DOI:10.3969/j.issn.1005-1678.2016.06.06

胃铋镁中药组分对胃癌细胞周期的调节和裸鼠体内肿瘤抑制的实验研究

乔巍[1†], 邸军[2†], 汪小莞[1], 董旭[1], 张琦[1], 姜春娃[1], 李江[3Δ], 李晓萌[1Δ]

(1. 东北师范大学 生命科学学院分子表观遗传学教育部重点实验室,吉林 长春 130024;2. 吉林省人民医院 病理科,吉林 长春 130000;3. 吉林大学口腔医院 口腔修复科,吉林 长春 130041)

[**摘要**] **目的** 研究胃铋镁中药组分(弗朗鼠李皮、茴香、石菖蒲、甘草和芦荟)对胃癌细胞周期的调节作用和对胃癌移植瘤的生长抑制作用。**方法** 将胃铋镁和胃铋镁中药总组分及其组分中弗朗鼠李皮、茴香、石菖蒲、甘草、芦荟分别作用于胃癌细胞 SGC-7901,MTT 法检测各处理组细胞的增殖状态;流式细胞仪检测细胞周期;Western blot 检测细胞周期相关蛋白的表达。构建裸鼠 SGC-7901 胃癌移植瘤模型,研究胃铋镁及其中药总组分及其组分对胃癌移植瘤的生长抑制作用;免疫组化检测 STAT3 信号通路相关蛋白 STAT3、p-STAT3、Bcl-2、Cyclin D1 和 Survivin 的表达情况。**结果** 胃铋镁中药总组分及其组分中的弗朗鼠李皮、茴香和石菖蒲对 SGC-7901 细胞的抑制率显著高于对照组($P<0.05$);流式检测和 Western blot 结果显示,胃铋镁、胃铋镁中药总组分及其组分中弗朗鼠李皮、茴香和石菖蒲均可以使胃癌细胞阻滞于 G1 期($P<0.05$),并能够有效下调细胞周期蛋白 Cyclin A、B、D、E 的表达;但甘草和芦荟对胃癌细胞的增殖抑制和细胞周期阻滞作用不显著。荷瘤裸鼠实验结果显示,胃铋镁中药总组分组、弗朗鼠李皮组、茴香组和石菖蒲组对胃癌细胞的生长抑制作用显著强于对照组和三联药(三种市售胃炎胃溃疡类药物联合用药)组($P<0.05$),并可以抑制 STAT3 的磷酸化,下调 STAT3 信号通路靶基因 Bcl-2、CyclinD1 和 Survivin 的表达。**结论** 胃铋镁及其中药组分中的弗朗鼠李皮、茴香和石菖蒲可以显著抑制胃癌细胞 SGC-7901 增殖,阻滞细胞周期于 G1 期,并可以在体内抑制荷瘤裸鼠肿瘤的生长。

[**关键词**] 胃铋镁;中药组分;胃癌;细胞周期

[**中图分类号**] R735.2 [**文献标识码**] A

Effects of Chinese medicine portions of Weibimei on cell cycle regulation and tumor inhibition in nude mice

QIAO Wei[1†], DI Jun[2†], WANG Xiao-wan[1], DONG Xu[1], ZHANG Qi[1], JIANG Chun-wa[1], LI Jiang[3Δ], LI Xiao-meng[1Δ]

(1. Key Laboratory of Molecular Epigenetics of MOE, School of Life Sciences, Northeast Normal University, Changchun 130024, China; 2. Department of Pathology, People's Hospital of Jilin Province, Changchun 130000, China; 3. Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Stomatologic Hospital, Jilin University, Changchun 130041, China)

[**Abstract**] **Objective** To study the effects of Weibimei and its Chinese medicine portions(cortex frangulae, fennel powder, acorus tatarinowii, glycyrrhizae and asparagus) on cell cycle regulation in gastric cancer cells and growth inhibition in gastric cancer Xenografts. **Methods** Gastric cancer SGC-7901 cells were normally cultured and treated with Weibimei, extractum glycyrrhizae, cortex frangulae, fennel powder, acorus tatarinowii and asparagus. Then, the proliferation of SGC-7901 cells were detected by MTT assay, their effect on SGC-7901 cell cycle were measured by flow cytometry, and the expression of cell cycle related proteins were examined by Western blot. Animal models of SGC-7901 cells xenografts in nude mice were constructed to evaluate the growth inhibition effects of Weibimei and its Chinese medicine portions, and the expression of STAT3, p-STAT3, Cyclin D1, Bcl-2 and Survivin in gastric tumors were detected by immunohistochemical assays. **Results** Weibimei and its three kinds of Chinese medicine portions,

资助项目:科技部国际合作项目(2010DFA31430);吉林省科技厅(20130521010JH,20150101187JC,20150414007GH),吉林省教育厅课题(2015-526,2015-551);高校基本科研业务费专项基金(2412015ZH005,2412016KJ037,130017507,130028633);吉林省高等学校经济菌物高端科技创新平台(吉高平合字【2014】B-1);国家自然科学基金(30871301,30700827);引智计划(B07017)

作者简介:乔巍,女,硕士在读,研究方向:肿瘤信号转导,E-mail:qiaow634@nenu.edu.cn;邸军,共同第一作者,男,主任医师,研究方向:肿瘤信号转导,E-mail:Dijun1991@163.com;李晓萌,通信作者,女,教授,博士生导师,研究方向:肿瘤信号转导,E-mail:lixm441@nenu.edu.cn;李江,共同通信作者,男,教授,硕士生导师,研究方向:肿瘤信号转导,E-mail:ljiang@jlu.edu.cn。

cortex frangulae, fennel and acorus tatarinowii could obviously inhibit the proliferation of SGC-7901 cells, compared to control group, with a statistical significant difference ($P<0.05$). The cell cycle of SGC-7901 was arrested at G1 phase with cortex frangulae, fennel and acorus tatarinowii treatment, the expression of Cyclin A, B, D, E were decreased significantly ($P<0.05$). However, no significant effects was found in glycyrrhizae or asparagus group. Xenografts tumor sizes in Weibimei, cortex frangulae, fennel or acorus tatarinowi groups were much smaller than that in saline group or Triple Therapy group (three-kinds-drugs-combination for the treatment of gastric ulcer) ($P<0.05$). Xenografts experiments showed that the tumor growth in nude mice in Weibimei, cortex frangulae, fennel or acorus tatarinowi groups were significantly smaller than that in control group or in Triple Therapy Group ($P<0.05$), and phosphorylated STAT3, and STAT3 signaling targeted genes, including Bcl-2, Cyclin D1 and Survivin were all significantly down-regulated by immunostaining. **Conclusion** Weibimei and its Chinese medicine portions including cortex frangulae, fennel and acorus tatarinowii can could significantly inhibit the growth of SGC-7901 cells proliferation and arrested the cell cycle of G1 phase in vitro, and inhibit gastric cancer xenografts in nude mice in vivo.

[Keywords] Weibimei; chinese medicine portion; gastric cancer; cell cycle

胃癌是全世界最常见的消化道肿瘤之一,已成为我国第二大致死癌症,目前尚无有效的治疗药物[1-3]。胃铋镁颗粒属新型化药中药结合制剂,对临床上各种胃炎、胃溃疡和胃黏膜损伤均有很好的疗效[4]。在前期研究中,本课题组通过体外细胞实验发现胃铋镁在体外可以显著抑制胃癌细胞 SGC-7901 增殖,促进细胞凋亡,作用效果主要来自胃铋镁-中药总组分,而胃铋镁-化药总组分抗肿瘤作用不显著(正在投稿)。胃铋镁中药组方由甘草浸膏粉、弗朗鼠李皮、茴香粉、石菖蒲和芦荟 5 种单药组成,每种单药组分作用不同,抗肿瘤的具体有效单药和机制尚不明确。本实验旨在探讨胃铋镁及其中药组分对胃癌细胞株 SGC-7901 增殖和细胞周期的影响,及其在体内抑制胃癌生长的效应,为开发低毒高效的抗肿瘤药物提供实验依据。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　细胞和实验动物:胃癌 SGC-7901 细胞系由本实验室保存; 24 只体质量 20 ~ 25g 的 6 周龄 BALB/c 裸鼠购自吉林大学实验动物中心。

1.1.2　试剂:DMEM 培养基和胎牛血清(FBS)购自美国 GIBCO 公司;MTT 购自北京鼎国昌盛生物技术有限公司;胃铋镁药物及其各组分由弘美制药中国有限公司提供;三联药:克拉霉素片购自上海雅培制药有限公司;阿莫西林胶囊购自联邦制药股份有限公司;埃索美拉唑镁肠溶片购自阿斯利康制药有限公司。鼠源 β-Actin 抗体购自武汉博士德、兔源 STAT3 一抗、p-STAT3 一抗、Cyclin A、Cyclin B、Cyclin D1、Cyclin E 一抗、survivin 一抗,鼠源 Bcl-2 一抗等均购自 Santa Cruz,辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔及羊抗鼠 IgG 二抗购自 Sigma 公司。

1.1.3　实验仪器:酶标仪(ELx808,美国 Bio-Tek 公司);流式细胞仪(EPICS-ELITE-ESP);CO_2 恒温细胞培养箱(Hera cell 150,Heraeus,Germany);荧光显微镜(Olympus,Japan);电泳仪(JM-250,大连捷迈科贸有限公司);电转槽(Biorad)。

1.2　方法

1.2.1　药物浓度设定:药物浓度根据说明书定量,将如下浓度作为体外细胞实验药物处理的标准浓度,分别是胃铋镁 100 μg/mL,胃铋镁中药总组分 71.4 μg/mL,中药单药组分包括甘草 8.3 μg/mL、弗朗鼠李皮 0.5 μg/mL、茴香 0.5 μg/mL、芦荟 1 μg/mL、石菖蒲 0.4 μg/mL。

将如下浓度作为体内裸鼠移植瘤实验药物灌胃浓度,分别是三联药组(克拉霉素片 33.2 mg/kg + 阿莫西林胶囊 101.7 mg/kg + 埃索美拉唑镁肠溶片 1.8 mg/kg)、胃铋镁组(1849.5 mg/kg)、弗朗鼠李皮组(9.2 mg/kg)、茴香组(9.2 mg/kg)和石菖蒲组(7.7 mg/kg)。

1.2.2　细胞培养和分组:将 SGC-7901 细胞置于含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中培养,培养条件为 5% CO_2,温度为 37 ℃。细胞长满后胰酶消化传代,取对数生长期的细胞分成 7 组,分别用 1.2.1 下所述浓度的胃铋镁、胃铋镁中药总组分、弗朗鼠李皮、茴香、石菖蒲、甘草和芦荟处理,继续培养 24 h。

1.2.3　MTT 实验:利用 0.25% 胰蛋白酶消化胃癌 SGC7901 细胞,以每孔 1×10^4 cells 接种于 96 孔板中,5% CO_2, 37 ℃孵箱培养。参照 1.2.1,以标准加药浓度(1 倍剂量)的 1/3 浓度作为低浓度,3 倍浓度作为高浓度,各种药物分组参照 1.2.2,每组均采用 3 个浓度作用于胃癌 SGC-7901 细胞,24 h 后每孔加入 MTT 溶液(5 g/L)20 μL,继续孵育 4 h,吸弃孔内培养上清液,每孔加入 150 μL DMSO,振荡 10 min,使结晶物充分溶解。酶标仪在 490 nm 处测吸光度值(OD)。实验重复 3 次。

1.2.4　细胞周期实验:胃癌 SGC7901 细胞以每孔 1×10^6 cells 接种于 6 孔板中,5% CO_2,37 ℃培养,第 2 天细胞更换成 1% FBS 的 DMEM 培养,细胞分组处理和药物浓度参照 1.2.2,作用 24 h 后胰酶消化离心收集并悬于 PBS 中,70% 乙醇固定 30 min,用含 RNase 及碘化丙锭的染色液避光孵育 30 min,流式细胞仪测定细胞周期,用 MULTICYCLE 软件处理结果。

1.2.5　Western blot 实验:按照 1.2.2 分组和药物浓度处理细胞 24 h 后,RIPA 消化提取蛋白质,并配置成相同浓度的蛋白质溶液。配置 12% 分离胶和 5% 浓缩胶,调整电压 80 ~ 120 V 电泳 2 h,300 mA 恒定电流转膜 4 h,室温牛奶封闭 1 h,加一抗(Cyclin A, Cyclin B, Cyclin D1, Cyclin E, STAT3, p-STAT3, survivin, Bcl-2,稀释比例均为 1∶200)4 ℃孵育过夜,TBST 洗涤 3 次,每次 5 min。加入二抗(辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 及羊抗鼠 IgG,稀释比例为 1∶500)室温反应 1 h,TBST 洗涤 3 次,每次 10 min。最后进行化学发光反应、曝光。灰度值分析。实验重复 3 次。

1.2.6　胃癌移植瘤模型实验:SGC-7901 细胞经过胰酶消化,离心后用 PBS 悬起,使细胞浓度为 1×10^7 个/mL,接种于裸鼠背部皮下,每只接种 0.15 mL 细胞悬液。接种后 10 d 左右可见背部长出肿瘤块,证明接种成功。将肿瘤接种成功的 24 只裸鼠随机分成 6 组,生理盐水组、三联药组(克拉霉素片 + 阿莫西林胶囊 + 埃索美拉唑镁肠溶片)、胃铋镁组、弗朗鼠李皮组、茴香

组、石菖蒲组，每组 4 只。各组均采用灌胃给药，每次给药体积 2 mL，连续给药 3 w。每 4 d 测量一次肿瘤大小，用游标卡尺测量移植瘤的长径（a）和与之垂直的短径（b），计算肿瘤体积（$V = a \times b2/2$），绘制肿瘤生长曲线。第 26 天处死小鼠，剖肿瘤、照相，称取肿瘤质量并计算抑瘤率。

抑瘤率 =（模型组平均瘤质量-给药组平均瘤质量）/模型组平均瘤质量

1.2.7 免疫组化实验：用 4% 的多聚甲醛固定肿瘤组织，石蜡包埋，常规切片。65 ℃烤片，二甲苯脱蜡，梯度酒精脱水，抗原修复，3% H_2O_2 孵育 10 min，PBS 冲洗后进行免疫组化染色。适当比例滴加一抗（STAT3，$_P$-STAT3，Cyclin D1，survivin，Bcl-2，稀释比例均为 1∶200），4 ℃孵育过夜，PBS 冲洗 3 次。滴加辣根过氧化物酶标记的二抗，37 ℃孵育 1 h，PBS 冲洗 3 次。然后滴加现配制的 DAB 显色，苏木精复染，常规梯度脱水、透明、干燥、封片，荧光显微镜下拍照分析。

1.3 统计学方法 应用 SPSS 17.0 软件和 Excel 2007 进行数据分析，正态计量数据用“$\bar{x} \pm s$”表示，组间两两比较采用 t 检验，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃铋镁及其各组分对胃癌 SGC-7901 细胞株增殖的影响 MTT 结果显示：与对照组相比，胃铋镁能明显抑制 SGC-7901 细胞增殖，抑制率达到 50% 以上，差异具有统计学意义（$P < 0.05$）。胃铋镁中药总组分，胃铋镁中药组分中弗朗鼠李皮、茴香和石菖蒲均能显著抑制 SGC-7901 细胞增殖（$P < 0.05$），但甘草、芦荟的细胞增殖抑制效应不显著。表明胃铋镁及其中药组分弗朗鼠李皮、茴香和石菖蒲具有肿瘤抑制效应。见表 1。

表 1 胃铋镁及其中药组分对 SGC-7901 细胞增殖的影响（$\bar{x} \pm s$，$n = 4$）

Tab. 1 Effect of Weibimei and its Chinese medicine portion on SGC-7901 cell proliferation（$\bar{x} \pm s$，$n = 4$）

组别	1/3 倍标准浓度		标准浓度		3 倍标准浓度	
	OD_{490}	抑制率（%）	OD_{490}	抑制率（%）	OD_{490}	抑制率（%）
对照组	0.328 ± 0.032	0.122 ± 0.02	0.337 ± 0.019	0.032 ± 0.01	0.343 ± 0.021	0.013 ± 0.12
胃铋镁组	0.172 ± 0.028**	48.96 ± 8.27**	0.146 ± 0.004**	56.69 ± 1.19**	0.117 ± 0.012**	65.40 ± 3.59**
胃铋镁中药总组分组	0.264 ± 0.019*	21.56 ± 5.64*	0.248 ± 0.012**	26.26 ± 3.67**	0.206 ± 0.037**	38.95 ± 11.18**
弗朗鼠李皮组	0.203 ± 0.041**	39.72 ± 12.06**	0.191 ± 0.009**	17.06 ± 32.92**	0.193 ± 0.006**	42.80 ± 1.65**
茴香组	0.204 ± 0.017**	39.29 ± 5.06**	0.183 ± 0.024**	45.64 ± 7.26**	0.191 ± 0.022**	43.31 ± 6.41**
石菖蒲组	0.244 ± 0.022*	27.58 ± 6.68*	0.230 ± 0.016**	31.35 ± 7.51**	0.192 ± 0.031**	40.87 ± 8.65**
甘草组	0.313 ± 0.015	7.11 ± 4.57	0.312 ± 0.017	7.43 ± 5.03	0.285 ± 0.010	15.30 ± 2.91
芦荟组	0.330 ± 0.009	3.54 ± 4.06	0.312 ± 0.013	7.40 ± 3.82	0.316 ± 0.017	6.19 ± 4.98

* $P < 0.05$，** $P < 0.01$，与对照组比较，compared with control group

2.2 胃铋镁及其中药组分对胃癌 SGC-7901 细胞周期的影响 流式结果显示：与对照组比较，胃铋镁和其中药总组分 G1 期细胞明显增多（$P < 0.05$），S 期和 G2 期百分比减少（$P < 0.05$）；胃铋镁中药组分中的弗朗鼠李皮、茴香和石菖蒲组处在 G1 期细胞数量也显著增多（$P < 0.05$）。见表 2。说明胃铋镁及其中药组分弗朗鼠李皮、茴香和石菖蒲能将 SGC-7901 细胞阻滞在 G1 期。

表 2 胃铋镁及其中药组分对 SGC-7901 细胞周期的影响（$\bar{x} \pm s$，$n = 3$）

Tab. 2 Effect of Weibimei and its Chinese medicine portion on SGC-7901 cell cycle（$\bar{x} \pm s$，$n = 3$）

组别	G1（%）	S（%）	G2（%）
对照组	54.029 ± 2.454	40.370 ± 1.752	5.601 ± 0.715
胃铋镁组	75.785 ± 1.874*	22.075 ± 1.396*	2.141 ± 0.560*
胃铋镁中药总组分组	73.293 ± 1.184*	21.107 ± 0.990*	5.599 ± 0.197
弗朗鼠李皮组	69.445 ± 0.891*	20.766 ± 1.247*	9.789 ± 0.402
茴香组	65.291 ± 1.240*	27.333 ± 1.028*	7.376 ± 0.423
石菖蒲组	64.462 ± 0.699*	34.900 ± 1.291*	1.638 ± 0.591*
甘草组	52.603 ± 0.707	44.053 ± 1.238	3.343 ± 1.109
芦荟组	55.548 ± 1.822	38.841 ± 0.861	5.612 ± 1.126

* $P < 0.05$，与对照组比较，compared with control group

2.3 胃铋镁中药总组分及各组分对细胞周期相关蛋白表达的影响 Western 结果显示：与对照组相比，胃铋镁中药总组分及单组分弗朗鼠李皮、茴香、石菖蒲均可以使细胞周期蛋白 Cyclin A、B、D、E 的表达水平下调，见图 1。说明胃铋镁中药组分及其单组分弗朗鼠李皮、茴香和石菖蒲能阻滞 SGC-7901 细胞周期在 G1 期，与流式细胞实验结果一致。

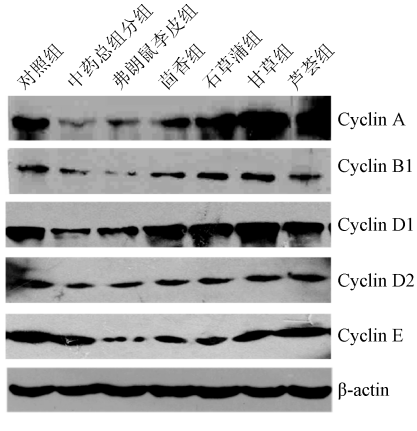

图 1 胃铋镁中药组分及其单组分对胃癌细胞周期蛋白表达的影响

Fig. 1 Effect of Weibimei and its Chinese medicine portion on the protein expression related to cell cycle in SGC-7901cell

2.4 胃铋镁中药各组分对胃癌移植瘤的生长抑制作用 选取体外细胞实验中增殖抑制作用显著的药物胃铋镁中药总组分、单组分弗朗鼠李皮、茴香、石菖蒲作为实验组，生理盐水和三联药作为对照组，对移植瘤小鼠进行灌胃治疗。结果显示：24 d

后，与生理盐水组和三联药组相比，胃铋镁中药总组分组肿瘤的体积和质量均明显降低，抑瘤率显著高于生理盐水组，差异有统计学意义（$P<0.05$）；弗朗鼠李皮组、茴香组和石菖蒲组的肿瘤体积和质量也显著小于生理盐水组（$P<0.05$）。见图 2 和表 3。表明胃铋镁中药总组分、单组分弗朗鼠李皮、茴香和石菖蒲在体内具有抑制肿瘤生长的作用。

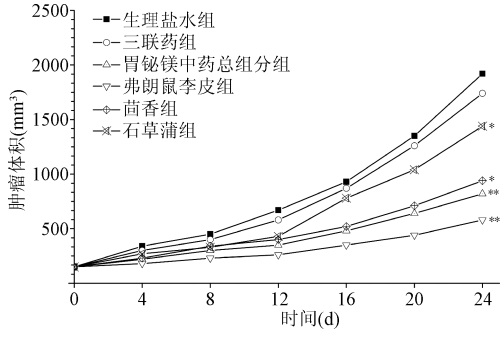

图 2　各组裸鼠肿瘤的生长曲线（$\bar{x}\pm s, n=3$）

$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$，与对照组比较

Fig. 2　Tumor growth curve of nude mice in each group ($\bar{x}\pm s, n=3$)

$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$，compared with control group

表 3　各组荷瘤裸鼠肿瘤生长情况比较（$\bar{x}\pm s, n=3$）

Tab. 3　Comparison of tumor size in nude mice orthotopically transplanted gastric cancer cell within different groups ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	肿瘤重量（mg）	肿瘤抑制率（%）
生理盐水组	1340.83 ± 66.99	—
三联药组	1174.00 ± 85.30	12.44 ± 6.36
胃铋镁中药总组分组	323.17 ± 24.82	75.90 ± 1.86 **
弗朗鼠李皮组	272.33 ± 15.69	79.69 ± 1.17 **
茴香组	473.50 ± 11.90	64.69 ± 0.89 **
石菖蒲组	990.71 ± 21.16	26.65 ± 0.75 *

$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$，与对照组比较，compared with control group

2.5　胃铋镁及其中药各组分对 STAT3 信号通路相关蛋白表达的影响　免疫组化结果显示：与生理盐水组比较，胃铋镁中药总组分、弗朗鼠李皮、茴香和石菖蒲均可以明显下调 STAT3 信号通路相关蛋白 STAT3、p-STAT3 的蛋白表达水平，并显著抑制 STAT3 信号下游的增殖关联基因 Bcl-2、Cyclin D1 和 Survivin 的蛋白表达水平，差异均具有统计学意义（$P<0.05$）。见表 4 和图 3。表明胃铋镁中药总组分及其单组分可在体内抑制 STAT3 磷酸化，调控 STAT3 信号通路。

表 4　肿瘤组织中 STAT3 信号通路相关蛋白表达的标记指数（$\bar{x}\pm s$，%，$n=4$）

Tab. 4　Label index of the protein expression related to STAT3 signaling pathway in tumor tissues ($\bar{x}\pm s$, %, $n=4$)

组别	STAT 3	p-STAT 3	Bcl-2	CyclinD1	Survivin
生理盐水组	73.82 ± 11.87	70.42 ± 12.33	80.69 ± 11.7	83.42 ± 12.45	74.21 ± 19.03
三联药组	70.58 ± 15.37	62.45 ± 12.28	75.93 ± 18.6	69.82 ± 12.93	71.03 ± 8.28
胃铋镁中药总组分组	29.90 ± 11.86 **	31.25 ± 14.38 **	28.65 ± 7.58 **	31.89 ± 8.72 **	35.66 ± 15.2 **
弗朗鼠李皮组	25.69 ± 11.17 **	26.49 ± 8.93 **	24.86 ± 13.82 **	30.71 ± 10.04 **	32.44 ± 16.36 **
茴香组	34.69 ± 10.89 **	39.48 ± 14.98 **	35.63 ± 11.93 **	41.79 ± 12.16 **	50.65 ± 17.5 *
石菖蒲组	44.67 ± 13.82 *	47.83 ± 12.04 *	64.69 ± 0.89 *	52.53 ± 13.08 *	67.6 ± 12.83 *

$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$，与对照组比较，compared with control group

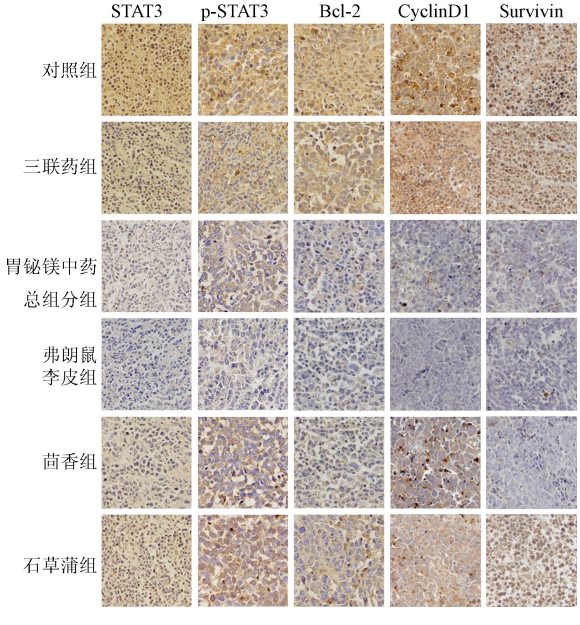

图 3　胃铋镁中药总组分及其单组分对胃癌肿瘤组织中 STAT3 信号通路相关蛋白表达的影响（×400）

Fig. 3　The protein expression related to STAT3 signaling pathway in tumor tissue treatment by Weibimei or its chinese medicine portion（×400）

3　讨论

肿瘤的发生与细胞增殖和细胞周期异常密切相关，所以药物对肿瘤细胞的增殖抑制和细胞周期的调控是评估药物抗肿瘤疗效的一项重要指标[5-7]。近年来，采用传统中药治疗胃癌的实验研究取得了很大的进展，大量研究证明中药可通过干扰 DNA 合成，影响细胞周期调控因子的表达，阻滞细胞周期等多种方式抑制胃癌细胞的增殖[8-10]。中药抗肿瘤具有多靶点，不良作用较低，且能提高机体免疫力的特性，越来越受到研究者的重视[11-12]。

胃铋镁颗粒属新型化药中药结合制剂，化药组方包括铝酸铋、重质碳酸镁和碳酸氢钠，中药组方包括甘草浸膏粉、弗朗鼠李皮、茴香粉、石菖蒲和芦荟。其中，茴香有减轻胃肠胀气、镇痛的作用[13]；弗朗鼠李皮具有缓泻、促进肠胃蠕动的作用；石菖蒲可促进消化，调节胃肠运动[14]。慢性萎缩性胃炎与胃癌密切关联，胃铋镁对胃炎的确切疗效和其组方的多样性，提示其单药组方药物可能具有肿瘤杀伤作用。因此筛选胃铋镁的有效单药组分，对胃癌的治疗意义重大。

本实验结果表明，胃铋镁中药组分中的弗朗鼠李皮、茴香和

石菖蒲均能够显著抑制胃癌 SGC-7901 细胞的增殖;在细胞周期实验中,均能将胃癌细胞阻滞在 G1 期,并且下调细胞周期蛋白 Cyclin A、B、D、E 的表达,而这些作用在胃铋镁中药组分中的另外两种成分甘草组和芦荟组中不显著。由此可以推断,弗朗鼠李皮、茴香和石菖蒲这 3 种成分可能是胃铋镁发挥抗肿瘤作用的主要活性成分。此外,本研究还通过体内胃癌异位肿瘤模型考察了胃铋镁灌胃给药对肿瘤生长的抑制作用,结果表明胃铋镁及其 3 种有效组分弗朗鼠李皮、茴香和石菖蒲具有抑制肿瘤生长的功能,与体外实验结果一致。

有研究表明,STAT3 信号的异常活化贯穿于胃癌发生发展的始终[15]。因此,本文进一步对胃铋镁及其有效组分对 STAT3 信号通路相关蛋白的表达进行了研究,通过对剥离下来的肿瘤组织进行包埋切片和免疫组化染色,结果显示 STAT3、p-STAT3、Bcl-2、Cyclin D1 和 Survivin 的表达均下调,表明胃铋镁可以通过影响胃癌细胞中 STAT3 信号通路相关蛋白的表达来抑制胃癌细胞的增殖。

综上所述,胃铋镁及其中药组分中的弗朗鼠李皮、茴香和石菖蒲能够有效显著抑制胃癌细胞的增殖,将胃癌细胞阻滞于 G1 期;体内实验也证明了这些组分能显著地抑制裸鼠皮下移植瘤的生长。胃铋镁及其 3 种有效中药组分可作为潜在的胃癌治疗药物,其抗肿瘤机制可能与下调细胞周期蛋白,阻断 STAT3 信号通路的转导有关。

参考文献

[1] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.

[2] 张叶丽, 胡梅洁. 胃癌癌前病变相关研究进展[J]. 上海交通大学学报医学版, 2010, 30(2): 236-239.

[3] 孟宪镛. 胃癌癌前病变和胃癌相关疾病[J]. 交通医学, 2006, 20(4): 364-366.

[4] 周怡, 孟宪梅, 张静洁, 等. 胃铋镁对阿司匹林致胃黏膜损伤的保护作用[J]. 中国医药导报, 2015, 12(5): 115-118.

[5] Frantz DJ, Hughes BG, Nelson DR. Cell cycle arrest and differential gene expression in HT-29 cells exposed to an aqueous garlic wxtract[J]. Nutr Cancer, 2000, 38(2): 255-264.

[6] Shao JC, Wu JF, Wang DB, et al. Relationship between the expression of human telomerase reverse transcriptase gene and cell cycle regulators in gastric cancer and its significance[J]. World J Gastroenterol, 2003, 9(3): 427-431.

[7] Atsushi S, Eigo O, Yoshinori M, et al. Intracellular chloride regulates the G1S cell cycle progression in gastric cancer cells[J]. World J Gastrointest Oncol, 2011, 8(3): 119-122.

[8] 高海建. 中药治疗胃癌的机制研究进展[J]. 实用肿瘤学杂志, 2012, 26(2): 162-167.

[9] 林樱, 舒鹏. 中药诱导胃癌细胞凋亡机制的研究进展[J]. 河北中医, 2013, 35(5): 783-785.

[10] 郑应馨, 徐恒卫, 崔立新, 等. 中药治疗胃癌癌前病变的相关药理作用机理[J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(4): 716-718.

[11] 陈延滨, 龚振林, 李松. 肿瘤的中医治疗原则及中药运用的研究进展[J]. 中医药信息, 2002, 19(5): 13.

[12] 田静. 益气养阴法治疗肺癌初探[J]. 陕西中医, 2005, 26(4): 344.

[13] 林楠. 小茴香化学成分及药理作用研究现状[A]//中华中医药学会中药炮制分会 2008 年学术研讨会论文集[C]. 北京, 2008: 154-157.

[14] 王睿, 费洪新, 李晓明, 等. 石菖蒲的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(7): 1606-1610.

[15] Kanda N, Seno H, Konda Y, et al. STAT3 is constitutively activated and supports cell survival in association with survivin expression in gastriccancer cells[J]. Oncogene, 2004, 4(23): 4921-4929.

(编校:吴茜)