



投稿



查稿



网上商城



考试



期刊



视频

专科文献

在线投稿 稿件查询 期刊阅读

搜索: 请输入您想要的信息 搜索 高级搜索

您当前位置: 首页 >> 专科文献>> 泌尿外科

泌尿外科

茶多酚诱导膀胱癌T24细胞株凋亡及上调PTEN表达

发表时间: 2011-10-12 8:31:40 来源: 创新医学网医学编辑部推荐

作者: 应荣培 作者单位: 317600 浙江省玉环县中医院

【摘要】 目的 探讨茶多酚抑制膀胱癌细胞生长的可能分子机制。方法 采用MTT法和流式细胞术,观察膀胱癌细胞系T24经不同浓度的茶多酚处理后对细胞生长以及PTEN蛋白表达的影响。结果 茶多酚以剂量依赖的方式抑制膀胱癌细胞的生长,加入0、50、100、200、400 $\mu\text{g/ml}$ 茶多酚的T24细胞抑制率分别为0%、11.2%、33.4%、36.9%、67.5%。流式细胞仪直方图上可见亚二倍体峰,癌细胞出现凋亡,凋亡率分别为6.8%、25.1%、28.6%、36.6%、41.1%;同时,随茶多酚作用浓度的增加,出现G1/S阻滞细胞逐渐增多,细胞分裂增殖指数(PI)降低;而细胞PTEN蛋白表达水平由(37.66 \pm 0.49)逐渐增加至(163.92 \pm 3.36)($P<0.01$)。结论 茶多酚对T24细胞生长具有抑制作用,其机制可能是通过上调PTEN蛋白表达影响细胞周期和诱导细胞凋亡。PTEN蛋白表达水平的上调可能具有逆转细胞恶性生物学行为作用。

用。

【关键词】 茶多酚 膀胱癌 凋亡 PTEN蛋白

【Abstract】 Objective To explore the molecular mechanism of inhibition effect of tea polyphenols on the growth of bladder carcinoma cell lines. Methods MTT assay and flow cytometry(FCM) analysis were applied to investigate the effects of TP on the cellular growth, proliferation cycle, apoptosis, and the expression of PTEN in bladder carcinoma cell lines. Results To inhibited the growth and induced apoptosis of T24 cells in a dose-dependent manner, under the dosages of 0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 、50 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 、100 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 、200 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ and 400 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ average inhibitory rate were 0%、11.2%、33.4%、36.9% and 67.5%, and hypodiploid peaks on FCM histogram. Apoptosis rate were 6.8%、25.1%、28.6%、36.6%、41.1%;Moreover, the cell cycle could be arrested at G1/S checkpoint, also made G1 phase cell markedly increasing and the cell proliferating index (PI) also decreased. At the same time, the expression of PTEN increased from 37.66 \pm 0.49 to 163.92 \pm 3.36($P<0.01$) with TP treatment. Conclusion TP has the inhibitory effects on the cellular growth, and the mechanism may be associated with influence in the cell cycle and induction of apoptosis in T24 cell lines. The cell cycle and apoptosis are associated with TP-induced increase of PTEN protein level in the tumor cell lines. At the same time, the up-regulation of the PTEN's expression by TP also has a possible reversing effects on malignant tumor cells.

【Key Words】 Tea polyphenols Carcinoma of bladder Apoptosis PTEN

茶多酚(TP)是茶叶中最具有抗肿瘤活性的酚类及其衍生物为主的酚类化合物。研究发现,茶及茶多酚能抑制膀胱癌发生和进展[1, 2]。作者于2005年9月至2006年5月用TP作用体外培养的膀胱癌T24细胞株,观察TP对膀胱癌T24细胞株生长及其PTEN蛋白表达水平的影响,探讨TP抑制肿瘤细胞株生长的可能分子机制。

1 材料与方法

特色服务
Serves

- 论文推荐
- 著书代理
- 统计学分析
- 学分获取
- 专业修稿
- 专业审稿
- 英文翻译
- 写作辅导

期刊约稿

- 中国社区医师
- 医学信息
- 吉林医学
- 按摩与康复医学
- 临床合理用药杂志

推荐期刊

中国社区医师

- 期刊介绍
- 在线阅读
- 在线订阅
- 在线投稿

学术编委
风采展示



在线客服...

QQ留言 1254635326
QQ交谈 4006089123
545493140(重要)
400-6089-123 68590972

1.1 膀胱癌细胞株T24的培养 膀胱移行上皮癌细胞T24株购于中国科学院上海细胞生化研究所,于含10%小牛血清的RPMI1640 (Sigma, USA)培养液中37℃、5%CO₂培养。

1.2 MTT法观察 用含10%小牛血清的RPMI1640培养液,分别将2种对数生长期的膀胱癌细胞调制成5×10⁴/ml的单细胞悬液,接种于96孔板(0.2ml/孔)。设空白阴性对照及不同浓度(50、100、200、400μg/ml)的TP组(中国茶叶研究所),各设5个平行孔,培养48h,实验终止前4h加入MTT(Sigma,USA)液(5mg/ml)10μl/孔,反应完毕弃上清液加入DMSO 100μl/孔溶解沉淀,轻轻振动后用波长570 nm的酶联仪测定各孔的OD值,求出生长抑制率IR=(1-用药组平均OD值/对照组平均OD值)×100%。上述所有实验均重复3次。

1.3 流式细胞仪测定(FCM) 取对数生长期的膀胱癌细胞,取1×10⁶/ml细胞接种到96孔培养板(0.2ml/孔),每组3孔。加入不同浓度的TP,并各设2个平行组为TP组;另外,加入等体积生理盐水的RPMI1640细胞培养液设为对照组。培养48h后,以0.25%胰蛋白酶(Sigma,USA)消化,制成细胞悬液,TP组和对照组分别进行下列检测:(1) PBS洗涤2次,加入10mg/L RNaseA 200μl,水浴30min,碘化丙啶染色30min,4℃避光。FCM(BD,USA)检测细胞周期,并计算细胞分裂增殖指数(PI)=(S+G2M)/(G1+S+G2M)×100%。(2)平行组和对照组分别加入鼠抗人PTEN(MBI,USA) 20μl, PBS 洗涤5min×3次。加入FITC标记的羊抗鼠IgG(Zymed,USA),37℃孵育30min, PBS冲洗5 min×3次。对照组1:40稀释的羊抗鼠IgG-FITC抗体20μl,4℃孵育30 min后,FCM检测膀胱癌细胞PTEN的表达,并以荧光强度的几何均数表示。(3)平等组和对照组分别Celleguest 软件分析FLA直方图获取的阳性标记细胞的凋亡率(APO)。上述所有实验均重复3次。

1.4 统计学处理 结果以均数±标准差(x±s)表示,运用SPSS 10.0软件中的组间采用t检验。

2 结果

2.1 TP 抑制膀胱癌细胞生长和细胞增殖周期的影响 在不同浓度TP处理48h后,T24细胞的生长抑制率随着TP浓度从0μg/ml升到400μg/ml,其抑制率为从0增加至11.2%、33.4%、36.9%、67.5%,TP的浓度与其抑制率显示明显的正相量效关系。同时,FCM分析发现:G₁期细胞所占细胞周期的百分比随着TP浓度的增加而增加,S期和G₂M期细胞逐渐减少,同时随着TP浓度的增加,PI值逐渐减小,提示细胞分裂增殖活动逐渐减弱,细胞各周期中的变化也显示一定的量效关系。

注:TP 作用组与对照组比较:△P<0.01,*P<0.05

2.2 TP 诱导T24细胞凋亡 PI染色FCM检测可见在正常G₁期峰前出现不同于细胞碎片图形的亚二倍体峰(凋亡峰),目前认为此峰的出现是确定细胞发生凋亡的三个标志之一。随着TP浓度的增加,T24细胞的凋亡率亦逐渐增加,分别由空白对照组的6.8%逐渐增加至TP作用浓度为400μg/ml的41.2%,提示TP诱导T24细胞凋亡率有一定的量效关系。

2.3 TP上调PTEN蛋白的表达 由表可见,随着TP作用浓度的升高,T24细胞PTEN蛋白的表达水平逐渐增强,并与TP抑制细胞的生长(IR值),诱导癌细胞凋亡率相平行。在TP>50μg/ml的各个浓度点,各细胞株与其对照组的PTEN蛋白表达比较,有显著性差异(P<0.05或P<0.001)。

3 讨论

茶多酚是非细胞毒类药物,具有很强的抗氧化作用,能防止自由基对DNA大分子的损伤和脂质过氧化作用,并可通过对基因的调控或抑制DNA复制相关酶的活性和核苷转运而影响DNA合成,也可通过提高机体免疫功能,诱导细胞凋亡等作用抑制癌细胞的增殖、浸润和转移[1~4]。

PTEN是一个具有双特异磷酸酶活性的抑癌基因,PTEN蛋白活性影响细胞和细胞外基质的相互作用及细胞间粘附功能,它能干扰细胞信号传导,使细胞阻滞于G₁期并使其对凋亡敏感,并具有抗肿瘤细胞浸润、转移作用[5~7]。Tanaka等[8]将野生型PTEN通过腺病毒载体导入UMUC23和T24膀胱癌细胞系,使PTEN过表达,抑制了PKB/Akt的磷酸化活性,细胞出现了细胞周期G₁期的停滞,生长抑制,形态也发生了明显的变化,而且对化疗药物的敏感性增强。在乳腺癌细胞的研究中证实,茶多酚的重要成分表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)和黄酮类化合物(flavopiridol)分别通过对G₁期细胞的p21、p27、cyclins和CDKs的调节而产生生长抑制作用[3,4]。本实验发现,茶多酚以一定的剂量依赖关系抑制膀胱癌细胞生长,上调膀胱癌细胞PTEN蛋白的表达,使膀胱癌细胞阻滞于G₁/S限制点,并诱导T24细胞凋亡。推测茶多酚可能通过PTEN表达的上调,调节cyclinE/D、CDKs、CKIs等活性,通过pRb和/或p53依赖或非依赖等途径,抑制膀胱癌细胞生长增殖,并诱导细胞凋亡。两方面的协同作用可能是TP杀灭肿瘤细胞的作用机制之一。

总之,TP不但能抑制肿瘤细胞增殖,同时也能诱导肿瘤细胞凋亡和上调PTEN表达,对其双重抗肿瘤作用分子机制的深入研究,有助于TP药用开发及利用,为TP应用于临床治疗肿瘤提供理论基础。

【参考文献】

1 Lin SS, Hung CF, Tyan YS, et al. Ellagic [correction of ellagica] acid inhibits arylamine Nacetyltransferase activity and DNA adduct formation in human bladder tumor cell lines (T24 and TSGH 8301). Urol Res,2001,29 (6):371~376.

2 Sato D. Inhibition of urinary of bladder tumors induced by N-butyl-N- (4-hydroxybutyl) -nitrosamine in rats by green tea. Int J Urol,1999,6(2):93~99.

3 Lian YC, Lin Shiao YC, Chen CF, et al . Inhibition of cyclin dependent kinases2 and 4 activities as well as induction of Cdk inhibitors p21 and p27 during growth arrest of human breast carcinoma cell by (2)-epigallocatechin 3 gallate. J Cell Biochem, 1999,75(1):1~12.

4 Garlson BA, Dubai MM, Sausville EA, et al . Flavopiridol induces G1 arrest with inhibition of cyclin dependent kinase (CDK2 and CKD4)in human breast carcinoma cells. Cancer Res,1996,56 (13) :2973~2978.

5 Tamura M, Gu J, Matsumoto K, et al . Inhibition of cell migration, spreading, and focal adhesion by tumor suppressor PTEN. Science,1998,280 (5539):1614~1617.

6 Persad A, Attwell S, Gray V, et al . Inhibition of integrin linked kinase (ILK) suppresses activation of protein kinase B/Akt and induces cell cycle arrest and apoptosis of PTEN-mutant prostate cancer cells .Proc Natl Acad Sci USA,2000, 97:3207~3212.

7 Tanaka M, Koul D, Davies MA, et al . MMAC1/ PTEN inhibits cell growth and induces chemosensitivity to doxorubicin in human bladder cancer cells.Oncogene,2000,19 (147) :5406~5412.

最热点



创新之冠花落谁家?



医学编辑中心成立了



考试第一练兵平台



看视频学在线投稿

相关文章



▶ 茶多酚诱导膀胱癌T24细胞株凋亡及上调PTEN表达

2011-10-12

★ 加入收藏夹

👤 复制给朋友

🌐 分享到外站

评论内容

请文明上网，文明评论。

发表评论

重置

▲ 上一页

当前第1页，共1页

▼ 下一页