

来研究提示,DOX 诱导的心肌损伤与线粒体生成破坏及线粒体功能紊乱密切相关。过氧化物酶体增殖物活化受体 γ 协同刺激因子(PGC) 家族蛋白是调节线粒体新生的核蛋白管家调节子,其中 PGC-1 α 可能是最关键的因子,但 PGC-1 α 是否参与了 DOX 心肌细胞线粒体毒性中的作用尚不清楚。本研究旨在阐明 PGC-1 α 在 DOX 心肌细胞线粒体毒性中的作用及可能机制。**方法** 选用人源心肌细胞系 AC16 细胞为模型,应用 MTT 法检测 DOX 的细胞毒性,采用高通量筛选从线粒体密度、线粒体氧化应激(MnSOD)两方面检测 DOX 的线粒体毒性,采用 Western blot 检测 DOX 对线粒体新生相关蛋白(PGC-1 α , NRF-1)表达的影响。**结果** MTT 法显示 DOX 对 AC16 细胞的半数抑制浓度为 5 μ M,高通量筛选和 Western Blot 结果表明 DOX 在低剂量可引起 AC16 细胞线粒体密度增加,MnSOD 表达增加,线粒体新生相关蛋白(PGC-1 α 和 NRF-1)表达增加,在高剂量可引起细胞线粒体密度降低,MnSOD 表达减少,线粒体新生相关蛋白(PGC-1 α 和 NRF-1)表达减少。同时 DOX 可引起线粒体 ATP 生成呈剂量依赖性下降。敲除 PGC-1 α 后,DOX 对 AC16 细胞的细胞毒性明显加重,线粒体损伤更为严重。**结论** 在较低剂量 DOX 作用下,可能通过激活 PGC-1 α 增加线粒体新生,对抗 DOX 的毒性作用;在较高剂量 DOX 作用下,可抑制 PGC-1 α 的表达,线粒体新生减少,细胞失代偿,进而产生毒性。

基金项目: 国家自然科学基金(81072711); 国家自然科学基金(81102424); 国家科技重大专项(2009ZX09501-034); Unilever 国际合作项目(CH-2011-1318)

通讯作者: 彭双清, E-mail: pengsq@hotmail.com

T3.4 中药知母皂苷组分 A3 的肝毒性机制

武之涛¹, 盛晶晶¹, 戚新明¹, 任 进¹, 黄成钢², 潘国宇¹

(中国科学院上海药物研究所 1. 药物安全评价研究中心, 2. 中药现代化研究中心, 上海 200000)

摘要: 目的 阐明知母皂苷(A3)的肝毒性机制,为临床上知母的合理用药提供科学指导,避免潜在的药物安全性隐患。**方法** 体外细胞实验,采用大鼠肝原代三明治培养技术,分别在 mRNA、蛋白质和功能水平研究了 A3 对于肝细胞胆酸相关转运体和代谢酶的影响;考察了实验组和对照组之间在肝细胞活力、氧化应激(ROS)、乳酸脱氢酶(LDH)释放、线粒体膜电位(MMP)变化等方面的差异;体内动物实验,SD 大鼠连续灌胃给药 A3(100 mg·kg⁻¹)7 d 后,与对照组在血液生化学、病理学方面进行比较。**结果** 细胞实验中, A3 可以引起胆酸摄取和外排型转运体、胆酸合成酶的下调,并降低肝细胞对胆酸的外排,而 N-乙酰半胱氨酸(NAC)能够减弱这种作用;A3 能够剂量依赖性致使肝细胞活力下降,并导致 ROS 的发生和 LDH 的释放。大鼠在连续给药 7 天后,其血液中总胆酸、总胆红素含量明显上升,ALT 和 AST 亦有升高,病理组织切片显示有空泡化和肝细胞凋亡现象。**结论** A3 能够致使肝损伤,而这种作用是由于导致了肝胆酸淤积的发生,继而引发 ROS 的产生,造成了肝细胞的凋亡。

T3.5 喹烯酮诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡及其作用机制

张朝明, 代重山, 汤树生, 王丛丛, 张 燊, 邓思君, 周 延, 杨夏云, 肖希龙

(中国农业大学动物医学院, 北京 100193)

摘要: 目的 探讨活性氧(ROS)在喹烯酮诱导 HepG2 细胞凋亡过程中的作用及其可能机制,为其安全性评价提供新的理论依据。**方法** 噻唑蓝比色法(MTT)检测细胞存活率;Hoechst33342/PI 荧光染色法检测细胞凋亡形态;流式细胞术 Annexin V-FITC/PI 标记法定量检测细胞凋亡率;DCFH-DA 和 DHE 荧光探针检测细胞内的活性氧水平;Rhodamine 123 染色法检测线粒体膜电位的变化;蛋白免疫印迹检测凋亡相关蛋白的表达变化。**结果** 喹烯酮对人肝癌 HepG2 细胞有明显的生长抑制作用且在一定范围内具有浓