

γ -五味子素对癌细胞 DNA, ATP 和核蛋白代谢的影响

刘力生 肖显华 王肖莹 郑荣梁 周秀芳 (兰州大学生物物理教研室, 兰州 730001)

提要 用体外细胞培养 $[^3\text{H}]\text{TdR}$ 参入法, 培养 42 h, γ -五味子素 99 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时, 对小鼠腹水型肝癌细胞, 小鼠 S180-V 癌细胞和人胚肺成纤维细胞 DNA 合成的平均抑制率分别为 85%, 76% 和 50%。小鼠腹水型肝癌细胞经 12, 24, 36 和 48 h 培养后, 用钽盐提取法分离其核蛋白, γ -五味子素 99 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时, 核蛋白的抑制

率依次为 12%, 30%, 37% 和 33%, 用电泳分离 ATP, 其抑制率依次为 56%, 58%, 50% 和 66%。

关键词 γ -五味子素; DNA; ATP; 核蛋白; 腹水型肝癌; S180-V 癌细胞

五味子 (*Schisandra chinensis* Baill) 果实的提取物—— γ -五味子素 (国内曾命名为乙素) 能

1983年1月12日收稿 1983年6月17日修回

治疗肝炎^(1,2)。它具有二苯八元环双烯骨架⁽²⁾，此类衍生物对白血病及体外培养的KB细胞有细胞毒作用⁽³⁾。本文研究它对小鼠腹水型肝癌细胞和S180-V癌细胞中DNA、ATP和核蛋白代谢的影响。

实验材料

癌细胞取接种后5d小鼠腹水型肝癌细胞，用生理盐水洗涤，培养液稀释计数，并配成所需浓度体外培养。小鼠S180-V癌细胞株从中国科学院动物研究所引进。人胚肺成纤维细胞(KMB-17)27代(兰州生物制品研究所提供)，用Eagle's液加10%小牛血清培养。

[³H]TdR(37 Ci/mmol)：上海原子核研究所产品；[³²P]磷酸氢二钠：中国科学院原子能研究所出品。

ATP：西德Boehringer出品。

方法和结果

DNA合成 按文献^(4,5)。用培养液配成每ml含 3×10^5 个小鼠腹水型肝癌细胞或S180-V癌细胞或人胚肺成纤维细胞悬液，每瓶5ml，于37℃培养24-26h后，实验组加1%γ-五味子素悬液0.05ml(使γ-五味子素的浓度为99 μg/ml)，对照组加0.05ml%吐温-80溶

Tab 1. Inhibition of γ-schisandrin 99 μg/ml on incorporation of [³H]TdR into DNA of ascitic hepatoma, S180-V in mice and human embryo lung fibroblast cells (KMB-17). $\bar{x} \pm SD$, ***p<0.01

	Group	[³ H]TdR in DNA ($\times 10^{-3}$ cpm)
Hepatoma	Control	17 ± 3
	Treated	2.6 ± 0.6***
S180-V	Control	50 ± 8
	Treated	12 ± 6***
KMB-17	Control	86 ± 16
	Treated	43 ± 6***

液。继续培养24h，加0.05ml[³H]TdR，使培养液的放射性比度为1 μCi/ml。再培养17h，然后离心、洗涤、消化并用闪烁液10ml分3次将消化物全部移入闪烁杯。置FJ-353 G型双道液体闪烁计数器测量。结果见表1，γ-五味子素99 μg/ml对小鼠腹水型肝癌细胞和S180-V癌细胞的DNA合成的抑制率分别为85%和76%。对人胚肺成纤维细胞的抑制率只有50%。

核蛋白代谢 方法同上，唯标记物改用[³²P]磷酸氢二钠。同时加入药物和标记物后，分别培养12, 24, 36和48h取出癌细胞在0-4℃下用生理盐水5ml洗涤癌细胞4次，然后加入10%三氯醋酸1ml，以3500-4000 rpm的匀浆器研磨5min。用钡盐提取法分离核蛋白和ATP。

将上述细胞匀浆经重复萃取的酸不溶组份制成2.0ml悬液，取0.20ml，铺样在铝碟上，干燥后用FJ-367型闪烁探头进行β射线的测量，取重复3个样品cpm的平均值。对照组和实验组的³²P参入核蛋白的量，对时间呈线性关系，各对应时间实验组的³²P参入率都比对照组的低，其抑制率依次为12%，30%，37%和33%(图1a)。

ATP代谢 从上法分得含ATP等腺苷类物质的酸溶钡不溶组份。用标准ATP作对照，电泳分离样品中的ATP，如前法测量其放射性强度，结果如图1b，各对应时间实验组比对照组的抑制率依次为56%，58%，50%和66%。

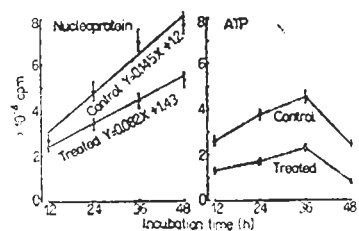


Fig 1. Incorporation of ³²P into nucleoprotein and ATP of ascitic hepatoma cells in mice treated with γ-schisandrin 99 μg/ml. $\bar{x} \pm SD$

讨 论

TdR 是 DNA 合成所必需的前身物, 而癌细胞的增殖速率与 $[^3\text{H}]\text{TdR}$ 参入 DNA 的速率是基本一致的⁽⁶⁾, 所以它的参入率可以反映细胞的增殖能力. ATP 和核蛋白代谢都是细胞的重要生理功能之一, ^{32}P 参入 ATP 和核蛋白的速率也同样可以反映细胞的代谢活力. 当 γ -五味子素 99 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时, 能明显抑制小鼠腹水型肝癌细胞和 S180-V 癌细胞的 $[^3\text{H}]\text{TdR}$ 参入率; 还能抑制腹水型肝癌细胞的核蛋白和 ATP 代谢的动态过程, 表明 γ -五味子素对癌细胞的增殖和代谢都是不利的. 但 ip γ -五味子素 500 mg/kg qd \times 4 d, 18 只小鼠在 1 wk 内无死亡, 它的毒性很低⁽¹⁾. 因此, γ -五味子素在癌

症治疗中也许是有希望的.

致谢 γ -五味子素是广州医药工业研究所提供的, 细胞培养工作得到全允栩教授的指导 and 叶涟漪、沈心亮、张龙弟、邱山同志的协助.

参 考 文 献

- 1 包天桐、徐桂芳、刘耕陶、张凌云、庄镇华、宋振玉. 中华医学杂志 1975;55:498
- 2 刘嘉森、方圣鼎、黄梅芬、高耀良、徐任生. 中国科学 1978;(2):232
- 3 Kupchan SM, Britton RW, Ziegler MF, Gilmore CJ, Restivo RJ, Bryan RF. *J Am Chem Soc* 1973; 95:1335
- 4 Zittoun R, Bouchard M, Facquet-Danis J, Percie-du-Sert M, Bousser J. *Cancer* 1975; 35:507
- 5 Lea MA, Morris HP, Weber G. *Cancer Res* 1966; 26:465

Acta Pharmacologica Sinica 1984 Jun; 5 (2) : 130-132

EFFECT OF γ -SCHISANDRIN ON METABOLISM OF DNA, ATP AND NUCLEOPROTEIN OF CANCER CELLS

LIU Li-sheng, XIAO Xian-hua, WANG Xiao-xuan, ZHENG Rong-liang, ZHOU Xiu-fang

(Section of Biophysics, Lanzhou University, Lanzhou 730001)

ABSTRACT By means of $[^3\text{H}]$ thymidine incorporation method, after incubation for 42 h *in vitro*, the DNA synthesis of ascitic hepatoma, S180-V cells in mice and human embryo lung fibroblast cells were inhibited by γ -schisandrin (99 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 85%, 76% and 50%, respectively.

After treatment with γ -schisandrin 99 $\mu\text{g}/\text{ml}$ for 12, 24, 36 and 48 h, the nucleoprotein of

ascitic hepatoma cells extracted by barium acetate were inhibited 12%, 30%, 37% and 33%, and their ATP isolated by electrophoresis 56%, 58%, 50% and 66%, respectively.

KEY WORDS γ -schisandrin, DNA, ATP, nucleoproteins, ascitic hepatoma, S180-V cells