2.3　COPADG 对 Eca-109 细胞内 caspase-3 活性的影响

流式细胞术检测显示,药物作用 24、48 h 后,COPADG 组细胞内 caspase-3 平均荧光强度分别为(6.5 ± 0.4)、(36.2 ± 1.1),对照组细胞内 caspase-3 平均荧光强度分别为(1.8 ± 0.1)、(1.9 ± 0.0),前者明显高于后者,各时间段 2 组之间均存在统计学差异($P < 0.01$);随着 COPADG 作用时间延长,caspase-3 平均荧光强度进一步升高,作用 48、24 h 比较存在统计学差异($P < 0.01$)。

2.4　COPADG 对 Eca-109 细胞 bcl-2 蛋白表达的影响

流式细胞术检测显示,药物作用 24 h 后,COPADG 组细胞 bcl-2 蛋白表达的阳性率(PR)和 MFI 分别为(70.1 ± 2.7)% 和(2.0 ± 0.1),均明显低于对照组的(85.4 ± 3.3)% 和(3.5 ± 0.3),2 组间差异有统计学意义($P < 0.01$)。

3　讨论

细胞凋亡是一个多基因参与的、复杂的生命过程,Bcl-2 是重要的抗凋亡成员,它可能通过抑制氧化应激,影响细胞钙内流,以及稳定线粒体膜电位、抑制线粒体细胞色素 C 的释放和通过抑制半胱氨酸酶活性等多种机制来抑制细胞凋亡的发生[6,7]。经典的细胞凋亡通路有 2 条,即死亡受体通路和线粒体通路,最后都激活半胱氨酸酶蛋白酶家族导致凋亡的发生[6]。研究表明 caspase-3 是细胞凋亡发生和调控机制中最重要的组成部分,是凋亡途径下游进行底物酶解的关键蛋白酶[5]。

本研究通过细胞形态学观察、流式细胞术分析显示:COPADG 能够有效诱导人食管癌 Eca-109 细胞凋亡,同时显著诱导 Eca-109 细胞内 caspase-3 活化;能明显降低 Eca-109 细胞内 bcl-2 蛋白表达。本课题组前期的研究中已发现,随着 COPADG 作用浓度增加,线粒体膜电位呈下降趋势[8]。因此,可推测 COPADG 可能通过下调 bcl-2 蛋白表达,进而打破线粒体膜电位的稳定性,引起细胞色素 C 的释放并最终激活 caspase-3 诱导 Eca-109 细胞凋亡的发生。但本研究结果显示 COPADG 诱导的 Eca-109 细胞内 caspase-3 活化水平与细胞的凋亡率之间并不完全平行。由此提示 COPADG 诱导人食管癌 Eca-109 细胞凋亡过程中可能还有其他凋亡信号转导系统的参与,bcl-2 蛋白表达下调及 caspase-3 活化在 COPADG 诱导 Eca-109 细胞凋亡过程中发挥着重要作用,但并非唯一的作用机制。

参考文献:

[1] 乔　岩, 王　丽, 王爱勤. D-氨基葡萄糖的化学修饰及其在生物医药领域的应用[J]. 中国海洋药物, 2003, 22(6): 51 - 55.

[2] Wu J, Lu H, Zhou Y, *et al*. Effect of 2-(3-carboxy-1-oxopropyl) amino-2-deoxy-D-glucose on human esophageal cancer cell line[J]. World J Gastroenterol, 2004, 10 (22): 3380 - 3381.

[3] Wu J, Kou W, Gao M T, *et al*. Effects of {2-[(3-carboxy-l-oxoprogy1) amino]-2-deoxy-D-glucose} on human hepatocellular carcinoma cell line[J]. Acta Pharmacol Sin, 2005, 26 (5): 635 - 640.

[4] 寇　炜, 吴　静, 赵　晋, 等. D-氨基葡萄糖衍生物诱导人结肠癌 SW1116 细胞凋亡的形态学变化[J]. 第四军医大学学报, 2007, 28(18): 1636 - 1638.

[5] Kroemer G, Galluzzi L, Brenner C. Mitochondrial membrane permeabilization in cell death[J]. Physiol Rev, 2007, 87 (1): 99 - 163.

[6] Testa U, Riccioni R. Deregulation of apoptosis in acute myeloid leukemia[J]. Haematologica, 2007, 92(1): 81 - 94.

[7] Gustafsson A B, Gottlieb R A. Bcl-2 family members and apoptosis, taken to heart[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2007, 292(1): C45 - C51.

[8] 吴　静, 杨国栋, 强占荣, 等. 羧基-D-氨基葡萄糖衍生物对人食管癌 Eca-109 细胞线粒体膜电位的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2007, 23(3): 230 - 231.

(编辑　栾　嘉)

第六届全军手外科学术会议暨全国手外科新进展学习班通知

由中华医学会手外科学会、军队显微外科专业委员会手外科专业组、《人民军医》杂志编辑部联合主办,解放军 153 医院全军创伤骨科中心承办的"第六届全军手外科学术会议暨全国手外科新进展学习班",定于 2009 年 4 月 15 ~ 19 日在河南省郑州市嵩阳饭店举行。届时中国工程院王澍寰、顾玉东院士,中华医学会手外科分会主任委员徐建光、显微外科分会主任委员侯春林及田光磊、程国良等多位知名专家教授到会授课。会议及学习班授予国家继续教育Ⅰ类学分;交流论文将择优在国家科技论文统计源期刊《人民军医》杂志上发表,或编辑出版《人民军医》杂志专刊。欢迎全国和全军同道赴会。

通信地址:河南省郑州市郑上路解放军 153 医院全军创伤骨科中心手外科　　邮编:450042

E-mail:zmw153@126.com　　**联系电话**:(0371)60645230

中华医学会手外科分会、全军手外科专业学组

《人民军医》杂志编辑部、中国人民解放军创伤骨科中心