

Sodium Tanshinone II-A Sulfonate Inhibits Human Renal Interstitial Fibroblast Proliferation by Attenuating Cyclin D1 Expression *In Vitro*

Guohua YU¹, Xiaolong SUI¹, Li ZHANG¹, Fan FENG², Lei JIANG¹,
Xubo PAN¹, Guimei QU¹, Wenting WANG^{3*}, & Chunhua LIN^{2*}

¹ Department of Pathology, ² Department of Urology, Affiliated Yantai Yuhuangding Hospital,
Qingdao University, Yantai 264000, Shandong Province, China

SUMMARY. The objective was to study the effect of sodium tanshinone II-A sulfonate on the proliferation of human renal interstitial fibroblasts (hRIFs) and the expression of cyclin D1 *in vitro*. The tissue was taken from human renal interstitial sample of patient who suffered from chronic unilateral ureteral obstruction (UUO) and cells were cultured for 5 passages *in vitro*; the cells of 2nd~5th passage were used to observe morphology by inverted phase contrast microscope and identify by immunocytochemistry (ICC). After hRIFs were cultured and identified, MTT was used to detect the cells at passage 3-4 in presence or absence of tanshinone II-A sulfonate at different concentrations. The expression of cyclinD1 was analyzed by ICC and the image obtained by analytical technique. The cells of 2nd~5th passage cultured *in vitro* were shuttle-shaped and owned one or two chromatospherites. The cells of 3rd~5th passages did not express keratin and desmin but vimentin; there was diploid karyotype in the cells of 2nd~5th passages. With the increase of the drug concentration and prolongation of action time, the inhibitory ratio was increased in a dose- and time-dependent manner. The expression of cyclin D1 was stronger in drug groups than that in control group on the 3rd, 5th, 7th, and 9th day ($P < 0.05$, $P < 0.01$). In conclusion, sodium tanshinone II-A sulfonate significantly inhibited the proliferation of the hRIFs *in vitro*, which may be one of mechanisms to suppress renal interstitial fibrosis. The mechanism of the inhibition might be due to that sodium tanshinone II-A sulfonate inhibited the expression of cyclin D1, which blocked the G1/S point and extends the cell cycle.

RESUMEN. El objetivo fue estudiar el efecto del sulfonato sódico de tanshinona II sobre la proliferación de fibroblastos intersticiales renales humanos (hRIF) y la expresión de ciclina D1 *in vitro*. El tejido se tomó de una muestra intersticial renal humana de un paciente que padecía obstrucción ureteral unilateral crónica (UUO) y las células se cultivaron durante 5 pases *in vitro*; las células de 2^o ~ 5^o pasaje se usaron para observar la morfología con un microscopio de contraste de fase invertida e identificarlas mediante inmunocitoquímica (ICC). Después de cultivar e identificar los hRIF, se usó MTT para detectar las células en el paso 3-4 en presencia o ausencia de sulfonato de tanshinona II-A en diferentes concentraciones. La expresión de ciclina D1 fue analizada por ICC y una técnica analítica de imagen. Las células de 2^o a 5^o pases cultivadas *in vitro* estaban conformadas por lanzadera y poseían una o dos cromatosferitas de arrastre. Las células de los pasos 3^o a 5^o no expresaron queratina y desmina sino vimentina; hubo cariotipo diploide en las células de 2^o a 5^o pasajes. Con el aumento de la concentración del fármaco y la prolongación del tiempo de acción, la proporción inhibitoria se incrementó de una manera dependiente de la dosis y el tiempo. La expresión de ciclina D1 fue más fuerte en los grupos de fármacos que en el grupo de control en los días 3, 5, 7 y 9 ($P < 0,05$, $P < 0,01$). En conclusión, el sulfonato de sodio tanshinona II-A inhibió significativamente la proliferación de los hRIF *in vitro*, que puede ser uno de los mecanismos para suprimir la fibrosis intersticial renal. El mecanismo de la inhibición podría deberse a que el sulfonato sódico de tanshinona II-A inhibió la expresión de ciclina D1, que bloqueó el punto G1/S y extendió el ciclo celular.

KEY WORDS: cyclinD1, fibrosis, human renal interstitial fibroblast, proliferation, sodium tanshinone II-A sulfonate.

* Authors to whom correspondence should be addressed. E-mails: linchunhua1980@163.com (Chunhua Lin),
wwting_78@163.com (Wenting Wang)