

were treated with polyglycol. At wk 12 after operation, the gray value of MMP-2 and MMP-9 and the collagen volume fraction (CVF) were calculated by Leica Q550CW system. RESULTS: The gray values of MMP-2 for each group were (68 ± 5), (153 ± 12) and (90 ± 7), MMP-9 were (64 ± 6), (148 ± 10) and (86 ± 6); the CVF which contained vessels were (8.1 ± 0.9)%, (17.7 ± 0.6)% and (13.0 ± 0.8)%, respectively. Under pressure-over-loaded condition, the expressions of MMP-2 and MMP-9 of rabbits were much higher ($P < 0.01$); curcumin significantly inhibits MMP-2, MMP-9 together with the collagen remodeling. CONCLUSION: MMPs are the important factors which promote collagen remodeling in pressure-over-loaded rabbits. Curcumin ameliorates heart function

through inhibiting MMPs with collagen remodeling.

[REFERENCES]

- [1]-[2] See above
 [3] LIU YG, CHEN HC, JIANG YP. Effect of curcumin against CCl₄ induced liver fibrosis in rats[J]. Lishizhen Med Mater Med Res (in Chinese), 2002, 13(5): 273-275.
 [4] YE ML, LI QP. Effects of curcumin on the extracellular matrix of aorta in cardiac over-loaded rats[J]. Chin J Clin Pharm Ther (in Chinese), 2003, 8(2): 125-128.
 [5] ZHANG ZC, YANG YZ, LI SJ, et al. Effect of astragaloside on myocardial fibrosis in viral myocarditic mice[J]. Chin J New Drugs Clin Rem (in Chinese), 2003, 22(9): 515-519.
 [6] See above

[文章编号] 1007-7669(2005)03-0192-05

熊去氧胆酸选择性诱导人肝肿瘤细胞凋亡及抑制增殖的实验研究

韩国庆, 吕敏和, 孟 玫, 刘 慧

(山东大学山东省立医院 肝病中心, 山东 济南 250021)

[关键词] 肝肿瘤; 熊去氧胆酸; 细胞凋亡; 细胞株

[摘要] 目的: 探讨熊去氧胆酸(UDCA)对肝肿瘤细胞株诱导凋亡及抑制增殖的作用和机制。方法: 用四氮唑蓝法、流式细胞术、TUNEL法、Wright-Giemsa染色法、电镜及免疫细胞化学等方法, 观察UDCA对肝肿瘤细胞株 HepG2, BEL7402 和正常人肝细胞株 L-02 的生长活力、细胞凋亡、细胞周期及 Bax/bcl-2 表达的影响。结果: UDCA 对 HepG2, BEL7402 细胞株生长的抑制作用随药物浓度增高而增强 ($r^2 = 0.96$, $P < 0.01$; $r^2 = 0.97$, $P < 0.01$; 48 h)。UDCA 对 HepG2 及 BEL7402 的 IC_{50} 分别为 $0.92 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $0.86 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。UDCA ($1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 对 HepG2 及 BEL7402 的凋亡率分别为 (42 ± 6)% 及 (44 ± 4)%, 明显高于对照组 ($P < 0.01$), 并且阻滞细胞周期于 S 期。以 UDCA ($0.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 处理 HepG2 后 bcl-2 表达由 (24.3 ± 2.4)% 降低为 (10.1 ± 1.6)%, Bax 表达由 (43 ± 5)% 升高为 (59 ± 3)% ($P < 0.01$); 处理 BEL7402 细胞后 bcl-2 表达由 (21.6 ± 1.8)% 降为

(11.6 ± 2.1)%, Bax 表达由 (44 ± 4)% 升高为 (59 ± 3)% ($P < 0.01$)。UDCA 对 L-02 细胞无明显作用。结论: UDCA 对 HepG2, BEL7402 细胞株有显著的抑制增殖及诱导凋亡作用, 它可能与 UDCA 阻滞细胞周期、降低 bcl-2 和提升 Bax 的表达有关。

[中图分类号] R975.5; R735.7

[文献标识码] A

熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)是一种临床常用的溶石利胆药, 也是治疗原发性胆汁性肝硬化的一线用药。研究表明^[1-3], 胆汁酸可以增强致癌物对实验动物的致癌作用, 但 UDCA 则可以抑制这种作用, 减少结肠癌的发生; 并且 UDCA 对乳腺癌细胞株也有诱导凋亡作用。国外研究显示: UDCA 可抑制化学致癌物对大鼠的致肝癌作用, 并

[收稿日期] 2004-06-10 [接受日期] 2004-11-10

[作者简介] 韩国庆(1966-), 男, 山东章丘人, 主治医师, 博士, 主要从事肝癌、肝炎及肝硬化方面的研究。

[联系人] 韩国庆。Phn: 86-531-680-0326。E-mail: hanguotv@sohu.com

可显著抑制肝癌细胞株的增殖活性。国内的报道提示^[4]:牛黄酸熊去氧胆酸(TUDCA)对牛黄酸脱氧胆酸(TDCA)诱导的HepG2细胞凋亡有抑制作用。本研究旨在探讨UDCA对肝肿瘤细胞凋亡和增殖方面的作用及其作用机制。

材料与方 法

细胞株及试剂 人肝肿瘤细胞株BEL7402, HepG2及正常人肝细胞株L-02购自中国科学院上海细胞生物研究所细胞库,UDCA(标准品,含量99.99%,每支200 mg, Sigma产品),四氮唑蓝(MTT, Sigma产品),鼠抗人bcl-2蛋白单克隆抗体(mAb)和鼠抗人Bax蛋白mAb(Oncogene产品),免疫组化ABC试剂盒(Vector产品),氟尿嘧啶(FU, SantaCruz产品),TUNEL法检测试剂盒(华美生物工程公司产品)。

细胞生长抑制实验 采用MTT比色法,将对数生长的HepG2, BEL7402及L-02细胞接种于96孔板,每孔200 μL , 6 000个细胞。置于37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 饱和湿度培养24 h后,实验组每孔加入UDCA,终浓度为0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8和1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,对照组不加药物。FU(0.01 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)作为阳性对照。每个浓度设3个复孔,分别培养24, 48, 72 h后,每孔加入MTT(5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)10 μL ,继续培养4 h,弃上清,每孔加入二甲基亚砜(DMSO)100 μL ,作用30 min后,酶标仪上测吸光度A570 nm值。按公式计算细胞生长抑制率(1 - 实验组A值/对照组A值) $\times 100\%$ 。

流式细胞仪(FCM)检测 分别收集经不同浓度药物作用48 h后的HepG2及BEL7402细胞 1×10^6 个, PBS液仔细清洗2次, 70%乙醇4 $^{\circ}\text{C}$ 固定,碘化丙啶染色30 min。每个药物浓度设3个重复标本。用FACS Calibar流式细胞仪作凋亡和DNA周期分析。

脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法(terminal deoxynucleotidyl transferase mediated nick end labeling, TUNEL)原位检测细胞凋亡 将0.5 $\text{cm} \times 0.5 \text{ cm}$ 的盖玻片置于24孔培养板的孔底,取对数生长的HepG2及BEL7402细胞接种于培养板,每孔 2×10^4 个细胞,分别加入不同浓度的UDCA及FU,培养48 h终止细胞培养,捞出玻片,4%多聚甲醛固定30 min,其余步骤按试剂盒说明书进行。最后在光镜下观察,细胞核染色呈棕褐色者为凋亡细胞。每组观察5张玻片,每张玻片取5

个高倍视野($\times 400$),计数1 000个细胞中凋亡细胞所占的百分比,即凋亡指数(apoptotic index, AI), $\text{AI} = \text{凋亡细胞数} / \text{总细胞数} \times 100\%$,取5张玻片的平均值代表该组的AI。

细胞形态学观察 以不同浓度的UDCA处理HepG2及BEL7402细胞48 h,制作细胞爬片,倒置显微镜下观察细胞的生长及形态变化。之后以Wright-Giemsa染色细胞爬片,光镜下观察。以H-800透射电镜及S-570扫描电镜观察UCDL处理前后细胞超微结构的变化。

免疫细胞化学(ABC法) 以不同浓度UDCA处理HepG2, BEL7402, L-02细胞48 h后,取出细胞玻片,按说明书步骤操作,光镜下观察,正常山羊血清取代第一抗体作用为阴性对照。每组观察4张玻片,连续观察5个高倍视野,计算阳性细胞的百分比,取4张玻片的平均值代表该组的阳性细胞百分率。

统计学方法 采用方差分析及回归分析,设定 $P < 0.05$ 为差异有显著意义。

结 果

UDCA对肝癌细胞生长的抑制作用 MTT检测显示,UDCA对HepG2及BEL7402的细胞增殖均有不同的抑制作用,用bliss法计算UDCA对细胞50%抑制率剂量(IC_{50}),UDCA作用HepG2及BEL7402细胞48 h的 IC_{50} 分别为0.92 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 0.86 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。药物浓度越高,产生的抑制作用越强。药物作用24, 48, 72 h时,UDCA浓度与抑制率回归方程在HepG2细胞分别为 $y = 53 + 41 \log x, r^2 = 0.98, F = 161, P < 0.01$; $y = 55 + 41 \log x, r^2 = 0.96, F = 106, P < 0.01$; $y = 58 + 43 \log x, r^2 = 0.96, F = 87, P < 0.01$ 。在BEL7402细胞分别为 $y = 52 + 42 \log x, r^2 = 0.96, F = 111, P < 0.01$; $y = 55 + 44 \log x, r^2 = 0.97, F = 117, P < 0.01$; $y = 56 + 43 \log x, r^2 = 0.98, F = 209, P < 0.01$ 。UDCA对L-02的生长无明显抑制作用,见图1, 2, 3。

流式细胞术(FCM)分析 UDCA作用于HepG2及BEL7402细胞48 h后,在流式细胞DNA组方图上可见凋亡细胞呈特征性的凋亡峰(亚二倍峰),药物浓度越高,细胞凋亡率亦越高,与对照组相比,差异有显著意义($P < 0.01$)。UDCA对L-02细胞作用48 h后,凋亡率较对照组有所提高,但差异无显著意义($P > 0.05$),见表1。细胞周期分析显示UDCA可使HepG2和BEL7402细胞生长阻滞于S期,但对

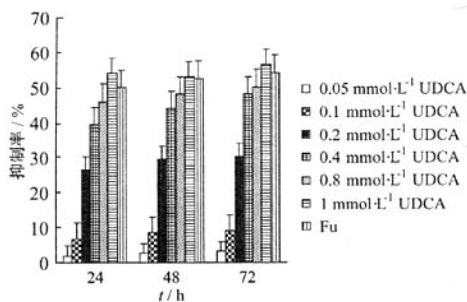


图 1 不同浓度 UDCA 对 HepG2 细胞的抑制作用 Fig 1 UDCA inhibited the proliferation of HepG2 cell line

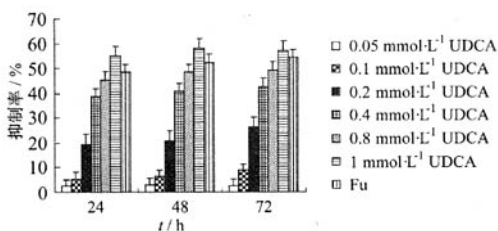


图 2 不同浓度 UDCA 对 BEL7402 细胞的抑制作用 Fig 2 UDCA inhibited the proliferation of BEL7402 cell line

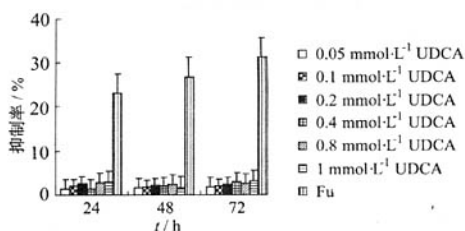


图 3 不同浓度 UDCA 对 L-02 细胞的抑制作用 Fig 3 UDCA inhibited the proliferation of L-02 cell line

L-02 细胞无明显影响。

TUNEL 检测结果 TUNEL 阳性信号为黄绿色或黄色荧光,位于胞核,呈小圆形或颗粒状。经 UDCA 处理 48 h 后, HepG2 及 BEL7402 的 AI 比对照组明显升高 ($P < 0.01$), 药物浓度越高, AI 亦越高。FU 组与对照组比较, AI 明显升高 ($P < 0.01$) 见表 2。

细胞形态的改变 倒置显微镜下观察, 0.05 mmol·L⁻¹ 及 0.1 mmol·L⁻¹ 浓度的 UDCA 处理 HepG2 及 BEL7402 细胞, 细胞形态变化不大。当 UDCA 浓度 ≥ 0.4 mmol·L⁻¹ 时, 上述 2 种细胞形态变化明显, 瑞氏染色可见 HepG2 及 BEL7402 细胞

表 1 UDCA 诱导 HepG2, BEL7402 及 L-02 细胞凋亡的作用 ($n=3, \bar{x} \pm s$) Tab 1 UDCA induced apoptosis of HepG2, BEL7402 and L-02 cell lines

UDCA/ mmol·L ⁻¹	HepG2	BEL7402	L-02
0 (对照)	2.58 ± 0.26	2.02 ± 0.13	3.03 ± 0.12
0.1	8.4 ± 1.6 ^c	9.3 ± 2.0 ^c	3.11 ± 0.21 ^d
0.4	19 ± 3 ^{ef}	17.2 ± 1.7 ^{ef}	3.7 ± 2.6 ^{ad}
0.8	36 ± 6 ^{efh}	37 ± 5 ^{efi}	4 ± 3 ^{adg}
1.0	42 ± 6 ^{efij}	44 ± 4 ^{efij}	5 ± 4 ^{adgi}

UDCA: 熊去氧胆酸。经方差分析, 两两比较, UDCA 不同剂量组与对照组比较: ^a $P > 0.05$, ^c $P < 0.01$; UDCA 0.4, 0.8, 1.0 mmol·L⁻¹ 组与 0.1 mmol·L⁻¹ 组比较: ^d $P > 0.05$, ^f $P < 0.01$; UDCA 0.8, 1.0 mmol·L⁻¹ 组与 0.4 mmol·L⁻¹ 组比较: ^e $P > 0.05$, ^h $P < 0.05$, ⁱ $P < 0.01$; UDCA 1.0 mmol·L⁻¹ 组与 0.8 mmol·L⁻¹ 组比较: ^j $P > 0.05$

表 2 UDCA 对 HepG2 及 BEL7402 细胞凋亡指数 (AI) 的影响 ($n=5, \bar{x} \pm s$) Tab 2 UDCA affected the AI of HepG2 and BEL7402 cell lines

剂量	HepG2	BEL7402
UDCA/mmole·L ⁻¹		
0 (对照)	3.3 ± 1.1	4.2 ± 1.6
0.2	12.5 ± 1.8 ^c	14.6 ± 1.4 ^c
0.4	18.8 ± 2.4 ^{ef}	12.5 ± 2.6 ^{cd}
0.8	29 ± 5 ^{efi}	30 ± 6 ^{fi}
FU/0.01 g·L ⁻¹	24 ± 3 ^c	26.4 ± 2.2 ^c

UDCA: 熊去氧胆酸。经方差分析, 两两比较, UDCA 不同剂量组、FU 组均与对照组比较: ^c $P < 0.01$; UDCA 0.4, 0.8 mmol·L⁻¹ 组与 0.2 mmol·L⁻¹ 组比较: ^d $P > 0.05$, ^f $P < 0.01$; UDCA 0.8 mmol·L⁻¹ 组与 0.4 mmol·L⁻¹ 组比较: ⁱ $P < 0.01$

有较为典型的凋亡形态学变化: 细胞浆有较多空泡形成, 染色质凝集、核固缩、核碎裂等。电镜观察: 经 UDCA 处理 HepG2 及 BEL7402 后, 扫描电镜显示细胞体积皱缩、外观不规则、微绒毛减少甚至消失; 透射电镜显示细胞浆浓缩、染色质聚集、可见凋亡小体形成。见图 4。

Bax 与 bcl-2 基因的表达 bcl-2 和 Bax 阳性信号均为棕褐色, 略呈细颗粒状, 主要定位于细胞质, 簇状和 (或) 片状分布 (见图 5)。以浓度为 0.4 mmol·L⁻¹ 或 0.8 mmol·L⁻¹ 的 UDCA 处理 HepG2 及 BEL7402 细胞 48 h 后, bcl-2 表达明显下降 ($P < 0.05$); Bax 表达则显著增强 ($P < 0.05$)。UDCA 浓度越高, Bax/bcl-2 比值越大。UDCA 处理 L-02 细胞后, Bax 及 bcl-2 表达无明显改变。见表 3。

讨论

肿瘤发生与细胞凋亡及增殖异常有密切关系。

表 3 UDCA 对 bcl-2 及 Bax 表达的影响 (n=4, $\bar{x} \pm s$)

Tab 3 UDCA affected the expression of bcl-2 and Bax

UDCA/mm \cdot L $^{-1}$	HepG2 / %		BEL7402 / %		L-02 / %	
	bcl-2	Bax	bcl-2	Bax	bcl-2	Bax
0 (对照)	24.3 \pm 2.4	43 \pm 5	21.6 \pm 1.8	44 \pm 4	1.00 \pm 0.20	62 \pm 4
0.2	19.4 \pm 1.5 ^b	42 \pm 4 ^a	20.1 \pm 1.9 ^a	48.4 \pm 2.5 ^a	1.00 \pm 0.10 ^a	61 \pm 5 ^a
0.4	14.2 \pm 2.1 ^{cf}	53.6 \pm 2.5 ^{cf}	13.5 \pm 1.8 ^{cf}	56 \pm 4 ^{ce}	0.80 \pm 0.10 ^{ae}	59 \pm 3 ^{cd}
0.8	10.1 \pm 1.6 ^{ch}	59 \pm 3 ^{ch}	11.6 \pm 2.1 ^{cfh}	59 \pm 3 ^{cfh}	0.6 \pm 0.3 ^{ag}	64 \pm 4 ^{cdg}

UDCA: 熊去氧胆酸。经方差分析, 两两比较, UDCA 不同剂量组与对照组比较: ^aP>0.05, ^bP<0.05, ^cP<0.01; UDCA 0.4, 0.8 mmol \cdot L $^{-1}$ 组与 0.2 mmol \cdot L $^{-1}$ 组比较: ^dP>0.05, ^eP<0.05 ^fP<0.01; UDCA 0.8 mmol \cdot L $^{-1}$ 组与 0.4 mmol \cdot L $^{-1}$ 组比较: ^gP>0.05, ^hP<0.05

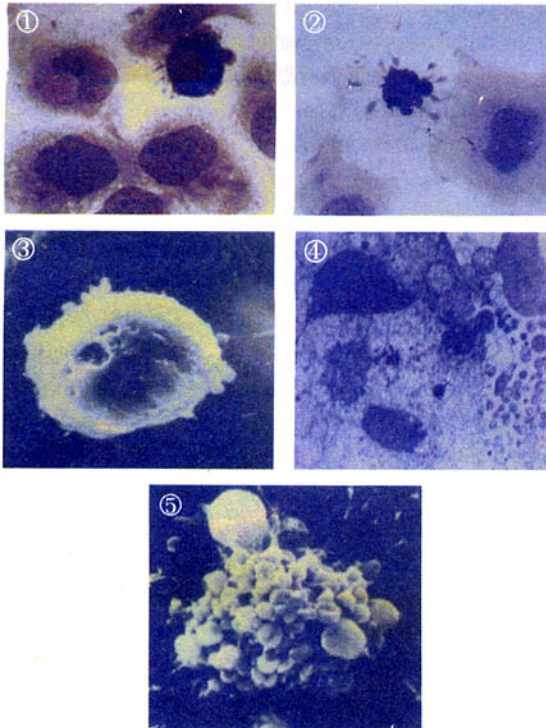


图 4 UDCA (0.4 mmol \cdot L $^{-1}$) 处理 HepG2 细胞 48 h 细胞形态的变化 Fig 4 The morphologic changes of HepG2 treated with UDCA (0.4 mmol \cdot L $^{-1}$)

① 凋亡细胞染色质边集 (Wright 染色); ② 凋亡小体 (Wright 染色); ③ 凋亡细胞表面微绒毛消失 (扫描电镜); ④ 凋亡细胞染色质边集 (透射电镜); ⑤ 凋亡小体 (扫描电镜)

细胞凋亡 (apoptosis) 是区别于细胞坏死的另一种细胞死亡方式, 其形态及生物化学改变具有自身特点。

本研究 MTT 实验结果显示 UDCA 对 HepG2 及 BEL7402 细胞增殖有明显的抑制作用, 并且 UDCA 浓度越高, 对细胞增殖的抑制作用亦越强。流式细胞术及 TUNEL 的结果表明, UDCA 可诱导 HepG2 及 BEL7402 细胞凋亡, 药物浓度越高, 凋亡越明显。通过光镜及电镜观察, UDCA 可诱导 HepG2 及 BEL7402 细胞出现典型的凋亡形态学改变。

细胞分裂增殖的实质就是不断通过细胞周期来实现 DNA 的复制, 而细胞周期由严格有序的 4 个时

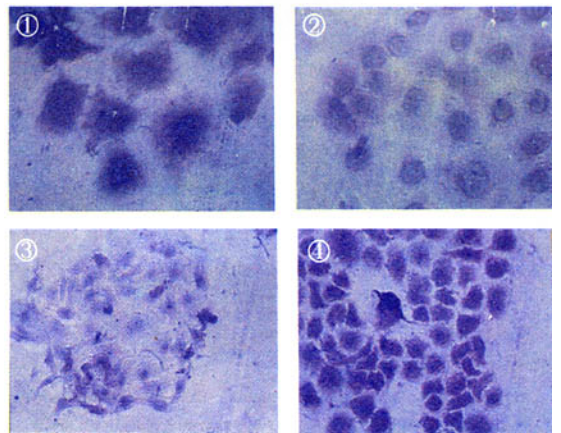


图 5 UDCA (0.4 mmol \cdot L $^{-1}$) 处理 BEL7402 细胞 48 h 后 bcl-2 及 Bax 的表达 Fig 5 The expression of bcl-2 and Bax in BEL7402 treated with UDCA (0.4 mmol \cdot L $^{-1}$)

① 对照组 bcl-2 的表达; ② UDCA 处理后 bcl-2 的表达; ③ 对照组 Bax 的表达; ④ UDCA 处理后 Bax 的表达

期组成, 即 G1 \rightarrow S \rightarrow G2 \rightarrow M, 当细胞周期发生障碍时, 细胞增殖将受到抑制。本研究中流式细胞仪检测结果显示, HepG2 及 BEL7402 细胞株经 UDCA 处理后, 细胞周期发生变化, 使细胞增殖阻滞于 S 期。这可能是 UDCA 抑制 HepG2 及 BEL7402 细胞株增殖诱导凋亡的一个重要机制。

bcl-2 家族是目前公认的一类与细胞凋亡相关的基因, 许多研究表明, bcl-2 过度表达能抑制多种因素诱导的多种细胞凋亡; Bax 过度表达不仅可使多种细胞发生自发凋亡, 而且也可促进许多因素诱导的多种细胞凋亡^[5,6]。本研究显示 UDCA 处理 HepG2 及 BEL7402 后, Bax 表达增强, bcl-2 表达减少, Bax/bcl-2 升高, 并且 UDCA 浓度越高, Bax/bcl-2 升高越明显。这与本研究中 UDCA 可诱导 HepG2 及 BEL7402 细胞凋亡, 并且随 UDCA 浓度升高, 凋亡率越高的结果相一致。该结果提示 Bax/bcl-2 升高, 可能是 UDCA 诱导 HepG2 及 BEL7402 细胞凋亡的机制之一。

MTT及流式细胞术检测未发现UDCA对正常肝细胞株L-02有抑制增殖及诱导其凋亡的作用,说明UDCA抑制细胞增殖及诱导凋亡的作用具有选择性。这种选择性可能与UDCA能够影响肝肿瘤细胞株HepG2及BEL7402的细胞周期和Bax/bcl-2的表达,但对L-02细胞却无明显影响有关。

UDCA对细胞增殖及凋亡的影响可能通过许多种机制,本研究仅对其影响细胞周期和调节Bax/bcl-2的表达两个方面进行了初步探讨。

上述研究表明,UDCA可能通过影响HepG2及BEL7402细胞的增殖周期和调节Bax/bcl-2的表达等机制,抑制癌细胞增殖、诱导癌细胞凋亡。而对L-02细胞的增殖及凋亡则无明显影响。UDCA临床应用已久,其价格低廉,安全性好,本研究结果为临床上使用该药防治肝癌提供了理论及实验依据。

[参考文献]

- [1] WALI RK, STOIBER D, NGUYEN L, *et al.* Ursodeoxycholic acid inhibits the initiation and postinitiation phases of azoxymethane-induced colonic tumor development[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2002, 11(11):1316-1321.
- [2] IM EO, CHOI YH, PAIK KJ, *et al.* Novel bile acid derivatives induce apoptosis via a p53-independent pathway in human breast carcinoma cells[J]. *Cancer Lett*, 2001, 163(1):83-93.
- [3] OYAMA K, SHIOTA G, ITO H, *et al.* Reduction of hepatocarcinogenesis by ursodeoxycholic acid in rats[J]. *Carcinogenesis*, 2002, 23(5):885-892.
- [4] 谢青,李光明,周霞秋,等.牛磺酸熊去氧胆酸对细胞色素C介导HepG2细胞凋亡的作用[J].*中华肝脏病杂志*, 2003, 11(5):298-301.
- [5] ARAFAT WO, GOMEZ-NAVARRO J, XIANG J, *et al.* An adenovirus encoding proapoptotic Bax induces apoptosis and enhances the radiation effect in human ovarian cancer[J]. *Mol Ther*, 2000, 1(6):545-554.
- [6] HOTCHKISS RS, SWANSON PE, KNUDSON CM, *et al.* Overexpression of bcl-2 in transgenic mice decreases apoptosis and improves survival in sepsis[J]. *J Immunol*, 1999, 162(7):4148-4156.

An experimental study on ursodeoxycholic acid-selectively induced apoptosis and proliferative inhibition on human hepatoma cell lines

HAN Guo-qing, LÜ Min-he, MENG Mei, LIU Hui

(Liver Disease Center, Shandong Provincial Hospital, Shandong University, Ji-nan SHANDONG 250021,

China)

[KEY WORDS] liver neoplasms; ursodeoxycholic acid; apoptosis; cell lines

[ABSTRACT] AIM: To investigate the effect of inducing apoptosis and proliferative inhibition on hepatoma cell lines by ursodeoxycholic acid (UDCA), and its mechanisms. METHODS: UDCA effects on cell proliferation, apoptosis, cell cycle and the expression of Bax/bcl-2 genes for two human hepatoma cell lines HepG2 and BEL7402, and normal human hepatic cell line L-02 *in vitro* were detected by applying MTT assay, flow cytometry, TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase mediated nick end labeling) assay, Wright-Giemsa staining, electron microscopy and immunocytochemistry. RESULTS: UDCA could strongly inhibit the proliferation of HepG2 and BEL7402 cell lines, and with the concentration of UDCA increasing, the effect of proliferative inhibition would become more obvious ($r^2 = 0.96$, $P < 0.01$; $r^2 = 0.97$, $P < 0.01$; 48 h). The IC_{50} responses to HepG2 and BEL7402 were $0.92 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $0.86 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. The apoptosis rates (UDCA $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) of HepG2 and BEL7402 were $(42 \pm 6) \%$ and $(44 \pm 4) \%$, respectively with higher significance than that of L-02 ($P < 0.01$). UDCA could arrest cell cycle to S phase. Treated HepG2 with UDCA ($0.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), the expression of bcl-2 decreased from $(24.3 \pm 2.4) \%$ to $(10.1 \pm 1.6) \%$ and the expression of Bax increased from $(43 \pm 5) \%$ to $(59 \pm 3) \%$ ($P < 0.01$), while treated BEL7402, the expression of bcl-2 decreased from $(21.6 \pm 1.8) \%$ to $(11.6 \pm 2.1) \%$, the expression of Bax increased from $(44 \pm 4) \%$ to $(59 \pm 3) \%$ ($P < 0.01$). UDCA had no obvious effect on L-02 cell line. CONCLUSION: UDCA may be selectively inhibit proliferation and induce apoptosis of HepG2 and BEL7402 cell lines by blocking cell cycle and regulating the expression of Bax/bcl-2 genes.

[REFERENCES]

- [1]-[3] See above
- [4] XIE Q, LI GM, ZHOU XQ, *et al.* Effect of tauroursodeoxycholic acid on cytochrome C-mediated apoptosis in HepG2 cells [J]. *Chin J Hepatol* (in Chinese), 2003, 11(5):298-301.
- [5]-[6] See above