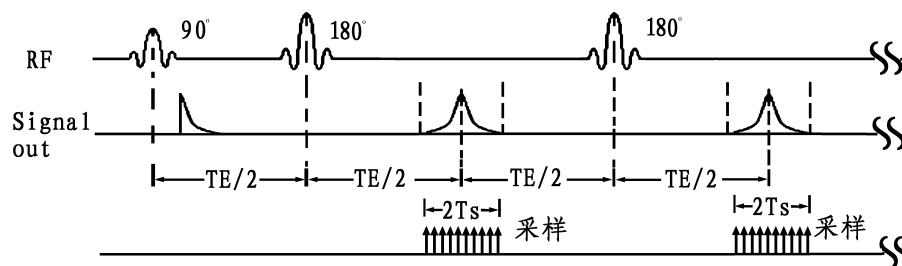


Figure 1. Timing diagram of CPMG pulse sequence

图 1. CPMG 序列时序示意图

2.2. 编码实现

我们所用设备为万东医疗公司生产的 i_Open 0.36T 永磁磁共振, 谱仪组件来自于英国的 RI 公司, 支持 pascal 语言编码脉冲序列, pascal 语言虽然不够直观, 但是能够控制序列中的几乎所有元素, 可以实现复杂精微的功能。利用 RI 提供的底层接口协议层, 编程语言用 pascal, 按照编程规范[9]实现各事件元素。序列首先开辟大小为 $SI \times C25$ (SI 为每个回波的采样点数, $C25$ 为序列运行一次的回波数)个 32 字节 (每个数据点是一个复数, 实部虚部都是占 16 个字节的实数)的内存空间用于存放采集到的原始数据。如果采集次数 NS 大于 1, 则第二次以后采集的数据与原有数据进行累加, 由于噪声的随机性, 可使信号的 SNR 提高到 $NS^{1/2}$ 倍。序列中的各变量因素, 主要包括 90° 激发脉冲持续时间、幅度、相位; 180° 激发脉冲持续时间、幅度、相位; 90° 和 180° 脉冲时间间隔; 主频率控制; 偏移量控制, 采样间隔, 采样点数等均能通过可调参数实时修改得到反馈结果。

2.3. 序列编译与测试

将序列源代码与 RI 提供的库文件一同编译连接, 得到可执行文件, 加载到磁共振调试软件, 通过互动界面调试, 通过后再测试样品 T_2 。根据实际需要初步确定实验参数, 然后根据实验信号调整各个参数, T_2 反演是用我们开发的软件实现, 对于测试用的某浓度 $CuSO_4$ 水溶液样品(标称值 $T_2 = 200$ ms)最后确定一组比较理想的参数如下: 激发脉冲为的高斯脉冲, 脉冲宽度 3 ms, $TR = 3000$ ms, $TE = 32$ ms, $DW = 28$ μ s, $SI = 512$, $NS = 2$, $C25 = 16$ 。利用反演软件对采集数据根据反演算法求样品 T_2 , 与标准值对照验证。

3. 结果

3.1. 序列源文件

序列源文件是本系统最重要的部分, 也是系统最重要的体现, 在该模块中, 使用者可以进行底层控制和参数内容调整, 同时也可以对一些问题进行逻辑分析。

3.2. 可执行文件

设计的脉冲序列编译后, 形成一个可执行文件, 然后由谱仪软件 RINMR 调用, 加载到系统, 采用图形界面的命令行方式, 实时向谱仪控制软件发送指令, 改变脉冲序列的参数, 实现激发和数据采集功能。

3.3. 公式

利用选定参数的理论分析结果和实验采集的数据及其反演结果如图 2~4 所示。

图 2 中横坐标的数字 1, 2, 3, ……处为回波峰值的所在时间点。

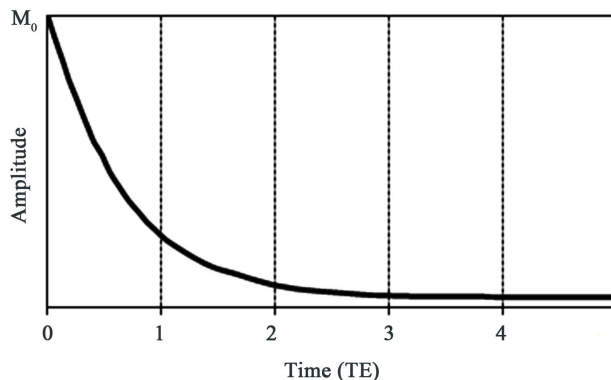


Figure 2. Theoretic result: The amplitude of the decaying spin echoes yield an exponentially decaying curve with time constant T_2

图 2. 理论结果: 各回波峰值按 T_2 参数成指数衰减的曲线

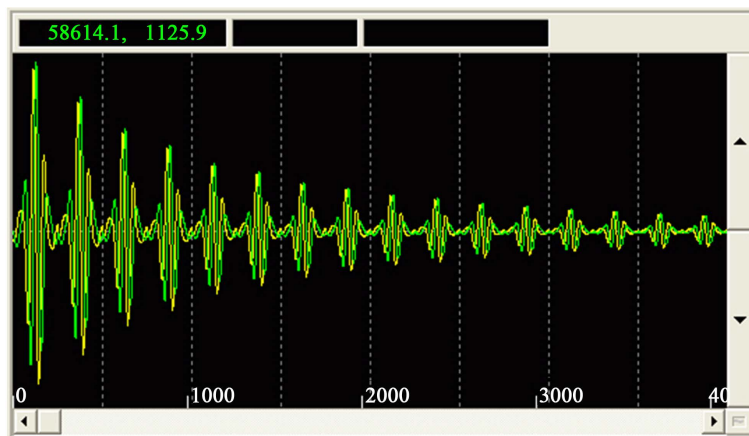


Figure 3. Experimental result: The amplitude of the decaying spin echoes yield an exponentially decaying curve with time constant T_2

图 3. 实验结果: 各回波峰值按 T_2 参数成指数衰减的曲线

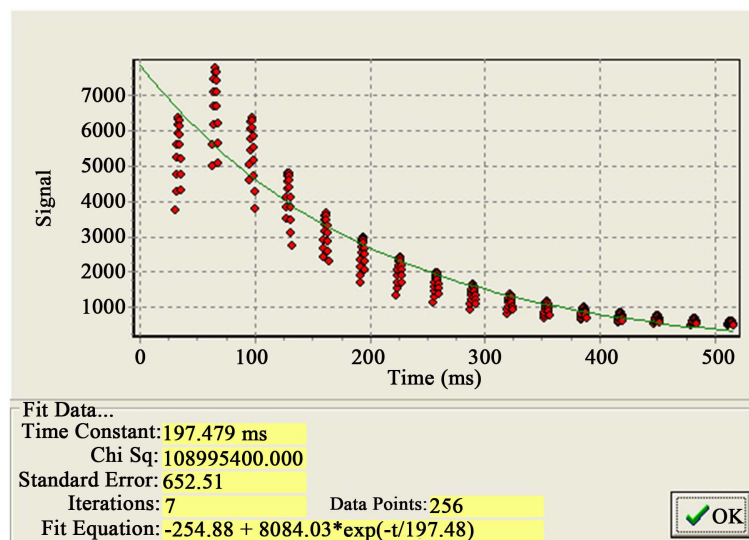


Figure 4. Computed T_2 result: 197.479 ms

图 4. T_2 反演结果: 197.479 ms

4. 讨论

尽管 FID 实验对于设定磁共振仪器的基本参数非常有用,但也有许多缺点。主要是通过 FID 获取的数据波形不仅受样品本身,还与样品范围内的磁场均匀度有关。样品的本征弛豫时间数据是区分不同组织,进行图像加权技术的基础,众多科研工作者需要研究样品本身属性对核磁共振信号的影响,因此去除磁场不均匀效应对信号衰减的贡献就非常有用[11],而 CPMG 序列正可以实现这一目的。脉冲序列作为磁共振成像技术的核心,其各种序列参数(RF 脉冲形状、幅度、相位循环;梯度形状、幅度;相位编码步;采样间隔;叠加次数;空扫次数;TR;TE;接收带宽)的设置,均可影响到信号。无论对技术人员还是诊断医生,深入理解序列参数与信号之间的关系,均具有重要的实际意义。各 MRI 设备生产厂家,出于技术保护等原因,生产的 MRI 商品只有少数参数能在极其有限的范围内改变,意义也在种种界面的包装下变得模糊不清。我们利用 Tubro Pascal 语言,通过变量控制的方式,设计实现各种参数可调的 CPMG 脉冲序列,以可执行文件形式由谱仪软件调用,加载到系统,采用图形界面的命令行方式,实时向谱仪控制软件发送指令,改变脉冲序列的参数,实现丰富而灵活的控制,对于理解 NMR 原理和技术实现提供了良好的桥梁。

序列中的激发脉冲形状可以在文本文件中定义,可以根据需要使用任意波形,幅度和相位分别由变量控制,可以在序列调试过程中根据反馈信号实时修改,完全由序列调试人员控制。

我国生产磁共振扫描机的企业大多采用组装的方式,核心部件谱仪大多依赖进口,序列开发的研究近年来进步较大,有系列研究发表[6] [7] [8],但与国际先进水平尚有较大差距。

项目组的最终成果是能够应用于商业机器的脉冲序列,包括文本,源程序,编译的可执行文件,特色是丰富了原机器自带序列参数控制极其有限的弱点,大大增加了可实时调整的参数和因素。通过实施该项目,我们学到了很多课堂上无法学到的东西,增加了实践动手能力,培养了团结协作的团队精神,对软件产品开发的方方面面有了具体而深刻的体会,必将对将来的工作就业产生积极的影响。

资助信息

国家级大学生创新创业训练计划项目(201510439162)。

参考文献 (References)

- [1] 谢狄霖, 陈忠. 脑活动功能磁共振成像研究进展[J]. 中国医学影像技术, 2004, 20(11): 1657-1662.
- [2] Edelman, R.E., Siewert, B., Darby, D.G., *et al.* (1994) Qualitative Mapping of Cerebral Blood Flow and Functional Localization with Echo-Planar MR Imaging and Signal Targeting with Alternating Radio Frequency. *Radiology*, **192**, 513-520. <https://doi.org/10.1148/radiology.192.2.8029425>
- [3] Simonetti, O.P., Kim, R.J., Fieno, D.S., *et al.* (2001) An Improved MR Imaging Technique for the Visualization of Myocardial Infarction. *Radiology*, **218**, 215-223. <https://doi.org/10.1148/radiology.218.1.r01ja50215>
- [4] 韩鸿宾. 掌握磁共振成像序列设计, 合理科学运用 MR 技术解决临床与科研工作中的实际问题[J]. 中国医学影像技术, 2004, 20(7): 979-980.
- [5] Haacke, E.M., Brown, R.W., Thompson, M.R., 等. 核磁共振成像物理原理和脉冲序列设计[M]. 曾晓庄, 包尚联, 译. 北京: 中国医药科技出版社, 2007.
- [6] 韩鸿宾. 临床磁共振成像序列设计与应用[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2007.
- [7] 黄敏, 林颖, 陈军波. 压缩感知磁共振成像脉冲序列的设计与实现[J]. 生物医学工程研究, 2015, 34(2): 67-73.
- [8] 黄敏, 廖琦, 郭晶磊. 快速自旋回波脉冲序列的设计与实现[J]. 生物医学工程研究, 2012, 31(1): 11-14.
- [9] Resonance Instruments Ltd. (2004) DRX Programming User Manual [EB]. Whitney Oxford Shire, United Kingdom, 7-38.

- [10] 熊国欣, 李立本, 编. 核磁共振成像原理[M]. 北京: 科学出版社 2007.
- [11] Giri, S., Chung, Y., Merchant, A., *et al.* (2009) T2 Quantification for Improved Detection of Myocardial Edema. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance*, **11**, 56-56. <https://doi.org/10.1186/1532-429X-11-56>

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2161-8976, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>
期刊邮箱: hjbm@hanspub.org

The Inhibition Effects of Oridonin on Bcap-37 Cells

Yang Yu¹, Yanlong Liu², Xiaofang Wang², Guo Qian³, Wei You¹

¹Department of Breast Surgery, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou Henan

²Wenzhou Medical University, Wenzhou Zhejiang

³Ningbo Fourth Hospital, Ningbo Zhejiang

Email: 510790135@qq.com

Received: Sep. 29th, 2017; accepted: Oct. 13th, 2017; published: Oct. 19th, 2017

Abstract

To investigate the effects of oridonin on Bcap-37 cells, MTT was used to measure the inhibition effects of oridonin on Bcap-37 cells and RT-PCR was used to measure the Bcl-2 and Bax mRNA expression. Our results showed the inhibition effects of oridonin on Bcap-37 cells by time- and dose-dependent manner. Bcl-2 mRNA expression decreased and Bax mRNA expression increased by oridonin treatment for 24 hours ($p < 0.05$).

Keywords

Oridonin, Bcap-37 Cells

冬凌草甲素对Bcap-37细胞生长的抑制作用

于洋¹, 刘彦隆², 王小芳², 钱国³, 尤伟¹

¹河南省人民医院乳腺外科, 河南 郑州

²温州医科大学, 浙江 温州

³宁波市第四医院, 浙江 宁波

Email: 510790135@qq.com

收稿日期: 2017年9月29日; 录用日期: 2017年10月13日; 发布日期: 2017年10月19日

摘要

研究冬凌草甲素对Bcap-37细胞生长的抑制作用。MTT法检测冬凌草甲素对Bcap-37细胞生长的抑制作用。

用, RT-PCR检测Bcl-2和Bax mRNA的表达。研究表明冬凌草甲素对Bcap-37细胞生长具有显著的抑制作用, 且呈时间和剂量依赖性。冬凌草甲素作用Bcap-37细胞24 h, Bcl-2的mRNA表达显著降低, Bax的mRNA表达显著增加($p < 0.05$)。

关键词

冬凌草甲素, Bcap-37细胞

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

冬凌草甲素(oridonin, ORI)是从冬凌草中提取的一类四环二萜类化合物, 具有抗病毒、抗炎、抗肿瘤等多种药理活性[1]。近年来人们对其研究的重点集中在其抗肿瘤活性上, 发现其对多种实体瘤如肝癌、食管癌、乳腺癌、前列腺癌等有效果。目前, 冬凌草甲素在抗乳腺癌方面的作用尤为显著。冬凌草甲素可以诱导人乳腺癌 MDA-MB-231 和 MCF-7 细胞发生凋亡[2] [3]。本文将探讨冬凌草甲素作为一种潜在的抗乳腺癌制剂, 对乳腺癌细胞 Bcap37 的作用。

2. 材料与方法

2.1. 细胞与试剂

乳腺癌细胞株 Bcap-37 购自中科院上海细胞生物研究所。冬凌草甲素购自成都普思生物科技有限公司。RPMI1640 购于 Gibco 公司。小牛血清购自杭州四季青生物工程材料研究所。

2.2. 方法

2.2.1. 细胞培养

细胞用含 10% 小牛血清的 RPMI1640 培养液, 37°C、5% CO₂ 培养箱中培养, 取对数生长期细胞用于实验。

2.2.2. MTT 法检测细胞增殖活力

将生长状态良好的 Bcap-37 细胞以 1.0×10^4 个/孔的密度传代培养于 96 孔板中, 待细胞贴壁后, 每板按照分组加入含不同浓度冬凌草甲素的完全培养液, 使其终浓度为 0、10、20、40 μM , 每组 5 个复孔, 并设置调零孔, 继续分别培养 12、24 和 48 小时。并于培养后 12、24、48 h 时, 取出培养板, 每孔加入 20 μL 浓度为 5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 MTT 溶液, 培养箱中继续孵育 4 h, 弃去培养液, 每孔加入 100 μL DMSO, 震荡溶解沉积在孔底的蓝紫色结晶, 并在 10 min 内于 570 nm 波长处检测各孔吸光度值(A570), 并计算细胞活力: 细胞活力(%) = (加药组 A570 - 空白组 A570)/(对照组 A570 - 空白组 A570) \times 100%。实验独立重复 3 次。

2.2.3. 实时 PCR 检测 Bcl-2 和 Bax 的 mRNA 水平

用 Trizol 法提取总 RNA, A260/A280 比值为 1.8~2.0, 经逆转录反应合成 cDNA。然后利用 SYBR 荧光实时 PCR 法检测 Bcl-2 和 Bax mRNA 相对表达量。实验所用引物均由北京六合华大基因科技股份有限

公司合成。以 β -actin 为内参照基因, β -actin 引物序列: 上游, 5'-TGGAATCCTGTGGCATCCATGAAAC-3'; 下游, 5'-TAAAACGCAGCTCAGTAACAGTCCG-3'。Bcl-2 引物序列: 上游, 5'-ATCGCCCTGTGGATGACTGAG-3'; 下游, 5'-CAGCCAGGAGAAATCAAACAGAGG -3'。Bax 引物序列: 上游, 5'-GGACGAACTGGACAGTAACATGG-3'; 下游, 5'-GCAAAGTAGAAAAGGGCGACAAC-3'。反应体系为 10 μ l, 包含 Power SYBR Green PCR Master Mix 5 μ l, 上游引物 0.2 μ l, 下游引物 0.2 μ l, cDNA 模板 0.5 μ l, ddH₂O 4.1 μ l。反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 58 $^{\circ}$ C 退火 45 s, 40 个循环。每个样本设 3 个复孔, 同时设无模板阴性对照。反应结束后, 各个样本的 Ct 值分别取平均数。以对照组的靶基因表达量为 1, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 即为实验组相对对照组靶基因表达的倍数。

2.3. 统计学处理

采用 SPSS13.0 统计软件处理实验数据, 数据均以 $\bar{x} + s$ 表示, 组间均值比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 认为统计学有显著差异。

3. 结果

3.1. 冬凌草甲素对乳腺癌 Bcap37 细胞生长的抑制作用呈剂量依赖性

观察 10, 20, 40 μ M 冬凌草甲素对乳腺癌细胞株 Bcap37 细胞存活的作用。取对数期生长的乳腺癌 MCF-7 细胞消化后加入 96 孔板, 调节细胞密度为 10,000 个每孔, 5%CO₂, 37 $^{\circ}$ C 孵育过夜。移除培养基, 每孔加入用培养基配制的浓度梯度药物 100 μ l, 每个药物浓度设置 5 复孔。5%CO₂, 37 $^{\circ}$ C 孵育 24 小时, 倒置显微镜下观察。避光条件下, 每孔加入 20 μ l MTT 溶液, 5%CO₂, 37 $^{\circ}$ C 孵育 4 小时后移除含 MTT 的培养基。每孔加入 100 μ l 二甲基亚砜, 使结晶物充分溶解。在酶联免疫检测仪, 在 570 nm 波长处测量各孔吸光值, 计算细胞增殖活力。结果显示, 冬凌草甲素作用 24 小时可明显抑制 Bcap37 人乳腺癌细胞株的增殖, 且呈现明显的剂量依赖性(图 1)。

3.2. 冬凌草甲素对乳腺癌细胞株 Bcap37 细胞的抑制作用呈时间依赖性

观察 40 μ M 冬凌草甲素对乳腺癌细胞株 Bcap37 细胞的作用。取对数期生长的乳腺癌 MCF-7 细胞消化后加入 96 孔板, 调节细胞密度为 10,000 个每孔, 5%CO₂, 37 $^{\circ}$ C 孵育过夜。移除培养基, 每孔加入用培养基配制的浓度梯度药物 100 μ l, 每个药物浓度设置 5 复孔。5%CO₂, 37 $^{\circ}$ C 分别孵育 12, 24 和 48 小时,

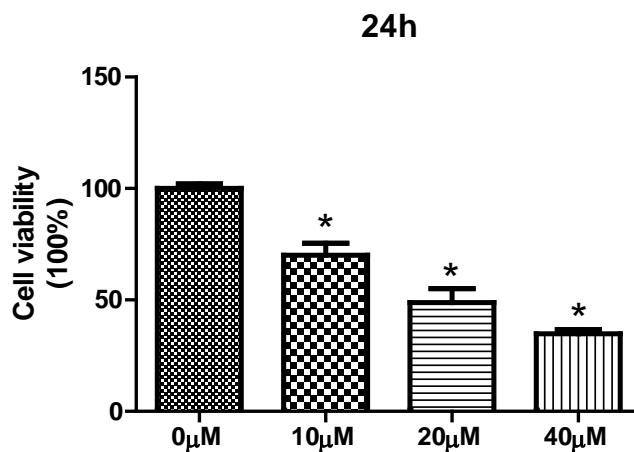


Figure 1. The inhibition of oridonin on Bcap37 cells shows dose-dependence
图 1. 冬凌草甲素对乳腺癌细胞 Bcap37 生长的抑制作用呈剂量依赖性(* $P < 0.05$)

倒置显微镜下观察。避光条件下,每孔加入 20 μl MTT 溶液,5% CO_2 ,37 $^\circ\text{C}$ 孵育 4 小时后移除含 MTT 的培养基。每孔加入 100 μl 二甲基亚砜,使结晶物充分溶解。在酶联免疫检测仪,在 570 nm 波长处测量各孔吸光值,计算细胞活力。结果显示,作用 12, 24 和 48 小时后,冬凌草甲素可明显抑制 Bcap37 人乳腺癌细胞株的增殖,且呈现明显的时间依赖性(图 2)。

3.3. 冬凌草甲素(Oridonin)对 Bcap37 细胞 Bcl-2 mRNA 的抑制作用

取对数生长期的乳腺癌细胞,消化并接种于无菌培养瓶中。以不同浓度的冬凌草甲素处理 24 小时后,收集细胞,用 ABI PRISM[®] 6100 Nucleic Acid PrepStation 试剂盒提取细胞总 RNA。总 RNA 的质量和完整性用分光光度计在 260 nm/280 nm 下分析。等量的 RNA 用 SuperScript[™] III First-Strand Synthesis System 在 Gene Amp[®] PCR System 9700 反转录为 cDNA。扩增反应在 PCR 扩增仪上进行。用 β -actin 作为内参定量。检测 Bcl-2 mRNA 的表达含量。本实验研究发现冬凌草甲素作用于 Bcap37 细胞 24 小时,随药物浓度的升高, Bcl-2 mRNA 的表达逐渐下降(图 3)。

3.4. 冬凌草甲素(Oridonin)对 Bcap37 细胞 Bax mRNA 的调节作用

取对数生长期的乳腺癌细胞,消化并接种于无菌培养瓶中。以不同浓度的冬凌草甲素处理 24 小时后,收集细胞,检测 Bax mRNA 的表达含量。本实验研究发现冬凌草甲素作用于 Bcap37 细胞 24 小时,随药物浓度的升高, Bax mRNA 的表达上调。由此可推断冬凌草甲素对人乳腺癌 Bcap37 细胞的抑制作用可能是通过抑制 Bcl-2 的表达和增强 Bax 的表达诱导细胞凋亡(图 4)。

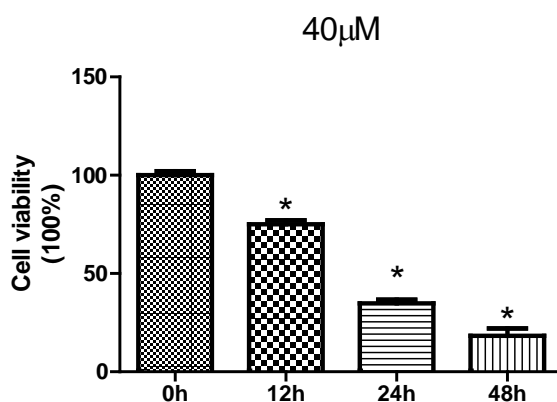


Figure 2. The inhibition of oridonin on Bcap37 cells shows time-dependence
图 2. 冬凌草甲素对乳腺癌细胞 Bcap37 生长的抑制作用呈时间依赖性(* $P < 0.05$)

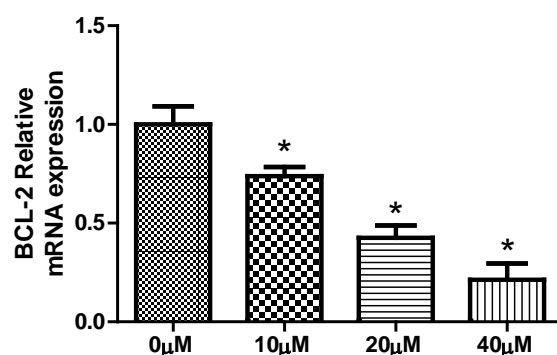


Figure 3. The effects of oridonin on Bcl-2 mRNA expression of Bcap37 cells
图 3. 冬凌草甲素对 Bcap37 细胞 Bcl-2 mRNA 的调节作用(* $P < 0.05$)

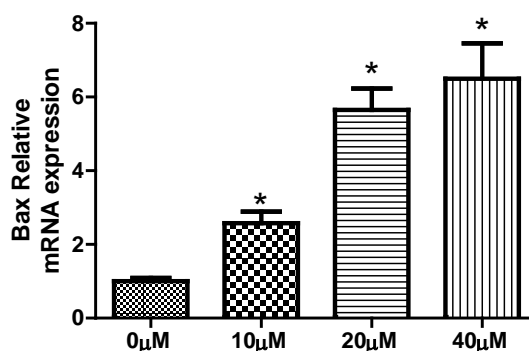


Figure 4. The effects of oridonin on Bax mRNA expression of Bcap37 cells

图 4. 冬凌草甲素对 Bcap37 细胞 Bax mRNA 的调节作用(* $P < 0.05$)

4. 讨论

本研究发现冬凌草甲素对 Bcap-37 细胞生长具有显著的抑制作用,且呈时间和剂量依赖性。冬凌草甲素作用 Bcap-37 细胞 24 h, Bcl-2 的 mRNA 表达显著降低, Bax 的 mRNA 表达显著增加。由此推断冬凌草甲素对人乳腺癌 Bcap37 细胞生长的抑制作用可能是通过抑制 Bcl-2 的表达和增强 Bax 的表达诱导细胞凋亡。

冬凌草甲素在抗乳腺癌方面的作用已有大量报道。崔桥等发现,冬凌草甲素诱导人乳腺癌 MCF-7 细胞发生凋亡[4]。朱仁书等发现,冬凌草甲素可显著抑制 MCF-7 细胞的生长及诱导细胞发生凋亡,并呈现出一定的剂量-效应与时间-效应关系[2]。江永青等通过体外实验证实冬凌草甲素可通过激活 Caspase 途径,下调抑制凋亡基因 Bcl-x1 的表达,同时上调促进凋亡基因 Bid 及 caspase3 的表达,进而诱导乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的凋亡[3]。彭延延等通过体外实验表明冬凌草甲素通过下调 MMP-2 和 MMP-9 明显抑制乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的侵袭[5]。汪茗等研究表明冬凌草甲素可通过调控 PI3K/Akt 通路,抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中 PI3K 的活性,使下游 p-Akt、p-GSK3 β 蛋白表达降低,进而诱发细胞凋亡[6]。岳静发现冬凌草甲素对乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖抑制作用呈时间依赖性、浓度依赖性;冬凌草甲素阻滞 MCF-7 细胞于 G2/M 期,且可诱导其凋亡;冬凌草甲素可下调 wnt4、GSK3 β -catenin 的表达[7]。李秀才发现冬凌草成分冬凌草素乙和冬凌草素甲诱导乳腺癌 MCF-7 细胞停滞于 S/G2/M 期,减慢 G1/S 期进程[8]。李瑞芳发现在一定的浓度范围内,冬凌草甲素可下调 K562 细胞的端粒酶活性。同时细胞周期各时相分布发生变化,G0/G1 期或 G2/M 期细胞增多,S 期细胞减少[9]。

余越美等研究发现冬凌草甲素可以诱导乳腺癌细胞 Bcap-37 发生凋亡,其可能与 Survivin 和 GADD34 的调控相关[10]。杜海爽等研究发现冬凌草甲素可抑制乳腺癌 Bcap-37 细胞的增殖,该作用可能与 p21mRNA 表达上调及 cdc、cyclin B1 mRNA 表达下调有关[11]。本研究也发现冬凌草甲素对 Bcap-37 细胞生长具有显著的抑制作用,且呈时间和剂量依赖性。同时我们的研究结果也表明冬凌草甲素对人乳腺癌 Bcap-37 细胞生长的抑制作用可能是通过抑制 Bcl-2 的表达和增强 Bax 的表达诱导细胞凋亡。

基金项目

浙江省自然科学基金项目(LQ13H280002),河南省基础与前沿技术研究计划项目(142300410388, 132300410048),宁波市自然科学基金(2015A610234)。

参考文献 (References)

- [1] 李钦,冯卫生.冬凌草化学成分、药理作用及开发饮酒进展[J].河南中医学院学报,2003,18(6):31-33.

- [2] 朱仁书, 李希科. 冬凌草甲素对 MCF-7 细胞的生长抑制作用及诱导凋亡作用的实验研究[J]. 医药论坛杂志, 2009, 30(16): 3-5.
- [3] 江永青, 熊向阳, 余乐涵. 冬凌草甲素通过激活 caspase 途径诱导人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞凋亡[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(6): 1493-1495.
- [4] 崔桥. 冬凌草甲素诱导人肿瘤细胞自噬与凋亡关系的研究[D]: [博士学位论文]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2007.
- [5] 彭延延, 施秋萍, 杨大朋, 等. 冬凌草甲素对人乳腺癌细胞侵袭的抑制作用及机制[J]. 苏州大学学报(医学版), 2012, 32(3): 318-321.
- [6] 汪茗, 章尧, 谢向荣, 等. 冬凌草甲素通过 PI3K/Akt 通路诱导 MDA-MB-231 细胞的凋亡[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2013, 18(2): 161-165.
- [7] 岳静, 陈如意, 洪娇, 等. 基于 Wnt 信号通路抑制的冬凌草甲素抗乳腺癌研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2014, 38(11): 1315-1321
- [8] 李秀才. 乳腺癌的中医中药治疗[J]. 中医临床研究, 2014(23): 147-148.
- [9] 李瑞芳, 王庆瑞. 冬凌草甲素对 K562 细胞端粒酶活性调控及细胞周期影响[J]. 药学学报, 2004, 39(11): 865-868.
- [10] 余越美, 严巧灵, 章康健, 等. 冬凌草甲素诱导乳腺癌 Bcap37 细胞凋亡的探索[J]. 浙江理工大学学报, 2013, 30(3): 377-382.
- [11] 杜海爽, 郭玲玲, 顾振纶, 等. 冬凌草甲素对人乳腺癌 Bcap-37 细胞的增殖抑制作用及其机制[J]. 苏州大学学报(医学版), 2010, 30(3): 473-476.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2161-8976, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>
期刊邮箱: hjbm@hanspub.org