

PEDF 对人脐静脉内皮细胞和肺癌 SK-MES-1 细胞增殖的影响及作用机制

孟 静 束 军 李志斌

摘要 目的 探讨色素上皮衍生因子(PEDF)对 SK-MES-1 细胞和人脐静脉内皮细胞(HUVECs)增殖的影响及可能的机制。方法 CCK-8 法检测不同浓度 PEDF 在不同作用时间条件下对 HUVECs 和 SK-MES-1 细胞增殖的影响;流式细胞仪检测不同浓度 PEDF 对此两种细胞凋亡的影响;qRT-PCR 检测 PEDF 对此两种细胞中血管内皮生长因子(VEGF)基因表达水平的影响。结果 CCK-8 结果显示, PEDF 对 HUVECs 和 SK-MES-1 细胞具有增殖抑制作用,呈一定浓度和时间依赖性($P < 0.05$);流式细胞术结果表明,实验组细胞的凋亡率高于对照组($P < 0.05$),高浓度用药组凋亡率高于低浓度用药组($P < 0.05$);qRT-PCR 结果表明,与对照组相比, PEDF 能抑制 HUVECs 和 SK-MES-1 细胞中 VEGF mRNA 水平的表达($P < 0.05$)。结论 PEDF 的抗肿瘤作用主要包括抑制肿瘤血管生成和直接作用于肿瘤细胞两方面, PEDF 对 HUVECs 和 SK-MES-1 细胞增殖的影响可能与降低 VEGF 表达水平有关。

关键词 色素上皮衍生因子;脐静脉内皮细胞;血管内皮生长因子;肺癌

中图分类号 R 734.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)05-0682-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.05.013

肺癌是世界范围内癌症死亡的主要原因之一,其中非小细胞肺癌(non-small lung cancer, NSCLC)约占肺癌总数的 80% 左右^[1]。肺癌患者预后较差,大多数肺癌患者就诊时已为晚期。近年来,相关研究^[2]表明,抗血管生成治疗已成为包括肺癌在内的很多肿瘤的重要治疗靶点。色素上皮衍生因子(pigment epithelium-derived factor, PEDF)是一种分子量为 50 ku 的内源性糖蛋白,属于非抑制性丝氨酸蛋白酶抑制剂家族,其抗血管生成作用由 Dawson et al^[3] 在 1996 年首次发现,并证实是目前已知最强

的内源性血管生成抑制因子。PEDF 抗肿瘤作用在不同类型的肿瘤体内外实验中得到证实,如乳腺癌、胰腺癌、骨肉瘤等^[4]。目前关于 PEDF 对肺癌作用机制仍不明确,将 PEDF 抗肿瘤和抗血管生成两个功能结合在一起探索 PEDF 对肺癌的影响的研究很少。该研究观察 PEDF 对肺癌细胞系 SK-MES-1 细胞及人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)的增殖、凋亡的影响,探讨 PEDF 对肺癌生长的影响,从而为肺癌的治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料 SK-MES-1 细胞购于上海中科院细胞库;HUVECs 购于美国 ATCC 公司;DMEM 高糖培养基购于美国 HyClone 公司;胎牛血清购于美国 Gibco 公司;人重组 PEDF 蛋白购于美国 Peprotech 公司;CCK-8 试剂盒购于日本同仁化学研究所;Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒购于上海贝博公司;RNA TRIzol 试剂购于美国 Life technologies 公司;反转录试剂盒和 qRT-PCR 试剂盒购于日本 TaKaRa 公司;ELX800UV 酶标仪购于美国 Biotek 公司;7500 荧光定量 PCR 仪购于美国 Applied Biosystems 公司;流式细胞仪购于美国 Beckman 公司产品;超净工作台购于苏州安泰空气技术有限公司;qRT-PCR 引物由上海生工生物公司合成。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 SK-MES-1 细胞用含 10% 血清的高糖 DMEM 培养基,在 37 °C、5% CO₂ 的培养箱内常规培养,细胞生长汇合度达到 80% ~ 90% 时,消化传代培养。HUVECs 用含 15% 血清的高糖 DMEM 培养基于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱,常规传代培养。

1.2.2 CCK-8 法检测 PEDF 对 HUVECs 和 SK-MES-1 细胞增殖抑制活性的影响 取对数生长期的 HUVECs 和 SK-MES-1 细胞制成单细胞悬液,分别调整细胞密度为 4×10^4 /ml 和 5×10^4 /ml,铺 96 孔板,每孔 100 μ l,分为实验组和对照组,细胞贴壁后,实

2017-01-11 接收

基金项目:安徽省自然科学基金面上项目(编号:1308085MH141);
安徽医科大学科研基金资助项目(编号:2010 xkj115)

作者单位:安徽医科大学第四附属医院呼吸内科,合肥 230032

作者简介:孟 静,女,硕士研究生;

束 军,男,副教授,硕士生导师,责任作者, E-mail: J. Shu @ 126.com

验组各孔加入不同浓度的 PEDF (50、25、12.5、6.25、3.125、1.562 5 $\mu\text{g/ml}$) ,对照组加入等体积的培养基,每组设 5 个复孔,分别作用 24、48 h 后,各孔加入 CCK-8 试剂 10 μl ,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱继续培养,490 nm 波长处检测吸光度(optical density, OD) 值。计算不同时间(24、48 h)、不同浓度处理条件下 PEDF 对 HUVECs 和 SK-MES-1 细胞生长的抑制率,抑制率(%) = (对照组 OD 值 - 实验组 OD 值) / (对照组 OD 值 - 空白组 OD 值) \times 100% ,实验重复 3 次。

1.2.3 流式细胞术检测 PEDF 对 HUVECs 和 SK-MES-1 细胞凋亡的影响 取对数生长期的 HUVECs (1×10^5 /ml) 和 SK-MES-1 细胞(2×10^5 /ml) 分别接种于 6 孔板 培养 24 h 后弃去孔内的培养基,实验组分别加入不同浓度 PEDF (10、50 $\mu\text{g/ml}$) 稀释的 DMEM 培养基,对照组加入等体积培养基,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱培养,加药 48 h 后,用不含 EDTA 的胰酶和预冷的 PBS 消化、离心、洗涤、收集细胞(按说明书操作,在流式仪上检测凋亡),加入 400 μl Binding buffer 重悬细胞,5 μl Annexin-V-FITC 避光孵育 15 min,加入 10 μl PI 混匀后避光反应 5 min,流式细胞仪分析细胞凋亡率,实验重复 3 次。

1.2.4 qRT-PCR 检测 VEGF 的表达水平 取生长状态较好的 HUVECs 和 SK-MES-1 细胞分别以每孔 1.5×10^5 个细胞和 2×10^5 个细胞接种于 6 孔板,培养 24 h 后,实验组分为 PEDF (10 $\mu\text{g/ml}$) 低浓度用药组和 PEDF (50 $\mu\text{g/ml}$) 高浓度用药组,对照组不加 PEDF,药物作用 48 h 后,用 TRIzol 裂解液裂解各组细胞,提取总 RNA 并用逆转录试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA,以 cDNA 为模板进行 Real-time PCR 检测,以 β -actin 为内参来调整模板的浓度,实验所需引物序列: VEGF 上游引物: 5'-ATCACGAAGTGTGAAGTTC-3',下游引物: 5'-TGCTGTAGGAAGCTCATCTC-3',产物长度为 265 bp; β -actin 上游引物: 5'-TGACGTGGACATCCGCAAAG-3',下游引物 5'-CTGGAAGGTGGACAGCGAGG-3'。每个样品设 3 个复孔,反应总体积为 20 μl ,反应条件为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s 60 $^{\circ}\text{C}$ 34 s 40 个循环。分析数据,各组的基因表达水平的变异用变化倍率($2^{-\Delta\Delta Ct}$) 表示。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 17.0 软件进行统计学处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组均数比较用单因素方差分析,两两比较用 SNK- q 法,两组均数间比较用 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PEDF 对 HUVECs 和 SK-MES-1 细胞增殖的影响 HUVECs 经不同浓度的 PEDF 干预后,CCK-8 法所测 OD 值见图 1,细胞抑制率见表 1,各浓度实验组与对照组抑制率相比,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。作用 24 h,抑制率随 PEDF 浓度的增加而增大,各实验组间差异均有统计学意义($F = 100.956, P < 0.05$);药物干预 48 h,随着药物浓度的增加,抑制率也逐渐增加($F = 78.693, P < 0.05$);当 PEDF 浓度 $> 3.125 \mu\text{g/ml}$ 时,抑制率随作用时间延长而增大($P < 0.05$)。CCK-8 法结果表明,SK-MES-1 细胞经不同浓度的 PEDF 处理后,与对照组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 2、表 2。药物作用 24 h 时,各实验组间抑制率差异有统计学意义($F = 35.553, P < 0.05$),当 PEDF 浓度 $> 6.25 \mu\text{g/ml}$ 抑制率随 PEDF 浓度的增加而增大;药物干预 48 h,各实验组细胞抑制率不完全相同($F = 27.581, P < 0.05$),抑制率随着浓度的增加有增加的趋势;当 PEDF $> 6.25 \mu\text{g/ml}$ 时,随着作用时间的

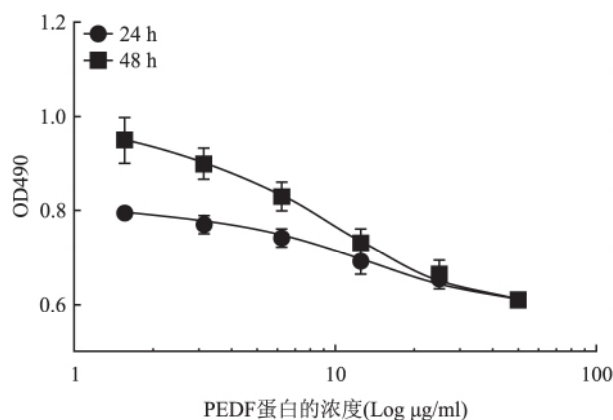


图 1 CCK-8 法检测 PEDF 对 HUVECs 增殖的影响

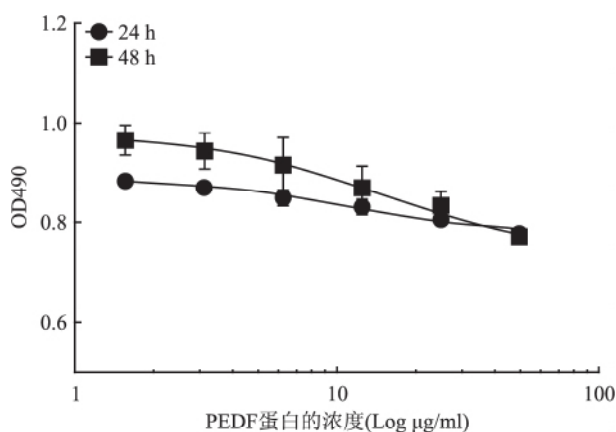


图 2 CCK-8 法检测 PEDF 对 SK-MES-1 细胞增殖的影响

表1 PEDF对HUVECs细胞的生长抑制率($\bar{x} \pm s, n=3$)

浓度(μg/ml)	24 h	48 h
对照组	-	-
实验组		
1.562 5	5.87 ± 1.52*	6.89 ± 1.93*
3.125	9.76 ± 1.20**	13.16 ± 0.67*#
6.25	14.42 ± 2.44*#Δ*	22.17 ± 0.42*#Δ
12.5	22.54 ± 3.54*#Δ*	34.71 ± 5.45*#Δ
25	26.24 ± 0.35*#Δ**	43.18 ± 5.44*#Δ*
50	36.61 ± 0.97*#Δ**	50.67 ± 2.11*#Δ*

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与1.562 5 μg/ml 实验组比较: # $P < 0.05$; 与3.125 μg/ml 实验组比较: Δ $P < 0.05$; 与6.25 μg/ml 实验组比较: $P < 0.05$; 与12.5 μg/ml 实验组比较: ▲ $P < 0.05$; 与25 μg/ml 实验组比较: $P < 0.05$; 与48 h 比较: * $P < 0.05$

表2 PEDF对SK-MES-1细胞的生长抑制率($\bar{x} \pm s, n=3$)

浓度(μg/ml)	24 h	48 h
对照组	-	-
实验组		
1.562 5	2.65 ± 1.08*	3.32 ± 1.03
3.125	4.90 ± 0.84*	6.04 ± 2.08*
6.25	7.27 ± 2.30*#Δ	10.38 ± 5.27*#
12.5	9.54 ± 1.49*#Δ*	15.46 ± 3.17*#Δ
25	12.28 ± 1.38*#Δ**	19.85 ± 3.04*#Δ
50	16.35 ± 1.17*#Δ**	27.45 ± 1.08*#Δ*

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与1.562 5 μg/ml 实验组比较: # $P < 0.05$; 与3.125 μg/ml 实验组比较: Δ $P < 0.05$; 与6.25 μg/ml 实验组比较: $P < 0.05$; 与12.5 μg/ml 实验组比较: ▲ $P < 0.05$; 与25 μg/ml 实验组比较: $P < 0.05$; 与48 h 比较: * $P < 0.05$

延长,抑制率增加($P < 0.05$)。综上可得出,PEDF对HUVECs和SK-MES-1细胞的增殖抑制作用具有一定浓度和时间依赖性。

2.2 PEDF对HUVECs和SK-MES-1细胞凋亡作用的影响 细胞凋亡结果表明,PEDF(10、50 μg/ml)干预组作用于HUVECs 48 h后,细胞凋亡率分别为(11.81 ± 0.65)%、(15.23 ± 0.54)% ,对照组为(6.30 ± 0.60)% ; PEDF(10、50 μg/ml)实验组作用于SK-MES-1细胞48 h后,细胞的凋亡率分别为(11.78 ± 0.71)%、(16.07 ± 0.70)% ,对照组为(8.43 ± 0.61)%。可见,无论是HUVECs还是SK-MES-1细胞,实验组细胞凋亡率均高于对照组($P < 0.05$) ,且PEDF高浓度用药组细胞凋亡率高于低浓度用药组($P < 0.05$) ,并且由流式结果可以得出PEDF对HUVECs和SK-MES-1细胞促凋亡作用主要表现为晚期凋亡。不同剂量PEDF实验组与对照组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$) ,不同剂量PEDF干预组间比较差异也有统计学意义($P < 0.05$)。见图3~6。

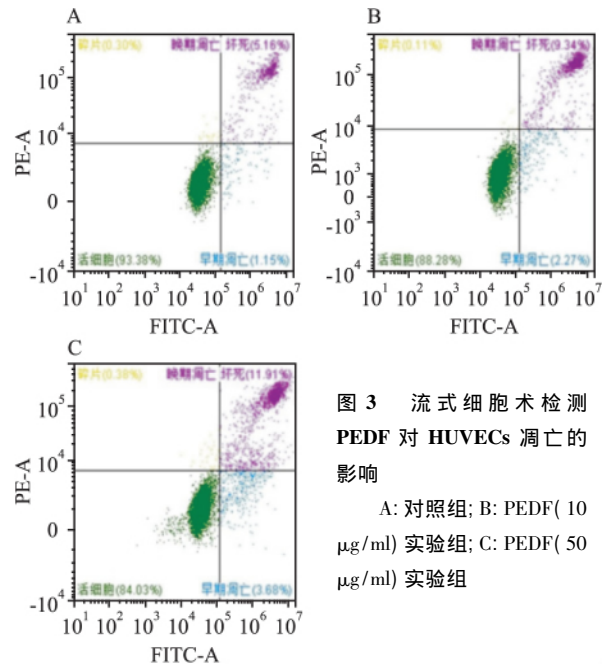


图3 流式细胞术检测PEDF对HUVECs凋亡的影响
A: 对照组; B: PEDF(10 μg/ml)实验组; C: PEDF(50 μg/ml)实验组

2.3 PEDF对HUVECs细胞和SK-MES-1细胞中VEGF mRNA水平表达的影响 qRT-PCR结果得出,相对高浓度用药组PEDF(50 μg/ml)可抑制HUVECs细胞和SK-MES-1细胞VEGF mRNA水平表达,与对照组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$) ,而低浓度用药组PEDF(10 μg/ml)对SK-MES-1细胞VEGF的表达无明显影响、对HUVECs细胞VEGF的表达有抑制作用($P < 0.05$)。见图7。

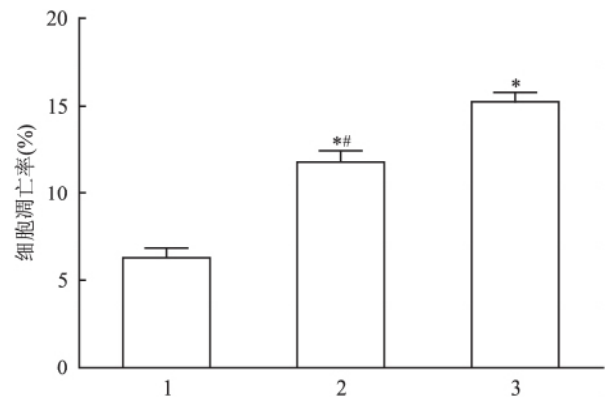


图4 不同浓度PEDF干预后HUVECs的凋亡率

1: 对照组; 2: PEDF(10 μg/ml)实验组; 3: PEDF(50 μg/ml)实验组; 与对照组比较: * $P < 0.05$; 与PEDF(50 μg/ml)实验组比较: # $P < 0.05$

3 讨论

PEDF是一个多功能蛋白质,近年来其抗血管生成作用和抗肿瘤作用越来越受到关注。外源性PEDF在肺癌治疗作用的研究^[5]已取得初步进展,

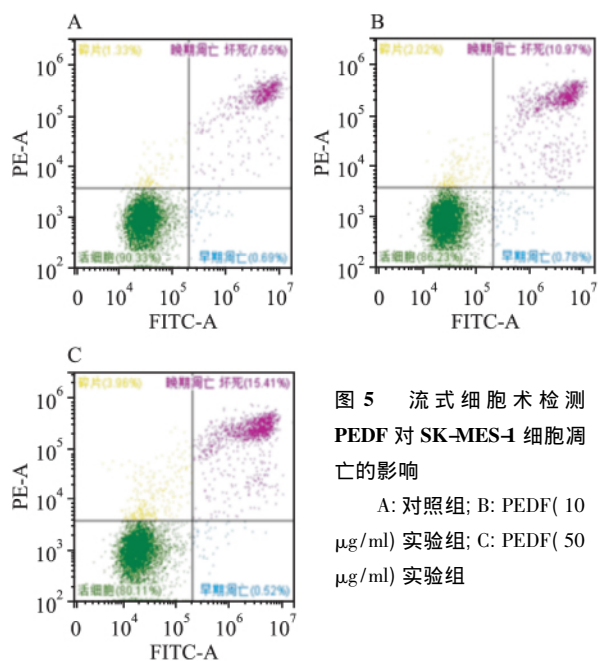


图5 流式细胞术检测 PEDF 对 SK-MES-1 细胞凋亡的影响
A: 对照组; B: PEDF(10 µg/ml) 实验组; C: PEDF(50 µg/ml) 实验组

腺病毒载体介导的 PEDF 基因对小鼠 Lewis 肺癌的生长具有抑制作用。PEDF 不仅能够抑制肿瘤血管的生成, 而且还能直接促进肿瘤细胞的凋亡发挥抗肿瘤作用^[6-7]。本研究中 SK-MES-1 细胞和 HU-VECs 细胞体外增殖抑制实验和凋亡实验结果表明, PEDF 除了直接抑制肺癌细胞的生长, 还能抑制肿瘤血管的生成, 通过双重抗肿瘤作用抑制肺癌的生长。

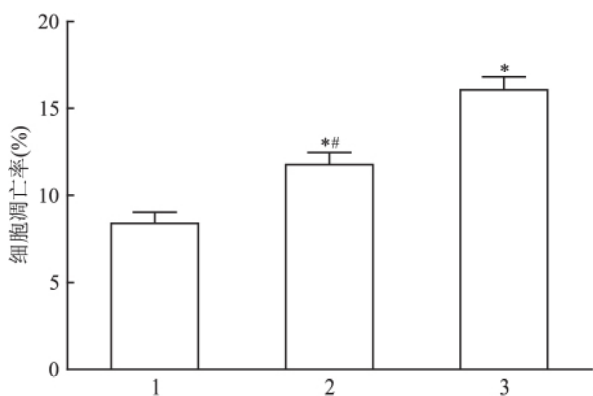


图6 不同浓度 PEDF 干预后 SK-MES-1 细胞的凋亡率

1: 对照组; 2: PEDF(10 µg/ml) 实验组; 3: PEDF(50 µg/ml) 实验组; 与对照组比较: * $P < 0.05$; 与 PEDF(50 µg/ml) 实验组比较: # $P < 0.05$

血管生成是许多实体瘤生长、侵袭所必须的, VEGF 在血管生成过程中发挥重要作用, 能够诱导内皮细胞增殖、促进内皮细胞迁移^[8]。抗血管生成已经被认为是一个重要的靶点, 以 VEGF 为靶点的药物如贝伐单抗等已经取得了较好的临床效果。在

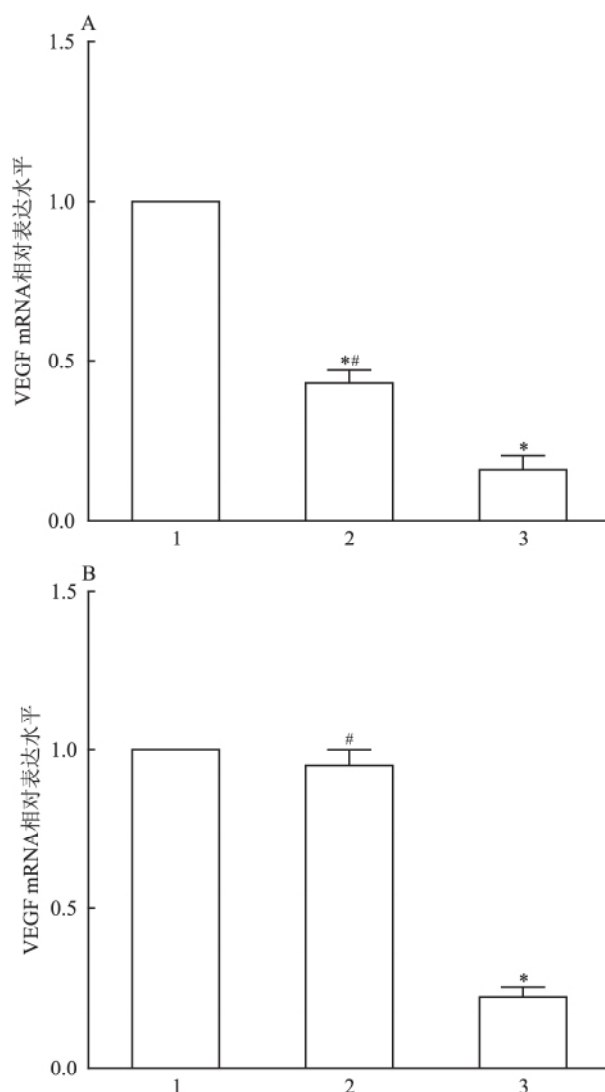


图7 PEDF 对 HUVECs 和 SK-MES-1 细胞内 VEGF mRNA 水平表达的影

A: HUVECs 细胞; B: SK-MES-1 细胞; 1: 对照组; 2: PEDF(10 µg/ml) 实验组; 3: PEDF(50 µg/ml) 实验组; 与对照组比较: * $P < 0.05$; 与 PEDF(50 µg/ml) 实验组比较: # $P < 0.05$

NSCLC 组织中, PEDF 与 VEGF 的表达水平呈负相关性, 且与肿瘤微血管密度相关, 两者在肿瘤血管形成过程中起相反作用^[9]。运用重组 PEDF 在多种肿瘤体内模型治疗研究^[10]显示, 肿瘤体积减小可能与肿瘤微血管密度和 VEGF 降低有关。这些结果^[9-10]表明, PEDF 的抗肿瘤作用与降低 VEGF 的表达有关。本实验 qRT-PCR 结果显示 PEDF 不仅能够抑制内皮细胞 VEGF 的表达, 同时相对高浓度的 PEDF 也能够抑制肺癌细胞 VEGF 的表达, 两者共同参与 PEDF 的抗肿瘤血管生成作用。

本研究证实了 PEDF 在体外除了能够直接抑制肺癌细胞的生长外, 还可以通过抑制血管内皮细胞

的增殖从而抑制新生血管的生成,间接抑制肺癌的生长。本课题组前期研究^[11]表明,不同浓度的 PEDF 对肺癌 NCI-H460 细胞有增殖抑制和促进凋亡的作用,共同证明了 PEDF 对肺癌生长的抑制作用。进一步分析 CCK-8 法和流式检测实验结果, PEDF 对 HUVECs 的增殖抑制和促凋亡作用可能大于对 SK-MES-1 细胞的增殖抑制和促凋亡作用,提示 PEDF 在肺癌的治疗中,其抗肿瘤血管生成的作用强于其直接抑制肿瘤细胞的效应。已有研究^[12]表明,VEGF 能够刺激 NSCLC 的增殖。qRT-PCR 结果显示,相对高浓度的 PEDF 能够抑制肺癌细胞 VEGF 的表达,那么 PEDF 抑制肺癌细胞的生长是否与降低 VEGF 的表达有关,还有待于进一步研究。

PEDF 的抗肿瘤血管生成作用主要与破坏瘤体内的血管网络有关,在体内试验中可能会得到更好地验证,由于本实验只在细胞层面上得到了论证,还有待于下一步体内动物实验和临床标本实验的验证。本研究只涉及一种肺鳞癌细胞,对其他肺癌细胞是否有相同的作用,还需进一步研究。在作用机制方面,还有待于进一步深入探讨。

综上所述, PEDF 可能通过抑制血管生成间接抗肿瘤和直接作用于肺癌细胞两种途径达到抑制肺癌生长的目的,为肺癌的治疗提供新线索。此外, PEDF 抑制血管生成的活性较其他血管增生因子强,只针对新生血管,对已经形成的血管无抑制作用,这种选择性抑制血管新生的功能一直是研究的热点。

参考文献

[1] Ellis P. Minimally invasive thoracic surgery for early stage non-small cell lung cancer[J]. *BMJ* 2014, 349: g5849.

- [2] Hall R D, Le T M, Haggstrom D E, et al. Angiogenesis inhibition as a therapeutic strategy in non-small cell lung cancer (NSCLC) [J]. *Transl Lung Cancer Res* 2015, 4(5): 515-23.
- [3] Dawson D W, Volpert O V, Gillis P, et al. Pigment epithelium-derived factor: A potent inhibitor of angiogenesis [J]. *Science*, 1999, 285(5425): 245-8.
- [4] Broadhead M L, Dass C R, Choong P F. *In vitro* and *in vivo* biological activity of PEDF against a range of tumors [J]. *Expert Opin Ther Targets* 2009, 13(12): 1429-38.
- [5] He S S, Shi H S, Yin T, et al. Aav-mediated gene transfer of human pigment epithelium-derived factor inhibits lewis lung carcinoma growth in mice [J]. *Oncol Rep* 2012, 27(4): 1142-8.
- [6] Garcia M, Fernandez-Garcia N I, Rivas V, et al. Inhibition of xenografted human melanoma growth and prevention of metastasis development by dual antiangiogenic/antitumor activities of pigment epithelium-derived factor [J]. *Cancer Res* 2004, 64(16): 5632-42.
- [7] Yang L P, Cheng P, Peng X C, et al. Anti-tumor effect of adenovirus-mediated gene transfer of pigment epithelium-derived factor on mouse b16-f10 melanoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res* 2009, 28: 75.
- [8] Clara C A, Marie S K, de Almeida J R, et al. Angiogenesis and expression of PDGF-C, VEGF, CD105 and hif-1alpha in human glioblastoma [J]. *Neuropathology* 2014, 34(4): 343-52.
- [9] 郑民, 梁岳培, 王洋. 非小细胞肺癌组织中 VEGF、PEDF 的表达变化及意义 [J]. *山东医药* 2011, 51(18): 53-4.
- [10] Becerra S P, Notario V. The effects of PEDF on cancer biology: mechanisms of action and therapeutic potential [J]. *Nat Rev Cancer* 2013, 13(4): 258-71.
- [11] 刘正兵, 束军. 色素上皮衍生因子对非小细胞肺癌 NCI-H460 细胞增殖和凋亡的影响 [J]. *安徽医科大学学报* 2013, 48(6): 604-7.
- [12] Devery A M, Wadekar R, Bokobza S M, et al. Vascular endothelial growth factor directly stimulates tumour cell proliferation in non-small cell lung cancer [J]. *Int J Oncol* 2015, 47(3): 849-56.

Effect and mechanism of PEDF on proliferation of human umbilical vein endothelial cells and lung cancer SK-MES-1 cells

Meng Jing, Shu Jun, Li Zhibin

(Dept of Respiratory Medicine, The Fourth Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To investigate the effect and potential mechanism of pigment epithelium derived factor (PEDF) acting upon SK-MES-1 cell and human umbilical vein endothelial cells(HUVECs) . **Methods** CCK-8 was used to detect the effect of varying concentrations of PEDF upon HUVECs and SK-MES-1 cell, measuring the degree of cell proliferation and inhibition effect across varying times. The flow cytometry tests were carried out to

网络出版时间: 2017-4-10 14:40 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20170410.1440.014.html>

西藏藏族人群和汉族人群载脂蛋白 A5-1131T > C 多态性与机体脂肪含量的关系

刘海松 温有锋

摘要 目的 探讨载脂蛋白 A5-1131T > C 的多态性与西藏藏族人群和汉族人群机体脂肪含量的关系。方法 以西藏藏族和辽宁汉族各 100 例为研究对象, 测量身体各部位脂肪含量, 并采用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态方法分析 *apoa5*-1131T > C 多态性。结果 从全身脂肪量、躯干脂肪量、四肢各脂肪量和总脂肪量的测量结果看: ① 藏族男性 TC + CC 型对相应值影响均高于 TT 型, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。藏族男性 TT 型对各值影响均低于汉族男性, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。② 藏族女性 TT 型对各值影响均高于汉族女性 TT 型, 除全身脂肪量外差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。③ 藏族和汉族男性和女性各基因型对躯干脂肪的影响均大于四肢, 其中, 藏族和汉族男性 TT 型、TC + CC 型及藏族女性 TT 型差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 *apoa5*-1131T > C 多态性位点对西藏藏族和辽宁汉族机体脂肪量产生影响, 可能参与调控躯干部位的脂肪蓄积。

关键词 载脂蛋白 A5-1131T > C; 单核苷酸多态性; 脂肪含量; 藏族; 汉族

中图分类号 Q 987.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)05-0687-05
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.05.014

2017-02-20 接收

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 31571233)

作者单位: 锦州医科大学解剖学教研室 锦州 121001

作者简介: 刘海松 男 硕士研究生;

温有锋 男 副教授 硕士生导师, 责任作者, E-mail: ysaaooc@aliyun.com

脂肪是人体的组成成分, 为储能和供能的主要物质。人体能量代谢的平衡被打破, 脂肪含量会发生变化。脂肪蓄积受遗传、环境、心理和行为等多方面因素影响。研究^[1]表明, 脂肪蓄积是糖尿病、高血压、中风、心血管疾病、异常脂血症等疾病独立而重要的危险因素。目前, 载脂蛋白 A5 (Apolipoprotein A5, APOA5) 基因在脂肪蓄积中的研究较受关注。*apoa5* 基因具有单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNP) 并与脂肪蓄积的发生密切相关^[2]。

我国西藏藏族主要生活于青藏高原, 居住地平均海拔在 3 500 m 以上, 是世界上海拔最高的地区。长期高原生活使他们承受着低压、低氧、高寒、强紫外线等影响, 人体在生理、机能代谢、遗传等各方面产生了适应性变化, 身体成分也发生了相应的变化。该研究旨在探讨西藏藏族人群 *apoa5*-1131T > C 多态性位点与机体脂肪含量的关系, 为人的基因多态性在脂肪代谢中的可能作用和机制以及临床相关疾病的诊断和治疗提供新的参考依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 经伦理委员会批准, 在知情同意的情况下, 从生物人类学研究所采集的藏族数据库中, 采用随机抽样的方法, 在拉萨市(海拔 3 600 m) 随机

investigate the apoptosis of these two kinds of cells when exposed to varying concentration of PEDF. qRT-PCR were carried out to assess the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene expression level in these two kinds of cells after treatment of PEDF. **Results** CCK-8 results revealed that PEDF had a concentration-dependent and time-dependent cell proliferation inhibition effect on SK-MES-1 cell and HUVECs ($P < 0.05$); Flow cytometry showed that the apoptosis of the cells in the treatment group were higher than that of control group ($P < 0.05$), and the apoptosis rate of high concentration group was higher than that of the low concentration group ($P < 0.05$); qRT-PCR results showed that PEDF was able to inhibit expression of mRNA of VEGF in both HUVECs and SK-MES-1 cell compared with control samples ($P < 0.05$). **Conclusion** The antitumor properties of PEDF is mainly related to the inhibition of tumor angiogenesis and direct effects on tumor cells, the effect of PEDF on HUVECs and SK-MES-1 cell maybe related to the effects of PEDF on downregulating expression of VEGF.

Key words PEDF; HUVECs; VEGF; lung cancer