

文章编号:2095-0411(2017)04-0032-07

## 去甲基蟛蜞菊内酯对香烟烟雾干预 NHBE 细胞损伤的保护作用

丁淑敏,宋国强,张 烨,李建鹏,陈湘香,徐德峰

(常州大学 制药与生命科学学院,江苏 常州 213164)

**摘要:**考察去甲基蟛蜞菊内酯(Demethylwedelolactone, DWEL)对肺支气管上皮细胞(Normal Human Bronchial Epithelial, NHBE)的保护作用。以香烟烟雾提取物(Cigarette Smoke Extract, CSE)干预 NHBE 细胞为模型,评价 DWEL 对模型细胞存活率的影响。进一步采用超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)和 丙二醛(Malondialdehyde, MDA)试剂盒评价 DWEL 对细胞氧化损伤的影响;采用 Western blot 对炎症指标环氧化酶-2(Cyclooxygenase, COX-2)和细胞间黏附分子-1(Intercellular Cell Adhesion Molecule-1, ICAM-1)进行测定。结果显示, DWEL 能显著提高 CSE 干预的 NHBE 细胞的存活率(70.1%),提高 SOD 的活力,下调 MDA 的含量,使 COX-2 和 ICMA-1 的表达显著降低,并向正常方向接近。表明 DWEL 能降低 CSE 干预的 NHBE 损伤。

**关键词:**去甲基蟛蜞菊内酯;香烟烟雾;肺支气管上皮细胞;超氧化物歧化酶;细胞间黏附分子-1

中图分类号:R 285

文献标志码:A

doi:10.3969/j.issn.2095-0411.2017.04.006

## Protective Effect of Demethylwedelolactone on Cigarette Smoke Extract-Induced Cytotoxicity of NHBE Cells

DING Shumin, SONG Guoqiang, ZHANG Ye, LI Jianpeng, CHEN Xiangxiang, XU Defeng

(School of Pharmaceutical Engineering and Life Science, Changzhou University, Changzhou 213164, China)

**Abstract:** This study is to investigate the protection effect of demethylwedelolactone on NHBE cells. The CSE induced NHBE cells model was built up to evacuate the cell viability. SOD and MDA kit were used to evaluate the effect of DWEL on cell oxidative damage and COX-2 and ICAM-1 were measured by Western blot. The results showed that DWEL could significantly increase the survival rate of NHBE cells induced by CSE (70.1%). Pretreatment with DWEL significantly reversed the activity of SOD and the level of MDA to normal level. The protein expression levels of COX-2 and

收稿日期:2017-04-11。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81603336);江苏省产学研前瞻项目(BY2016029-13)。

作者简介:丁淑敏(1978—),女,吉林通化人,博士,讲师,主要从事天然药物有效成分研究。通讯联系人:徐德峰(1968—),E-mail: markxu@cczu.edu.cn

ICAM-1 which related to inflammatory response were remarkably reduced by DWEL compared with 10% CSE treatment. These results suggested that DWEL can reduce CSE-induced injury on NHBE cells

**Key words:** demethylwedelolactone; CSE; NHBE; SOD; ICMA-1

肺癌已成为严重威胁人类健康的恶性肿瘤之一。近年来,尽管许多新的治疗方法(放射治疗、生物治疗等)不断引入到肺癌的治疗中,但大多数患者5年存活率并未得到明显改善<sup>[1]</sup>。因此,对于肺癌采取预防和治疗相结合的手段已成为降低肺癌发病率和死亡率的一个共识。由于肺癌的发生、发展是一个长期复杂的过程,多种预防和治疗方式的有效结合将是筛选肺癌防治药物的可行手段。大量研究表明,CSE中含有多种化学成分,其中有许多是已知的致癌物质或癌症的启动子<sup>[2-3]</sup>。NHBE细胞长期受烟雾刺激会导致细胞不规则增生及形态的改变,恶化,甚至引发肺癌<sup>[4]</sup>。研究表明墨旱莲提取物能有效缓解香烟提取物对细胞的毒性,提高细胞存活率<sup>[5]</sup>,具有一定肺癌化学预防潜力。然而墨旱莲对CSE作用下的NHBE细胞保护作用的机制尚不十分明确。

DWEL是墨旱莲的主要有效成分之一,具有抑制乳腺癌细胞的活性<sup>[6]</sup>。本实验研究了香烟烟雾提取物对SOD活力,MDA含量和相关炎症蛋白表达的影响,以及DWEL对诱导模型的干预作用,探讨DWEL对CSE作用下的NHBE细胞的保护作用和机制。为更好的开发和利用墨旱莲提供理论依据,也为中药抗癌的机制研究提供实验依据。

## 1 实验部分

### 1.1 材料与试剂

DWEL和维生素E(VE)购自上海将来实业有限公司(纯度 $\geq 99.0\%$ );NHBE(美国,ATCC);SOD活力测定试剂盒(货号:A001-3)和MDA含量测定试剂盒(货号:A004-3)均购自南京凯基生物科技发展有限公司。RPMI1640培养基(南京凯基生物有限公司);南京牌香烟(江苏中烟工业责任有限公司);胎牛血清(GIBCO);胰酶(GIBCO);细胞裂解液(南京建成生物工程研究所)。兔抗Cox-2多克隆抗体、ICAM-1多克隆抗体和辣根过氧化物酶标记的羊抗兔IgG均购自美国Santa Cruz公司。

### 1.2 主要实验方法

#### 1.2.1 CSE对NHBE细胞生存能力的影响

CSE的制备:于实验前30min内,参照Baqir M<sup>[7]</sup>等人的方法制备CSE。取南京牌香烟一根(含焦油11mg,尼古丁1.1mg)去掉过滤嘴,燃烧形成的烟雾通过真空泵溶于10mL无血清空白培养基中,制成100%的CSE溶液,经0.22 $\mu$ m无菌微孔滤膜过滤除菌后备用。取上述生长状态良好的NHBE细胞,调整细胞密度为 $8 \times 10^3/\text{mL}$ ,制成细胞悬液。取96孔板,每孔加入100 $\mu$ L上述细胞悬液,培养24h后,每孔分别加入无血清培养基与不同体积的CSE溶液,使CSE的体积分数分别为20% CSE,10% CSE,5% CSE,2.5% CSE。空白对照组加入100 $\mu$ L无血清培养基,继续培养24h后,去除原培养基,用100 $\mu$ L PBS清洗后加入含10% MTT的无血清培养基100 $\mu$ L,继续培养4h后,去除培养基,每孔加入DMSO溶液100 $\mu$ L,震荡10min,置于酶标仪上,于570nm波长处检测吸光度值。NHBE的活力为

$$\text{细胞活力} = \frac{A_{\text{CSE组}}}{A_{\text{空白组}}} \times 100\%$$

#### 1.2.2 DWEL对CSE干预NHBE细胞生存能力的影响

取96孔细胞培养板,取生长状态良好的NHBE细胞,调整细胞密度为 $8 \times 10^3/\text{mL}$ ,以每孔100 $\mu$ L

加入 96 孔细胞培养板。培养 24h 后,给药组加入 DWEL,使 DWEL 的终浓度分别为 1.25、2.5、5.0、10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ ,培养 2h,然后加入 10% CSE,继续培养 24h;模型组直接加入 10% CSE 继续培养 24h;阴性对照组加入 100 $\mu\text{L}$  无血清培养基,继续培养 24h;选择维生素 E(VE)作为阳性对照药(40 $\mu\text{mol/L}$ )。各组细胞培养 24h 后,弃去除原培养基。每孔加 100 $\mu\text{L}$  PBS 清洗后加入无血清培养基 90 $\mu\text{L}$  及 10 $\mu\text{L}$  5% MTT,共同孵育 4h。弃去培养基,每孔加入 DMSO 溶液 100 $\mu\text{L}$ ,震荡 10min,置酶标仪上于 570nm 波长处检测吸光度值。按上述公式计算细胞的存活率。

### 1.2.3 DWEL 对细胞 SOD 活力及 MDA 含量的影响

按 1.2.2 项下方法制备 CSE,NHBE 细胞给药。继续培养 24h 后,将上述细胞去除上清液,每孔加 200 $\mu\text{L}$  的细胞裂解液,于 4 $^{\circ}\text{C}$  条件下裂解 30min,冷冻离心机内离心(15 000 r/min,5min),收集细胞上清液。测定蛋白浓度,分别按照试剂盒推荐的方法测定细胞中 SOD 和 MDA 的含量。

### 1.2.4 Western blot 检测 DWEL 对 NHBE 细胞相关蛋白表达的影响

另取 6 孔板,每孔加入 2mL 细胞密度为  $8 \times 10^3/\text{mL}$  的 NHBE 细胞培养,按 1.2.2 项下方法制备 CSE,细胞给药。继续培养 24h 后,将上述各组细胞用胰酶消化后,于冷 PBS 中洗涤 2 遍,各加入 200 $\mu\text{L}$  冰预冷裂解缓冲液,裂解,离心,将上清分装,存于 -70 $^{\circ}\text{C}$  备检。Bradford 法测蛋白浓度。每孔上样蛋白量为 70 $\mu\text{g}$ ,并于 95~100 $^{\circ}\text{C}$  变性 5min 后冰上冷却上样,进行 SDS-PAGE 凝胶电泳。电泳条件:浓缩胶恒压 80V 约 30min,分离胶 100V 约 90min。电泳结束后,取出凝胶,置于转移缓冲液中平衡 15min。

湿电转移平放底部电极(阳极),在上面分别放置滤纸、硝酸纤维素膜(NC)、凝胶和滤纸,排除各层气泡后将上方电极(阴极)放于夹层物上。按恒流 200mA 通电,转移 100min。转膜结束后,NC 膜在 5%脱脂奶粉封闭液中封闭(4 $^{\circ}\text{C}$ ,过夜)。弃去封闭液,分别加入多克隆兔抗 Cox-2 和 ICAM-1 多克隆抗体(1:2000)摇床摇荡孵育 4 $^{\circ}\text{C}$ ,过夜。磷酸缓冲液(PBST)漂洗滤膜,加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 抗体(1:5 000),孵育 2h,ECL 显色,定影,分析。

### 1.2.5 统计学分析

数据用  $\bar{X} \pm s$  表示,采用 SPSS 16.0 统计软件进行方差分析,组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$  为有显著性差异, $P < 0.01$  为有极显著性差异。

## 2 实验结果

### 2.1 CSE 对 NHBE 细胞活力的影响

体积分数为 10% 的 CSE 对 NHBE 的生长抑制率达 46.2%,与空白组相比具有显著性差异,见图 1(\*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ )。故选择 10% 的 CSE 作为造模体积分数。

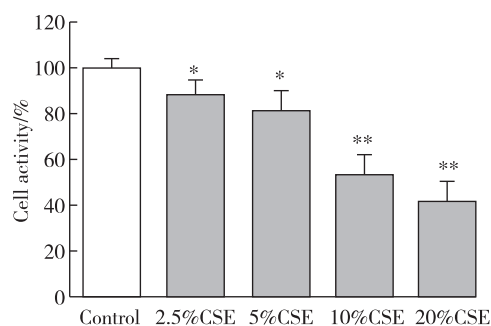


图 1 不同体积分数 CSE 对 NHBE 细胞活力的影响

### 2.2 DWEL 对 CSE 损伤 NHBE 细胞的保护作用

不同浓度 DWEL 对 CSE 干预 NHBE 细胞的保护作用见图 2(##  $P < 0.01$  与空白组比较;\*  $P < 0.05$ ,\*\*  $P < 0.01$ ,与 10% CSE 比较)。与空白组相比,10% CSE 作用于 NHBE 细胞能显著抑制细胞生长,说明 CSE 对 NHBE 有杀伤作用。不同浓度 DWEL 给药后,明显降低 10% CSE 的细胞毒性,提高 NHBE 细胞活力。其中 DWEL 浓度为 2.5、5.0、10、20 $\mu\text{mol/L}$  时,与模型组相比,NHBE 细胞活力有显

著提高,提示 DWEL 能够降低 CSE 导致的细胞毒性,对细胞具有保护作用。当给药浓度达到  $20\mu\text{mol/L}$  时,DWEL 对细胞的保护作用达到最大,细胞活力达到  $70.1\%$ 。给药浓度增加到  $40\mu\text{mol/L}$  时,细胞活力有所下降,提示高浓度 DWEL 可能有一定细胞毒作用。

### 2.3 DWEL 对细胞 SOD 活力与 MDA 水平的影响

细胞中 SOD 的活力和 MDA 的含量分别见图 3 中(a)和(b)( $^{##}P<0.01$ ,与空白对照组比较; $^{*}P<0.05$ , $^{**}P<0.01$ ,与  $10\%$  CSE 组比较)。由图可知,给药 24h 后,与对照组相比, $10\%$  CSE 组(模型组)细胞中 SOD 的活力显著下降(CSE 组,  $0.39 \pm 0.02\text{U/mL}$ );而 MDA 含量显著增加(CSE 组,  $6.07 \pm 0.14\text{nmol/mL}$ )。说明  $10\%$  CSE 作用于 NHBE 细胞后对细胞造成氧化损伤。而细胞给  $10\%$  CSE 同时给 DWEL(浓度为  $2.5, 5.0, 10, 20\mu\text{mol/L}$ )时,细胞中 SOD 活力升高,MDA 含量降低,高剂量组尤其明显。说明,在受到烟雾损伤时,DWEL 能将 NHBE 细胞中 SOD 活力和 MDA 水平向正常水平调节,且呈剂量依赖性。这些结果表明,DWEL 在 CSE 诱导的 NHBE 细胞氧化损伤中具有保护作用。

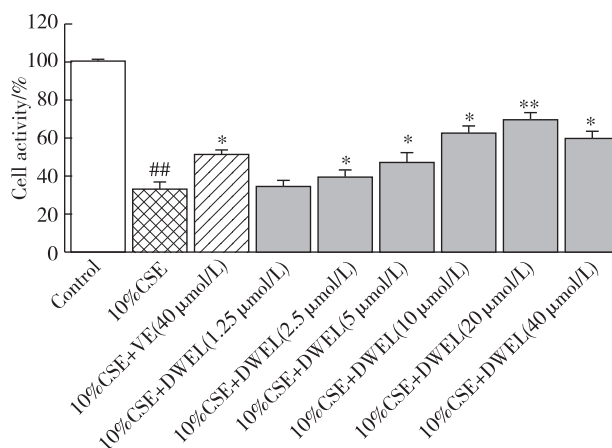


图 2 去甲基萆薢内酯对 CSE 干预 NHBE 细胞活力的影响

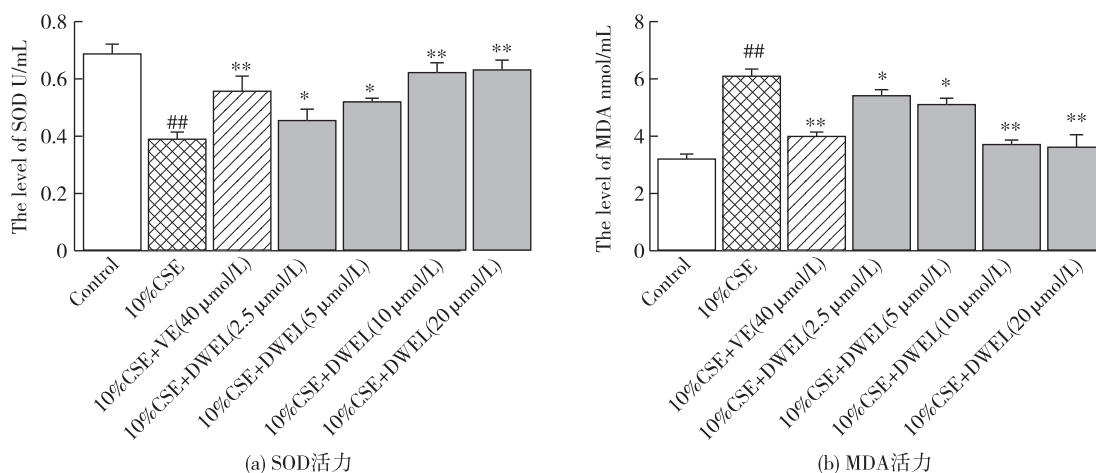


图 3 NHBE 细胞中 SOD 活力与 MDA 水平

### 2.4 DWEL 对 CSE 干预的 NHBE 细胞中 COX-2 和 ICAM-1 表达的影响

细胞中 COX-2 和 ICAM-1 的表达见图 4(a),COX-2 和 ICAM-1 的灰度扫描图分别见图 4(b)和图 4(c)。可见, $10\%$  CSE 作用于 NHBE 细胞后,细胞中 COX-2 和 ICAM-1 的表达发生了显著变化。与对照组相比,模型组中 COX-2 的表达增加了 2.95 倍,ICAM-1 的表达增加了 4.61 倍。两种指标表达的升高都具有显著意义( $^{##}P<0.01$ ),提示  $10\%$  CSE 作用于 NHBE 细胞后,引起细胞的炎症反应。而细胞给予  $10\%$  CSE 同时给 DWEL(浓度为  $2.5, 5.0, 10, 20\mu\text{mol/L}$ )时,NHBE 细胞中 COX-2 和 ICAM-1 的

表达均降低。当给药浓度提高到 10,20 $\mu$ mol/L 时,细胞中 COX-2 和 ICAM-1 的表达下降的尤为显著 (\*\*  $P<0.01$ )。这些结果表明,DWEL 可以减轻 CSE 造成的 NHBE 细胞炎症相关的损伤。

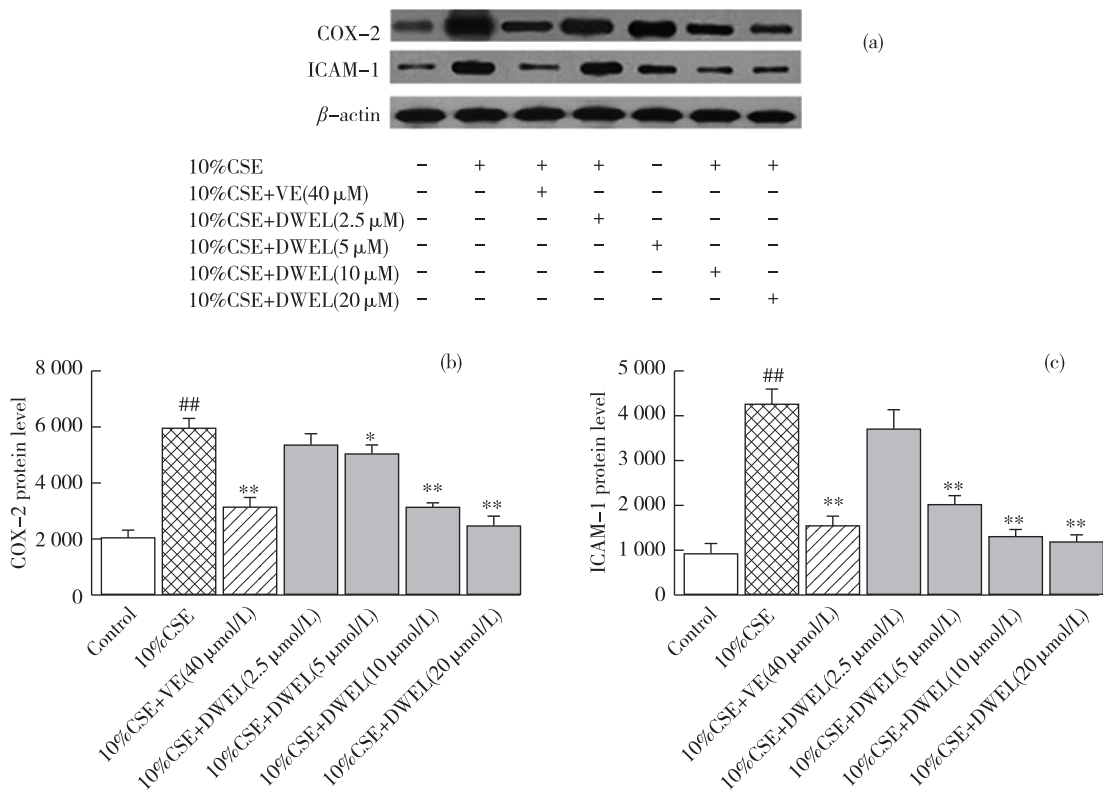


图 4 NHBE 细胞中 ICAM-1 和 COX-2 的表达及灰度扫描图

### 3 讨 论

烟雾(CS)一直被认为是肺癌的发病机制中的最重要的危险因素<sup>[8]</sup>。主动和被动吸烟都能影响肺癌的发生和发展<sup>[9]</sup>。研究表明 CS 包含超过4 000种颗粒和挥发性成分,其中有许多是已知的致癌物质或肿瘤促进剂的复杂混合物<sup>[10-11]</sup>。NHBE 是吸入的空气和人体肺内组织之间的屏障,对空气中的化学物质的刺激比较敏感<sup>[12]</sup>。CS 刺激 NHBE 细胞后,会引起一个涉及细胞形态学和分子修饰多步骤的过程。随着这种复杂的改变不断发生,细胞出现不规则增生和恶性转化<sup>[4]</sup>。严重的有可能会引起肺部组织的病变。因此,香烟诱导 NHBE 细胞模型被用来作为评价药物抑制 CS 毒性,保护肺部组织的一个体外评价模型<sup>[13]</sup>。

采用 CSE 干预的 NHBE 细胞模型评价了 DWEL 对正常支气管上皮细胞的保护作用。发现 DWEL 为 2.5,5.0,10,20 $\mu$ mol/L 时均对细胞具有保护作用,并呈浓度依赖性。初步结果表明 DWEL 可能是 NHBE 细胞损伤的一种有效的保护剂,对肺癌的预防具有积极的作用。

在此基础上对 DWEL 保护 NHBE 细胞损伤的机制进行了初步探索,主要从抗氧化方面和抗炎方面探讨了 DWEL 的作用机制。大量研究表明,SOD 和 MDA 是氧化平衡系统的重要因素<sup>[14]</sup>。SOD 是机体唯一能特异性清除超氧自由基的酶,它能有效的清除活性氧,防止活性氧的生成和蓄积,从而保护细胞膜免受毒害的作用。MDA 是脂质过氧化的降解产物之一,能与蛋白质等结合使其变性,失活。细胞内 MDA 的含量高低间接反应了机体细胞受自由基攻击的严重程度。因而 SOD 和 MDA 的高低多能间接表明机体抗氧化的能力。在本实验中,10%的 CSE 作用于 NHBE 细胞后,SOD 的活力与对照组



相比显著性降低,而 MDA 的含量显著增加,说明 CSE 对细胞的氧化损伤比较严重。而 DWEL 作用于细胞后,SOD 的活力和 MDA 的含量都向正常方向调节,说明 DWEL 有抗氧化活性,能够保护机体对抗外界的氧化损伤。

COX 在细胞正常生理状态下不表达,而当机体处于病理状态时,COX-2 的表达会迅速升高。研究表明,COX-2 还可以刺激血管生成并参与肿瘤生长,侵袭和转移<sup>[15]</sup>。许多恶性肿瘤包括非小细胞肺癌都和 COX-2 的过度表达相关联<sup>[16]</sup>。ICMA-1 主要分布在上皮细胞中,在免疫应答中起重要作用<sup>[17]</sup>。正常组织中,ICMA-1 基本不表达。过度活化的 ICMA-1 可以进入血液,干扰 MHC-1 类抗原对游离癌细胞的免疫识别,从而导致癌细胞逃脱监视,容易发生侵袭和转移<sup>[18-23]</sup>。本实验中 10% CSE 作用于 NHBE 细胞后,无论是 COX-2 还是 ICAM-1 都呈现过表达状态。提示 COX-2 和 ICAM-1 的过表达可能是 NHBE 细胞损伤的早期特征。经 DWEL 处理的 CSE 干预的 NHBE 细胞中,COX-2 和 ICAM-1 的表达与模型组相比,均显著下降,提示 DWEL 具有抗炎作用。

## 4 结 论

DWEL 能显著提高香烟干预的 NHBE 细胞的存活率,并呈一定浓度依赖性。在香烟干预的 NHBE 细胞模型中,DWEL 能将 SOD、MDA、COX-2 和 ICAM-1 等水平向正常方向调节,说明其对肺癌的防治有一定积极的作用。其作用机制可能与氧化应激和抗炎作用相关。

## 参考文献:

- [1]高阳. 肺癌预防的研究进展[J]. 西部医学,2005,17(3):252-254.
- [2]SASCO A J, SECRETAN M B, STRAIF K. Tobacco smoking and cancer: a brief review of recent epidemiological evidence[J]. Lung Cancer,2004,45:S3-S9.
- [3]CHURCH D F, PRYOR W A. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications[J]. Environ Health Persp,1985,64:111-126.
- [4]GRAY J, MAO J T, SZABO E, et al. Lung cancer chemoprevention \* ACCP evidence-based clinical practice guidelines[J]. Chest,2007,132:56-68.
- [5]刘文博,谭晓斌,孙韩燕,等. 墨旱莲对香烟提取物杀伤 NHBE 细胞的保护作用及其机制[J]. 中国中药杂志,2012,37(16):2444-2447.
- [6]LEE Y J, LIN W L, CHEN N F, et al. Demethylwedolactone derivatives inhibit invasive growth in vitro and lung metastasis of MDA-MB-231 breast cancer cells in nude mice[J]. European Journal of Medicinal Chemistry,2012,56:361-367.
- [7]BAQIR M, CHEN C Z, MARTIN R J, et al. Cigarette smoke decreases MARCO expression in macrophages; implication in myco-plasma pneumoniae infection[J]. Respir Med, 2008,102:1604-1610.
- [8]HARRIS J E, THUN M J, MONDUL A M, et al. Cigarette tar yields in relation to mortality from lung cancer in the cancer prevention study II prospective cohort[J]. BMJ,2004,328:1-8.
- [9]GLAUERT H P, MARTIN J B, LI J, et al. Dietary selenium fails to influence cigarette smoke-induced lung tumorigenesis in A/J mice[J]. Cancer Lett,2013,334:127-132.
- [10]李冬,万海英,姚懿雯,等.香烟烟雾激活肺癌细胞 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号途径的机制研究[J].中国癌症杂志,2014,24(12):881-889.
- [11]苏志刚,刘玉萍,韦晔,等.香烟烟雾处理对 BEAS-2B 细胞 FHIT 基因甲基化及其 mRNA 表达的影响[J].毒理学杂志,2016,31(1):22-26.
- [12]BAEZA-SQUIBAN A, BONVALLOT V. Airborne particles evoke an inflammatory response in human airway epi-

- thelium activation of transcription factors[J]. *Cell Biology and Toxicology*, 1999, 15: 375-380.
- [13] WANDA R, RANDI M, PAMELA S, et al. Gene Expression in Normal Human Bronchial Epithelial (NHBE) cells following in vitro exposure to cigarette smoke condensate[J]. *Toxicological Science*, 2005, 86(1): 84-91.
- [14] PIAO M J, YOO E S, KOH Y S, et al. Antioxidant effects of the ethanol extract from flower of camellia japonica via scavenging of reactive oxygen species and induction of antioxidant enzymes[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2011, 12: 2618-2630.
- [15] DUNINETT S, SHARMA S, HUANG M, et al. Cyclooxygenase-2 in lung cancer[J]. *Prog Exp Tumor Res*, 2003, 37: 138-162.
- [16] HOSOMI Y, YOKOSE T, HIROSE Y, et al. Increased cyclooxygenase-2(COX-2) expression occurs frequently in precursor lesions of human adenocarcinoma of the lung[J]. *Lung Cancer*, 2000, 30: 73-81.
- [17] HUBBARD A K, ROTHLEIN R. Intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) expression and cell signaling cascades[J]. *Free Radic Biol Med*, 2000, 28: 1379-1386.
- [18] 周文波, 于昌松, 戴宗晴, 等. 粘附分子 ICAM-1、VCAM-1 的表达与肝细胞癌侵袭性的相关研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2001, 11(4): 13-14.
- [19] 曾旭, 罗百灵. NF- $\kappa$ B 及 ICAM-1 在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义[J]. *中国现代医学杂志*, 2005, 15(14): 2145-2149.
- [20] 邵伶俐, 兰晓梅, 王成彬, 等. 葛根素对支气管上皮细胞和中性粒细胞共培养体系中黏附分子表达的影响[J]. *解放军医学杂志*, 2012, 37(4): 308-311.
- [21] 张洁, 陈俊杰, 陈成水, 等. STAT1 和 ICAM-1 在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义[J]. *中国病理生理杂志*, 2012, 28(8): 1378-1382.
- [22] 王振冉, 李扬, 唐博. 山姜素对肺微血管内皮细胞损伤保护机制[J]. *中国中西医结合杂志*, 2017, 37(4): 476-479.
- [23] 张振勇, 曹秋婷, 吴荣, 等. 放射性肺损伤中核因子  $\kappa$ B 和细胞间黏附分子 1 的表达及意义[J]. *中国医科大学学报*, 2014, 43(2): 155-158.

(责任编辑:殷丽莉)

\*\*\*\*\*

【上接第 31 页】

- [27] LYNTH D E, KIKHAM A N, CHOWDHURY M, et al. Water soluble squaraine dyes for use as colorimetric stains in gel electrophoresis[J]. *Dyes and Pigm*, 2012, 94(3): 393-402.
- [28] SHI Y, HILL R B, YUM J H, et al. A high-efficiency panchromatic squaraine sensitizer for dye-sensitized solar cells[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50(29): 6619-6621.
- [29] BEVERINA L, SALICE P. Squaraine compounds: tailored design and synthesis towards a variety of material science applications[J]. *Eur J Org Chem*, 2010(7): 1207-1225.
- [30] KIMS, MOR G K, PAULOSE M, et al. Molecular design of near-IR harvesting unsymmetrical squaraine dyes[J]. *Langmuir*, 2010, 26(16): 13486-13492.
- [31] WANG Z S, LI F Y, HUANG C H. Photocurrent enhancement of hemicyanine dyes containing RSO<sub>3</sub>-group through treating TiO<sub>2</sub> films with hydrochloric acid[J]. *J Phys Chem B*, 2001, 105(38): 9210-9217.
- [32] LAW K Y. Organic photoconductive materials: recent trends and developments[J]. *Chem Rev*, 1993, 93(1): 449-486.
- [33] LIU L H, NAKATANI K, PANSU R, et al. Fluorescence patterning through photoinduced migration of squaraine-functionalized azo derivatives[J]. *Adv Mater*, 2007, 19: 433-436.
- [34] RAMALINGAM V, DOMARADZKI M E, JANG S, et al. Carbonyl groups as molecular valves to regulate chloride binding to squaramides[J]. *Org Lett*, 2008, 10(15): 3315-3318.

(责任编辑:殷丽莉)