

- [2] 崔德民, 陈勇军, 刘定华. 黄芪甲苷对心肌梗死后心力衰竭大鼠血流动力学及神经内分泌的影响[J]. 海军医学杂志, 2013, 14(1): 18-20.
- [3] 承燕, 吕磊, 江时森. 黄芪甲苷的抗氧化性对缺氧缺糖 H9c2 细胞的保护作用探讨[J]. 东南大学学报, 2012, 31(1): 51-55.
- [4] Zhang L. Astragaluside IV stimulates angiogenesis and increases hypoxia-inducible factor α accumulation via phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics 338, 485-491, doi: 10.1124/jpet.111.180992(2011).
- [5] 杨雪梅. 川芎嗪药理作用研究进展[J]. 中国生化药物杂志, 2010, 31(3): 215-217.
- [6] 孙秀梅, 张立永, 张燕. 川芎嗪和黄芪注射液对家兔急性心肌梗死心电图的影响[J]. 河北北方学院学报, 2010, 26(5): 47-51.
- [7] 宋丽华, 汤碧娥, 张宁, 等. 黄芪配伍川芎嗪抗心肌缺血再灌注损伤的研究[J]. 金华职业技术学院学报, 2007, 7(6): 45-48.
- [8] 李琦, 陈熹, 阚晓溪, 等. 复方银杏叶颗粒改善人脐静脉内皮细胞氧化应激损伤的作用及其机制研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(4): 722-727.
- [9] 张伟, 梁智辉. Annexin V-FITC/PI 双标记与 Hoechst33342/PI 双标记流式细胞术检测细胞凋亡的比较[J]. 细胞与分子免疫学杂志 2014, 30(11): 1209-1212.
- [10] 周颖, 陈虹. 血管内皮细胞功能紊乱与心血管疾病关系的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2006, 6(8): 63-65.
- [11] 马海涛, 王辉. 黄芪甲苷对过氧化氢诱导损伤的人脐静脉内皮细胞的保护作用[J]. 郑州大学学报(医学版), 2016, 51(2): 248-251.
- [12] 杨锡兰, 李言, 王盼, 等. 川芎嗪对脂多糖诱导的内皮细胞损伤的保护作用[J]. 蚌埠医学院学报, 2016, 41(3): 284-287.
- [13] 李琦, 陈熹, 阚晓溪, 等. 复方银杏叶颗粒改善人脐静脉内皮细胞氧化应激损伤的作用及其机制研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(4): 722-727.
- [14] Jiang BH, Zheng JZ, Aoki M, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase signaling mediates angiogenesis and expression of vascular endothelial growth factor in endothelial cells [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97(4): 1749-53.
- [15] Cantley LC. The phosphoinositide 3-kinase pathway [J]. Science, 2002, 296(5573): 1655-7.
- [16] Jiang BH, Aoki M, Zheng JZ, et al. Myogenic signaling of phosphatidylinositol 3-kinase requires the serine-threonine kinase Akt/protein kinase B[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999, 96(5): 2077-2081.
- [17] SUI Y, ZHENG X, ZHAO D, et al. Rab31 promoted hepato cellular carcinoma(HCC) progression via inhibition of cell apoptosis induced by PI3K/AKT/Bcl-2/BAX pathway[J]. Tumor Biol, 2015, 36(11): 8661-8670.
- [18] GAO Y, DONG C, YIN J, et al. Neuroprotective effect offucoidan on H_2O_2 -induced apoptosis in PC12 cells via activation of PI3K/Akt pathway[J]. Cell Mol Neurobiol, 2012, 32(4): 523-529.
- [19] 罗云梅, 付晓霞, 杨丹莉, 等. 淫羊藿苷对 H_2O_2 诱导的人脐静脉内皮细胞氧化损伤的保护作用及机制[J]. 中国新药与临床杂志, 2016, 35(1): 40-46.

(编辑: 修春)

没食子酸通过 P13K/AKT 信号通路影响胃癌 MGC-803 细胞侵袭性

李沐涵, 程海波, 李 黎, 赵凤鸣, 陈海彬, 周红光, 吴勉华(南京中医药大学, 江苏省中医药防治肿瘤协同创新中心, 江苏 南京 210023)

摘要: **目的** 探讨没食子酸(gallic acid, GA)对胃癌 MGC-803 细胞侵袭能力的影响及机制。**方法** 体外培养胃癌 MGC-803 细胞, 噻唑蓝(MTT)法检测细胞的生存率; transwell 小室法检测 GA 对 MGC-803 细胞侵袭能力的影响; Western-blotting 技术检测没食子酸对 P13K/AKT 通路相关因子(PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT), 细胞基质金属蛋白酶(MMP2、MMP9)蛋白表达的改变。**结果** MTT 检测 $6.25 \sim 50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ GA 可抑制 MGC-803 的生长, 并呈剂量依赖性($P < 0.05$); transwell 小室法显示, 与对照组比较, 经 GA 处理后 MGC-803 细胞侵袭能力明显降低($P < 0.05$); Western-blotting 结果显示, 没食子酸处理后的 MGC-803 细胞 p-PI3K、p-AKT、MMP2、MMP9 蛋白表达下降, 同时加入 P13K 抑制剂后, 显示可抑制 P13K/AKT 通路活化, 抑制 MMP2 和 MMP9 的表达;**结论** 没食子酸可有效抑制胃癌 MGC-803 细胞侵袭能力, 其机制可能是通过调控 P13K/AKT 信号通路, 抑制 MMP2 和 MMP9 的表达有关。

关键词: 没食子酸; 胃癌; 侵袭性; P13K/AKT 信号通路

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2017)01-0023-0

收稿日期: 2016-08-29

作者简介: 李沐涵, 女, 博士, 助理研究员, 研究方向: 中医药抗肿瘤的机制研究。Email: limuhan1983@163.com。通信作者: 吴勉华, 男, 博士, 教授, 研究方向: 中医药抗肿瘤的理论与实验研究。Email: 1983songqiang@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81273717); 国家自然科学基金青年基金项目(81503535)。

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2017.005

Gallic acid inhibits astric cancer cell lines MGC-803 invasion via P13K/AKT signaling pathway

Li Muhan, Cheng Haibo, Li Li, Zhao Fengming, Chen Haibin, Zhou Hongguang, Wu Mianhua (Nanjing University of Chinese Medicine, Jiangsu Collaborative Innovation Center of Prevention and Treatment of Tumor with Traditional Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu 210023, China)

Abstract: Objective To investigate whether gallic acid can inhibit the invasion of astric cancer cell lines MGC-803 and the underlying mechanisms. Methods MGC-803 cells were cultured with different concentrations of gallic acid, and MTT assay was used to evaluate the cell inhibition rates. Cell invasion capabilities were evaluated by means of transwell matrix penetration assays. Activities and expressions of P13K/AKT signaling pathway-related factors (P13K、p-P13K、AKT、p-AKT) and invasion-related proteins matrix-metalloproteinase (MMP-2) and MMP-9, were analyzed by Western blotting. Results Gallic acid caused concentration-dependent inhibition of proliferation of MGC-803 cells ($P < 0.05$). MGC-803 cells treated with gallic acid showed significantly decreased invasion capabilities ($P < 0.05$). Western blotting demonstrated that Gallic acid inhibit the expression of p-P13K、p-AKT、MMP-2、MMP-9 were suppressed by gallic acid in MGC-803 cells. Moreover, P13K inhibitors can inhibit the expression of MMP2 and MMP9. Conclusion Gallic acid play a role to inhibit astric cancer cell lines MGC-803 invasion through suppressing the expressions of MMP2 and MMP9 via P13K/AKT signaling pathway.

Keywords: Gallic acid; Astric cancer; Invasion; P13K/AKT signaling pathway

胃癌是消化系统常见的恶性肿瘤,在全球所有恶性肿瘤中发病率和死亡率分别位居第二位及第三位,目前对胃癌的治疗主要是手术、化疗和新辅助化疗^[1],由于胃癌细胞的高度增殖、侵袭、转移导致患者的预后不十分理想,尤其是对于已发生临床转移和复发的患者^[2],目前,中药及中药提取物辅助治疗是胃癌晚期治疗的主要手段之一^[3]。没食子酸(gallic acid, GA)是一种有机酸,化学名是3,4,5-三羟基苯甲酸,是多种常见天然中草药的有效成分^[4-5]。实验研究表明,没食子酸可以抑制多种肿瘤细胞增殖,对肿瘤细胞有促进凋亡的作用^[6-7]。但没食子酸对胃癌特别是胃癌的侵袭性的抑制作用及机制尚不清楚,本实验拟采用不同浓度的没食子酸干预人胃癌 MGC-803 细胞,检测没食子酸对 MGC-803 细胞侵袭抑制能力, P13K/AKT 信号通路及基质金属蛋白酶(Matrix Metalloproteinases, MMPs)家族中 MMP2、MMP9 蛋白的表达情况,探讨没食子酸对胃癌细胞侵袭的抑制作用及机制。

1 材料与方法

1.1 细胞 MGC-803 人胃癌细胞购自南京凯基生物公司,并保存于南京中医药大学基础医学院实验中心。

1.2 药物及试剂 没食子酸(gallic acid, GA)购自上海创赛科学仪器有限公司(纯度 $\geq 98\%$,批号:

1405107);小牛血清购自杭州四季青公司(批号:20140819);MTT、青、链霉素双抗液、DMSO 胰蛋白酶等,均购自美国 Sigma 公司;transwell 小室购自美国 BD 公司;P13K 特异性抑制剂 LY294002 购自上海碧云天生物公司(批号:S1737);P13K、p-P13K、AKT、p-AKT、MMP2、MMP9 一抗购自美国 CST 公司;二抗购自美国 Santa Cruz 公司。

1.3 仪器 CO₂ 细胞培养箱,日本 SANYO 公司;超净工作台,苏州净化设备有限公司;高速冷冻离心机,美国 Eppendorf 公司;垂直电泳仪,北京六一公司;倒置显微镜、图像获取系统均为日本 Olympus 公司;自动酶标仪、凝胶成像系统均为美国 Bio-Rad 公司;

1.4 细胞培养和处理 MGC-803 细胞体外培养用 RPMI-1640 培养液(内含 10% 小牛血清,100 U·mL⁻¹ 的青霉素和链霉素),置于 5% CO₂、饱和湿度、37℃ 条件的培养箱中培养,隔天更换培养液,培养至细胞的融合率为 70%~80%、指数生长期时进行传代,取指数生长期细胞用于实验。

1.5 MTT 测定细胞增殖 将 MGC-803 细胞制成 1×10^5 mL⁻¹ 的细胞悬液,以每孔 180 μ L 接种于 96 孔培养板。待细胞贴壁后,加入 GA 使其终浓度分别为 0, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 μ mol·L⁻¹,每个药物浓度组各设 6 个平行孔。于 GA 作用 48 h 时分别加入 MTT,4 h 后离心弃上清液,每孔均加入

DMSO150 μL , 混匀后置于酶标仪于 490 nm 波长处测吸光度(OD)值。计算生长抑制率 IR(%): [抑制率 IR(%)=(1-OD 处理组 /OD 对照组) $\times$ 100 %], 实验重复 3 次。

1.6 Transwell 侵袭实验 Transwell 小室包被 matrigel 基质胶, 胶纤维膜孔径为 8 μm , 下室加入 600 μL 含质量分数为 10 % 小牛血清的 DMEM 培养液, 上室取 100 μL 不含小牛血清的 DMEM 培养液, 按照 $1 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ 的 MGC-803 细胞悬液加入各组 GA(0, 3.125, 6.25, 12.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 P13K 抑制剂(10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 干扰组, 放入细胞培养箱中常规培养 48 h, 取出滤膜, PBS 冲洗两次, 4 % 多聚甲醛固定 10 min, 结晶紫染色, 每组设 3 个复孔, 每孔倒置显微镜下随机取 5 个高倍镜视野拍照并计数穿膜细胞数, 实验重复 3 次。

1.7 Western blotting 检测目标蛋白的表达 将各组 (0, 3.125, 6.25, 12.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) GA 和 P13K 抑制剂干预组分别作用 MGC-803 细胞 48 h 后, 参考文献方法^[8]提取蛋白, 测定蛋白浓度, 采用 10 % 的分离胶 SDS-PAGE 分离样品, 转膜, 5 % 脱脂奶粉封闭 2 h, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 中按 1 : 1000 浓度孵育各组一抗 (PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT、MMP2、MMP9) 过夜, TBST 洗膜 10 min 3 次, 按 1 : 2000 浓度室温孵育二抗 2 h, TBST 洗膜 10 min 3 次, 加 ECL 显影液, 将膜置于曝光仪中曝光, 分析数据, 实验重复 3 次。

1.8 统计学分析 采用 SPSS 17.0 统计软件处理, 以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较用 LSD 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GA 对 MGC-803 细胞的增殖抑制作用 通过 MTT 实验检测不同浓度 GA(0, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 分别作用于 MGC-803 细胞的增殖

表 1 GA 对 MGC-803 细胞增殖的抑制作用 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 1 Inhibitory effect of GA on MGC-803

组别	剂量 / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	抑制率 /%
对照组	0	0.4 $\pm$ 0.16
GA 组	3.125	7.5 $\pm$ 2.24
	6.25	35.7 $\pm$ 3.4 *
	12.5	52.5 $\pm$ 1.09 *
	25	79.5 $\pm$ 1.13 *
	50	97.1 $\pm$ 2.02 *

注: 与对照组(0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ GA)比较, * $P < 0.05$ 。

抑制作用, 结果显示 GA 对 MGC-803 细胞有显著的增殖抑制作用, 且呈剂量依赖性, 浓度低于 3.125 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ GA 无明显抑制作用, 与对照组无明显差异, 见表 1。如果我们选用 3.125, 6.25, 12.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组, 分别作为 GA 的高、中、低剂量组进行深入的实验研究。

2.2 GA 抑制 MGC-803 细胞侵袭能力影响 GA 处理后, MGC-803 细胞侵袭能力下降, 且呈剂量依赖性, 0, 3.125, 6.25, 12.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理各组迁移过膜的细胞数分别为 103 $\pm$ 3, 92 $\pm$ 4, 62 $\pm$ 2, 50 $\pm$ 2, GA 处理组均与对照组有显著差异 ($P < 0.05$); 应用 P13K 抑制剂 (LY294002) 干预 6.25 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ GA 组后透过膜的细胞数为 56 $\pm$ 3, 与对照组比较有显著的差异, 见图 1, 表 2。

表 2 GA 对 MGC-803 细胞侵袭性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 2 GA inhibits MGC-803 cells invasion

组别	剂量 / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	穿膜细胞数 / 个
对照组	0	103 $\pm$ 3
GA 低剂量组	3.125	92 $\pm$ 4
GA 中剂量组	6.25	62 $\pm$ 2 *
GA 高剂量组	12.5	50 $\pm$ 2 *
GA+ LY294002 组		56 $\pm$ 3 *

注: 与对照组(0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ GA)比较, * $P < 0.05$ 。

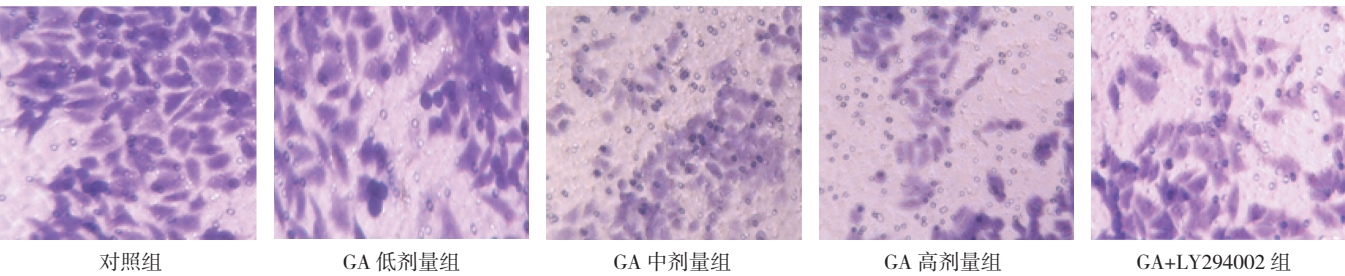


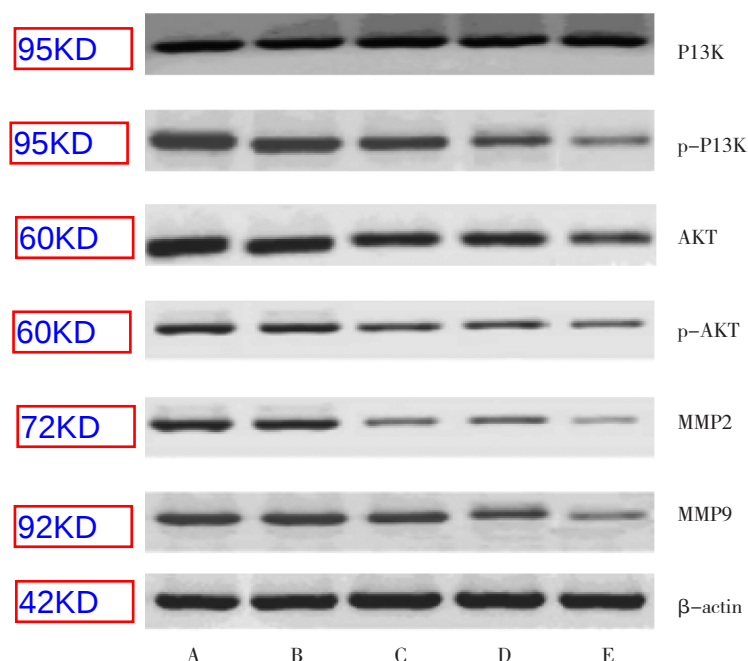
图 1 GA 对 MGC-803 细胞侵袭性的影响 (Transwell 染色, $\times 200$)

Figure 1 GA inhibits MGC-803 cells invasion (Transwell method, $\times 200$)

2.3 GA 对 MGC-803 细胞 PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT、MMP2、MMP9 蛋白表达的影响 Western

blotting 结果显示, GA 处理 MGC-803 细胞 48 h 后, 与对照组相比, 对 MGC-803 细胞 p-PI3K、p-AKT、

MMP2、MMP9 蛋白表达有明显的抑制作用；加入 P13K 抑制剂(LY294002)干扰后，MMP2 和 MMP9 蛋白的表达均降低，提示 GA 抑制 MGC-803 细胞的侵袭可能是通过抑制 P13K/AKT 信号通路来介导(见图 2，表 3)。



A: Control group; B: Treated with $3.125 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GA; C: Treated with $6.25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GA; D: Treated with $12.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GA; E: Treated with GA+ LY294002

图 2 各组别中相关蛋白的表达(Western blotting)

Figure 2 The expressions of relevant proteins in MGC-803 cells after treated with different groups(Western blotting)

表3 各组别中相关蛋白的表达($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Table 3 The expressions of relevant proteins in MGC-803 cells after treated with different groups

	没食子酸 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$				GA+ LY294002
	0	3.125	6.25	12.5	
P13K	0.96 ± 0.01	0.91 ± 0.06	0.93 ± 0.04	0.89 ± 0.02	0.92 ± 0.03
p-P13K	0.66 ± 0.09	0.68 ± 0.04	0.54 ± 0.02	$0.42\pm 0.04^*$	$0.33\pm 0.01^*$
AKT	0.92 ± 0.06	0.86 ± 0.02	0.84 ± 0.01	0.88 ± 0.03	0.81 ± 0.01
p-AKT	0.53 ± 0.04	0.51 ± 0.01	0.41 ± 0.03	$0.39\pm 0.02^*$	0.31 ± 0.03
MMP2	0.56 ± 0.02	0.52 ± 0.03	$0.31\pm 0.02^*$	$0.37\pm 0.02^*$	$0.28\pm 0.04^*$
MMP9	0.47 ± 0.03	0.48 ± 0.06	$0.43\pm 0.04^*$	$0.36\pm 0.03^*$	$0.29\pm 0.02^*$

注: 与对照组($0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GA)比较, $^*P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ 。

3 讨论

没食子酸(GA)又名五倍子酸，是多种传统中药如山茱萸、牡丹皮、五倍子等的主要有效成分，具有一定的抗肿瘤、抗炎抑菌、抗氧化等药理活性^[7]、本课题组前期研究证实 GA 可以通过下调凋亡抑制基

因 survivin 的表达来促使 MGC-803 细胞的凋亡^[9]，本研究结果也显示一定浓度的没食子酸可明显抑制 MGC-803 细胞增殖，且抑制细胞增殖呈浓度依赖性。

胃癌细胞的高度转移性、侵袭性是胃癌患者高复发、高死亡率的主要原因，有效抑制胃癌细胞的侵袭性，对于胃癌的发展演变过程具有重要的意义^[2]。本实验通过经典的 Transwell 侵袭实验来分析没食子酸对 MGC-803 细胞侵袭能力的影响，结果初步表明没食子酸可抑制胃癌细胞的侵袭。

P13K/AKT 信号通路是参与调控多种肿瘤细胞增殖、抗凋亡、侵袭转移的关键信号通路之一，与肿瘤的发生、发展预后密切相关^[10-11]。磷脂酰肌醇 3 激酶(Phosphoinositide3-kinase, P13K)，是这一通路重要信号蛋白，它是一种具有催化活性的胞内磷脂酰肌醇激酶，可磷酸化胞内 3, 4 二磷酸磷脂酰肌醇(PIP2)使其转化为 3, 4 - 二磷酸磷脂酰肌醇(PI-3, 4-P2)和 3, 4, 5 - 三磷酸磷脂酰肌醇(PI-3, 4, 5-P3)等，丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶(Akt)是 P13K 下游最为关键的靶向调节分子，P13K 的磷化产物(PI-3, 4-P2)和(PI-3, 4, 5-P3)一旦被激活，就可以导致 Akt 发生质 - 膜的转移，从而促使 Akt 得以激活，活化后的 Akt 通过磷酸化作用胞浆内传递生物学信号，对细胞的周期、增殖、侵袭、转移等过程进行调控^[12]。基质金属蛋白酶(MMPs)是金属离子 Zn 依赖的蛋白水解酶超家族，MMPs 家族能够降解几乎所有的细胞外基质(Extracellular matrix, ECM)，而 ECM 中基底膜的降解是肿瘤侵袭的关键，MMP2 和 MMP9 是 MMPs 家族中重要的两个因子^[13]，LIAO^[14]等实验证明活化的 P13K 通路可以激活 MMPs 的表达。有研究表明 GA 能抑制肿瘤细胞的增殖、促进肿瘤细胞的凋亡^[6]，但是对肿瘤细胞的侵袭性研究报道尚少，本次实验初步发现 GA 对胃癌 MGC-803 细胞有一定的侵袭抑制作用，为了探究 GA 抑制胃癌细胞 MGC-803 侵袭性的机制，我们进行了 Western-blotting 蛋白印迹实验，实验结果显示，各组浓度的 GA 预处理 MGC-803 细胞 48 h 后，p-PI3K、p-AKT、MMP2、MMP9 蛋白表达与对照组相比明显降低，而 P13K、AKT 的总蛋白表达基本不变，从蛋白表达我们推测，没食子酸预处理后，可抑制 P13K、AKT 的蛋白磷酸活化，从而下调 P13K/AKT 信号通路来抑制 MMP2、MMP9 的表达，进而达到降解细胞外基质，抑制 MGC-803 细胞的侵袭，有研究表明 P13K 抑制剂能抑制肿瘤细胞的侵袭^[15-16]，我们选用 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$

的 PI3K 抑制剂 LY294002 干扰没食子酸, 来验证我们的推测, 结果显示 MMP2、MMP9 表达下调, 进一步表明, 没食子酸可通过下调 P13K/AKT 信号通路, 来抑制 MGC-803 细胞的侵袭性。

综上所述, 中药单体没食子酸可通过下调 P13K/AKT 信号通路, 降低 MMP2、MMP9 的表达, 来有效抑制 MGC-803 细胞的侵袭能力, 为没食子酸的临床开发提供一定的实验依据, 但目前尚局限于体外实验, 还需进一步体内实验的证明。

参考文献:

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] 王振宁, 陈瀚宇. 复发、转移胃癌的转化性治疗[J]. 中国实用外科杂志, 2015, 35(10): 1055-1059.
- [3] 叶青, 王瑞平, 邹玺. 中药逆转胃癌多药耐药作用的研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(8): 3194-3197.
- [4] 黄绮韵, 周苏娟, 孟江, 等. 牡丹皮炭不同炮制程度的多成分含量变化研究[J]. 中药材, 2016, 39(5): 1024-1027.
- [5] 刘永强, 马越, 吕光华, 等. UHPLC 测定不同产地芍药根的有效成分[J]. 中药材, 2016, 39(5): 980-985.
- [6] 李沐涵, 王明艳, 吴勉华, 等. 没食子酸体外诱导人肝癌 SMMC-7721 细胞凋亡的机制研究[J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(2): 117-121.
- [7] 高雅, 李骅, 王四旺, 等. 没食子酸的药理作用及其药物代谢动力学研究进展[J]. 西北药学杂志, 2014, 29(4): 435-438.
- [8] 李建武, 肖能庆, 于瑞元, 等. 生物化学实验原理和方法[M]. 北京大学出版社, 2004, 174-176.
- [9] 李沐涵, 王明艳, 赵凤鸣. 没食子酸体外抗胃癌细胞 MGC-803 机制的研究[J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(1): 37-40.
- [10] Rahmani M, Aust MM, Attkisson E, et al. Dual inhibition of Bcl-2 and Bcl-xL strikingly enhances PI3K inhibition-induced apoptosis in human myeloid leukemia cells through a GSK3- and Bim-dependent mechanism[J]. Cancer research, 2013, 73(4): 1340-1351.
- [11] Chen L, Monti S, Juszczynski P, et al. SYK inhibition modulates distinct PI3K/AKT-dependent survival pathways and cholesterol biosynthesis in diffuse large B cell lymphomas [J]. Cancer cell, 2013, 23(6): 826-838.
- [12] ChO T M, KIM W J, MOON S K. AKT signaling is involved in fucoidan-induced inhibition of growth and migration of human bladder cancer cells[J]. Food Chem Toxicol, 2014, 64: 344-352.
- [13] Newby AC. Metalloproteinases promote plaque rupture and myocardial infarction: A persuasive concept waiting for clinical translation [J]. Matrix Biol, 2015, 44-46: 157-166.
- [14] LIAO AC, KUO CC, HUANG YC, et al. Naringenin inhibits migration of bladder cancer cells through downregulation of AKT and MMP2[J]. Mol Med Rep, 2014, 10(3): 1531-1536.
- [15] 曹宇勃, 曲晶磊, 刘云鹏. 塞来昔布联合雷帕霉素对胃癌 BGC823 细胞的抗肿瘤作用及其机制[J]. 现代肿瘤医学, 2016, 24(4): 509-512.
- [16] 乐胜兵, 吴密璐. 非小细胞肺癌靶向治疗研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2016, 24(5): 840-843.

(编辑: 修春)

罗勒多糖对 TGF- β 诱导的 A549 细胞上皮间质转化抑制作用研究

闫丹丹¹, 田景振^{1,2}, 张 丹¹, 侯 林¹, 李 兰¹, 张成华¹, 李雅群¹, 朱庆均^{1,2} (1. 山东中医药大学, 山东 济南 250355; 2. 山东省高校中医药抗病毒协同创新中心, 山东 济南 250355)

摘要: **目的** 研究罗勒多糖抑制 TGF- β 诱导的 A549 细胞上皮间质转化的作用, 揭示罗勒多糖可能治疗特发性肺纤维化的机制。**方法** 正常培养 A549 细胞, 实验分为三组, 正常对照组, 模型组(TGF- β 5 ng·mL⁻¹), 罗勒多糖组(TGF- β + 罗勒多糖 200 μ g·mL⁻¹), 观察各组细胞形态学变化; 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测各组 col I 和上皮间质转化标志物表达; ELISA 检测各组细胞羟脯氨酸浓度。**结果** 与正常对照组比较, 模型组细胞成纤维样变; 与模型组比较, 罗勒多糖组细胞维持上皮细胞形态; 与正常对照组比较, 模型组 col I 基因表达明显上调($P < 0.01$), E-cadherin 基因表达下调($P < 0.01$), Vimentin、 α -SMA 基因表达上调($P < 0.05$); 与模型组相比, 罗勒多糖组 E-cadherin 基因表达上调($P < 0.05$), Vimentin、 α -SMA、col I 基因表达下调($P < 0.05$); 与

收稿日期: 2016-09-07

作者简介: 闫丹丹, 在读硕士研究生, 主要从事抗肿瘤中药的活性成分及其作用的细胞分子机制研究。Email: 810962445@qq.com。通信作者: 朱庆均, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事中医药治疗肿瘤、病毒性疾病的药效和机制研究。Email: zhuqingjunen@hotmail.com。

基金项目: 1. 国家科技重大专项“重大新药创制”子课题, 课题编号 2014ZX09509001-001; 2. 山东省高等学校科技计划, 课题编号: J14IK09; 3. 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金, 课题编号: BS2011YY055。