基础研究 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000880

脉冲高强度聚焦超声联合微泡介导兔肝 VX2 移植瘤细胞凋亡的研究

史　琳，刘春梅，李崇雁，王　琦，徐　杰，李发琪
（重庆医科大学生物医学工程学院、超声医学工程重庆市重点实验室、省部共建超声医学工程国家重点实验室，重庆　400016）

【摘　要】**目的**：探讨脉冲高强度聚焦超声（pulsed high intensity focused ultrasound，PHIFU）联合微泡（microbubbles，MBs）以非热效应导致兔肝 VX2 移植瘤细胞凋亡。**方法**：建立兔肝 VX2 移植瘤模型，将 36 只荷瘤兔随机分为对照组、PHIFU 辐照组和 PHIFU+MBs 辐照组。PHIFU 辐照参数为频率 0.87 MHz、空间峰值声强（spatial peak intensity，ISP）5900 W/cm²、脉冲重复频率 100 Hz、占空比 15%、辐照时间 90 s，MBs 采用 0.1 mL/kg SonoVue。HIFU 辐照后 1 d 处死动物，取部分肿瘤组织采用 TUNEL 法检测细胞凋亡，免疫组化染色检测 PCNA 抗原，剩余肿瘤组织进行 2,3,5-氯化三苯基四氮唑（2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride，TTC）染色观察。**结果**：对照组、PHIFU 组和 PHIFU+MBs 组经 TTC 染色后，肉眼可见肿瘤组织被均匀红染，表明各组均无肉眼可见的凝固性坏死形成。TUNEL 法检测发现，对照组发现少量阳性染色的肿瘤细胞，PHIFU 组和 PHIFU+MBs 组见较多细胞核棕褐色染色的阳性细胞。PCNA 检测结果表明，对照组靶区见大量着色部位在肿瘤细胞核的阳性细胞，而 PHIFU 组和 PHIFU+UCA 组阳性染色细胞少。PHIFU 辐照组和 PHIFU+UCA 辐照组凋亡指数（apoptosis index，AI）比对照组高，增殖指数（proliferating index，PI）比对照组低（P=0.000）；PHIFU+MBs 辐照组 AI 最高，PI 最低（P=0.000）。**结论**：PHIFU 联合 MBs 可促进兔肝 VX2 移植瘤细胞凋亡。

【关键词】脉冲高强度聚焦超声；微泡；非热效应；凋亡
【中图分类号】R454.3　　【文献标志码】A　　【收稿日期】2015-07-31

Effect of pulsed high intensity focused ultrasound combined with microbubbles agent on apoptosis of VX2 tumors implanted in rabbits' livers

Shi Lin, Liu Chunmei, Li Chongyan, Wang Qi, Xu Jie, Li Faqi
(*Department of Biomedical Engineering, Chongqing Medical University*;
Chongqing Key Laboratory of Ultrsound Medical Engineering;
State Key Laboratory of Ultrsound Engineering in Medicine Co-founded by Chongqing and MOST)

【Abstract】***Objective***: To investigate the effect of pulsed high intensity focused ultrasound(PHIFU) combined with microbubbles(MBs) on apoptosis of VX2 tumors implanted in rabbits' livers thnough non thermal conductivity. ***Methods***: Liver VX2 tumor models were established in 36 rabbits, which were divided randomly into three groups: control group, PHIFU groups and PHIFU+MBs groups. PHIFU parameters used were as follows: ultrasound frequency 0.87 MHz, ISP(spatial peak intensity) 5 900 W/cm², pulse repetition frequency 100 Hz, duty cycle 15%, and expose time 90 s. The rabbits were sacrificed one day after ultrasound exposure and the tumor tissues were taken. Apoptosis in situ was detected by terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated deoxyuridine triphosphate nick end labeling (TUNEL); proliferating cell nuclear antigen expression(PCNA) was examined by immunohistochemical staining. The remaining tumor tissues were sent for 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride(TTC) staining. ***Results***: After HIFU exposure, liver tumors of all the three groups were uniformly stained red by TTC staining, suggesting that none of the animals had coagulated necrotic changes. TUNEL method detected a few positive staining tumor cells in control group; but in PHIFU group and PHIFU+MBs group, there were a lot of brow-colored positive apoptotic cells. PCNA detection showed more brow-colored positive cells in control group than in PHIFU group and PHIFU+MBs group. Apoptosis index(AI) of the tumor cells in the PHIFU group and PHIFU+MBs group was higher than that in the control group, while proliferating index(PI) of the tumor cells in PHIFU group and PHIFU+UCA group was lower than that in control group(P=0.000). AI of the tumor cells was the highest and PI was the lowest in PHIFU+UCA group(P=0.000). ***Conclusion***: The non-thermal effects of PHIFU combined with MBs can promote apoptosis of VX2 tumors implanted in rabbits' livers.

【Key words】pulsed-high intensity focused ultrasound; ultrasound contrast agent; nonthermal effects; apoptosis

作者介绍：史　琳，Email：slytsi@sina.com，
研究方向：生物医学工程。
通信作者：李发琪，Email：ifaqi@163.com。
基金项目：973 计划资助项目（编号：2011CB707900、2012CB722402）；
国家自然科学基金资助项目（编号：11274404）。
优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20160314.1725.006.html
（2016-03-14）

高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound,HIFU)作为一种非侵入性肿瘤治疗技术,已广泛用于多种良恶性实体肿瘤的治疗,并展示出很好的安全性和有效性。HIFU 治疗机制包括热效应和以空化效应为主的非热效应，但目前 HIFU 治疗主要还是通过热效应使肿瘤凝固性坏死来达到治疗目的。相较于凝固性坏死,细胞凋亡的过程不会发生细胞膜破裂,不产生炎症反应等病理变化。因而通过 HIFU 诱导肿瘤细胞凋亡来治疗肿瘤也许是一种不同于使肿瘤凝固性坏死的治疗方式。近年来应用超声非热效应促进肿瘤细胞凋亡的声动力疗法受到越来越多的关注[1-2],Vykhodtseva 等[3]运用聚焦超声联合微泡造影剂对兔脑进行损伤,通过对损伤区域的检测发现,细胞凋亡的数量是坏死数量的 6 倍,产生凋亡的可能机制是超声空化效应损伤脑血管而造成局部缺氧所致。通过对 HIFU 辐照参数的调节,能控制 HIFU 的作用机制,形成不同的组织损伤。有研究表明低占空比、高声强的超声有利于空化效应的发生[4]。本课题组前期实验证实使用工作频率 0.87 MHz、脉冲重复频率 100 Hz、占空比 15%、空间峰值声强(ISP)5 900 W/cm² 的脉冲高强度聚焦超声(pulsed high intensity focused ultrasound,PHIFU)对组织进行辐照,可产生有别于凝固性坏死的非热效应损伤[5]。而超声微泡造影剂(microbubbles,MBs)的加入则能够进一步增强 HIFU 的非热效应[6]。本研究拟在前期实验的基础上,使用相同的 PHIFU辐照参数并联合 MBs 对兔肝 VX2 移植瘤进行辐照,探讨 PHIFU 联合 MBs 以非热效应对活体肿瘤细胞增殖和凋亡的影响。

1 材料与方法

1.1 实验仪器

JC 型聚焦超声肿瘤治疗系统(重庆海扶医疗科技股份有限公司生产)。PHIFU 辐照参数:超声频率 0.87 MHz、焦距 150 mm、空间峰值声强(ISP)5 900 W/cm²、脉冲重复频率 100 Hz、占空比 15%。

1.2 实验试剂

VX2 鳞癌细胞株(日本京都 Funabashi Farm 公司);MBs 使用 SonoVue(声诺维)(意大利 Bracco 公司),使用前注入 5 mL 生理盐水后震荡混匀备用;细胞凋亡原位检测试剂(瑞士 Roche 公司);免疫组化试剂盒(SP-9000,北京中杉试剂公司);鼠抗兔 PCNA 单克隆抗体(武汉博士德生物工程有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 肿瘤模型的建立 新西兰大白兔 36 只,3~4 月龄,雌雄不限,体质量(2.00 ± 0.16) kg,由重庆医科大学实验动物中心提供。术前禁食 24 h,实验当天用 10%硫化钠脱去兔右腹部毛发,肌注速眠新 0.1 mL/kg(中国长春解放军农牧大学兽医研究所)麻醉。然后将兔仰卧固定,常规消毒铺巾,取剑突下正中切口,长约 5 cm,暴露肝右叶,以眼科镊在肝右叶轻刺一深约 1~2 cm 切口,将从接种有 VX2 肿瘤的种兔体内取出的 1 mm³ 大小的肿瘤组织块植入切口内,局部压迫止血,然后顺序缝合腹壁各层组织,皮肤切口消毒,肌注苏醒灵 1 mL,待兔苏醒后放回动物中心,饲养 2~3 周左右即可进行实验。

1.3.2 PHIFU 辐照 36 只荷瘤兔随机分为 3 组,分别为对照组、PHIFU 辐照组和 PHIFU+MBs 辐照组,每组各 12 只。实验前 1 d 用 10%硫化钠对腹部脱毛,实验前 10 min 按 1 mL/kg剂量经静脉注射 3%戊巴比妥钠溶液进行麻醉,将兔俯卧位固定在 JC 型聚焦超声肿瘤治疗系统的治疗床上,兔腹部与脱气水接触,在超声监控下将 HIFU 焦点定位于兔肝 VX2 移植瘤内。PHIFU 辐照组:采用空间峰值声强(ISP)5 900 W/cm²、脉冲重复频率 100 Hz、占空比 15%的 PHIFU 辐照兔肝 VX2 移植瘤 90 s;PHIFU+MBs 辐照组:经兔耳缘静脉快速推注0.1 mL/kg SonoVue,然后推注 1 mL 生理盐水冲洗管道,15 s后进行PHIFU 辐照,辐照参数同 PHIFU 组;对照组:关闭功率源,假照 90 s。

1.3.3 免疫组化检测 PHIFU 辐照后 1d 过量麻醉处死实验动物,剖腹暴露肝脏,取出瘤块,将部分瘤块置于 4%多聚甲醛中固定,石蜡包埋,切片,应用末端脱氧核苷酸转移酶介导脱氧核苷酸缺口末端标记技术(in situ deoxynucleotityl transferase-mediated dUTP nick end labeling,TUNEL)检测细胞凋亡和用免疫组化法检测细胞增殖核抗原(proliferating cell nuclear antigen,PCNA),具体步骤按照试剂盒说明书进行。将剩余瘤块切成厚为 2~3 mm 的片状,放入 37 ℃ 2,3,5-氯化三苯基四氮唑(2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride,TTC)溶液中染色 15 min。

显微镜下肿瘤细胞核显示为棕黄色为阳性。每组随机选取 4 个高倍视野(400×)计数正常细胞和阳性细胞数。按下列公式分别计算凋亡指数(apoptosis index,AI)和增殖指数(proliferating index,PI)。

$$AI=\frac{\text{阳性细胞}}{\text{总细胞数}}\times 100\% \qquad PI=\frac{\text{阳性细胞}}{\text{总细胞数}}\times 100\%$$

1.4 统计分析

采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析。实验数据用均数 ± 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。采用单因素方差分析,组间两两比较采取 SNK-q 检验,检验水准 α=0.05。

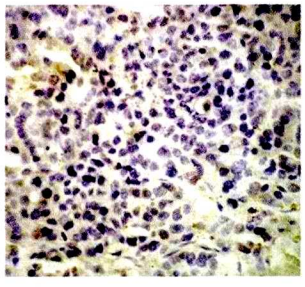
2 结 果

2.1 大体观察结果

对照组、PHIFU 辐照组和 PHIFU+MBs 辐照组经 TTC 染色后,肉眼可见肿瘤组织被均匀红染,表明各组均无肉眼可见的凝固性坏死形成。

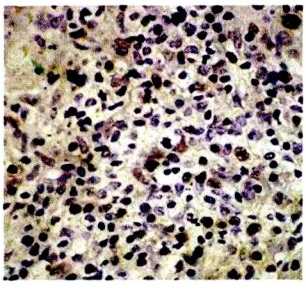
2.2 TUNEL 检测结果

对照组可见少量胞核黄染的阳性肿瘤细胞，PHIFU 辐照组和 PHIFU+MBs 辐照组靶区组织内可见较多细胞核呈棕褐色的阳性染色肿瘤细胞，大小形态和染色较一致，较正常细胞核体积略小，呈新月形或圆形小体，细胞核整个或部分染色，有些细胞的染色质呈环状或斑纹状浓缩，有些细胞还可以看见外周胞浆少许浓缩，有些则呈空晕状（图 1）。



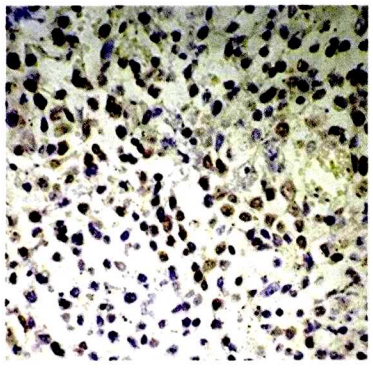
可见少量胞核黄染的阳性肿瘤细胞

A. 对照组



可见较多细胞核呈棕褐色的阳性染色肿瘤细胞

B. PHIFU 组



可见细胞染色质浓缩及外周胞浆浓缩

C. PHIFU+MBs 组

图 1 对照组、PHIFU 辐照组和 PHIFU+MBs 辐照组肿瘤细胞凋亡表达（TUNEL，400×）

Fig.1 Apoptosis cell in each group（TUNEL，400×）

PHIFU辐照组和 PHIFU+MBs 辐照组凋亡指数 AI 均高于对照组（P=0.000），PHIFU+MBs 辐照组凋亡指数 AI 为 3 组中最高（P=0.000）（表 1）。

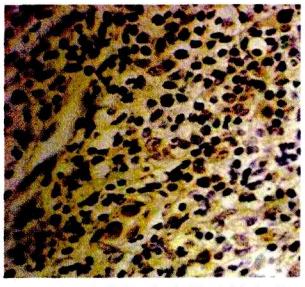
表 1 对照组、PHIFU 辐照组和 PHIFU+MBs 辐照组肿瘤细胞 AI比较（$\bar{x}\pm s$）

Tab.1 Comparsion of AI among three groups（$\bar{x}\pm s$）

分组	例数	AI（%）
对照组	12	4.4 ± 1.1
PHIFU组	12	27.4 ± 2.6[a]
PHIFU+MBs组	12	41.8 ± 3.9[b]
F 值		542.919
P 值		0.000

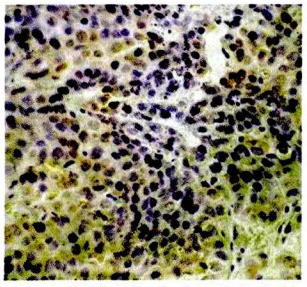
2.3 PCNA 表达结果

对照组靶区可见大量细胞核呈棕黄色染色的阳性肿瘤细胞；PHIFU 辐照组和 PHIFU+MBs 辐照组则可见少许阳性染色细胞，大小形态和染色基本一致（图 2）。PHIFU 辐照组和 PHIFU+MBsA 辐照组增殖指数 PI 均低于对照组（P=0.005），PHIFU+MBs 辐照组增殖指数 PI 为 3 组中最低（P=0.000）（表2）。



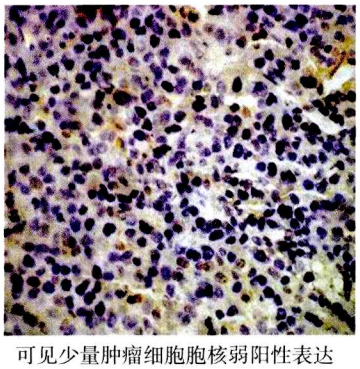
可见肿瘤细胞胞核呈棕色的强阳性染色

A. 对照组



可见少量肿瘤细胞胞核呈棕色的阳性染色

B. PHIFU 组



可见少量肿瘤细胞胞核弱阳性表达

C. PHIFU+MBs 组

图 2 对照组、PHIFU 辐照组和 PHIFU+MBs 辐照组肿瘤细胞测 PCNA 抗原表达（200×）

Fig.2 Expression of PCNA in each group（200×）

表 2 对照组、PHIFU 辐照组和 PHIFU+MBs 辐照组 PI 比较（$\bar{x}\pm s$）

Tab.2 Comparsion of PI among three groups（$\bar{x}\pm s$）

分组	例数	PI（%）
对照组	12	18.8 ± 1.5
PHIFU组	12	7.4 ± 1.3[a]
PHIFU+MBs组	12	2.8 ± 0.9[b]
F 值		526.560
P 值		0.000

3 讨 论

目前，HIFU 主要通过超声的热效应，在靶区产生瞬时高温，使组织发生凝固性坏死而达到治疗肿瘤的目的。近年来，人们逐渐认识到，针对恶性肿瘤的治疗，诱导肿瘤细胞凋亡或许是另一种治疗方式。随着对超声效应研究的深入，超声空化等非热机制

所产生的生物学效应越来越受到人们的关注。空化效应诱导肿瘤细胞凋亡已成为超声治疗的研究热点[7-8]。

空化效应是指声压达到空化阈值时，液体中的微小气泡产生剧烈的膨胀、收缩直至发生内爆的过程，当微小气泡爆破时，能量在极小范围内释放，将产生瞬时高温、高压和冲击波、微射流等。在细胞水平，空化效应可以改变细胞结构，使细胞膜通透性增高，损伤细胞器、细胞骨架以及 DNA 链，甚至导致细胞死亡。吴晓辉等[9]研究发现低强度超声联合微泡可诱导大鼠 C6 胶质瘤细胞的凋亡，其可能的机制是超声空化效应导致细胞膜的通透性增加，启动了细胞内源性凋亡途径，最终促使凋亡发生。在生物体内，空化效应可引起微血管壁损伤，切断肿瘤组织血供，导致肿瘤细胞凋亡。高顺记[10]和朱梅[11]等研究发现低强度超声联合微泡可通过空化效应损伤肿瘤血管壁，使局部组织水肿造成对血液循环的压迫，进而阻断肿瘤微循环。Sarkar 等[12]研究发现空化效应可破坏肿瘤微血管，形成微血栓，完全或部分栓塞肿瘤血管，阻断血流供应。

通过调节 HIFU 辐照参数，能控制 HIFU 所产生的热效应和非热效应，我们前期的实验结果显示：使用频率 0.87 MHz、空间峰值声强(ISP)5 900 W/cm^2、脉冲重复频率 100 Hz、占空比 15%的 PHIFU 联合微泡辐照活体兔肝 VX2 移植瘤时，组织出现非凝固性坏死损伤，光镜下可见细胞肿胀，胞浆空泡，电镜下可见大量线粒体肿胀，细胞核固缩以及胞浆空泡[5]，这种胞浆中的空泡被认为可能是空化作用的结果[13-14]。本实验采取相同的 PHIFU 参数对兔肝VX2 移植瘤进行辐照，应用 TUNEL 原位凋亡检测法和免疫组化法对辐照后肿瘤细胞的凋亡和增殖进行检测，观察 PHIFU 非热效应对活体肿瘤细胞增殖和凋亡的影响。结果显示对照组中肿瘤细胞发生凋亡的数量少，增殖活性强。PHIFU 辐照组和 PHIFU+MBs 辐照组中肿瘤细胞凋亡的数量增加，PHIFU 辐照组和 PHIFU+MBs 辐照组凋亡指数 AI 均比对照组高，增殖指数 PI 较对照组低。但 PHIFU+MBs 辐照组的凋亡指数 AI 最高，增殖指数PI 最低。说明使用前期筛选的 PHIFU参数对兔肝 VX2 移植瘤进行辐照，PHIFU 组和 PHIFU+MBs 组均可以通过非热效应促进肿瘤细胞凋亡，抑制其增殖。

由于人体自身缺乏足够的空化核，需要使用较高的声强辐照才能发生空化效应，当 MBs 被注入人体后，增加了体内空化核的数量，可以大大降低空化效应发生的阈值，增强空化效应[15-16]，一方面使肿瘤细胞膜表面的致死性声孔效应得到增强，促进肿瘤细胞崩解、凋亡；另外空化还导致肿瘤微血管壁及周围组织被破坏，使肿瘤微循环发生障碍，造成肿瘤细胞死亡，瘤体缩小，实现治疗的目的。本实验中 PHIFU+MBs 辐照组的 AI 为 3 组中最高，而 PI为 3 组中最低，表明MBs 的加入可增强 PHIFU 的空化效应，促进肿瘤的凋亡。

本实验只观察了辐照后 1 d 肿瘤细胞凋亡和增殖情况，拟进一步研究 PHIFU 联合 MBs 辐照肿瘤后不同时段肿瘤细胞的凋亡、增殖，以及荷瘤兔的生存情况，同时筛选适合的微泡浓度，观察其在增强 PHIFU 空化效应方面的作用，为 PHIFU 联合 MBs 通过非热效应治疗肿瘤提供更深入的依据。

参 考 文 献

[1] Liu Q, Sun S, Xiao Y, et al. Study of cell killing and morphology on S180 by ultrasound activating *hematoporphyrin derivatives*[J]. Sci China C Life Sci, 2003, 46(3): 253-262.

[2] Jin H, Zhong X, Wang Z, et al. Sonodynamic effects of hematoporphyrin monomethyl ether on CNE-2 cells detected by atomic force microscopy[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2011, 112(1): 169-178.

[3] Vykhodtseva N, McDannold N, Hynynen K. Induction of apoptosis *in vivo in the rabbit brain with focused ultrasound and optison*[J]. Ultrasound in Medicine & Biology, 2006, 32(12): 1923-1929.

[4] Kieran K, Hall TL, Parsons JE, et al. Exploring the acoustic parameter space *in ultrasound therapy: defining the threshold for cavitational* effects[C]. Oxford, UK, 2006: 185-190.

[5] 刘春梅，陈锦云，王智彪. 工作周期对脉冲高强度聚焦超声辐照离体牛肝的影响[J]. 中国超声医学杂志，2007，23(8)：567-569.

[6] Huang Y, Vykhodtseva NI, Hynynen K. Creating brain lesions with Low-Intensity focused ultrasound with microbubbles: A Rat Study at Half a Megahertz[J]. Ultrasound in Medicine & Biology, 2013, 39(8): 1420-1428.

[7] Tabuchi Y, Takasaki I, Zhao QL, et al. Genetic networks responsive to low-intensity pulsed ultrasound in human lymphoma U937 cells[J]. Cancer Letters, 2008, 270(2): 286-294.

[8] 张 震，杨松涛，薛一雪，等. 低频超声体外诱导 C6 胶质瘤细胞凋亡的研究[J]. 中国医科大学学报，2009，38(2)：87-88.

[9] 吴晓辉，陶裕川，程 远，等. 低强度超声联合微泡的声空化效应介导大鼠 C6 胶质瘤细胞凋亡的研究[J]. 华中科技大学学报(医学版)，2014，43(1)：6-11.

[10] 高顺记，李佩倞，赵 洋，等. 微泡增强的超声空化阻断肿瘤微循环的初步研究[J]. 中国超声医学杂志，2010，26(2)：110-112.

[11] 朱 梅，李佩倞，刘 政，等. 低能量脉冲式超声联合微泡对兔 VX2 肿瘤微循环的阻断作用[J]. 中国医学影像技术，2012，28(4)：621-625.

[12] Sarkar K, Shi WT, Chatterjee D, et al. Characterization of ultra-

基础研究 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001039

CHR抑制白假丝酵母菌生物被膜形成作用及机制探讨

张 舒[1],许 珊[2],张 丹[2],黄文祥[3],魏 伏[2],刘思佚[2],罗盛淑[1],何 琴[1],李佳俊[3]
（重庆医科大学附属第一医院 1. 肝胆外科;2. 重症医学科;3. 感染科;重庆 400016）

【摘 要】**目的**:CGA_{47-66}(chromofungin,CHR)是嗜铬粒蛋白 A(chromograinin A,CGA)水解形成的生物活性多肽,已有研究证实其具有免疫调节和抗菌作用,本研究旨在进一步证实 CHR 抗白假丝酵母菌生物被膜形成的作用,探讨其作用机制。**方法**:根据 CLSI-M27-A3 参考方法检测 CHR 对浮游状态下白假丝酵母菌的最低抑菌浓度,菌落计数法及 XTT 比色法验证 CHR 是否具有抑制生物被膜形成的作用,并确定 CHR 对白假丝酵母菌的 BIC_{50},通过菌落计数法和倒置显微镜证实 CHR 抗真菌粘附作用,并使用 qRT-PCR 检测粘附基因 *Hwp1* 的表达情况从而进一步验证其作用的分子机制。**结果**:CHR 对浮游状态白假丝酵母菌的 MIC 值为 10~20 μmol/L,并证实 CHR 具有抗白假丝酵母菌生物被膜形成作用,BIC_{50} 值为 80~160 μmol/L,且具有浓度依赖性;qRT-PCR 检测 CHR 下调 *C.albicans* Hwp1 基因的表达,160 μmol/L CHR 处理组相对 *Hwp1* 基因表达量通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值计算为(0.089 5±0.036 0),无处理组 *Hwp1* 基因的表达是 CHR 组的 11.17 倍,差异具有统计学意义(t=44.008,P=0.001)。**结论**:CHR 具有抑制白假丝酵母菌生物被膜形成的作用,其机制可能与 CHR 减少白假丝酵母菌细胞的粘附有关。本研究为 CHR 在抗真菌材料方面的应用提供了理论基础。

【关键词】CHR;白假丝酵母菌;生物被膜形成;真菌粘附
【中图分类号】R379.4 【文献标志码】A 【收稿日期】2016-03-04

Inhibiting effect of CHR on biofilm formation of *Candida albicans* and its mechanism

Zhang Shu[1],Xu Shan[2],Zhang Dan[2],Huang Wenxiang[3],Wei Fu[2],Liu Siyi[2],Luo Shengshu[1],He Qin[1],Li Jiajun[3]
(1. Department of Hepatic Surgery;2. Department of Intensive Medicine;
3. Laboratory of Etiology on Infectious Disease,The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】***Objective***:To further confirm if CGA_{47-66}(chromofungin,CHR) plays an inhibitory role on *Candida albicans* biofilm formation,and to explore its possible mechanism. ***Methods***:MIC_{50} of CHR on floating state *Candida albicans* was detected by M27-A3 reference method. BIC_{50} of CHR on biofilm formation was observed by XTT colorimetric assay;colony counting method and XTT colorimetric assay were employed to validate whether CHR had an inhibitory function on *Candida albicans* biofilm formation,then the antifungal adhesion function of CHR was tested by colony counting method combined with inverted microscope. The further molecular mechanism,and the expressions of adhesion gene *Hwp1* were measured by qRT-PCR. ***Results***:Our study firstly demonstrated that CHR could inhibit biofilm formation in a dose dependent manner;the BIC_{50} was 80 to 160 μmol/L;the MIC_{50} value of CHR on floating state *Candida albicans* was 10 to 20 μmol/L. CHR could down regulate the expression of adhesion

作者介绍:张 舒,Email:suesue0825@163.com,
研究方向:医院感染控制,消毒剂及抗生素临床应用。
通信作者:张 丹,Email:doctor_zhangdan@126.com。
基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:81071531、81372102)。
优先出版:http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20161027.1052.022.html (2016-10-27)

sound contrast microbubbles using in vitro experiments and viscous and viscoelastic interface models for encapsulation[J]. Journal of the Acoustical Society of America, 2005,118(1):539-550.
[13] 顾慧琼,向理科,王智彪. 高强度聚焦超声治疗兔胫骨移植性鳞状细胞癌中的空化现象[J]. 天津医药,2005,33(6):363-365.
[14] Clarke RL,Ter Haar GR. Temperature rise recorded during lesion formation by high-intensity focused ultrasound[J]. Ultrasound in Medicine & Biology,1997,23(2):299-306.
[15] Wang Y,Hu B,Diao X,et al. Antitumor effect of microbubbles enhanced by low frequency ultrasound cavitation on prostate carcinoma xenografts in nude mice[J]. Experimental & Therapeutic Medicine,2012,3(2):187-191.
[16] Mironova NL,Petrushanko IY,Patutina OA,et al. Ribonuclease binase inhibits primary tumor growth and metastases via apoptosis induction in tumor cells[J]. Cell Cycle,2013,12(13):2120-2131.

(责任编辑:张辉洁)