

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2015.07.017

常春藤皂苷元与 5-氟尿嘧啶或奥沙利铂联用 对人结肠癌 HT-29 细胞增殖的影响

殷淑媛¹, 王瑞平^{2*}, 邹 玺², 吴 坚²

(1. 南京中医药大学第一临床医学院, 江苏省南京市仙林大道 138 号, 210046; 2. 江苏省中医院)

摘要 目的 观察常春藤皂苷元 (HG) 与 5-氟尿嘧啶 (5-FU) 或奥沙利铂 (Oxa) 联用对人结肠癌 HT-29 细胞增殖的抑制作用及可能作用机制。方法 采用四甲基偶氮唑蓝 (MTT) 法测定 HG、5-FU、Oxa 单药及联合作用于指数增殖期 HT-29 细胞的效应; 应用中效原理进行统计分析, 绘制单药及联合用药对肿瘤细胞生长的影响曲线, 确定联合用药时的药物效应-合用指数的关系, 判定药物间的相互作用; 集落形成实验检测 HG、5-FU、Oxa 单药及联合用药对集落形成的影响; 采用 RT-qPCR 方法检测 HG 对 5-FU 疗效相关基因乳清酸磷酸核糖转移酶 (OPRT)、胸苷酸合成酶 (TS) mRNA 表达及 Oxa 疗效相关基因切除修复交叉互补基因 (ERCC1) 和乳腺癌易感基因 (BRCA1) mRNA 表达的影响。结果 随着药物浓度增加, HG、5-FU、Oxa 单药或联合用药对 HT-29 生长的抑制效应也增加, 高浓度联合应用效应增强。HG 联合 5-FU 或 Oxa 作用于 HT-29 细胞株可产生较好的协同效应, HG、5-FU、Oxa、HG + 5-FU、HG + Oxa 各组的克隆抑制率分别为 39.34%、45.37%、51.01%、70.43%、70.96%, 与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。HG 作用后 TS mRNA 下调至 0.554, ERCC1 mRNA 下调至 0.182, BRCA1 mRNA 下调至 0.044, OPRT mRNA 上调至 1.655, 与对照组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 HG 联合 5-FU 或 Oxa 用药对人结肠癌 HT-29 细胞有显著降低细胞增殖能力, 增强化疗药物的疗效作用。下调 HT-29 细胞的 TS、ERCC1、BRCA1 基因表达水平, 上调 OPRT 基因表达水平, 可能是其协同作用机制之一。

关键词 常春藤皂苷元; 结肠癌; 5-氟尿嘧啶; 奥沙利铂; 细胞增殖; 协同效应

目前对于中晚期结肠癌的首选治疗以化疗为主, 尽管新型化疗药物的应用使晚期结肠癌患者的生存期有所提高, 但中位总生存时间仍然不超过 24 个月^[1]。用于结肠癌的常用化疗方案大多是 5-氟尿嘧啶 (5-FU) 和奥沙利铂 (Oxa) 的联合方案。由于结肠癌对多数化疗药物具有内源性或获得性抗药性, 使 5-FU 单药有效率亦仅为 15% ~ 20%^[2]。Oxa 是继顺铂、卡铂之后第 3 代铂类金属抗肿瘤药物, 其主要的毒副反应是神经毒性, 发生率达 85%, 甚至更高^[3]。常春藤皂苷元 (hederagenin, HG) 来源于加科常春藤属植物中华常春藤, 属于皂苷类。既往文献报道 HG 的抗肿瘤研究主要集中在 HG 单药作用研究, HG 在一定浓度和处理时间下可抑制人早幼粒白血病细胞 HL-60 细

胞的生长, 随着药物浓度增加和处理时间增长, 药物对 HL-60 细胞有致死作用^[4]。本实验前期研究表明 HG 能抑制胃癌 MGC-803 及肠癌 Lovo 增殖, 对癌细胞侵袭、黏附、迁移能力有着明显的影响^[5-6]。本研究利用以中分化的结肠癌细胞为研究对象, 评价 HG 与 5-FU、Oxa 之间的相互作用及可能作用机制。

1 材料

1.1 细胞株

人结肠癌细胞株 HT-29 购自中国科学院上海细胞生物研究所细胞库。细胞株生长于含 10% 小牛血清 RPMI 1640 培养液中, 并置于 37℃、5% CO₂ 饱和湿度的培养箱中培养。

1.2 药物与试剂

HG 购自南京宁岐医药科技有限公司, 批号 121113, 浓度 ≥ 98%, 20 mg/支, 用 DMSO 溶解至终浓度为 20 g/L, 4℃ 保存; 5-FU, 天津市金耀制

基金项目: 江苏省中医药领军人才项目 (LJ200908); 江苏省高校优势学科建设工程

* 通讯作者: wrp61@163.com, 13815883181

药厂, 批号 1304021, 250 mg: 10 ml; Oxa, 江苏恒瑞制药有限公司生产, 批号 11032311, 20 mg/支; RPMI1640 培养液购自凯基公司, 批号 20131225; 小牛血清购自杭州四季青生物工程公司, 批号 131226; 0.25% 胰酶购自 Gibco 公司, 批号 27250-018; 四甲基偶氮唑蓝 (MTT) 购自 Sigma 公司, 批号 M2128; RT-PCR 逆转录试剂盒购自 TaKaRa 公司, 批号 AK2104, 药物疗效相关基因包括乳清酸磷酸核糖转移酶 (OPRT)、切除修复交叉互补基因 (ERCC1) 和乳腺癌易感基因 (BRCA1)、胸苷酸合成酶 (TS)。

1.3 主要仪器

CO₂ 培养箱 (德国 Hera 公司), 全自动酶标仪 (BioTek 公司), 倒置显微镜 (日本 Olympus 公司), 低温高速离心机 (德国 Eppendorf 公司), 866A 恒温鼓风干燥箱 (上海浦东荣丰仪器公司), 2720 型 PCR 扩增仪 (美国 ABI 公司), 7900HT 型荧光定量 PCR 仪 (美国 ABI 公司), 紫外分光光度计 (德国 Eppendorf 公司)。

2 方法

2.1 MTT 法测定药物效应

先进行预实验, 得出 HG、5-FU、Oxa 单药对 HT-29 细胞在各种抑制率 (90%、80%、70%……10%) 下的浓度, 以 3 种药在抑制率约为 50% 的浓度为中间浓度, 两药的中间浓度为固定比值, 上调或下调实验的给药浓度。取对数期生长的细胞接种于 96 孔板, 细胞浓度为 8×10^3 /孔, 细胞贴壁后, 设 HG、5-FU、Oxa 单药组, HG 与 5-FU 联合用药组, HG 与 Oxa 联合用药组, 及不加药物处理的结肠癌细胞空白对照组, 每组 3 个复孔。继续培养 48 h, 倾倒培养液, PBS 洗 2 遍, 每孔再加入 100 μ l RPMI 1640 培养液 + 20 μ l MTT 溶液, 继续培养 4 h, 倒掉上清, 每孔加入 150 μ l DMSO, 置摇床上避光震荡 10 min, 在酶标仪 490 nm 波长测量各孔吸光度 (A)。实验重复 3 次。药物作用效应即抑制率 (Fa) = $(1 - \text{加药组 A} / \text{对照组 A}) \times 100\%$, 并用统计软件 SPSS 16.0 计算出 3 种单药对 HT-29 细胞的半数生长抑制浓度 (IC₅₀)。

2.2 应用中效原理判定 HG 与 5-FU、Oxa 间的相互作用

以中效原理 (Chou-Talalay 联合指数法)^[4]为基础, 绘制剂量-效应曲线及不同效应下的合用指数曲线, 从两药合用的效应与合用指数的关系图表, 定量评价两药之间是协同、拮抗或相加关系。

合用指数 $CI = \frac{(D)_1}{(D_x)_1} + \frac{(D)_2}{(D_x)_2} + \alpha \frac{(D)_1 (D)_2}{(D_x)_1 (D_x)_2}$, (D)₁、(D)₂ 为两药合用时产生 x 效应时两药各自所需浓度, (D_x)₁、(D_x)₂ 为两药单独使用时产生 x 效应时两药各自浓度。 $\alpha = 0$ 为两种相互排斥性药物, $\alpha = 1$ 为两种相互非排斥性药物。HG 与 5-FU、Oxa 作用机制不同, 故本实验中取 $\alpha = 0$ 。CI < 1, 两药合用效应为协同; CI = 1, 两药合用效应相加; CI > 1, 两药合用效应拮抗。

2.3 HG 联合 5-FU 或 Oxa 对 HT-29 细胞集落形成的影响

取对数生长期的细胞种子直径为 6 cm² 的培养皿中, 调整细胞浓度为 1×10^5 /皿, 待细胞贴壁后, 根据 MTT 结果给予相应浓度, 处理细胞 2h 后, 进行细胞计数, 按 200 个细胞/孔接种到 24 孔培养板中, 培养体系总体积为 1 ml, 每组设 4 个复孔 (含对照组), 置于 37℃、5% CO₂、饱和湿度培养箱中培养 5~8 天, 用 3% 戊二醛固定 10 min, 观察每孔细胞集落数 (大于或等于 50 个细胞组成的细胞群为一个集落), 按照下述公式计算克隆抑制率。克隆抑制率 = $[1 - (\text{用药组克隆集落数} / 200) / (\text{对照组克隆集落数} / 200)] \times 100\%$ 。

2.4 HG 对 5-FU 或 Oxa 药物疗效相关基因的影响

收集各组细胞, 提取细胞总 RNA, 经 TaKaRa RT 逆转录试剂盒合成 cDNA, 进行 RT-qPCR 反应检测基因的 mRNA 表达。引物由 Invitrogen 公司合成, 引物序列如下: TS: Forward, 5'-ACCTGAAT-CACAATCGAGCCA-3'; reverse, 5'-TTGGATGCGGAT-TGTACCCT-3'。OPRT: Forward, 5'-CGAGTAAGCAT-GAAACCAGA-3', reverse, 5'-CTACTCAAATACGCT-TCCCCA-3'。BRCA1: Forward, 5'-GGCTATCCTCT-CAGAGTGACATTTTA-3'; reverse, 5'-GCTTTATCAG-GTTATGTTGCATGGT-3'。ERCC1: Forward, 5'-GGC-TATCCTCTCAGAGTGACATTTTA-3'; reverse, 5'-GCTTTATCAGGTTATGTTGCATGGT-3'。β-actin: Forward, 5'-TGAGCGCGGCTACAGCTT-3'; reverse, 5'-TCCTTAATGTCACGCACGATT-3'。配制 Real Time PCR 反应管中反应液, 反应用两步法 Real Time PCR: 95℃ 预变性 45 s, 1 个循环; 95℃ 变性 15 s, 60℃ 退火/延伸 45 s, 60 个循环。所有样品均设 3 个复孔, 以灭菌纯水为阴性对照, 对照组目的基因的表达作为校正。按照下列公式计算目的基因与 β-actin 的相对定量值。mRNA 的相对定量值 =

2⁻(ΔC_t 用药组 - ΔC_t 对照组), $\Delta C_t = C_t$ 目的基因 - C_t β -actin。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计软件进行分析, 计量数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用独立样本 t 检验。

3 结果

3.1 不同浓度 HG、5-FU、Oxa 单用及合用效应结果

不同浓度下 HG、5-FU、Oxa 单用及合用时对 HT-29 增殖的影响见表 1。HG 作用于 HT-29 细胞 48h 的半数生长抑制浓度 (IC₅₀) 为 (48.183 ±

2.265) $\mu\text{mol/L}$, 5-FU 的 IC₅₀ 值为 (99.664 ± 0.419) $\mu\text{mol/L}$, Oxa 的 IC₅₀ 值为 (36.445 ± 5.184) $\mu\text{mol/L}$ 。随着药物浓度增加, 单药或联合用药对 HT-29 生长的抑制效应也增加, 高浓度联合应用效应增强。

3.2 HG 联合 5-FU 或 Oxa 对 HT-29 的效应影响

HG 联合 5-FU 及 Oxa 对 HT-29 细胞作用的剂量-效应曲线及效应-合用指数曲线分别见图 1、图 2。HG、5-FU、Oxa 单药或联合用药对肿瘤细胞增

表 1 不同浓度 HG、5-FU、Oxa 单用及合用效应结果 ($\bar{x} \pm s$)

HG		5-FU		HG + 5-FU		Oxa		HG + Oxa	
药物浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	抑制率	药物浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	抑制率	药物浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	抑制率	药物浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	抑制率	药物浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	抑制率
256	0.916 ± 0.017	304	0.665 ± 0.000	256 + 304	0.925 ± 0.007	144	0.836 ± 0.011	256 + 144	0.902 ± 0.002
128	0.902 ± 0.033	152	0.534 ± 0.013	128 + 152	0.909 ± 0.008	72	0.731 ± 0.006	128 + 72	0.912 ± 0.021
64	0.613 ± 0.020	76	0.468 ± 0.021	64 + 76	0.858 ± 0.062	36	0.528 ± 0.071	64 + 36	0.804 ± 0.008
32	0.295 ± 0.008	38	0.383 ± 0.014	32 + 38	0.595 ± 0.116	18	0.302 ± 0.050	32 + 18	0.722 ± 0.033
16	0.198 ± 0.014	19	0.296 ± 0.007	16 + 19	0.391 ± 0.002	9	0.204 ± 0.077	16 + 9	0.399 ± 0.041
8	0.038 ± 0.029	9.5	0.151 ± 0.031	8 + 9.5	0.354 ± 0.044	4.5	0.105 ± 0.049	8 + 4.5	0.182 ± 0.006

注: HG, 常春藤皂苷元; 5-FU, 5-氟尿嘧啶; Oxa, 奥沙利铂

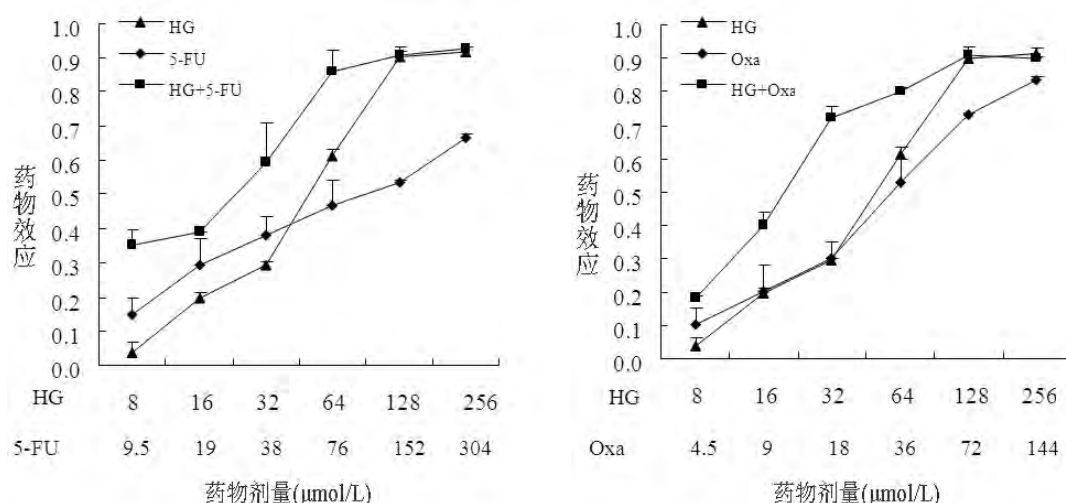


图 1 HG 联合 5-FU 或 Oxa 对 HT-29 的剂量-效应曲线

注: HG, 常春藤皂苷元; 5-FU, 5-氟尿嘧啶; Oxa, 奥沙利铂

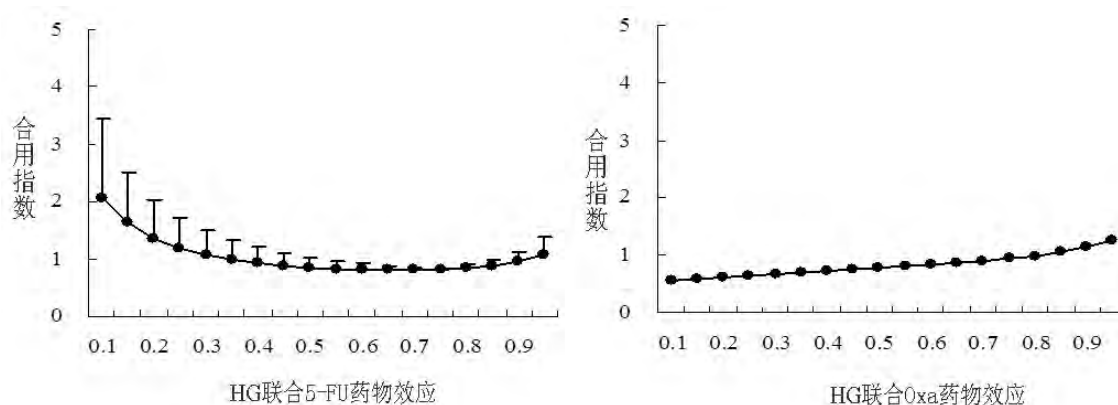


图 2 HG 联合 5-FU 或 Oxa 对 HT-29 的效应-合用指数曲线

注: HG, 常春藤皂苷元; 5-FU, 5-氟尿嘧啶; Oxa, 奥沙利铂

殖抑制效应与用药剂量相关,随着用药剂量加大,抑制效应也相应增强。HG 与 5-FU 联合作用于指数期 HT-29 细胞,当 $F_a > 0.3$,即大于 30% 的肿瘤细胞生长受抑制时, $CI < 1$,两药联合产生协同效应;当 $F_a \leq 0.3$,两药合用效应拮抗。HG 与 Oxa 联合作用于指数期 HT-29 细胞,当 $F_a \geq 0.1$,即使 10% 左右的肿瘤细胞生长受抑制时, $CI < 1$,两药联合产生协同效应,两药在低浓度合用对 HT-29 细胞可以产生较好的协同效应。

3.3 HG 联合 5-FU 或 Oxa 对 HT-29 细胞集落形成的影响

依据本实验中联合应用时两种药物固定比例关系,选用 IC₅₀ 左右药物浓度,即 HG 选用 50 $\mu\text{mol/L}$, 5-FU 选用 100 $\mu\text{mol/L}$, Oxa 选用 40 $\mu\text{mol/L}$,作用于 HT-29 细胞。结果显示, HG、5-FU、Oxa、HG + 5-FU、HG + Oxa 各组的克隆抑制率分别为 39.34%、45.37%、51.01%、70.43%、70.96%,与对照组比较(以不加药物组的克隆抑制率为 0),差异均有统计学意义($P < 0.01$)。联合用药组细胞的克隆抑制率明显高于单独用药组。

3.4 HG 对 5-FU 或 Oxa 药物疗效相关基因的影响

选用 IC₅₀ 左右药物浓度,即 HG 选用 50 $\mu\text{mol/L}$,作用于 HT-29 细胞 48 h 后, RT-PCR 实验结果显示, HG 作用后 TS mRNA 下调至 0.554, ERCC1 mRNA 下调至 0.182, BRCA1 mRNA 下调至 0.044, OPRT mRNA 上调至 1.655,与对照组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

4 讨论

结肠癌归属于中医学“肠覃”“脏毒”“锁肛痔”“下痢”等范畴。它的发生与饮食内伤、情志失调、外邪侵袭、先天禀赋不足和脏腑虚弱等内外因素密切相关。湿热、火毒、瘀滞是病之标,脾肾亏虚、正气不足是病之本。中医治疗肿瘤主张对外邪要“直攻其邪”“折其毒热”。HG 是齐墩果酸的衍生物,在藤梨根等植物中均含有^[8]。藤梨根,其味咸、酸、涩,性凉,无毒,主要功效为清热解毒、祛风除湿、利尿止血,可用于以“湿热”“火毒”为主要表现的结肠癌的治疗。

西医化疗药物治疗窗通常都比较狭窄,药物剂量与副反应呈正相关。中药的不良反应通常都较小,但疗效有限。因此,有效的联合能减少化疗药物剂量,降低毒性,并有助于克服耐药性的问题。本实验应用中效原理,研究 HG 与 5-FU 或 Oxa 间

的相互作用。实验结果表明, HG 联合 5-FU 或 Oxa 作用于 HT-29 细胞可以产生较好的协同效应。

TS 是 5-FU 作用的主要靶酶之一,有学者研究发现 TS 高表达有致癌以及诱导肿瘤进展的作用^[9]。OPRT 是 5-FU 磷酸化的关键酶,在组织细胞内, 5-FU 被磷酸化后才能变成有活性的代谢物,进而通过抑制细胞 DNA 的合成和诱导 RNA 的功能障碍发挥作用^[10]。铂类药物抗肿瘤主要是进入肿瘤细胞与其内的 DNA 结合形成 Pt-DNA 加合物,引起 DNA 的链内或链间交联,导致 DNA 的复制障碍,从而抑制肿瘤细胞的分裂^[11]。ERCC1 和 BRCA1 是铂类所致细胞 DNA 损伤修复的主要基因,与肿瘤细胞的耐药相关^[12]。ERCC1 的基因表达产物可与 DNA 修复酶缺乏互补基因 F 形成复合物,该复合物具有损伤识别功能和核酸内切酶活性,通过识别和去除铂类化合物并修复 DNA 链间交联来参与 DNA 再合成过程,从而导致铂类耐药^[13]。ERCC1 表达水平越低,说明肿瘤细胞 DNA 修复能力越低,预示着对铂类药物的反应性好。BRCA1 参与调节细胞周期、DNA 损伤的修复、细胞生长与凋亡、肿瘤生长的负性调节等多种生物学途径^[14]。BRCA1 基因的突变或功能缺陷会使肿瘤细胞对导致 DNA 断裂的化疗药物如铂类的敏感性增加,而表达增强则会出现铂类的耐药^[15]。BRCA1 表达水平与铂类及抗微管内化疗药物疗效相关, BRCA1 高表达者肿瘤细胞对紫杉类抗微管药物敏感,而低表达者铂类药物治疗有效^[16]。

本实验发现,随着药物浓度增加,单药或联合用药对 HT-29 生长的抑制效应也增加;两药在低浓度合用时对 HT-29 细胞可以产生较好的协同效应。单药或联合用药组对细胞集落形成有抑制作用,显著降低细胞增殖能力。经 HG 作用后,明显下调了 HT-29 细胞的 TS、ERCC1、BRCA1 基因的表达水平,上调了 OPRT 基因的表达水平,与对照组比较差异有统计学意义。据此推测,降低细胞增殖能力,影响药物疗效相关基因的表达,从而增强化疗药物的疗效,可能是 HG 联合 5-FU 或 Oxa 协同作用的机制之一。

参考文献

- [1] Chen J, Ye Y, Sun H, et al. Association between KRAS codon 13 mutations and clinical response to anti-EGFR treatment in patients with metastatic colorectal cancer: results from a meta-analysis [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2013, 71(1): 265-272.
- [2] Labianca R, Pessi A, Facendola G, et al. Modulated 5-

- fluorouracil (5-FU) regimens in advanced colorectal cancer: a critical review of comparative studies [J]. *Eur J Cancer*, 1996, 32A (Suppl 5) : S7-S12.
- [6] Takenaka T, Yoshino I, Kouso H, et al. Combined evaluation of Rad51 and ERCC1 expressions for sensitivity to platinum agents in non-small cell lung cancer [J]. *Int J Cancer*, 2007, 121(4) : 895-900.
- [7] 丁兰, 侯茜, 徐福春, 等. 异叶败酱中三萜化合物常春藤皂苷元对人早幼粒白血病细胞 HL-60 的增殖抑制、周期阻滞及凋亡诱导作用 [J]. *西北师范大学学报: 自然科学版*, 2009, 45(1) : 88-93.
- [8] 刘包欣子, 王瑞平, 邹玺, 等. 常春藤皂苷元对胃癌细胞 MGC-803 增殖、黏附、侵袭和迁移能力的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(4) : 212-215.
- [9] 刘包欣子, 王瑞平, 邹玺, 等. 常春藤皂苷元对结肠癌细胞 Lovo 增殖、黏附、侵袭和迁移能力的影响 [J]. *南京中医药大学学报*, 2013, 29(1) : 44-47.
- [10] Chou TC, Talalay P. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors [J]. *Adv Enzyme Regul*, 1984, 22: 27-55.
- [11] 邱学, 王海波, 翟延君, 等. HPLC 测定藤梨根中熊果酸、齐墩果酸的含量 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(1) : 66-68.
- [12] Chen M, Rahman L, Voeller D, et al. Transgenic expression of human thymidylate synthase accelerates the development of hyperplasia and tumors in the endocrine pancreas [J]. *Oncogene*, 2007, 26 (33) : 4817-4824.
- [13] Fukushima M, Nomura H, Murakami Y, et al. Estimation of pathways of 5-fluorouracil anabolism in human cancer cells in vitro and in vivo [J]. *Gan To Kagaku Ryoho*, 1996, 23(6) : 721-731.
- [14] Viguier J, Boige V, Miquel C, et al. ERCC1 codon 118 polymorphism is a predictive factor for the tumor response to oxaliplatin/5-fluorouracil combination chemotherapy in patients with advanced colorectal cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(17) : 6212-6217.
- [15] 董云, 李志革. ERCC1、BRCA1 在非小细胞肺癌的表达与顺铂耐药的研究进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2010, 18(5) : 1034-1037.
- [16] Croteau DL, Peng Y, Van Houten B. DNA repair gets physical: mapping an XPA-binding site on ERCC1 [J]. *DNA Repair(Amst)*, 2008, 7(5) : 819-826.
- [17] Scully R, Livingston DM. In search of the tumour - suppressor functions of BRCA1 and BRCA2 [J]. *Nature*, 2000, 408(6811) : 429-432.
- [18] Jhanwar-Uniyal M. BRCA1 in cancer, cell cycle and genomic stability [J]. *Front Biosci*, 2003, 8: s1107-1117.
- [19] Rosell R, Cuello M, Cecere F, et al. Usefulness of predictive tests for cancer treatment [J]. *Bull Cancer*, 2006, 93(8) : 101-108.

Effect of Hederagenin and 5-fluorouracil/ oxaliplatin on the Proliferation of Human Colon Adenocarcinoma Cell Line HT-29

YIN Shuyuan¹, WANG Ruiping², ZHOU Xi², WU Jian²

(1. The First Clinical College of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Jiangsu Province, 210046; 2. Jiangsu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To observe the effect of concomitant administration of hederagenin (HG) and 5-fluorouracil (5-FU) / oxaliplatin (Oxa) on the proliferation of human colon adenocarcinoma cell line HT19 and its possible mechanism. **Methods** Using MTT, the single and concomitant effect of HG, 5-FU and Oxa on HT-29 during exponential phase of proliferation were assayed. By performing statistical analysis such as Median-effect Equation, the response curves are plotted and the drug-drug interaction by establishing the drug combination-response model predicted. By colony formation assay, we have measured the effect of single and concomitant usage of the 3 drugs on the colony formation. Using RT-qRCP, the effects on mRNA expressions of OPRT, TS, ERCC1 and BRCA1 were tested.

Result As the dose increased, the inhibiting effect of HG, 5-FU and Oxa on HT-29 proliferation, singly or concomitantly administered, also increased with the synergistic effect in high concentration enhanced. The effect of concomitant administration of HG and 5-FU/Oxa produced favorable synergistic effect. The inhibitory rate for HG, 5-FU, Oxa, HG + 5-FU and HG + Oxa groups were 39.34%, 45.37%, 51.01%, 70.43% and 70.96%, respectively, and their differences to control group showed statistical significance ($P < 0.01$). After the administration of HG, TS mRNA was down-regulated to 1.655, ERCC1 mRNA down-regulated to 0.182, BRCA1 mRNA down-regulated to 0.44 and OPRT mRNA up-regulated to 1.655 with statistical significances to control group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** the concomitant administration of hederagenin (HG) and 5-fluorouracil (5-FU) / oxaliplatin (Oxa) showed significant inhibitory effect on the proliferation of human colon adenocarcinoma cell line HT19 with the efficacy concomitantly enhanced. The one of the synergistic mechanisms is possibly the down-regulation of HT-29 in TS, ERCC1 and BRCA1 expressions and up-regulation of OPRT expression.

Keywords hederagenin; colon cancer; 5-fluorouracil; oxaliplatin; cell proliferation; synergistic effect

(收稿日期: 2014-06-18, 修回日期: 2014-10-07)

编辑: 邓 媛