

丹皮酚对食管鳞癌细胞株 Eca-109 的体外放射增敏作用和机制

吴 珊¹ 权循凤² 孙国平³ 金问森⁴ 陈先平² 汪 志² 雷 宇³ 吴 丹³

摘要 目的 探讨丹皮酚在体外对人食管癌 Eca-109 细胞放射增敏作用的机制。方法 采用 MTT 法检测丹皮酚对 Eca-109 细胞的增殖抑制作用。松胞素 B (CB) 微核法研究丹皮酚对 Eca-109 放射敏感性的影响。克隆形成试验观察丹皮酚对 Eca-109 细胞的放射增敏作用。免疫组织化学法分析射线联合丹皮酚对 Eca-109 细胞的 COX-2 和 Survivin 表达的影响。结果 ① 丹皮酚对人食管癌细胞 Eca-109 有生长抑制作用,半数抑制浓度 (IC_{50}) 为 (59.40 ± 2.23) mg/L。② 7.81 mg/L 丹皮酚加重照射后 Eca-109 细胞的染色质损伤,提高其放射敏感性。③ 克隆形成实验显示,丹皮酚对 Eca-109 细胞有增敏作用,放射增敏比为 1.092。④ 6 Gy X 射线照射后 48 h, Eca-109 细胞中的 COX-2 和 Survivin 的表达增加 ($P < 0.01$) 3.91、7.81、15.63 mg/L 丹皮酚可不同程度降低照射后 COX-2 和 Survivin 的表达,其中 3.91 mg/L 丹皮酚对 COX-2 表达的下调差异无统计学意义,其余差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。两种蛋白表达的变化呈正相关性 ($r = 0.955$, $P < 0.05$)。结论 丹皮酚在体外对人食管癌细胞 Eca-109 有放射增敏作用,其作用机制可能与下调 COX-2 和 Survivin 两种蛋白的表达相关。

关键词 丹皮酚;食管癌;放射增敏;COX-2;Survivin

中图分类号 R 735.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)10-1418-05

放疗是中晚期食管癌主要的局部治疗手段。如何提高食管癌细胞对放射治疗的敏感性一直是研究的热点。丹皮酚是牡丹、芍药根皮和徐长卿干燥根或全草的主要有效成分,药理作用广泛,毒性低,具有明显的体内、体外抗肿瘤作用^[1],已有文献^[2]报道其在体外对人肺腺癌细胞 A549 有放射增敏作用。该研究旨在观察丹皮酚对人食管鳞癌细胞株 Eca-109 放射效应的影响,探索其机制,以期为食管

癌的临床治疗探寻新的方法。

1 材料与方法

1.1 细胞株与主要试剂 人食管癌细胞株 Eca-109 (上海生命科学研究院);丹皮酚注射剂(上海第一制药厂);RPMI1640 培养粉、二甲基亚砜 (DMSO) (美国 GIBCO 公司);胎牛血清(杭州四季青生物材料研究所);四甲基偶氮唑蓝 (MTT)、松胞素 B (Cytochalasin B, CB)、吉姆萨粉(美国 Sigma 公司);兔抗人 COX-2、Survivin 抗体(美国 Santa Cruz 公司);SP 染色试剂盒、DAB 试剂(北京中杉金桥生物技术有限公司)。

1.2 主要仪器与设备 酶标仪 ELx800 Strip reader (美国 Bio-Tek 公司);医用直线加速器 Clinic 600C-SN272(美国 Varian 公司);生物图像分析系统:生物显微镜 (Nikon ECLIPSE 80i);数码照相机 (Nikon DXM1200F);JEOA801D 6.0 图像分析软件。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养及照射 人食管癌 Eca-109 细胞培养于 RPMI1640 培养基(含 10% 热灭活胎牛血清、青霉素及链霉素)中,置于 37 °C、饱和湿度、5% CO₂ 培养箱中培养。常规消化、传代,取对数生长期细胞用于实验。照射条件:Clinic 600C-SN272 型直线加速器,能量 6 MV, X 射线吸收剂量率为 250 cGy/min,垂直照射,源靶距 100 cm,照射野为 10 cm × 10 cm,细胞表面覆盖 1.0 cm 组织补偿物。按实验设计吸收剂量进行照射。

1.3.2 MTT 法测定丹皮酚对 Eca-109 细胞的增殖抑制作用 设立药物组、细胞对照组和空白对照组,每组 6 个平行孔,贴壁后,药物组加入不同浓度的丹皮酚,培养 48 h,加入 20 μl MTT,继续培养 4 h,弃上清液,加入 150 μl DMSO,低速避光振荡 10 min,酶标仪测定 490 nm 处吸光度值 (absorbance, A)。求得药物对肿瘤细胞的生长抑制率,采用改良寇氏法计算半数抑制浓度 (median inhibitory concentration, IC_{50})。

1.3.3 CB 微核法检测丹皮酚对 Eca-109 细胞的放射敏感性的影响 接种单细胞悬液于 60 mm 直径的平皿内,每皿接种 1.5×10^5 个细胞,随机分为单

2014-05-18 接收

基金项目:安徽省教育厅自然科学基金重点项目(编号:KJ2010A170)

作者单位:¹安徽医科大学第四附属医院肿瘤科,合肥 230022

安徽医科大学第一附属医院²放疗科、³肿瘤科,合肥 230022

⁴安徽医科大学核医学教研室,合肥 230032

作者简介:吴 珊,女,医师,硕士研究生;

权循凤,女,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail: xunfengquan@163.com

纯照射组和照射 + 丹皮酚组。贴壁后,照射 + 丹皮酚组换用含丹皮酚的培养液培养 24 h,单纯照射组换新鲜培养液,直线加速器 X 射线照射,吸收剂量分别为 0、1、2、3 和 5 Gy,完成照射后立即移去培养基, PBS 清洗 2 次,加入含 CB(终浓度 4.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$)的新鲜培养基继续培养 48 h,胰酶消化,收集细胞, 1 500 r/min 离心 5 min,弃上清液,加入预温的低渗液处理后固定,常规滴片,每个剂量点制片 3 张,干燥, Giemsa 染色。油镜下观察 1 000 个双核细胞/片,细胞不够时观察可计数的全部双核细胞数。微核判定标准:位于主核大小一致的双核细胞胞质内,核膜独立或核浆桥相连;微核直径为主核的 1/16 ~ 1/3;圆形或卵圆形,染色与主核相同,与主核分开;无折光性,可与伪影分开。微核细胞率(micronucleus cell frequency, MNCF)为有微核的双核细胞数占总双核细胞数的比率,微核率(micronucleus frequency, MNF)为微核总数占总双核细胞数的比率,以千分率(‰)表示。

1.3.4 克隆形成试验检测丹皮酚对 Eca-109 细胞的放射增敏作用 制单细胞悬液,计数细胞浓度,逐级稀释后取适量细胞于 60 mm 直径的平皿上,设 3 个平行皿,贴壁后,随机分为 4 组:对照组、药物组、照射组、药物 + 照射组,药物组及药物 + 照射组给予不同浓度丹皮酚继续培养 24 h,对照组及照射组换等量培养基继续培养 24 h。照射组及药物 + 照射组予以 X 射线照射,照射后 4 h 更换培养液,继续培养 10 ~ 14 d,待集落形成后,固定、Giemsa 染色,计含 50 个细胞以上的克隆数。克隆形成率(planting efficiency, PE)(%) = (克隆数/接种细胞数) × 100%。细胞存活率(survival fraction, SF)(%) = [试验组的克隆数/(该组细胞接种数 × 细胞对照组 PE)] × 100%。药物 + 照射组的 SF 均用单纯药物组的 SF 校正,以消除药物的影响。单击多靶模型拟合细胞存活曲线,计算平均致死剂量(D_0 值),增敏比(SER_{D_0} = 对照组 D_0 值/试验组 D_0 值)。

1.3.5 免疫细胞化学法检测丹皮酚对射线引起的 COX-2 和 Survivin 表达变化的影响 采用免疫组化 SP 染色法。接种细胞于无菌盖玻片,贴壁后加不同浓度的药物作用 20 h,直线加速器照射 6 Gy,照射后 4 h 更换培养基,对照组无需照射,于相同时间更换新鲜培养基,继续培养 48 h, PBS 漂洗, 95% 乙醇固定 30 min,染色具体操作步骤按试剂说明书进行。采用生物图像分析系统对各组不同处理的细胞中 COX-2 或 Survivin 的免疫组织化学结果进行定量检

测,各样本随机检测 5 个视野($\times 400$),测定平均光密度值,用平均光密度表示 COX-2 或 Survivin 的相对含量。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 11.0 统计软件进行分析,所有实验重复 3 次,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组独立样本间比较采用 t 检验,多样本间比较采用方差分析,采用 Pearson 相关进行相关性分析, MNF、MNCF 与剂量间的关系采用直线回归与相关分析进行处理,克隆形成试验结果采用 Origin 7.5 进行曲线拟合作图。

2 结果

2.1 丹皮酚在体外对 Eca-109 细胞的增殖抑制作用 丹皮酚浓度为 7.81、15.63、31.25、62.50、125.00、250.00 mg/L 时对 Eca-109 细胞的抑制率依次为: $(5.27 \pm 1.99)\%$ 、 $(12.14 \pm 1.22)\%$ 、 $(25.95 \pm 0.48)\%$ 、 $(40.46 \pm 3.26)\%$ 、 $(86.20 \pm 2.47)\%$ 、 $(88.86 \pm 2.23)\%$ 。 IC_{50} 为 (59.40 ± 2.23) mg/L。选择接近 20% IC_{50} 的低毒剂量(15.63、7.81 和 3.91 mg/L)作为后续试验中的药物浓度(CB 微核法药物浓度为 7.81 mg/L)。

2.2 CB 微核法检测丹皮酚体外对 Eca-109 细胞放射敏感性的影响 在 0 ~ 5 Gy 照射条件下,细胞 MNF 和 MNCF 与照射剂量均呈正相关性($R^2 = 0.950$, $P < 0.01$; $R^2 = 0.973$, $P < 0.01$)。丹皮酚预处理的细胞, MNF 和 MNCF 均高于单纯照射组($P < 0.05$)。提示 7.81 mg/L 丹皮酚加重了 Eca-109 细胞照射后的染色质损伤,提高了放射敏感性。见图 1、2。

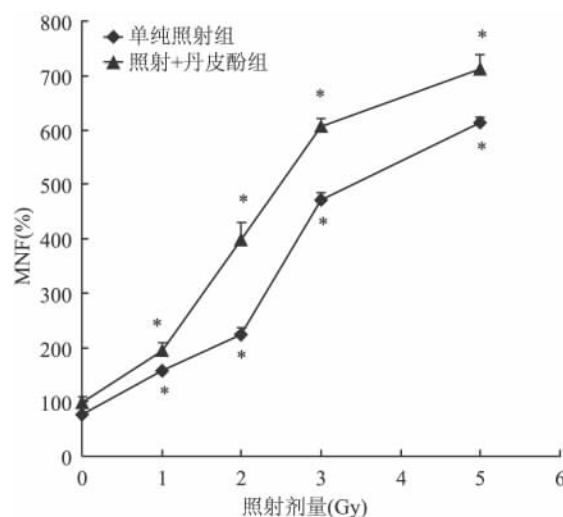


图1 单纯照射组和照射 + 丹皮酚组 MNF 的剂量效应关系
与同组间 0 Gy 组比较: * $P < 0.05$

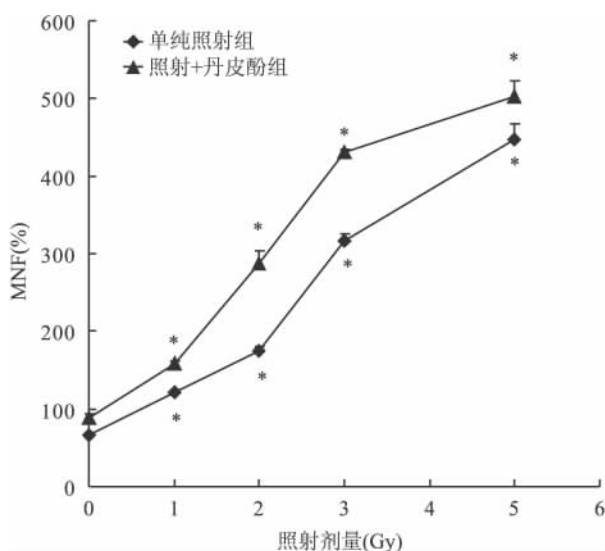


图2 单纯照射组和照射+丹皮酚组 MNCF 的剂量效应关系
与同组间 0 Gy 组比较: * $P < 0.05$

2.3 克隆形成试验检测丹皮酚对 Eca-109 细胞的放射增敏作用 浓度为 7.81、15.63 mg/L 丹皮酚可提高 Eca-109 细胞的放射敏感性,并呈剂量依赖性。按照单击多靶模型应用软件拟合的细胞存活曲线,见图 3,计算出放射 SER_{D0} 分别为:1.074 和 1.092。丹皮酚(3.91 mg/L)未观察到放射增敏作用。

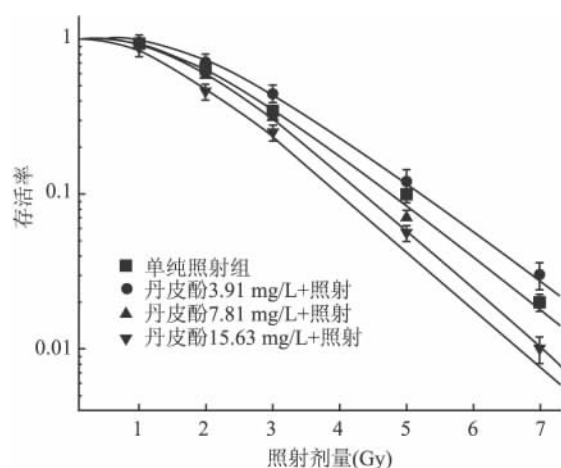


图3 人食管癌 Eca-109 细胞在不同浓度丹皮酚
与射线联合作用下的存活曲线

2.4 丹皮酚和射线对 Eca-109 细胞 COX-2 和 Survivin 表达的影响 细胞内 COX-2 和 Survivin 两种蛋白在不同处理条件下均有表达。方差分析显示, COX-2、Survivin 蛋白的表达在各组间差异有统计学意义($F = 54.46, 19.27$, $P < 0.01$);且相关性分析显示,两者的变化呈正相关性($r = 0.955$, $P < 0.05$)。

进一步将各组与对照组(丹皮酚 = 0 mg/L,照射剂量为 6 Gy)进行两两比较,见表 1。

表1 生物图像分析系统定量分析丹皮酚和射线对 Eca-109 细胞中 COX-2 和 Survivin 表达的影响($\bar{x} \pm s$)

丹皮酚 (mg/L)	照射剂量 (Gy)	光密度值	
		COX-2	Survivin
0	0	0.346 ± 0.017 **	0.279 ± 0.039 **
0	6	0.429 ± 0.039	0.364 ± 0.021
3.91	6	0.396 ± 0.019	0.278 ± 0.027 **
7.81	6	0.296 ± 0.012 **	0.213 ± 0.026 **
15.63	6	0.143 ± 0.014 **	0.134 ± 0.008 **

与对照组(丹皮酚 = 0 mg/L,照射剂量为 6 Gy)比较: ** $P < 0.01$

接受照射后,细胞中 COX-2 和 Survivin 的蛋白表达增加($P < 0.01$);先经过 7.81、15.63 mg/L 丹皮酚处理的细胞,照射后 COX-2 和 Survivin 的表达明显下调($P < 0.01$);3.91 mg/L 丹皮酚可下调 COX-2 的表达,差异无统计学意义;而该浓度的丹皮酚对 Survivin 下调表达的影响差异具有统计学意义($P < 0.01$)。

3 讨论

食管癌是我国常见的消化道恶性肿瘤,病理类型以鳞癌为主,多数患者就诊时已处于晚期,主要治疗手段为放疗为主的综合治疗。食管鳞癌放射敏感性为中度,多数患者最终死于肿瘤局部未控和复发。因此,增加肿瘤细胞的放疗敏感性,提高放疗局部控制率是临床亟待解决的问题。丹皮酚对多种肿瘤具有抑制作用,本研究显示丹皮酚可抑制肿瘤细胞中 COX-2 和 Survivin 的表达,与文献^[3-4]研究结果一致,而 COX-2 与 Survivin 都是近年来国内外研究的热点和备受关注的抗肿瘤治疗靶点,这两者均被认为与肿瘤的放射敏感性相关。

COX-2 是环氧化酶中的一种同工酶,一般认为其在正常生理状态下多数组织中不表达,而当受到生长因子、细胞因子、炎性介质及各种促癌因素刺激时,表达迅速上调^[5]。本研究显示 6 Gy 照射条件下,细胞中 COX-2 表达增加,与文献^[5]报道一致。Kang et al^[6]研究认为 COX-2 高表达时可能会通过抑制凋亡发生的机制降低肿瘤对放疗的敏感性。由此推测,经历过照射而存活下来的细胞可能通过上调 COX-2 的表达,产生一系列效应减低自身放射敏感性,逃避射线的伤害。有研究^[7-8]显示 COX-2 的选择性抑制剂有提高肿瘤细胞放疗敏感性的作用,其

机制包括:引起细胞周期的改变、诱导凋亡、抑制 PGE2 的辐射保护作用、诱导 DNA 损伤、抑制亚致死性损伤的修复、抑制肿瘤血管生成和刺激机体抗肿瘤免疫反应、引发细胞自噬等^[9-10]。Survivin 是凋亡抑制蛋白家族中分子量最小,抗凋亡作用最强的成员,其高表达与肿瘤恶性程度相关^[11]。有研究者^[12-14]发现 Survivin 高表达与头颈部、结直肠恶性肿瘤细胞的放射抗拒作用相关。通过药物作用、基因敲除及 RNA 干扰技术下调 Survivin 的表达可增强细胞放射的敏感性,表明细胞内 Survivin 水平与其放射敏感性相关,其机制可能与诱导凋亡、影响细胞周期相关。

本研究显示低毒剂量的天然药物丹皮酚(浓度为 7.81 mg/L 和 15.63 mg/L)在体外可明显增加食管癌细胞放射敏感性,并呈剂量依赖性。但在 3.91 mg/L 浓度组此效应不明显,这可能与药物浓度过低有关。本研究显示 COX-2 和 Survivin 两种蛋白在经历照射后存活的细胞中表达增加,表明了丹皮酚预处理对两者表达的抑制,提示下调细胞内 COX-2 和 Survivin 的表达可能为丹皮酚对人食管鳞癌 Eca-109 细胞放射增敏的部分机制。但具体机制及 COX-2 和 Survivin 之间的关联需进一步深入研究。

参考文献

- [1] 孙国平,沈玉先,张玲玲,等.丹皮酚的体内外抗肿瘤作用[J].安徽医科大学学报,2002,37(3):183-5.
- [2] 雷宇,金问森,陈先平,等.丹皮酚对人肺腺癌 A549 细胞放射增敏作用机制的研究[J].中华放射医学与防护杂志,2012,32(2):166-9.
- [3] 李骅,王四旺,张邦乐.丹皮酚的药理药理活性和药物动力学研究进展[J].亚太传统医药,2010,6(2):110-2.
- [4] 彭万仁,付卫争,孙国平,等.丹皮酚对人肝癌 BEL-7402 细胞凋亡和 COX-2, Survivin, XIAP, α -Ap1 表达的影响[J].中国药理学通报,2010,26(6):735-9.
- [5] 梁熹,胡雅楠,和水祥,等. COX-2 与 C/EBP β 在人肝细胞肝癌中的表达及其临床意义[J].世界华人消化杂志,2010,18(28):3040-4.
- [6] Kang M K, Park W, Choi Y L, et al. The effect of cyclooxygenase-2 expression on tumor volume response in patients treated with radiotherapy for uterine cervical cancer[J]. J Korean Med Sci, 2009, 24(6):1170-6.
- [7] Ma H I, Chiou S H, Hueng D Y, et al. Celecoxib and radioresistant glioblastoma-derived CD133+ cells: improvement in radiotherapeutic effects. Laboratory investigation [J]. J Neurosurg, 2011, 114(3):651-62.
- [8] 夏曙,刘飞,刘细友,等. COX-2 抑制剂塞来昔布提高人结肠癌细胞 SW480 的放射敏感性[J].世界华人消化杂志,2010,18(19):1990-4.
- [9] Kang K B, Zhu C, Yong S K, et al. Enhanced sensitivity of celecoxib in human glioblastoma cells: Induction of DNA damage leading to p53-dependent G1 cell cycle arrest and autophagy [J]. Mol Cancer, 2009, 8:66.
- [10] Choy H, Milas L. Enhancing radiotherapy with cyclooxygenase-2 enzyme inhibitor: a rational advance? [J]. J Natl Cancer Inst, 2003, 95(19):1440-52.
- [11] Ettl T, Stiegler C, Zeitler K, et al. EGFR, HER2, survivin, and loss of pSTAT3 characterize high-grade malignancy in salivary gland cancer with impact on prognosis [J]. Hum Pathol, 2012, 43(6):921-31.
- [12] Khan Z, Khan N, Tiwari R P, et al. Down-regulation of survivin by oxaliplatin diminishes radioresistance of head and neck squamous carcinoma cells [J]. Radiother Oncol, 2010, 96(2):267-73.
- [13] Xiaoyuan C, Longbang C, Jinghua W, et al. Survivin: a potential prognostic marker and chemoradiotherapeutic target for colorectal cancer [J]. Ir J Med Sci, 2010, 179(3):327-35.
- [14] 王勇,邢春根. RNA 干扰 survivin 联合 X 线放射对大肠癌 SW480 细胞的影响[J].中国普通外科杂志,2010,19(4):369-73.

Mechanism of radiosensitization effect of Paeonol on Eca-109 *in vitro*

Wu Shan¹, Quan Xunfeng², Sun Guoping³, et al

(¹Dept of Oncology, The Fourth Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022;

²Dept of Radiotherapy, ³Dept of Oncology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the radiosensitization effect and underlying mechanism of Paeonol on human esophageal squamous carcinoma cell line Eca-109 *in vitro*. **Methods** Cytotoxic effect of Paeonol on cells was evaluated by MTT assay. Radiosensitivity was tested by cytokinesis-block micronucleus assay. Cell survival was evaluated by Clonogenic assay. The expression of COX-2 and Survivin were detected by immunohistochemical method. **Results** ① Cell growth was inhibited by Paeonol in a dose-dependent manner and the IC₅₀ was (59.40 ± 2.23) mg/L. ② Paeonol combined with irradiation increased chromatin damage of Eca-109 cell, which meant enhancement of

IGF-1 对缺氧缺血性脑损伤新生小鼠脑细胞线粒体 Cyt-C、caspase-3 表达的影响

陈 琪¹, 步仰高², 王 杨¹, 陈志武³

摘要 目的 探讨胰岛素样生长因子-1 (IGF-1) 对缺氧缺血性脑损伤 (HIBD) 新生小鼠脑细胞线粒体细胞色素 C (Cyt-C)、caspase-3 表达的影响。方法 108 只新生 C57/BL 小鼠随机分为正常对照组、缺氧缺血 (HI) 组和 HI + IGF-1 组, 改良 Rice 法制作新生小鼠右脑 HIBD 模型。HI + IGF-1 组于 HI 后即刻予腹腔注射 IGF-1 (50 μ g/kg), HI 组及正常对照组注射等量的生理盐水。应用 Western blot 和 RT-PCR 法检测各组皮质、海马、丘脑 0、3、6、12、24 和 48 h Cyt-C、caspase-3 蛋白和 mRNA 表达。结果 ① HI 组 Cyt-C、caspase-3 mRNA 及蛋白表达明显增加出现在皮质术后 3 h, 海马术后 6 h, 丘脑出现在术后 12 h, 明显迟于皮质及海马; ② HI + IGF-1 组 Cyt-C、caspase-3 mRNA 及蛋白表达在 HI 组表达明显增加的相应时间点虽较正常对照组升高, 但较 HI 组表达明显降低; ③ HI 组皮质 Cyt-C、caspase-3 mRNA 及蛋白表达于术后 3 h 表达明显增加, 6 h 有所下降, 12 ~ 24 h 达到另一高峰, 峰值时间点 HI + IGF-1 组的表达较 HI 组均降低 ($P < 0.05$)。结论 IGF-1 可能通过抑制 Cyt-C 释放, 减少 caspase-3 表达, 发挥对新生小鼠 HIBD 的神经保护作用, IGF-1 对皮质的保护有两个时

间点。

关键词 缺氧缺血; 脑; 胰岛素样生长因子-1; 细胞色素 C; caspase-3; 小鼠; 新生

中图分类号 R 722.12

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)10-1422-06

新生儿缺氧缺血性脑损伤 (hypoxic-ischemic brain damage, HIBD) 是因围生期窒息导致脑的缺氧缺血性损害, 是新生儿死亡和神经功能后遗症的重要原因, 与成年后的智力、行为障碍密切相关。缺氧缺血 (hypoxic-ischemic, HI) 引起的脑细胞死亡存在复杂的凋亡机制, 且凋亡引起的损伤更严重^[1]。caspase-3 是凋亡的关键效应蛋白, HI 时细胞线粒体功能受损, 胞质中 Cyt-C 释放入胞质从而激活 caspase-3 引起细胞凋亡。胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1) 是一种多肽类神经营养因子, 与神经再生有密切关系。IGF-1 可增加 HI 后神经细胞的存活率, 抑制神经细胞凋亡, 对神经细胞有明显的保护作用^[2-3]。目前关于 IGF-1 的研究多见于成年大鼠, 对新生小鼠 HIBD 神经保护作用的研究报道甚少, 尤其是外源性 IGF-1 的神经保护作用是否与其影响 Cyt-C 的表达有关的报道较少。该研究在 HIBD 模型基础上, 观察了 IGF-1 对 HIBD 后脑组织 Cyt-C、caspase-3 表达的影响, 同时探讨 IGF-1 对 HIBD 的神经保护作用及机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 新生 7 日龄 SPF 级 C57/BL 小鼠

2014-05-19 接收

基金项目: 安徽省自然科学基金面上项目 (编号: 1308085MH150); 安徽省高校省级自然科学基金项目 (编号: KJ2013A167)

作者单位: ¹ 安徽医科大学第一附属医院新生儿科, 合肥 230022

² 安徽医科大学解放军临床学院妇产科, 合肥 230031

³ 安徽医科大学基础医学院药理学教研室, 合肥 230032

作者简介: 陈 琪, 男, 硕士研究生;

王 杨, 男, 副教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: w.yang126@126.com;

陈志武, 男, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: wzcw-iong@mail.hf.ah.cn

radiosensitivity. ③ Paeonol could enhance cell radiosensitivity and the sensitizing enhancement ratio (SER) was 1.092. ④ After exposure to 6 Gy X-ray for 48 h, the protein expression of COX-2 and Survivin was up-regulation ($P < 0.01$). On the contrary, pretreatment (using 3.91, 7.81, 15.63 mg/L Paeonol) combined with radiation reduced the protein expression of COX-2 and Survivin in varying degrees, showing significant differences ($P < 0.01$), except the protein expression of COX-2 at 3.91 mg/L. The down-regulation of the two protein expression was positively correlated ($r = 0.955$, $P < 0.05$). **Conclusion** Paeonol improves radiosensitivity of human esophageal carcinoma cell line Eca-109 *in vitro*, perhaps by inhibiting the expression of COX-2 and Survivin.

Key words Paeonol; esophageal carcinoma; radiosensitivity; COX-2; Survivin