

# 白藜芦醇以 Caspase 依赖和非依赖两种方式 导致 Jurkat 细胞死亡

冯骥良<sup>1,2,3\*</sup> 温巧莲<sup>1</sup> 何伟玲<sup>1</sup> 熊正文<sup>2</sup> 徐冰心<sup>4</sup> 姚倩<sup>1</sup> 陈正华<sup>1</sup> 赵洲<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>甘肃亚盛集团北京博士后科研工作站, 北京 100101; <sup>2</sup>中国人民解放军第251医院病理科, 张家口 075000;

<sup>3</sup>中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810080; <sup>4</sup>中国人民解放军第306医院, 北京 100101)

**摘要** 应用形态学观察、流式细胞仪检测、Western 印迹和 DNA 凝胶电泳等方法研究白藜芦醇对 Jurkat 细胞的作用。发现白藜芦醇处理组中细胞有皱缩、出泡、染色质边集等现象, 但染色质浓缩呈散在团块状且不致密。细胞质结构疏松, 线粒体肿胀, 脊消失。少见凋亡小体。在白藜芦醇处理组, Western 印迹可检测到弱的 17 kDa caspase-3 条带, DNA 凝胶电泳可以检测到梯状 DNA 和弥散条带; 流式细胞仪在白藜芦醇处理组检测到大量 PI 单阳性细胞和少量膜联蛋白 V 单阳性细胞。Z-VAD-FMK 干预后可以发现细胞死亡率降低, 同时该组梯状 DNA 消失, 但是大分子量弥散 DNA 条带依然可以检测到。结果表明白藜芦醇可以通过 caspase 依赖和非依赖途径导致 Jurkat 细胞死亡。此分子机制的明确将为白藜芦醇应用于临床白血病的治疗打下理论基础。

**关键词** 白藜芦醇; Jurkat 细胞; caspase 非依赖性细胞死亡

白血病是严重危害人类健康与生命的疾病, 发病率在我国为 2.73/10 万人口<sup>[1]</sup>。其中, T 淋巴瘤细胞白血病发病急, 恶性程度高, 严重危害青少年的生命。目前用于治疗白血病的药物多为重金属制剂, 毒性大, 难以坚持使用。而一些传统中药的提取物, 如紫杉醇、榄香烯等由于疗效确切, 且副作用小, 越来越受到重视。白藜芦醇存在于许多药用植物中, 如决明、藜芦、虎杖。有的甚至就是食物, 如葡萄和花生。已有文献表明白藜芦醇具有抗炎、抗菌、抗氧化等作用, 因此国内外许多学者开始致力于此化合物及类似结构物质的研究工作, 希望通过阐明白藜芦醇的作用机制, 使其应用于疾病治疗。近年来的研究表明, 白藜芦醇具有抑制肿瘤细胞增殖<sup>[2]</sup>和诱导多种肿瘤细胞发生凋亡的作用<sup>[3,4]</sup>。我们的研究发现白藜芦醇诱导急性 T 淋巴瘤细胞白血病细胞株 Jurkat 细胞死亡是通过 caspase 依赖性和非依赖性两条途径实现的。

## 1 材料与方法

### 1.1 药物

白藜芦醇对照品购自 Sigma 公司, 分子量为 228.2, 纯度大于 98%。

### 1.2 细胞系及其培养

人 T 淋巴瘤细胞白血病 Jurkat 细胞株由第四军

医大学病理学教研室黄高昇教授惠赠。RPMI1640 培养基(含 10% 小牛血清), 于 37 °C、5%CO<sub>2</sub> 条件下培养。细胞生长至对数生长期分组并加药, 每瓶中细胞初始浓度 3 × 10<sup>5</sup> 个/ml。

### 1.3 细胞形态学观察

加药后每 6 h 倒置显微镜下观察细胞形态, 取片行 Wright-Giemsa 染色; 取含培养液的细胞 1 ml, 加 Hoechst33342 至终浓度 2 μg/ml, 避光 37 °C 染色 15 min, 离心, PBS 重悬细胞, 加 PI 至终浓度 10 μg/ml; 收集细胞 2 × 10<sup>6</sup> 个, 离心, 戊二醛固定, 透射电镜(JEM-2000EX, 日本)观察细胞超微结构变化。

### 1.4 流式细胞仪检测

取对数生长期细胞, 分为 0.1 mmol/L、0.15 mmol/L、0.2 mmol/L、0.25 mmol/L、0.3 mmol/L、0.35 mmol/L 白藜芦醇加药组及不加药对照组, 培养 12 h、24 h、36 h 后收集细胞。分别进行膜联蛋白(annexin)V 检测(Annexin V Detection Kit, Bender, Germany)和线粒体膜完整性检测(Mitocapture Kit, Calbiochem, Germany)具体步骤参见产品说明。

### 1.5 Western 印迹

细胞分组及处理同 1.4。提取各组总蛋白质(裂解液: 10 mmol/L Tris-HCl, 150 mmol/L NaCl, 1% Triton

收稿日期: 2006-03-30 接受日期: 2006-09-18

\* 通讯作者。Tel: 010-81605231, E-mail: jiliangfeng@yahoo.com.cn

X-100, 0.1% SDS, 1% 脱氧胆酸盐, 5 mmol/L EDTA, 1 mmol/L PMSF, 2  $\mu$ l 蛋白酶抑制剂混合液), 12% SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 转至 PVDF 膜。1% 牛血清白蛋白封闭非特异性抗原, 与一抗溶液杂交过夜(山羊抗人 caspase-3 多克隆抗体 1:1 000 稀释, 山羊抗人肌动蛋白多克隆抗体 1:1 000 稀释。一抗均为 santa cruz 产品); 兔抗山羊二抗购自中杉金桥公司, 1:2 000 稀释。

### 1.6 死亡抑制实验

取对数生长期细胞, 分为不加药对照组、白藜芦醇处理组(0.2 mmol/L 白藜芦醇)、Z-VAD-FMK 干预组(50  $\mu$ mol/L Z-VAD-FMK 与细胞预培养 2 h, 然后加入 0.2 mmol/L 白藜芦醇)、Z-VAD-FMK 对照组(50  $\mu$ mol/L), 收集各组培养 24 h 后细胞, 进行膜联蛋白 V 检测(Z-VAD-FMK 购自 R&D Systems 公司)。

### 1.7 DNA 电泳

收集细胞, PBS 洗涤 2 次, 加 450  $\mu$ l 细胞裂解液, 2  $\mu$ l 无 DNA 酶的 RNA 酶, 37  $^{\circ}$ C 2 h, 加 50  $\mu$ l 蛋白酶 K, 50  $^{\circ}$ C 过夜, 13 000 r/min, 4  $^{\circ}$ C 离心 15 min, 取上清液置另外 eppendorf 管中, 加 250  $\mu$ l 平衡酚, 250  $\mu$ l 氯仿, 13 000 r/min, 4  $^{\circ}$ C 离心 15 min, 取上清液置另外 eppendorf 管中, 加 500  $\mu$ l 氯仿, 13 000 r/min, 4  $^{\circ}$ C 离心 15 min, 取上清液置另外 eppendorf 管中, 加 500  $\mu$ l 无水乙醇, 14 000 r/min, 4  $^{\circ}$ C 离心 15 min, 弃上清液, 加 70% 乙醇, 13 000 r/min, 4  $^{\circ}$ C 离心 8 min, 弃上清液, 滤纸吸干管口, 自然晾干。20  $\mu$ l TE 溶解, 取 9  $\mu$ l 样品加 1  $\mu$ l 10  $\times$  加样缓冲液, 2% 琼脂糖凝胶电泳(含 0.5  $\mu$ g/ml EB), 45 V 恒压, 3 h 和 6 h 分别拍照(Bio Imaging Systems 凝胶成像系统, Syngene 公司, 美国)。100 bp DNA Ladder(MD109-1)和  $\lambda$ DNA/HindIII (MD202-1)Marker 购自天为时代科技有限公司。

## 2 结果

### 2.1 形态学观察

从 12 h 开始, 0.2 mmol/L 以上加药组倒置显微镜下可见一些细胞体积缩小, 细胞膜出现出泡现象, 随时间延长这些改变更为明显; 0.25 mmol/L 加药组处理 20 h, Wright-Giemsa 染色见细胞体积缩小, 染色质浓缩(图 1-1, 图 1-2); Hoechst33342-PI 荧光染色见白藜芦醇处理组内一些细胞体积缩小, 胞核呈红色或亮蓝色强荧光。部分细胞核碎裂呈局限于细胞内的、散在的点状红色荧光, 而少见游离于培养液中的体积较小的凋亡小体。对照组细胞核体积大, 呈均匀淡

蓝色荧光(图 1-3, 图 1-4); 透射电镜下见一些细胞体积缩小, 染色质浓缩、沿核膜边集等现象(图 1-5, 图 1-6)。另外一些细胞染色质碎裂、呈散在团块状<sup>[5]</sup>。胞浆结构疏松, 线粒体肿胀、脊消失(图 1-7)。

### 2.2 流式细胞仪分析

磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)的外翻是细胞发生凋亡的一个早期事件。膜联蛋白 V 可以检测细胞发生凋亡后 PS 的外翻。一些学者在 caspase 非依赖性细胞死亡模型中也检测到 PS 的外翻<sup>[6,7]</sup>(图 2)。

膜联蛋白 V 单阳性通常代表早期凋亡细胞, 而膜联蛋白 V、PI 双阳性的细胞群代表晚期凋亡细胞。以前人们认为 PI 单阳性细胞代表收集细胞过程中死亡的细胞或细胞碎片。但一些学者在 caspase 非依赖性细胞死亡模型中发现大量 PI 单阳性细胞, 且这部分细胞结构完整, 代表了细胞膜通透性的改变<sup>[8,9]</sup>我们在不同剂量白藜芦醇处理 Jurkat 后 12 h、24 h 和 36 h 检测点也检测到大量 PI 单阳性细胞(图 3)。

近来的研究表明, 线粒体膜通透性(mitochondrial membrane permeabilization, MMP)的改变是程序性细胞死亡, 包括经典型凋亡、凋亡样细胞死亡和坏死样细胞死亡信号传递途径中的重要环节<sup>[10]</sup>。因此, 对线粒体膜通透性改变的检测是确定细胞死亡的重要实验方法之一。Mitocapture Detection Kit 是特异性检测线粒体膜通透性变化的荧光染料。我们用其检测了不同剂量白藜芦醇在不同时间检测点的线粒体膜通透性变化(图 4)。

### 2.3 Western 印迹

caspase 的活化是确定细胞死亡类型的重要依据之一。通常, 在 caspase 依赖性的细胞死亡途径中, 可以检测到 caspase 的活化, 特别是前体 caspase-3 的切割。但是, 如果当死亡刺激物同时激活了 caspase 依赖和 caspase 非依赖性细胞死亡途径时, 检测到 caspase 的活化并不能排除不存在 caspase 非依赖性途径的活化。

Western 印迹结果发现不同浓度白藜芦醇作用 Jurkat 细胞后 24 h, 在对照组和各药物处理组均可检测到 caspase-3 的 34 kDa 前体条带, 而在不同浓度白藜芦醇处理组均可见非常弱的 17 kDa caspase-3 切割后条带, 而对照组未见(图 5)。这一结果与经典凋亡模型中可以检测到强的 17 kDa caspase-3 条带的模式不同。

### 2.4 死亡抑制实验

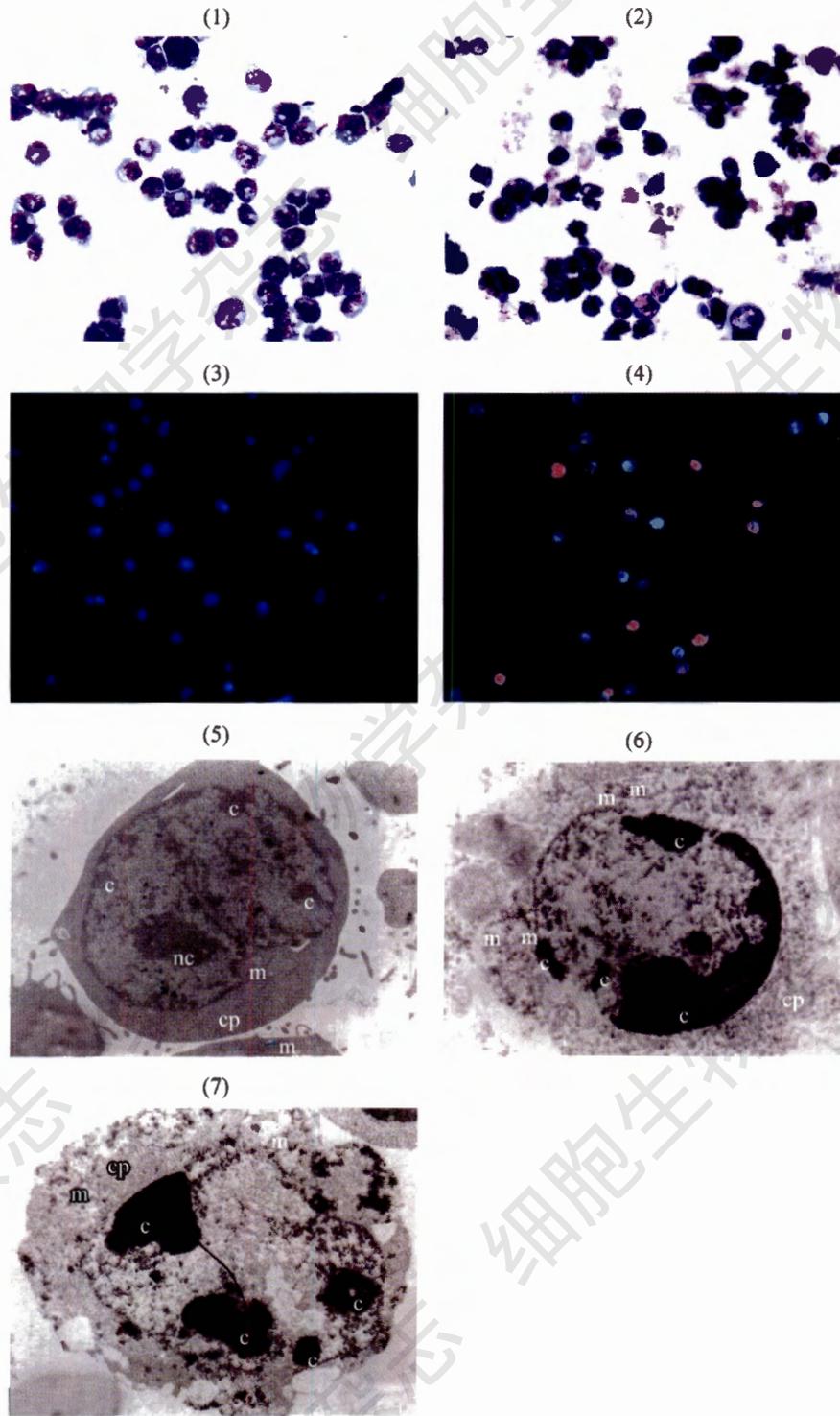


图1 白藜芦醇作用 Jurkat 细胞后的形态学观察

1: 未经白藜芦醇处理组 Jurkat 细胞 Wright-Giemsa 染色。细胞体积大, 核大, 染色质在核内分布均匀(400 ×); 2: 0.25 mmol/L 白藜芦醇处理 Jurkat 细胞 20 h Wright-Giemsa 染色。细胞体积缩小, 核深染, 染色质浓缩(400 ×); 3: 对照组 Jurkat 细胞 Hoechst33342-PI 荧光染色。细胞核体积大, 呈均匀淡蓝色荧光(200 ×); 4: 0.25 mmol/L 白藜芦醇处理 20 h Jurkat 细胞 Hoechst33342-PI 荧光染色。胞核呈红色或亮蓝色强荧光。部分细胞核碎裂呈局限于细胞内的、散在的点状红色荧光, 而少见游离于培养液中的体积较小的凋亡小体(200 ×); 5: 白藜芦醇未处理组 Jurkat 细胞透射电镜观察。细胞体积大, 胞核大, 染色质疏松、在核内分布均匀。cp: 细胞浆; c: 染色质; nc: 核仁; m: 线粒体(5 000 ×); 6: 0.25 mmol/L 白藜芦醇处理 20 h Jurkat 细胞透射电镜观察。细胞体积缩小, 胞膜出泡、团块状染色质浓缩、沿核膜边集等现象。细胞质结构疏松, 线粒体肿胀、脊消失。cp: 细胞浆; c: 染色质; m: 线粒体(5 000 ×); 7: 0.25 mmol/L 白藜芦醇处理 30 h Jurkat 细胞透射电镜观察。见胞质降解、核溶解等继发性坏死改变。cp: 细胞浆; c: 染色质; m: 线粒体(5 000 ×)。

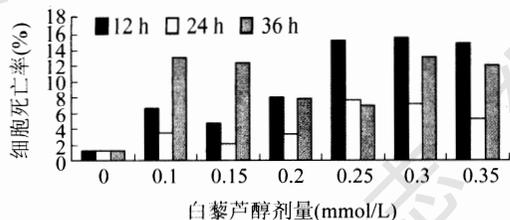


图2 流式细胞仪检测对照组及不同剂量白藜芦醇处理 12 h、24 h 和 36 h, 膜联蛋白 V 单阳性与膜联蛋白 V-PI 双阳性细胞死亡率之和

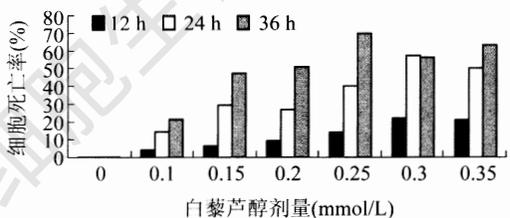


图3 流式细胞仪检测对照组及不同剂量白藜芦醇处理 12 h、24 h、36 h PI 阳性细胞率

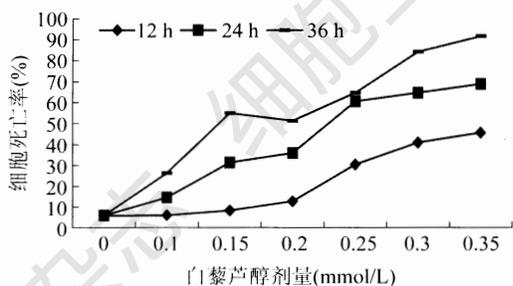


图4 流式细胞仪检测对照组及不同剂量白藜芦醇处理 12 h、24 h、36 h 线粒体膜通透性检测

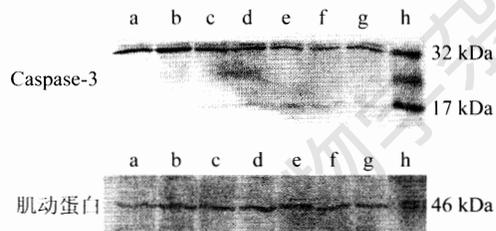


图5 Western 印迹检测对照组及不同剂量白藜芦醇处理 24 h caspase-3 的表达

a: 0 mmol/L; b: 0.1 mmol/L; c: 0.15 mmol/L; d: 0.2 mmol/L; e: 0.25 mmol/L; f: 0.3 mmol/L; g: 0.35 mmol/L; h: marker.

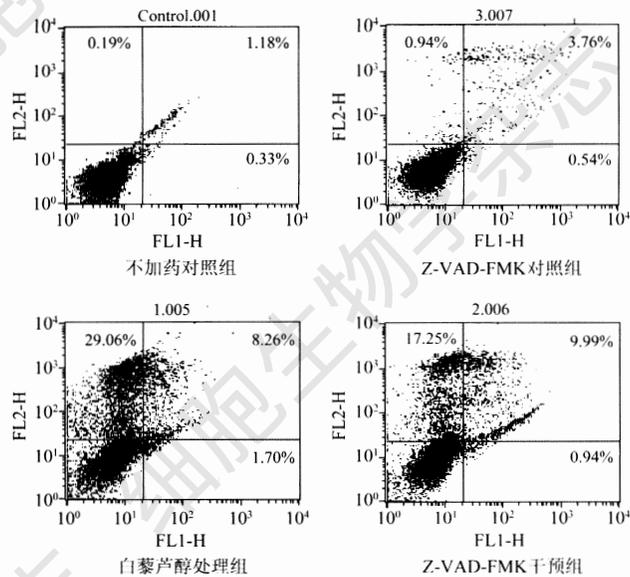


图6 流式细胞仪检测Z-VAD-FMK抑制后白藜芦醇加药组及对照组细胞死亡率

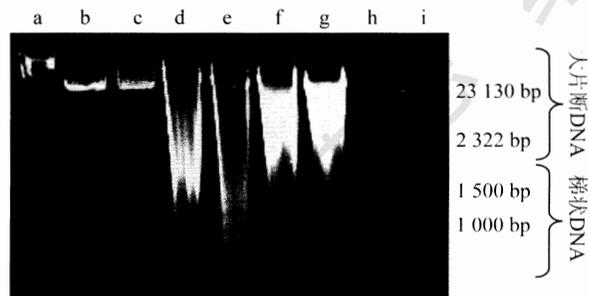


图7 对照组及不同剂量白藜芦醇加药组处理 24 h Jurkat 细胞 DNA 检测

a: 0 mmol/L; b: 0.1 mmol/L; c: 0.15 mmol/L; d: 0.2 mmol/L; e: 0.25 mmol/L; f: 0.3 mmol/L; g: 0.35 mmol/L; h: 100 bp DNA ladder; i:  $\lambda$ DNA/*Hind*III.

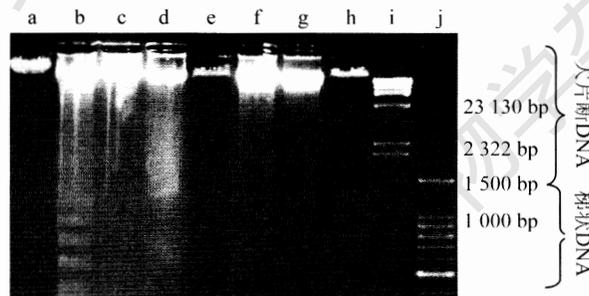


图8 死亡抑制实验各组 Jurkat 细胞 DNA 检测

a: 对照组; b: 0.2 mmol/L 白藜芦醇; c: 50  $\mu$ mol/L Z-VAD-FMK 与细胞预培养 2 h, 然后加入 0.2 mmol/L 白藜芦醇培养 20 h; d: 50  $\mu$ mol/L Z-VAD-FMK 与细胞预培养 2 h, 然后加入 0.2 mmol/L 白藜芦醇培养 30 h; e: 50  $\mu$ mol/L Z-VAD-FMK 对照组; f、g、h 为无关条带; i:  $\lambda$ DNA/*Hind*III; j: 100 bp DNA ladder.

Z-VAD-FMK 为 caspase 家族成员的广谱抑制剂, 可以抑制 caspase-1 和 caspase-3。在 caspase 非依赖性细胞死亡模型中, Z-VAD-FMK 虽然抑制了 caspase 的活性, 但却依然不能抑制细胞的死亡过程<sup>[11]</sup>。白藜芦醇加入到 Jurkat 细胞培养液后, 在 Z-VAD-FMK 干预组细胞死亡率约比单纯白藜芦醇处理组下降了 10.84%, 但依然有 17.25% 的细胞呈 PI 阳性(图 6)。

## 2.5 DNA 电泳

DNA 的片断化是衡量细胞死亡发生的重要指标之一。细胞发生经典的凋亡可以检测到梯状 DNA, 而在 caspase 非依赖性细胞死亡中, 可以检测到大片 DNA 的降解<sup>[12]</sup>。0.1 mmol/L、0.15 mmol/L、0.2 mmol/L、0.25 mmol/L、0.3 mmol/L、0.35 mmol/L 白藜芦醇作用 Jurkat 细胞 24 h, 琼脂糖凝胶电泳 3 h, 对照组、0.1 mmol/L 和 0.15 mmol/L 组未检测到梯状 DNA, 而 0.2 mmol/L、0.25 mmol/L、0.3 mmol/L、0.35 mmol/L 可以看到梯状 DNA 带; 延长电泳时间到 6 h, 0.2 mmol/L、0.25 mmol/L、0.3 mmol/L、0.35 mmol/L 组均可以看到大片断 DNA 条带, 而对照组、0.1 mmol/L 和 0.15 mmol/L 组未见(图 7)。用 Z-VAD-FMK 抑制 caspase 活性后, Z-VAD-FMK 干预组未检测到梯状 DNA, 而仍可见弥散状 DNA 条带(图 8), 说明依然存在大片 DNA 的降解。

## 3 讨论

白藜芦醇由于确切的抑制肿瘤作用, 使之有望成为治疗肿瘤的有效药物。但在对淋巴造血系统起源肿瘤的体外实验表明, 白藜芦醇导致不同类型肿瘤细胞死亡的分子机制不同。Clement 等<sup>[13]</sup>发现, 白藜芦醇可以通过上调 CD95L 的表达诱导髓系 HL-60 细胞发生凋亡。Rodrigue 等<sup>[14]</sup>报道白藜芦醇可以诱导红系 K562 白血病细胞发生分化。Bernhard 等<sup>[15]</sup>发现白藜芦醇可以诱导 T 淋巴母细胞瘤 CEM-C7H2 细胞株发生凋亡。本实验发现白藜芦醇可以通过激活 caspase 依赖和 caspase 非依赖性两条死亡信号转导途径导致急性 T 淋巴母细胞白血病 Jurkat 细胞死亡。

Caspases 家族成员在细胞发生凋亡中的重要作用已经得到了广泛的认可。但是有研究发现, 在某些类型的程序性细胞死亡模型中, 并不伴有 caspase 的活化, caspase 的抑制剂也不能够抑制细胞死亡。因此, 基于 caspase 的功能将程序性细胞死亡分为两大类: caspase 依赖型和 caspase 非依赖型。前者即典型的凋亡, 后者包括自噬性细胞死亡、副凋亡、

细胞有丝分裂灾难、胀亡以及凋亡样和坏死样程序性细胞死亡等<sup>[18,16]</sup>。

细胞凋亡的形态学改变包括细胞体积缩小、胞膜出泡。染色质沿核膜边集、固缩, 进而质膜包裹、分隔, 形成凋亡小体。胞浆固缩。线粒体及其他细胞器无明显改变; 不同剂量白藜芦醇加药组在 12 h、24 h 和 36 h 检测点, Wright-Giemsa 染色和电镜发现典型凋亡的细胞数量并不多。流式细胞仪检测到膜联蛋白 V 单阳性的细胞数量最多也仅 7.67%, 加上膜联蛋白 V、PI 双阳性的细胞不过 15.24%, 而 PI 单阳性细胞在各处理组中数量均多于膜联蛋白 V 单阳性和膜联蛋白 V、PI 双阳性的细胞。在 0.25 mmol/L 白藜芦醇、36 h 处理组, PI 单阳性细胞占到 69.75%, 而该组内 Annexin V 单阳性细胞为 0.68%, Annexin V、PI 双阳性的细胞为 6.29%。透射电镜下大部分细胞体积缩小, 染色质浓缩不致密, 呈团块状。晚期虽然可以观察到染色质的碎裂, 但大多浓缩、分隔的染色质团块局限于完整的细胞内; 胞浆结构疏松, 线粒体肿胀、脊消失。这些形态学特征均有别于经典的凋亡, 而与其他学者描述的凋亡样细胞死亡一致。

白藜芦醇处理 Jurkat 细胞后我们检测到了大片断 DNA 的降解, 这与其他有关 caspase 非依赖性细胞死亡的报道一致。但是我们也检测到了低分子量的梯状 DNA。通常认为, 梯状 DNA 的形成必然是 caspase 活化的结果。我们的确检测到了非常弱的 caspase-3 的活化形式, 这可以解释梯状 DNA 的形成。用 Z-VAD-FMK 抑制 caspase 活性后, DNA 电泳未检测到梯状 DNA, 而依然有弥散的条带。流式细胞仪也检测到 Z-VAD-FMK 干预组细胞死亡率比白藜芦醇处理组下降了 10.84%, 但依然有 17.25% 的细胞呈 PI 阳性。这些结果均提示白藜芦醇作用 Jurkat 细胞的死亡信号途径可能同时激活了 caspase 依赖和 caspase 非依赖性途径。

某一种死亡刺激可能引起细胞多个死亡通路的活化, 这种现象并不罕见。细胞最终发生什么样的死亡主要取决于被活化通路发挥作用的速度。如果 caspase 通路发挥作用快, 则表现为凋亡。但是某些情况下, 比如 caspase 通路受阻时, caspase 通路不发挥作用或者速度慢于其他通路, 细胞就会表现为凋亡样或坏死样细胞死亡<sup>[17]</sup>。从形态学角度看, 白藜芦醇作用 Jurkat 细胞的变化符合凋亡样细胞死亡的特征, 而 caspase-3 的活化和梯状 DNA 的形成很可能是同时激活了凋亡途径, 但该通路不占优势, 而在形态

学上表现为凋亡样细胞死亡为主。

程序性细胞死亡对维持多细胞生物的发育和生理功能是必须的。但是对于生命体来说仅仅依赖一种细胞死亡的方式来清除不需要的或有害的细胞是危险的。自噬性细胞死亡、有丝分裂灾难、坏死样细胞死亡、凋亡样细胞死亡等不同于凋亡的细胞死亡形式在很多种生物的生理或病理状态下是普遍存在的,但我们对其分子机制的了解远比对经典凋亡少。相信对不同细胞死亡方式分子机制的研究将对人类疾病的发生、治疗乃至认识生命现象本身都有深远的意义。

#### 参考文献(References)

- [1] 杨崇礼等. *中华血液病杂志*, 1989, **10**: 618
- [2] Carbo N *et al. Biochem Biophys Res Commun*, 1999, **254**: 739
- [3] Tinhofer I *et al. FASEB J*, 2001, **15**: 1613
- [4] Hsieh TC *et al. Exp Cell Res*, 1999, **249**: 109
- [5] Leist M *et al. Nat Rev Mol Cell Biol*, 2001, **2**: 1
- [6] Johansson U *et al. Scand J Immunol*, 2004, **59**: 40
- [7] Castaigne JG *et al. Int Immunol*, 2002, **14**: 1003
- [8] Chipuk JE *et al. Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, **6**: 268
- [9] Granot T *et al. Leukemia*, 2006, **20**: 392
- [10] Jaattela M *et al. Nat Immunol*, 2003, **4**: 416
- [11] Kroemer G *et al. Nat Med*, 2005, **11**: 725
- [12] Daugas E *et al. FASEB J*, 2000, **14**: 729
- [13] Clement MV *et al. Blood*, 1998, **92**: 996
- [14] Rodrigue CM *et al. Br J Haematol*, 2001, **113**: 500
- [15] Bernhard D *et al. Cancer Lett*, 2003, **195**: 193
- [16] Okada H *et al. Nat Rev Cancer*, 2004, **4**: 592
- [17] Schulze-Osthoff K *et al. EMBO J*, 1994, **13**: 4587

## Resveratrol Triggers both Caspase Independent and Dependent Cell Death Pathway in T Lymphoblast Leukemia Jurkat Cells

Ji-liang Feng<sup>1, 2, 3\*</sup>, Qiao-lian Wen<sup>1</sup>, We-Ling He<sup>1</sup>, Zheng-Wen Xiong<sup>2</sup>, Bing-Xin Xu<sup>4</sup>,  
Qian Yao<sup>1</sup>, Zheng-Hua Chen<sup>1</sup>, Zhou Zhao<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Beijing Postdoc Workstation of Gansu Yasheng Industrial (Group) Co, Ltd, Beijing 100101, China; <sup>2</sup>Pathological Department of the 251st Military Hospital, People's Liberation Army, Zhangjiakou 075000, China; <sup>3</sup>Northwest Institute of Plateau Biology, China Academy of Sciences, Xining 810080, China; <sup>4</sup>The 306th Hospital of People's Liberation Army, Beijing 100101, China)

**Abstract** To study effects of resveratrol on acute lymphoblast leukemia Jurkat cell line, morphologic changes were observed under light microscope, fluorescence microscope and electron microscope. Cell death was determined by phosphatidylserine translocation and mitochondrial membrane permeabilization with flow cytometry (FCM). Western blot was conducted to detect the activation of caspase-3. DNA ladder was detected with gel electrophoresis. In resveratrol treatment groups, cell shrinkage, blebbing, margination and lumpy chromatin condensation, mitochondrial swelling and cristae membrane loss were observed under light microscope and electron microscope in treatment groups. More PI positive cells versus fewer annexin V positive cells were detected in 0.2 mmol/L and higher concentration groups at 24 h and 36 h check points in FCM evaluation. Western blot detected the activated 17 kDa caspase-3 in all treatment groups while negative in control. Cell death can be partly inhibited by pan-caspase inhibitor, Z-VAD-FMK. Gel electrophoresis displayed both DNA ladder and smear in resveratrol exposed groups, while DNA ladder disappeared in Z-VAD-FMK inhibiting group and left only smear. The above data suggest that resveratrol can induce both caspase dependent and independent cell death of Jurkat cells. Molecular understanding of resveratrol in Jurkat cell will be helpful in its future clinic application.

**Key words** resveratrol; Jurkat cell; caspase independent cell death

Received: March 30, 2006 Accepted: September 18, 2006

\*Corresponding author. Tel: 86-10-81605231, E-mail: jiliangfeng@yahoo.com.cn