

莪术油对人肺腺癌A549细胞增殖和凋亡的影响

邵淑丽* 李怀永 孙宏岩 张伟伟 李 爽

(齐齐哈尔大学生命科学与农林学院, 齐齐哈尔 161006)

摘要 该研究旨在探讨莪术油(zedoray turmeric oil, ZTO)对人肺腺癌A549细胞增殖的影响及诱导细胞凋亡作用。不同浓度莪术油作用A549细胞48 h后, 采用MTT法检测细胞存活率; 光学显微镜、荧光显微镜和透射电镜观察细胞形态结构; 流式细胞术检测细胞周期、细胞凋亡率和线粒体膜电位($\Delta\Psi_m$); Real Time RT-PCR和Western blot检测Bcl-2/Bax表达水平。结果显示, 莪术油对A549细胞生长具有剂量依赖性抑制作用, 莪术油作用A549细胞48 h的最佳浓度是80 $\mu\text{g/mL}$, 增殖抑制率为(77.462%±0.681%), 显微镜下观察细胞呈明显凋亡现象, 细胞凋亡率为(27.31%±0.43%), $\Delta\Psi_m$ 显著下降($P<0.01$), 细胞阻滞于S期和G₂期; Bcl-2的表达下调, Bax的表达明显增加, Bcl-2/Bax比值显著降低($P<0.01$)。提示莪术油能抑制肺腺癌A549细胞增殖, 通过上调Bax下调Bcl-2诱导其凋亡。

关键词 增殖; 凋亡; 莪术油; A549细胞

ZTO Inhibited Proliferation and Induced Apoptosis of Human Lung Adenocarcinoma Cell Line A549

Shao Shuli*, Li Huaiyong, Sun Hongyan, Zhang Weiwei, Li Shuang

(College of Life Sciences and Agriculture and Forestry, Qiqihar University, Qiqihar 161006, China)

Abstract The study investigated the effects of zedoray turmeric oil (ZTO) on the proliferation and apoptosis of human lung adenocarcinoma cell line A549. The inhibitory effect of ZTO on the growth of A549 cells was tested by MTT method *in vitro*. Light microscope, fluorescence microscope and TEM were used to observe the morphology change of apoptosis in A549 cells. The apoptosis, mitochondrial membrane potential ($\Delta\Psi_m$) and cell cycle distribution of A549 cells were assayed by flow cytometry. The levels of Bcl-2/Bax were measured by Real Time RT-PCR and Western blot. The results showed that ZTO inhibited the growth of A549 cells in a dose-dependent manner, consistent with the results of cell morphology. After exposure to 80 $\mu\text{g/mL}$ ZTO for 48 h, cell apoptosis was highest, the level of $\Delta\Psi_m$ decreased and caused a significant S arrest at the expense of G₁ and G₂-M phase cell numbers. ZTO also reduced the ratio of Bcl-2/Bax. The results suggested that ZTO depresses the cell growth and induces the apoptosis of human lung adenocarcinoma cell line A549 through up-regulation of Bax and down-regulation of Bcl-2.

Key words proliferation; apoptosis; ZTO; A549 cells

从中草药中筛选抗癌新药已成为研究热点。莪术是我国传统中药之一, 莪术油(zedoray turmeric oil, ZTO)是莪术中提取的挥发油, 含有 β -榄香烯、莪

术醇、莪术二醇、莪术酮、吉玛酮等多种有效成分, 具有抗菌^[2]、消炎^[3]及抗癌^[4]等作用, 在抗肿瘤方面具有广阔的研究和应用前景。细胞凋亡对维持组

收稿日期: 2013-04-15 接受日期: 2013-07-15

黑龙江省自然科学基金(批准号: C200624、C201241)和黑龙江省教育厅科学技术项目(批准号: 11511447、12511611)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0452-2738219, E-mail: shshl32@163.com

Received: April 15, 2013 Accepted: July 15, 2013

This work was supported by the Natural Science Foundation of Heilongjiang Province (Grant No.C200624, C201241) and the Project of Science and Technology of Heilongjiang Provincial Educational Department (Grant No.11511447, 12511611)

*Corresponding author. Tel: +86-452-2738219, E-mail: shshl32@163.com

网络出版时间: 2013-08-29 09:33

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20130829.0933.001.html>

织器官的正常形态和功能具有重要作用,它与肿瘤的发生和发展密切相关,在对肿瘤的治疗中具有重要意义。肺癌是目前世界上发生率与死亡率最高的恶性肿瘤,其中以非小细胞肺癌(non-small-cell lung cancer, NSCLC)为主^[5]。本实验观察莪术油对人肺腺癌A549细胞增殖的影响及诱导细胞凋亡作用,为莪术油应用于肺腺癌临床治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

人肺腺癌细胞株A549购自中国科学院上海细胞库。莪术油注射液购自山东特利尔医药公司。罗丹明123、PI、DMSO购自Sigma公司。RPMI-1640培养基购自HyClone公司。胎牛血清、胰蛋白酶、Hepes、吡啶橙、TEMED、UNIQ-10柱式Trizol总RNA抽提试剂盒、膜蛋白提取试剂盒和胞质蛋白提取试剂盒购自生工生物工程(上海)有限公司。Annexin V-FITC凋亡检测试剂盒购自北京宝赛生物技术有限公司。倒置荧光显微镜(Olympus), 荧光定量PCR仪(Eppendorf), FC500型流式细胞仪(Beckman Coulter), Odyssey红外荧光扫描成像系统(Odyssey)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 将人肺腺癌A549细胞用含10%胎牛血清、 1×10^5 U/L青霉素及100 mg/L链霉素的RPMI-1640培养液置于含5% CO₂、饱和湿度、37 °C培养箱中培养, 2~3 d传代。

1.2.2 莪术油对细胞生长的抑制作用 细胞中分别加入终浓度为50, 60, 70, 80, 90, 100, 110 $\mu\text{g/mL}$ 莪术油, 分别孵育24, 48, 72 h。常规MTT法检测不同浓度下细胞的存活率, 570 nm下测吸光度(D), 计算细胞生长抑制率。细胞生长抑制率=(实验组平均 D 值-空白组平均 D 值)/(对照组平均 D 值-空白组平均 D 值) $\times 100\%$ 。采用直线回归方法计算药物的半数抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC₅₀)值。

1.2.3 莪术油对细胞形态的影响 细胞生长至对数生长期, 分别用50, 80, 110 $\mu\text{g/mL}$ 莪术油作用A549细胞48 h, 光学显微镜下观察细胞形态, 拍照。消化收集经各浓度莪术油作用48 h的A549细胞, 预冷PBS洗涤细胞2次, 200 μL 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 吡啶橙, 孵育3 min, 倒置荧光显微镜下观察并照相。消化收集经各浓度莪术油作用48 h的A549细胞, 2.5%戊二醛先固定2 h以上, 1%锇酸后固定2 h, 丙酮梯度脱水,

Epon812包埋。超薄切片机定位后做超薄切片, 醋酸铀和柠檬酸铅双重染色, 于JEM-1220型透射电子显微镜下观察细胞形态、细胞质及细胞核的变化并摄片, 记录实验结果。

1.2.4 Annexin V-FITC/PI双染测定细胞凋亡 收集经50, 80, 110 $\mu\text{g/mL}$ 莪术油作用48 h的A549细胞, PBS洗涤2次, 加入200 μL 结合缓冲液, 重悬细胞后, 分别加入10 μL Annexin V-FITC和5 μL PI, 4 °C避光反应30 min, 再加入300 μL 结合缓冲液, 上机检测。

1.2.5 线粒体跨膜电位的检测 收集经50, 80, 110 $\mu\text{g/mL}$ 莪术油作用48 h的A549细胞, PBS洗涤2次, 加入罗丹明123 10 μL , 终浓度为10 $\mu\text{g/mL}$, 于37 °C孵育30 min, 再用PBS洗涤细胞2次后重悬细胞, 流式细胞仪检测。

1.2.6 流式细胞术检测细胞周期的变化 收集经50, 80, 110 $\mu\text{g/mL}$ 莪术油作用48 h的A549细胞, 3 mL PBS洗涤, 弃上清, 加入1.5 mL预冷的无水乙醇, 充分混匀, 4 °C保存, 固定至少18 h。调整细胞浓度为 $1 \times 10^6/\text{mL}$, 取1 mL细胞悬液, 用PBS洗3次, 加入RNaseA(100 $\mu\text{g/mL}$), 37 °C孵育30 min。加入0.5 mg/mL的50 μL PI染液, 4 °C孵育30 min, 流式细胞仪检测(汞激发波长488 nm)。

1.2.7 实时荧光定量PCR检测Bax/Bcl-2 mRNA 采用UNIQ-10柱式Trizol总RNA抽提试剂盒提取细胞总RNA。Bcl-2正义链: 5'-atg tgt gtg gag agc gtc aac-3', 反义链: 5'-aga cag cca gga gaa atc aaa c-3', 扩增产物为180 bp。Bax正义链: 5'-aag ctg agc gag tgt ctc aag-3', 反义链: 5'-caa agt aga aaa ggg cga caa c-3', 扩增产物为178 bp。以 β -actin为内参照, β -actin正义链: 5'-agc gag cat ccc cca aag tt-3', 反义链: 5'-ggg cac gaa ggc tca tca tt-3', 扩增产物为205 bp。实时荧光定量PCR扩增条件: 94 °C 4 min, 94 °C 30 s, 60 °C 30 s, 72 °C 30 s, 循环35次, 72 °C检测信号, 循环结束后进行熔解曲线检测。实验重复3次, 数据以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 进行计算。

1.2.8 Western blot检测Bax/Bcl-2蛋白的表达 收集经50, 80, 110 $\mu\text{g/mL}$ 莪术油作用48 h的A549细胞, 分别利用在上海生物公司购买的膜蛋白和胞质蛋白抽提试剂盒说明书中的方法提取质蛋白和膜蛋白, 样品进行SDS-PAGE凝胶电泳, 用Bio-Rad电转仪将蛋白转移到PVDF膜上, 转膜条件为150 V恒压3 h, 5%脱脂奶粉封闭1 h, 加Bax/Bcl-2 I抗(1:100), 内参照 β -actin I抗4 °C孵育过夜, PBS洗膜, 加II抗IgG(1:10 000), 室温孵育2 h, Odyssey红外荧光扫描

成像系统中进行扫描检测。

1.3 统计学处理

采用SPSS 17.0统计学软件进行数据处理, 进行单因素方差分析(One-way ANOVA), 组间比较用LSD法检测其差异性, 数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 莪术油对A549细胞抑制生长的作用

莪术油在50~110 $\mu\text{g/mL}$ 之间对A549细胞作用24, 48, 72 h后的生长抑制作用呈剂量依赖性(图1), IC_{50} (表1)。莪术油作用A549细胞48 h的最佳浓度为80 $\mu\text{g/mL}$, IC_{50} 为 $(77.462\pm 0.681) \mu\text{g/mL}$ ($R^2=0.806$)。

2.2 莪术油对肺腺癌A549细胞形态的影响

2.2.1 光学显微镜观察细胞形态变化 未经药物

处理的A549 细胞大小均一, 呈上皮样贴壁生长, 细胞壁光滑, 折光性好(图2A); 与对照组相比, 经50 $\mu\text{g/mL}$ 莪术油作用48 h的A549细胞, 有部分细胞变圆, 体积变小, 核染色质固缩(图2B); 经80 $\mu\text{g/mL}$ 莪术油作用

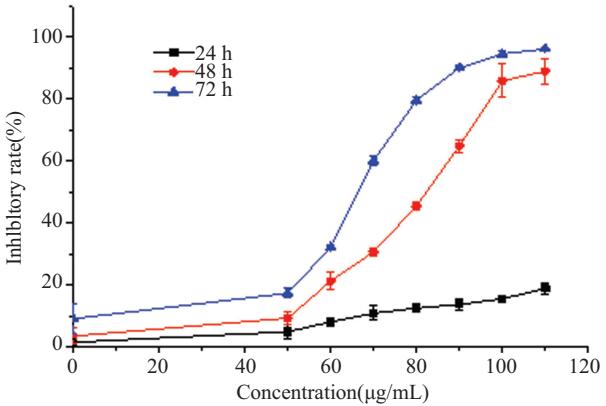
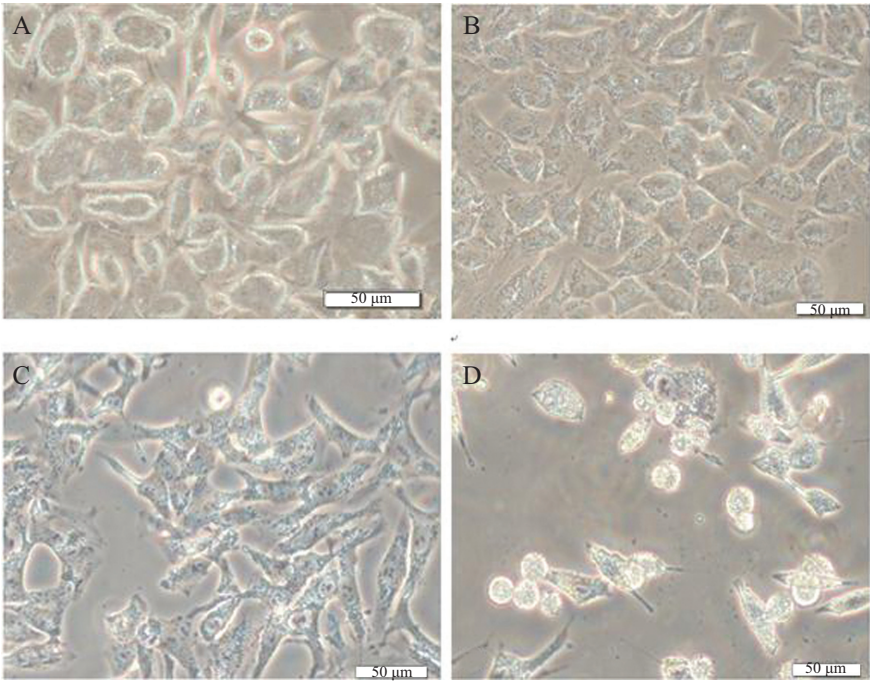


图1 莪术油对A549细胞的生长抑制曲线
Fig.1 The control curve of ZTO on A549 cells

表1 A549细胞曲线拟合结果

Table 1 The results of curve fitting on A549 cells

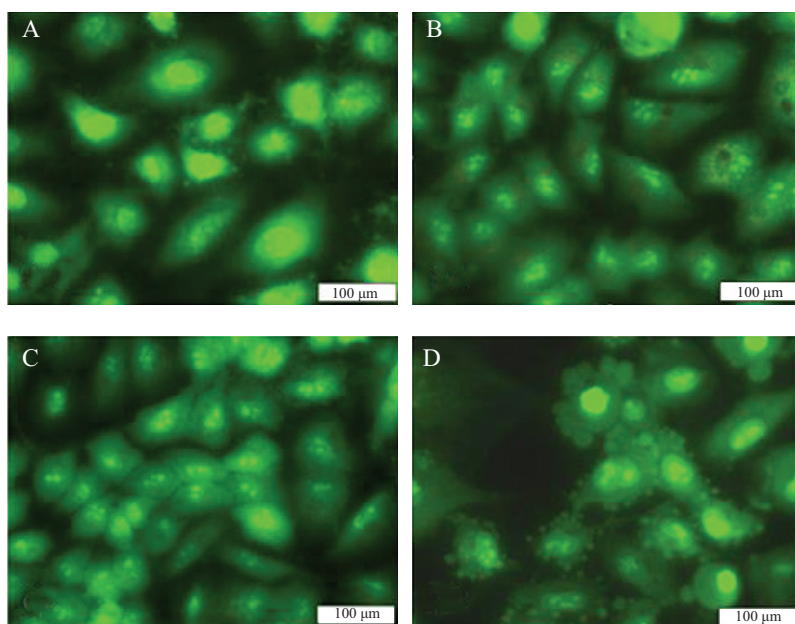
	回归方程 Regression equation	半数抑制率($\mu\text{g/mL}$) $\text{IC}_{50}(\mu\text{g/mL})$	相关性系数 R^2	回归方程显著性 F	差异显著性 P
24 h	$Y=0.319+0.147\log X$	255.196	0.931	67.542	<0.01
48 h	$Y=-16.440+0.860\log X$	77.462	0.806	24.892	<0.01
72 h	$Y=-6.393+0.947\log X$	65.124	0.843	32.308	<0.01



A: 对照; B: 50 $\mu\text{g/mL}$ 莪术油; C: 80 $\mu\text{g/mL}$ 莪术油; D: 110 $\mu\text{g/mL}$ 莪术油。
A: CK; B: 50 $\mu\text{g/mL}$ ZTO; C: 80 $\mu\text{g/mL}$ ZTO; D: 110 $\mu\text{g/mL}$ ZTO.

图2 光学显微镜下莪术油作用A549细胞48 h的细胞形态(200 $\times$)

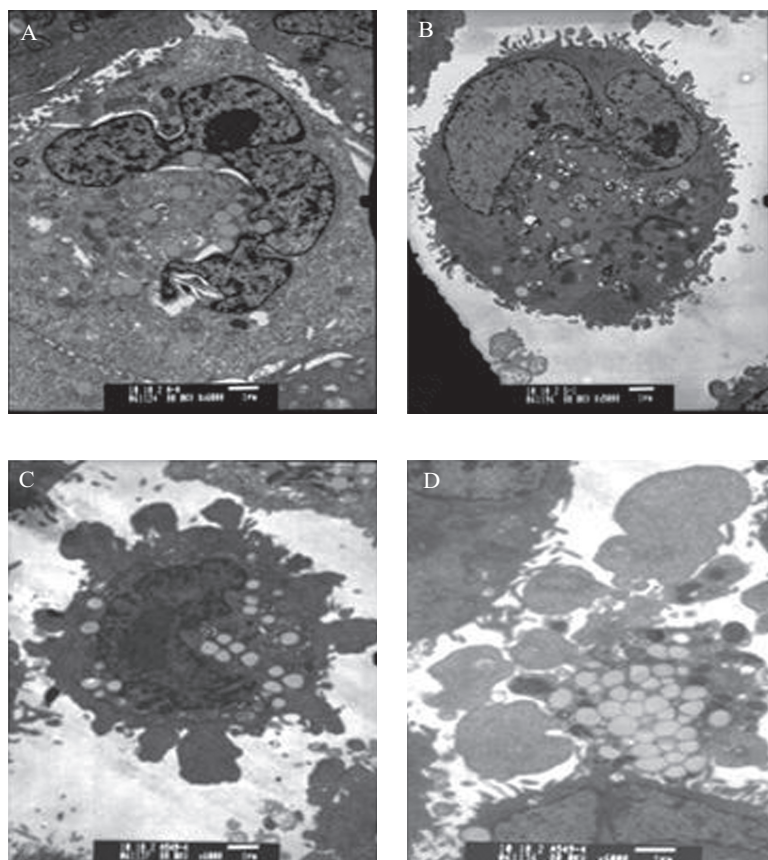
Fig.2 The cell morphological changes in ZTO-treated A549 cells under light microscope (200 $\times$)



A: 对照; B: 50 µg/mL莪术油; C: 80 µg/mL莪术油; D: 110 µg/mL莪术油。
A: CK; B: 50 µg/mL ZTO; C: 80 µg/mL ZTO; D: 110 µg/mL ZTO.

图3 荧光显微镜下莪术油作用A549细胞48 h的细胞形态(200×)

Fig.3 The nuclear morphological changes in ZTO-treated A549 cells under fluorescence microscope (200×)



A: 对照; B: 50 µg/mL莪术油; C: 80 µg/mL莪术油; D: 110 µg/mL莪术油。
A: CK; B: 50 µg/mL ZTO; C: 80 µg/mL ZTO; D: 110 µg/mL ZTO.

图4 透射电镜下莪术油作用A549细胞48 h的细胞形态(6 000×)

Fig.4 The nuclear morphological changes in ZTO-treated A549 cells under TEM (6 000×)

48 h的A549细胞大部分呈现凋亡特征,胞浆浓缩、胞膜起泡,出芽,细胞体积逐渐变小,出现凋亡小体(图2C);经110 $\mu\text{g/mL}$ 莪术油作用48 h的A549细胞出现凋亡晚期现象(图2D)。

2.2.2 荧光显微镜观察细胞形态变化 经吖啶橙(AO)染色结果见图3,未经莪术油作用的人肺腺癌A549细胞数量较多,细胞体积较大且结构清晰,核近圆形,核仁显示橘黄色荧光,细胞质均匀;而经莪术油作用48 h后的细胞,与对照组相比差异显著(图3A)。细胞体积明显缩小、皱缩,核染色质浓缩甚至破裂成片状,提示为早期凋亡改变,细胞核显示致密浓染的亮黄色荧光,出现凋亡小体(图3B-3D)。

2.2.3 透射电镜下观察细胞形态变化 透射电镜下,观察未经药物处理的A549细胞的形态结构如图4A图所示,细胞为圆形,表面有球形质膜突起和微绒毛,细胞核较大,异形性明显,核膜表面可见切迹,胞质内含有丰富的细胞器,癌细胞胞质内,游离核蛋

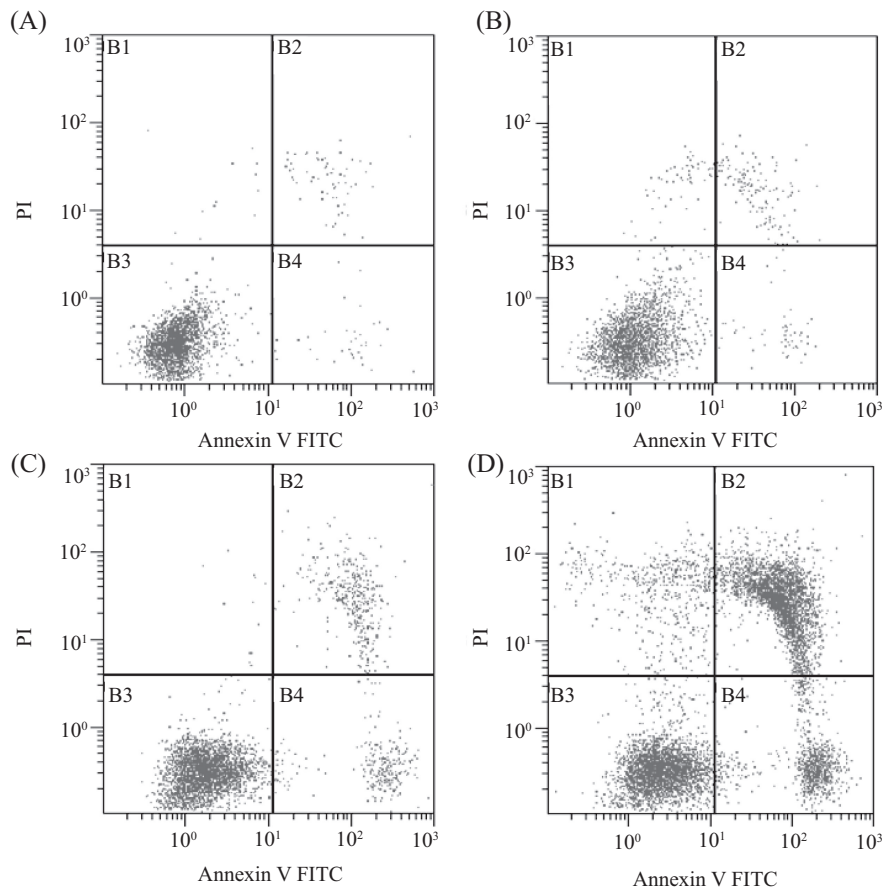
白体非常丰富,线粒体嵴清晰可见。经不同浓度莪术油作用48 h的细胞,其核固缩且核膜完整,异染色质边集在核膜下。线粒体大量絮状变性及空泡变性,游离核蛋白体减少,细胞表面微绒毛脱落减少,胞质内出现大量脂滴堆积,内质网扩张并分泌出颗粒,高尔基复合体扩张(图4B-4D)。

2.3 莪术油对肺腺癌A549细胞凋亡的影响

流式细胞术Annexin V-PI染色结果如图5和表2所示,莪术油能使肺腺癌A549细胞发生凋亡,随着药物浓度的不断增大早期凋亡细胞的百分比先升高后降低,当莪术油浓度为80 $\mu\text{g/mL}$ 时早期凋亡细胞百分比达到最大,为 $(27.31 \pm 0.43)\%$ ($P < 0.05$)。结果表明,莪术油作用A549细胞的浓度为80 $\mu\text{g/mL}$ 时,早期凋亡最明显。

2.4 莪术油对肺腺癌A549细胞 $\Delta\Psi_m$ 的影响

人肺腺癌A549细胞经莪术油处理后 $\Delta\Psi_m$ 变化结果见表3,对照组A549细胞的线粒体膜电



A: 对照; B: 50 $\mu\text{g/mL}$ 莪术油; C: 80 $\mu\text{g/mL}$ 莪术油; D: 110 $\mu\text{g/mL}$ 莪术油。

A: CK; B: 50 $\mu\text{g/mL}$ ZTO; C: 80 $\mu\text{g/mL}$ ZTO; D: 110 $\mu\text{g/mL}$ ZTO.

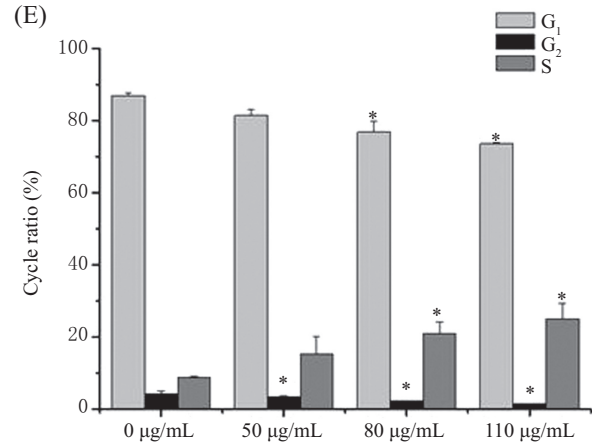
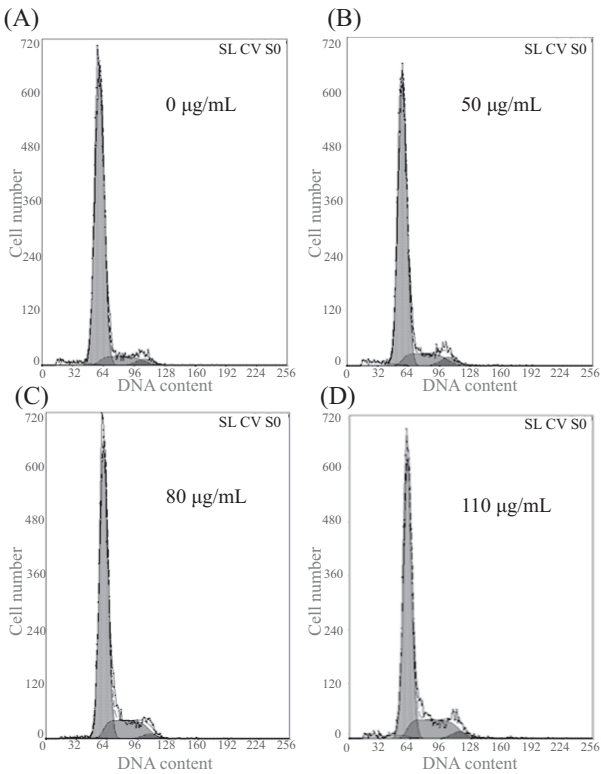
图5 莪术油作用A549细胞48 h Annexin V-FITC/PI凋亡检测

Fig.5 Annexin V-FITC/PI apoptosis detection of A549 cell treated with ZTO for 48 h

表2 莪术油作用A549细胞48 h Annexin V-FITC/PI凋亡检测
Table 2 Annexin V-FITC/PI apoptosis detection of A549 cell treated with ZTO for 48 h

浓度(μg/mL)	早期凋亡率(%)
Concentration (μg/mL)	Early apoptosis rate (%)
0	8.39±1.16
50	18.65±0.46*
80	27.31±0.43*
110	17.73±0.70*

0 μg/mL为对照组, **P*<0.05, 与对照组相比较。
0 μg/mL were assessed as control group, **P*<0.05 vs control group.



0 μg/mL为对照组, **P*<0.05, 与对照组相比较。
0 μg/mL were assessed as control group, **P*<0.05 vs control group.
图6 莪术油作用A549细胞48 h的细胞周期分布
Fig.6 The cell cycle distribution of A549 treated with ZTO for 48 h

表3 莪术油作用A549细胞48 h线粒体膜电位($\bar{x}\pm s$, *n*=3)
Table 3 The mitochondrial membrane potential of A549 cell treated with ZTO for 48 h ($\bar{x}\pm s$, *n*=3)

浓度(μg/mL)	线粒体膜电位
Concentration (μg/mL)	$\Delta\Psi_m$
0	600±3.52
50	558±4.25**
80	427±1.73**
110	305.33±3.66**

0 μg/mL为对照组, ***P*<0.01, 与对照组相比较。
0 μg/mL were assessed as control group, ***P*<0.01 vs control group.

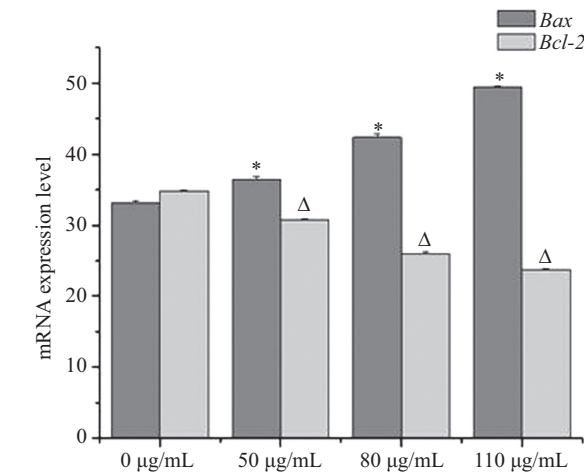
位为600±3.52(*P*<0.01), 当80 μg/mL的莪术油作用于A549细胞48 h后线粒体膜电位明显降低, 为427±1.73(*P*<0.01)。

2.5 莪术油对肺腺癌A549细胞周期的影响

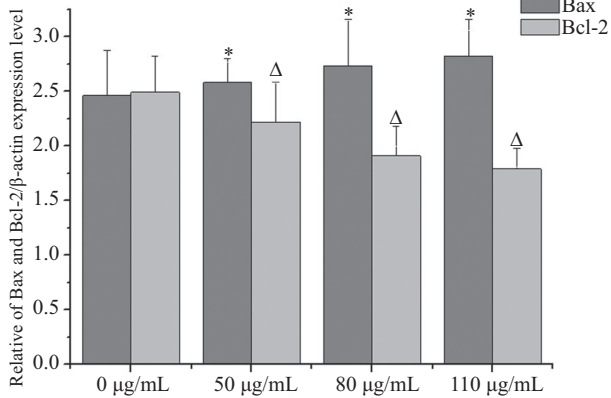
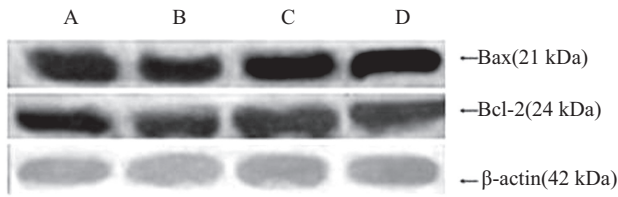
从图6可知, 对照组的细胞大多处于G₁期, 而S期相对较少, G₂期最少。经不同浓度莪术油作用细胞48 h后, G₁期细胞的含量逐渐减少, 而S期细胞的含量逐渐增加, G₂期细胞含量与对照组相比有先增加再逐渐降低的趋势。

2.6 莪术油对肺腺癌A549细胞*Bcl-2*和*Bax* mRNA表达水平的影响

应用定量PCR仪自带的数据分析软件可以获得对应的C_t值, 并采用power(2,-Delta-deltaC_t)法计算出各组细胞*Bax*、*Bcl-2* mRNA表达量见图7, 结果表明, 莪术油作用A549细胞可使*Bax*基因表达上调, *Bcl-2*基因表达下调, 差异有统计学意义(*P*<0.01)。



0 μg/mL为对照组, **P*<0.05, 与对照组相比较; Δ*P*<0.05 vs control group。
图7 A549细胞*Bax*与*Bcl-2* mRNA表达水平
Fig. 7 The *Bax* and *Bcl-2* mRNA expression level of the A549 cells



A: 对照; B: 50 μg/mL 莪术油; C: 80 μg/mL 莪术油; D: 110 μg/mL 莪术油, 0 μg/mL 为对照组, * $P < 0.05$, 与对照组相比较; $\Delta P < 0.05$, 与对照组相比较。

A: CK; B: 50 μg/mL ZTO; C: 80 μg/mL ZTO; D: 110 μg/mL ZTO. 0 μg/mL were assessed as control group, * $P < 0.05$ vs control group; $\Delta P < 0.05$ vs control group.

图8 莪术油作用A549细胞Bax、Bcl-2和β-Actin胞质蛋白 Western blot结果

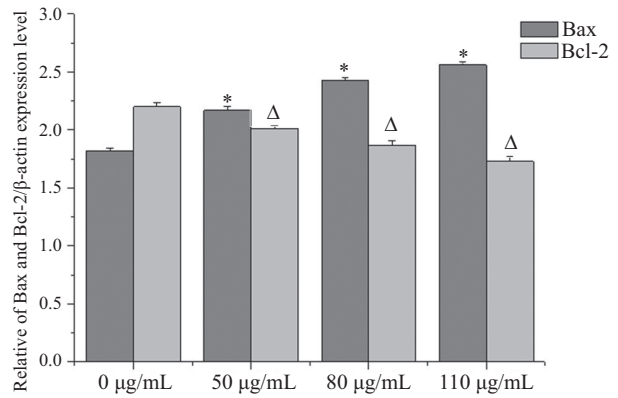
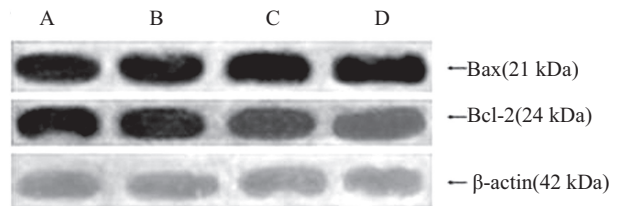
Fig.8 The Western blot results of Bax、Bcl-2 and β-Actin by A549 (cytoplasmic protein)

2.7 莪术油对肺腺癌A549细胞Bcl-2和Bax蛋白表达水平的影响

Western blot检测莪术油作用A549细胞48 h后胞质蛋白和膜蛋白中Bcl-2和Bax蛋白的表达分别见图8和图9, 莪术油作用A549细胞可使Bax蛋白水平上调, Bcl-2蛋白水平下调, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。

3 讨论

莪术主要产于广西、四川、浙江等地, 是姜科草本植物莪术、郁金香的根茎, 味辛、苦, 性温, 归肝、脾经, 具有行气破血、消积止痛的功效。莪术油是经温莪术蒸汽蒸馏得到的挥发油, 占莪术根茎1%~1.5%, 是一种有效的抗肿瘤药物。杨长福等^[6]研究表明, 莪术油可明显抑制肺腺癌A549细胞增殖, 并通过上调组织蛋白酶K诱导其G₀/G₁期细胞阻滞。吴冬梅等^[7]研究结果显示, 在鼻咽癌CNE-2细胞, 莪术油可以抑制其增殖并诱导其凋亡且与γ-射线联合应



A: 对照; B: 50 μg/mL 莪术油; C: 80 μg/mL 莪术油; D: 110 μg/mL 莪术油, 0 μg/mL 为对照组, * $P < 0.05$, 与对照组相比较; $\Delta P < 0.05$, 与对照组相比较。

A: CK; B: 50 μg/mL ZTO; C: 80 μg/mL ZTO; D: 110 μg/mL ZTO. 0 μg/mL were assessed as control group, * $P < 0.05$ vs control group; $\Delta P < 0.05$ vs control group.

图9 莪术油作用A549细胞Bax、Bcl-2和β-Actin膜蛋白 Western blot结果

Fig.9 The Western Blot results of Bax、Bcl-2 and β-Actin by A549 (membrane protein)

用有明显的增敏作用。本研究表明, 莪术油对人肺腺癌细胞株A549细胞生长不仅具有剂量依赖性抑制作用, 并且与细胞形态学结果一致。80 μg/mL 莪术油作用于A549细胞, 48 h时增殖抑制率为(77.462%±0.681%), 细胞凋亡率为(27.31%±0.43%), 细胞阻滞于S期和G₂期。

细胞凋亡是指在特定时空发生的、受机体严密调控的细胞自杀现象, 是一种基因控制的细胞自主性死亡过程, 是维持机体内环境稳定的重要机制之一。细胞凋亡的信号转导机制十分复杂, 目前认为至少有三条通路参与凋亡发生, 即线粒体通路、死亡受体通路和内质网通路。其中以线粒体通路最为经典^[8]。在细胞凋亡的早期, 线粒体结构会发生一些显著变化。一方面, 线粒体外膜通透性增加, 一些可溶性蛋白从膜间隙释放到胞浆; 另一方面, 线粒体跨膜电位降低。本研究用不同浓度的莪术油处理A549细胞48 h后, 流式细胞术Annexin V-PI染色结果表明, 莪术油能使肺腺癌A549细胞发生凋亡, 且

随着药物浓度的增大早期凋亡细胞的百分比先升高后降低, 莪术油浓度为80 $\mu\text{g/mL}$ 时早期凋亡细胞百分比达到最大, 为 $(27.31\% \pm 0.43\%) (P < 0.05)$ 。不同浓度的莪术油处理A549细胞48 h后, 对照组A549细胞的线粒体膜电位为 $600 \pm 3.52 (P < 0.01)$, 80 $\mu\text{g/mL}$ 的莪术油处理的A549细胞线粒体膜电位明显降低, 为 $427 \pm 1.73 (P < 0.01)$ 。

细胞凋亡程序是一个复杂的、涉及多基因的过程, Bcl-2家族是细胞内凋亡信号通路的基本成分^[9-10]。杨丽华等^[11]研究结果表明, 一定浓度的莪术油能抑制人乳腺癌MCF-7细胞增殖, 促进其凋亡; 其机制可能与调控Bcl-2、Bax表达有关。李小华等^[12]研究结果表明, 莪术油能通过调节Bcl-2、Bax蛋白的表达诱导细胞株凋亡抑制人乳腺癌MDA-MB-231细胞株的增殖。杨长福等^[6]研究结果表明, 莪术油能抑制肺腺癌A549细胞增殖, 阻滞细胞周期。还有研究表明, 莪术油能通过抑制DNA合成, 将细胞阻滞S期^[13]。孙宏岩等^[14]的研究结果表明, 莪术油能抑制胃癌细胞SGC-7901增殖, 并且可以诱导其凋亡。

本研究结果显示, 80 $\mu\text{g/mL}$ 莪术油作用于A549细胞48 h后, Bcl-2的表达下调, Bax的表达上调, Bcl-2/Bax比值显著降低。这些实验结果说明莪术油能抑制肺腺癌A549细胞增殖, 并且莪术油通过上调Bax下调Bcl-2途径诱导人肺腺癌细胞株A549凋亡。这些实验结果将为改善肺腺癌临床治疗方法提供新依据。但如何应用莪术油于肺腺癌临床治疗还有待进一步研究。

参考文献 (References)

- 1 满 伟. 莪术油药理研究及临床应用进展. 时珍国医国药(Man Wei. The progress of pharmacological research and clinical application of Zedoary turmeric oil. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research) 2000; 11(7): 663.
- 2 竺 远, 金凌芳. 莪术油葡萄糖注射液治疗毛细支气管炎疗效观察. 现代中西医结合杂志(Zhu Yuan, Jin Lingfang. The curative effect of capillary bronchitis by glucose injection of zedoary turmeric oil. Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine) 2005; 14(11): 1452.
- 3 黄艰东, 项 琪, 姚崇舜, 张奉学, 张 卉, 李校堃. 莪术油喷雾剂的研制及抗病毒作用的实验研究. 中药材(Huang Jiandong, Xiang Qi, Yao Chongshun, Zhang Fengxue, Zhang Hui, Li Xiaokun. Study on the preparation of zedoary turmeric oil spray and its anti-virus effects. Journal of Chinese Medicinal Materials) 2007; 30(3): 342-5.
- 4 宋爱莉, 殷玉琨. 莪术油干预治疗肿瘤的研究及应用概况. 山东中医药大学学报(Song Aili, Yin Yukun. The research and application of tumor therapy intervened by zedoary turmeric oil. Journal of Shandong University of TCM) 2008; 32(2): 172-4.
- 5 Lúcio KA, Rocha Gda G, Monção-Ribeiro LC, Fernandes J, Takiya CM, Gattass CR. Oleonic acid initiates apoptosis in non-small cell lung cancer cell lines and reduces metastasis of a B16F10 melanoma model *in vivo*. PLoS One 2011; 6(12): 1-10.
- 6 杨长福, 李亚东, 牛建昭, 王晓波, 黄春芳, 唐炳华, 等. 莪术油对肺腺癌A549细胞周期及组织蛋白酶K表达的影响. 中国实验方剂学杂志(Yang Changfu, Li Yadong, Niu Jianzhao, Wang Xiaobo, Huang Chunfang, Tang Binghua, *et al*. Influence of zedoary oil on cell cycle and cathepsin K expression in A549 cell line. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae) 2010; 16(8): 113-6.
- 7 吴冬梅, 杨荣宁. 莪术油对鼻咽癌CNE-2细胞的凋亡及放疗增敏机制的影响. 肿瘤防治研究(Wu Dongmei, Yang Rongning. Effect of zedoary oil for apoptosis and radiotherapy in human nasopharyngeal carcinoma cell line CNE-2. Cancer Prevention Research) 2008; 35(11): 778-82.
- 8 杨绍杰, 孟金萍, 屈 伟, 刘云波. 细胞凋亡信号传导通路的研究进展. 中国比较医学杂志(Yang Shaojie, Meng Jinping, Qu Wei, Liu Yunbo. The progress on the signal transduction pathways of apoptosis. Chinese Journal of Comparative Medicine) 2007; 17(5): 297-301.
- 9 Tan C, Dlugosz PJ, Peng J, Zhang Z, Lapolla SM, Plafker SM, *et al*. Auto-activation of the apoptosis protein Bax increases mitochondrial membrane permeability and is inhibited by Bcl-2. J Biol Chem 2006; 281(21): 14764-75.
- 10 Lindsay J, Esposti MD, Gilmore AP. Bcl-2 proteins and mitochondria-specificity in membrane targeting for death. Biochim Biophys Acta 2011; 1813(4): 532-9.
- 11 杨丽华, 姜 杰. 莪术油对人乳腺癌MCF-7细胞凋亡及Bcl-2、Bax表达的影响. 浙江中西医结合杂志(Yang Lihua, Jiang Jie. Influence of zedory turmeric oil on expression of Bcl-2/Bax in human breast cancer MCF-7 cells. Zhe jian JITCWM) 2010; 20(12): 741-3.
- 12 李小华, 孙毅毅. 莪术油通过诱导细胞凋亡抑制人乳腺癌MDA-MB-231细胞增殖. 西部医学(Li Xiaohua, Sun Yiyi. Ezhu oil inhibits human breast cancer cell line MDA-MB-231 proliferation by inducing apoptosis. Med J West China) 2011; 23(5): 811-3.
- 13 Yue PF, Lu XY, Liao MX, Yuan HL, Zhu WF, Yang M. The effect of oil components and homogenization conditions on the physicochemical properties of zedoary turmeric oil submicron emulsions. J Disper Sci Technol 2010; 31: 1535-40.
- 14 孙宏岩, 邵淑丽, 李 爽, 张伟伟. 莪术油对胃癌细胞SGC-7901增殖和凋亡的影响. 齐齐哈尔大学学报(Sun Hongyan, Shao Shuli, Li Shuang, Zhang Weiwei. The effect of proliferation and apoptosis in gastric cancer cell line SGC-7901 induced by Zedoary turmeric oil. Journal of Qiqihar University) 2012; 28(4): 33-7.