

人参皂苷 Rg1 对抗多巴胺对 PC12 细胞凋亡的诱导作用

陈晓春*, 朱元贵, 王小众, 朱理安, 黄 春

(福建医科大学附属协和医院 福建省老年医学研究所, 福建 福州 350001)

摘要: 通过测定细胞的凋亡率, 内源性 NO 的水平和 iNOS mRNA 的表达及半胱天冬酶 3 的活性, 探讨人参皂苷 Rg1 对抗多巴胺对 PC12 细胞凋亡诱导作用的可能机理. 结果表明多巴胺 ($0.15 \sim 0.60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 可诱导 PC12 细胞凋亡, 预先经过 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Rg1 处理后, PC12 细胞的凋亡率显著下降 ($P < 0.001$), 同时 NO_2^- 水平和 iNOS mRNA 表达水平及半胱天冬酶 3 活力较单纯多巴胺处理组明显降低 ($P < 0.001$). 结果提示, Rg1 减少细胞内源性 NO 的生成及抑制半胱天冬酶 3 的活化可能是 Rg1 对抗多巴胺诱导 PC12 细胞凋亡的重要机理.

关键词: 人参; 皂苷类; 多巴胺; 一氧化氮; 细胞, PC12; 凋亡

中图分类号: R964

文献标识码: A

文章编号: 1000-3002(2001)05-0342-05

帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 是中脑黑质多巴胺能神经元的退行性疾病, 其主要的治疗措施是补充多巴胺 (dopamine, DA) 及其前体物质. 研究表明, DA 本身可通过氧化应激诱导神经细胞凋亡, 抗氧化治疗及保护黑质-纹状体神经元的治疗已在 PD 的实验及临床应用中取得了较好的效果^[1,2].

人参皂苷 (ginsenoside) Rg1 是人参 (*Panax ginseng* C.A. Meyer) 的有效成分, 具有广泛的药理作用^[3]. 研究表明 Rg1 对大鼠皮质神经元凋亡具有良好的保护作用^[4], 但 Rg1 对多巴胺能神经元体外细胞模型大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤细胞 (pheochromocytoma cell, PC12) 是否也有保护作用, 尚未见报道. 本研究应用

DA 诱导 PC12 细胞凋亡, 观察 Rg1 的保护作用, 并探讨一氧化氮 (nitric oxide, NO) 和半胱天冬酶 3 (半胱氨酸蛋白酶 3, aspartate-specific cysteine proteases-3, 半胱天冬酶 3) 的可能作用.

1 材料与方法

1.1 药品和试剂

未分化的 PC12 细胞由中国科学院上海细胞生物研究所提供. Rg1 由白求恩医科大学有机化学教研室提供, 纯度 $> 98\%$. 改进的 Eagle 培养基 (Dulbecco's modified Eagle medium, DMEM) 胎牛血清和马血清及 TRIzol RNA 提取试剂购自 Gibco BRL 公司. DNA 分子量标准和胰蛋白酶及碘化丙啶购自上海华美生物工程公司. 核糖核酸酶 A 和 PCR 引物购自上海生工生物工程有限公司. NO 检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所. RT-PCR 和 PCR 试剂盒购自 Promega 公司. 半胱天冬酶 3 的活性检测试剂盒购自 PharMingen 公司.

1.2 仪器

流式细胞仪 (FACScan, BD 公司), 凝胶图像分析仪 (Alpha EmagerTM 2200, 安莱公司), 紫外分光光度计 (DU640, Beckman), 荧光分光光度计 (RF-5301PC, 日本岛津), 细胞培养板购自 Costar 公司.

1.3 细胞培养与药物处理

密度为 $5 \times 10^8 \text{ L}^{-1}$ 的 PC12 细胞接种在预先铺过鼠尾胶的培养皿中, 用含 10% 胎牛血清, 10% 马血清, $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 谷氨酰胺, $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 链霉素和 $100 \text{ kU} \cdot \text{L}^{-1}$ 青霉素的 DMEM, 在 37°C 及 5% CO_2 条件下培养. 细胞贴壁后, 分别加入 5, 10 及 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Rg1, 继续培养 24 h 后, 加入 0, 0.15, 0.30, 0.45 及 $0.60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ DA, 继续培养 24 h, 观察药物效应. 处理后的细胞用预冷的 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 7.2) 冲洗 2 次后, 0.25% 胰蛋白酶消化 1 min, 加入 PBS, 用吸管轻轻吹吸制成细胞悬液, 离心 ($1000 \times g$, 5 min), 弃上清液加入少量

收稿日期: 2001-01-05 接受日期: 2001-06-13

基金项目: 福建省自然科学基金重点资助项目 (C982004)

作者简介: 陈晓春 (1963-), 男, 福建平潭人, 主任医师, 副教授, 医学博士, 主要研究方向为帕金森病的发病机理.

* 联系作者. Tel: (0591) 3377664, Fax: (0591) 3340575,

E-mail: ZJCXCH@Pub5.FZ.FJ.cn

PBS 制成细胞样本液。

1.4 流式细胞术测定细胞的凋亡率

在 100 μL 细胞样本液中加入含 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 碘化丙啶和 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 核糖核酸酶 A 的染液 500 μL , 避光 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min, 流式细胞仪采集 10 000 个细胞, 利用 CellQuestTM 软件计算凋亡率, 结果用百分数表示。

1.5 细胞培养上清一氧化氮代谢产物 NO_2^- 水平的检测

培养细胞的上清液按试剂盒说明书操作, 步骤如下: 上清液 0.4 mL 中加入 4 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸作用 10 min, 然后加入 2 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 对氨基苯磺酸和 1 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ *N*-1-萘基乙二胺, 孵育 30 min 后用 721 分光光度计测定吸光度值 $A_{546\text{ nm}}$, 测定管 A 以标准管 A 作参照, 结果依下列公式计算: 样品 NO_2^- 浓度($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) = $A_{\text{测定管}}/A_{\text{标准管}} \times 2.5$ 。

1.6 RT-PCR 检测诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)mRNA 的表达

用 TRIzol RNA 提取试剂提取细胞总 RNA, 紫外分光光度计测定总 RNA 的浓度和纯度, 1% 琼脂糖电泳鉴定总 RNA 的质量^[5]。cDNA 合成的反应体系如下: 总 RNA 1 μg , 10 \times 反应缓冲液 25 μL , 25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ MgCl_2 4 μL , 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ dNTP 2 μL , RNA 酶抑制剂 0.5 μL , 逆转录酶 12 U, 加水至 25 μL , 42 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 灭活逆转录酶 5 min, 反转录后的 cDNA 作为 PCR 模板。PCR 扩增引物 iNOS^[6]: iNOS 正义引物 5'-AAATCCAGATAAGTGACA-3', iNOS 反义引物 5'-TGAACGTCCAGGTTTGA-3', 扩增长度为 389 bp; 内参照 β -肌动蛋白(β -actin)正义引物 5'-CTCCT-TAATGTCACGCA-CGATTTC-3', β -肌动蛋白反义引物 5'-GTGGGGCGCCCCAGGCACCA-3', 扩增长度为 540 bp。PCR 反应体系及反应条件为: cDNA 2 μL , 10 \times 反应缓冲液(含 Mg^{2+}) 5 μL , 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ dNTP 1 μL , 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的上下游引物各 1 μL , 加水至体积 50 μL , 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min 后加入 DNA 聚合酶 1.5 U, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 59 $^{\circ}\text{C}$ 退火 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 循环 30 次。扩增完毕后取 10 μL 的 PCR 产物于 1.5% 琼脂糖凝胶上电泳, 并用凝胶图像分析仪分析, 根据 iNOS/ β -肌动蛋白 mRNA 电泳条带点密度的比值, 进行 iNOS mRNA 表达水平的半定量分析。

1.7 PC12 细胞半胱天冬酶 3 活性的测定

用荧光分光光度计法检测 7-氨基-甲基香豆素(7-amino-methylcoumarin, AMC)的荧光强度, 以此来

确定半胱天冬酶 3 的活性。具体步骤如下: 培养细胞用 PBS(pH 7.2)冲洗后, 加入 100 μL 溶解液溶解细胞(细胞密度为 $1 \times 10^5 \text{ L}^{-1}$)。在 1 mL 离心管中分别加入 10 μL 半胱天冬酶 3 酶作用底物 Ac-DEVD-AMC($1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)和 1 mL HEPES, 然后加入 100 μL 细胞溶解液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 60 min, 置荧光分光光度计下检测 AMC 的荧光强度(激发波长为 380 nm, 吸收波长为 440 nm)。结果用相对荧光强度(relative fluorescence intensity, RFI)表示。

1.8 统计学处理

实验结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较用单因素方差分析。

2 结果

2.1 不同剂量的 Rg1 对多巴胺诱导细胞凋亡的影响

由表 1 和图 1 可见, 0.45 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ DA 作用 24 h 后, PC12 细胞 DNA 倍体分析 $G_0 \sim G_1$ 期前出现特征性的亚二倍体峰(图 1B)。预先经过 5, 10, 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Rg1 作用 24 h 后, PC12 细胞的凋亡率和 NO 代谢产物 NO_2^- 水平以及半胱天冬酶 3 活性均有显著的下降, 且 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Rg1 对抗 DA 诱导细胞凋亡的作用较 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Rg1 明显, 提示 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Rg1 对 DA 诱导的 PC12 细胞凋亡即有良好的保护作用。

Tab 1. Effects of different doses of ginsenoside Rg1 on cell apoptosis, levels of nitrite and caspase-3 activity in PC12 cells

Rg1 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	Apoptosis /%	Nitrite/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	Caspase-3 activity(RFI)
0	53 \pm 3	28.7 \pm 1.3	683 \pm 8
5	12.7 \pm 1.6 ^{***}	12.1 \pm 2.7 ^{***}	436 \pm 9 ^{***}
10	2.0 \pm 0.7 ^{***}	4.3 \pm 0.2 ^{***}	325 \pm 5 ^{***}
20	1.8 \pm 0.5 ^{***}	3.6 \pm 0.4 ^{***}	290 \pm 6 ^{***}

RFI: relative fluorescence intensity. After pretreatment with 0, 5, 10 or 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Rg1 for 24 h, the PC12 cells were exposed to 0.45 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ dopamine (DA) for 24 h and the apoptotic cell, concentration of nitrite, caspase-3 activity were measured by flow cytometry, colorimetry and fluorescent spectrofluorometry, respectively. $\bar{x} \pm s$, $n = 3$. *** $P < 0.001$, compared with treatment without Rg1. ### $P < 0.001$, compared with Rg1(10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) group.

2.2 Rg1 预处理对不同剂量多巴胺诱导的细胞凋亡的影响

见表 2, 0.15 ~ 0.60 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ DA 可诱导 PC12

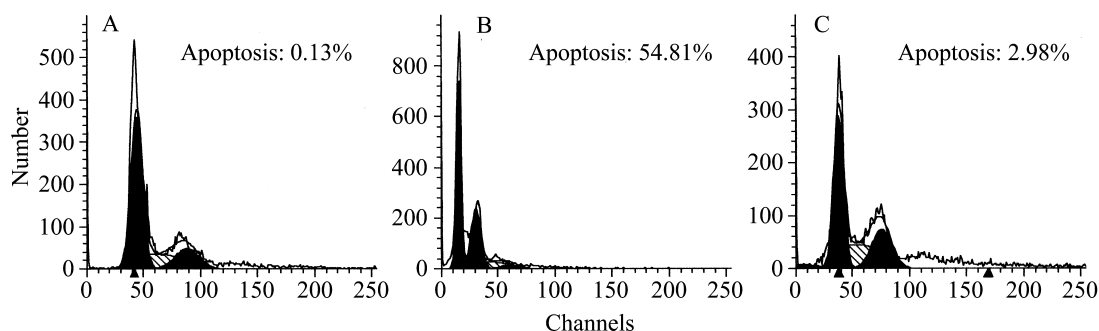


Fig 1 Flow-cytometrical analysis of propidium iodide-stained PC12 cells treated with dopamine or ginsenoside Rg1 for 24 h. A: Control; B: DA($0.45 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$); C: pretreatment with Rg1($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) for 24 h and then DA.

Tab 2. Effects of ginsenoside Rg1 on cell apoptosis, levels of nitrite and caspase-3 activity in PC12 cells after treatment with different doses of dopamine

DA/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	Apoptosis/%		Nitrite/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$		Caspase-3 activity(RFI)	
	Without Rg1	With Rg1	Without Rg1	With Rg1	Without Rg1	With Rg1
0	1.1 ± 0.4	1.0 ± 0.4	3.6 ± 0.1	3.7 ± 0.3	216 ± 6	208 ± 13
0.15	$41 \pm 3.2^{***}$	$1.5 \pm 0.7^{###}$	$5.8 \pm 0.5^{***}$	$4.0 \pm 0.1^{###}$	$454 \pm 5^{***}$	$308 \pm 4^{###}$
0.30	$46.4 \pm 2.7^{***}$	$1.9 \pm 0.6^{###}$	$14.7 \pm 0.9^{***}$	$4.2 \pm 0.1^{###}$	$554 \pm 11^{***}$	$312 \pm 2^{###}$
0.45	$53 \pm 3.1^{***}$	$2.0 \pm 0.7^{###}$	$28.7 \pm 1.3^{***}$	$4.3 \pm 0.2^{###}$	$683 \pm 8^{***}$	$325 \pm 5^{###}$
0.60	$64 \pm 2.7^{***}$	$1.9 \pm 0.5^{###}$	$35.4 \pm 1.2^{***}$	$4.9 \pm 0.4^{###}$	$455 \pm 9^{***}$	$303 \pm 8^{###}$

After pretreatment with or without $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Rg1 for 24 h, the PC12 cells were exposed to various concentration of DA($0.15 - 0.60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) for 24 h and the apoptotic cell, concentration of nitrite, caspase-3 activity were measured. $\bar{x} \pm s$, $n = 3$. $*** P < 0.001$, compared with treatment without DA. $### P < 0.001$, compared with corresponding DA concentration and without Rg1.

细胞凋亡, 细胞的凋亡率, 内源性 NO 代谢产物 NO_2^- 水平以及半胱天冬酶 3 活性, 随 DA 浓度的增加而增加, 其中半胱天冬酶 3 活性, 以 $0.45 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ DA 增加最为明显. 预先经过 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Rg1 作用 24 h 后, PC12 细胞的凋亡率显著下降, 同时 NO_2^- 的水平明显降低, 半胱天冬酶 3 的活性受到了明显的抑制, 提示 Rg1 可能通过减少内源性 NO 的生成以及抑制半胱天冬酶 3 的激活发挥保护作用.

2.3 Rg1 对多巴胺诱导 iNOS mRNA 表达的影响

如图 2 和表 3 所示, $0.45 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ DA 作用 24 h 后, PC12 细胞 iNOS mRNA 的扩增条带点密度与内参 β -肌动蛋白的比为 0.395 ± 0.031 ; 预先经过 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Rg1 作用 24 h 后, iNOS mRNA 的扩增条带点密度与 β -肌动蛋白的比为 0.133 ± 0.030 , 较单纯的

DA 处理组明显减弱, 提示 Rg1 可干扰 iNOS mRNA 的表达. 这里把去血清培养组作为阳性对照.

3 讨论

NO 作为重要的神经传递信使分子, 在细胞凋亡中具有双重调节作用, 既可诱导, 也可抑制细胞凋亡的发生, 不同的作用结果与自身浓度, 细胞氧化还原状态和细胞类型等因素有关^[7]. 本研究发现在 DA 诱导 PC12 细胞凋亡的过程中, iNOS mRNA 表达增加, 内源性 NO 生成增多, 且 NO 代谢产物 NO_2^- 的浓度与细胞的凋亡率平行, 提示 iNOS mRNA 表达增加以及内源性 NO 的生成增多在 DA 诱导 PC12 细胞凋亡中可能起重要的作用.

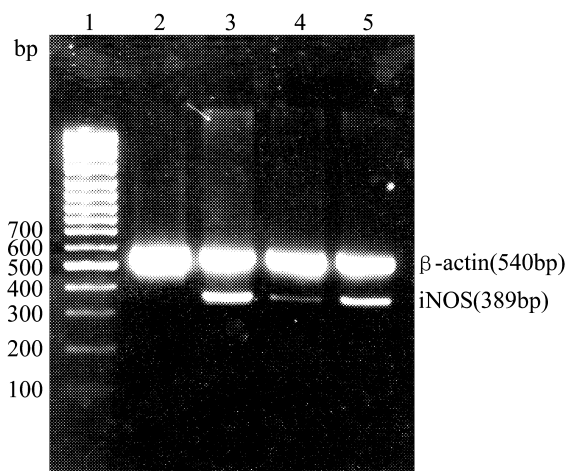


Fig 2. Detection of iNOS mRNA expression in PC12 cells by RT-PCR. After pretreatment with or without $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Rg1 for 24 h, the PC12 cells were exposed to $0.45 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ DA for 24 h, then iNOS and β -actin mRNA expression were detected by RT-PCR. Lane 1: DNA marker; lane 2: negative control; lane 3: DA ($0.45 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$); lane 4: pretreatment with Rg1 ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) for 24 h and then DA; lane 5: serum deprivation (positive control).

Tab 3. Ratio of iNOS / β -actin mRNA after different treatment in PC12 cells

Group	iNOS/ β -actin mRNA
DA	0.395 ± 0.031
Rg1 + DA	$0.133 \pm 0.030^{***}$
Serum deprivation	$0.267 \pm 0.017^{**}$

After pretreatment with or without $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Rg1 for 24 h, the PC12 cells were exposed to $0.45 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ DA for 24 h, and iNOS and β -actin mRNA expression were detected by RT-PCR. The density of expansion band was scanned with Documentation & Analysis System (Alpha Imager™ 2200, USA). The group treated with deprivation of serum was observed as positive control. $\bar{x} \pm s$, $n = 3$. ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, compared with DA group.

NO 作为神经毒素造成细胞凋亡或死亡的机理主要有 DNA 损伤, 还原型谷胱甘肽的耗竭和兴奋性神经毒性作用以及线粒体呼吸功能的损伤^[8~10]. Bal-Price 等^[11]发现, NO 的供体可通过开放线粒体通透性转运孔道, 释放细胞色素 C, 激活半胱天冬酶 3, 从而诱导细胞凋亡. 本研究结果也发现, DA 诱导 PC12 细胞凋亡的过程中, 细胞内源性 NO 的水平与半胱天冬酶 3 的活力及细胞的凋亡率平行, 进一步证实 NO 参与激活半胱天冬酶 3 可能是 DA 诱

导 PC12 细胞凋亡的重要途径之一.

同时, 本研究发现, 经过 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Rg1 预处理后, PC12 细胞 DNA 倍体分析未见凋亡特征性的亚二倍体峰, 细胞凋亡率和内源性 NO 代谢产物 NO_2^- 水平以及半胱天冬酶 3 活力均接近于正常对照组, 与李君庆等^[4]报道 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Rg1 对大鼠皮质神经元凋亡具有保护作用一致, 提示 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Rg1 对 DA 诱导的 PC12 细胞凋亡即具有良好的保护作用.

关于 Rg1 对神经元凋亡具有保护作用的机理, 李君庆等^[12]发现 Rg1 可显著减少大鼠大脑皮层 NO 的含量和降低 NOS 的活性. 本研究也发现 Rg1 可显著减少 DA 所致的细胞 iNOS mRNA 表达水平和内源性 NO 的生成, 提示 Rg1 可从转录水平抑制 iNOS 的合成, 从而在一定程度上减少内源性 NO 的生成. 此外, 本研究发现 Rg1 可明显抑制半胱天冬酶 3 的激活, 阻止细胞凋亡的发生, 这可能与 Rg1 通过减少细胞内源性 NO 的生成, 进而抑制半胱天冬酶 3 的激活有关, 也可能与 Rg1 直接抑制半胱天冬酶 3 的激活有关, 但具体的机理须进一步研究.

4 参考文献:

- [1] Marx JJ, van Asbeck BS. Use of iron chelators in preventing hydroxyl radical damage: adult respiratory distress syndrome as an experimental model for the pathophysiology and treatment of oxygen-radical-mediated tissue damage [J]. *Acta Haematol*, 1996, **95**(1):49-62.
- [2] Gassen M, Youdim MB. The potential role of iron chelators in the treatment of Parkinson's disease and related neurological disorders [J]. *Pharmacol Toxicol*, 1997, **80**(4):159-166.
- [3] 张均田. 人参研究的回顾和展望 [J]. *药学学报*, 1995, **30**(5):321-325.
- [4] 李君庆, 张香阁, 张均田. 人参皂苷 Rg1 抗神经细胞凋亡作用机制的研究 [J]. *药学学报*, 1997, **32**(6):406-410.
- [5] Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction [J]. *Anal Biochem*, 1987, **162**(1):156-159.
- [6] Chung KC, Park JH, Kim CH, Ahn YS. Tumor necrosis factor- α and phorbol 12-myristate 13-acetate differentially modulate cytotoxic effect of nitric oxide generated by serum deprivation in neuronal PC12 cells [J]. *J Neurochem*, 1999, **72**(4):1482-1488.

- [7] Kim YM, Chung HT, Kim SS, Han JA, Yoo YM, Kim KM, *et al.* Nitric oxide protects PC12 cells from serum deprivation-induced apoptosis by cGMP-dependent inhibition of caspase signaling[J]. *J Neurosci*, 1999, **19**(16):6740 – 6747.
- [8] Rubboh H, Radi R, Trujillo M, Telleri R, Kalyanaraman B, Barnes S, *et al.* Nitric oxide regulations of superoxide and peroxynitrite-dependent lipid peroxidation. Formation of novel mitogen-containing oxidized lipid derivatives[J]. *J Biol Chem*, 1994, **269**(42):26066 – 26075.
- [9] Boanos JP, Peachen S, Heales SJ, Land JM, Clark JB. Nitric oxide-mediated inhibition of the mitochondrial respiratory chain in cultured astrocytes[J]. *J Neurochem*, 1994, **63**(3):910 – 916.
- [10] Ji Y, Akerboom TP, Sies H, Thomas JA. S-nitroylation and S-glutathiolation of protein sulfhydryls by S-nitrosoglutathione[J]. *Arch Biochem Biophys*, 1999, **362**(1):67 – 78.
- [11] Bal-Price A, Brown GC. Nitric-oxide-induced necrosis and apoptosis in PC12 cells mediated by mitochondria[J]. *J Neurochem*, 2000, **75**(4):1455 – 1464.
- [12] 李君庆, 李宗楷, 段红. 年龄及人参皂苷 Rg1 对大鼠皮层 NO 释放的影响[J]. *药学报*, 1997, **32**(4): 251 – 254.

Protective effect of ginsenoside Rg1 on PC12 cells against apoptosis induced by dopamine

CHEN Xiao-Chun, ZHU Yuan-Gui, WANG Xiao-Zhong, ZHU Li-An, HUANG Chun

(The Affiliated Union Hospital of Fujian Medical University, Fujian Institute of Geriatrics, Fuzhou 350001, China)

Abstract: To explore the possible mechanism of the protective effect of ginsenoside Rg1 on PC12 cells against apoptosis induced by dopamine (DA), the ratio of apoptotic cells, endogenous nitric oxide, iNOS mRNA and caspase-3 activity were measured, respectively. The results showed: ①DA induced PC12 cells apoptosis at concentrations from 0.15 to 0.60 mmol·L⁻¹; ②compared with application of DA alone, the ratio of apoptotic cells decreased significantly after pretreatment with Rg1 at the concentration of 10 μmol·L⁻¹, so did the levels of nitrite and caspase-3 activity ($P < 0.001$); ③the expression of iNOS mRNA

decreased after pretreatment with Rg1 ($P < 0.001$). The results suggest that ginsenoside Rg1 protect against dopamine-induced apoptosis in PC12 cells and this effect be attributed to its reducing the formation of endogenous NO and its inhibitory action on the activation of caspase-3.

Key words: ginseng; saponins; dopamine; nitric oxide; cells, PC12; apoptosis

Foundation item: The project supported by Natural Science Foundation of Fujian Province(c982004)

(本文编辑 周宇红)

欢迎订阅《中国药理学通报》

《中国药理学通报》是由中国药理学会主办,安徽医科大学临床药理研究所编辑出版的全国性学术性杂志.本刊主要刊登药理学研究论文.辟有论著,讲座与综述,小专论,实验方法学,新药介绍与老药新用,国内外医药学动态,研究简报,快报等专栏.

本刊为双月刊,大16开120页,每期定价12.00元,全年72.00元.邮发代号:26-52,请及时向当地邮局订阅,漏订读者请直接汇款至我刊编辑中,免收邮寄费.地址:安徽省合肥市安徽医科大学校内《中国药理学通报》编辑部,邮编:230032,联系人:武明静.电话:0551-3667273,电子信箱:huanghs@mail.hf.ah.cn.