

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2023 年 6 月 28 日 第 31 卷 第 12 期 (Volume 31 Number 12)



12 / 2023

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.



基础研究

- 477 白藜芦醇通过铁死亡途径逆转食管癌细胞Eca109/DDP化疗耐药
王陈等, 马柏强, 易弼顺
- 485 川芎嗪对胃癌细胞增殖、迁移、侵袭及糖酵解的调控作用
王韩英, 陈勇, 朱双媚

临床研究

- 492 VTIQ和SPECT首次通过法测定肝血流指数对乙肝纤维化的临床诊断价值
刘相艳, 鲁剑芳, 王立东, 王卓轶

临床实践

- 501 医联体模式对基层医生幽门螺杆菌感染规范化诊治的干预效果研究
赵振中, 沈靖, 华益波, 汪铁军, 郑元秀
- 508 丙泊酚联合不同麻醉药物对肠道内镜黏膜下剥离术患者呼吸循环功能及红细胞免疫的影响
徐军, 夏水风, 方建塔

病例报告

- 515 乌司奴单抗治疗老年难治性溃疡性结肠炎1例
萧绮莉, 徐钰婷

消 息

- 484 《世界华人消化杂志》正文要求
500 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
507 《世界华人消化杂志》参考文献要求
520 《代谢相关脂肪性肝病肝外并发症》书讯

封面故事

刘纯杰, 博士, 博士生导师, 军事科学院军事医学研究院生物工程研究所研究员. 长期从事病原微生物致病机制与基因工程疫苗研究, 作为课题负责人, 负责承担了国家863计划、支撑计划、重点研发计划、新药创制重大专项、重大传染病专项等各类课题十余项. 获军队科技进步奖8项, 其中一等奖2项、二等奖1项. 荣立个人二等功1次. 负责研制的幽门螺杆菌疫苗, 获得了国家预防用生物制品 I 类新药临床试验批件, 现正开展临床研究. 授权国家发明专利8项, 发表各类研究论文130余篇. 兼任国家科技项目评审专家等.

本期责任人

编务 张砚梁; 送审编辑 张砚梁; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇;
形式规范审核编辑部主任 郭旭; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2023-06-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

共同主编

党双锁, 博士, 教授, 研究员, 主任医师, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

郭晓钟, 博士, 教授, 110840, 辽宁省沈阳市, 北部战区总医院消化内科

霍丽娟, 博士, 主任医师, 030001, 山西省太原市, 山西医科大学第一医院消化内科

江学良, 博士, 教授, 250001, 山东省济南市, 山东中医药大学第二附属医院消化中心

田艳涛, 博士, 教授, 主任医师, 100021, 北京市, 国

家癌症中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院胰胃外科

王小众, 博士, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 博士, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 博士, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

编辑部

王金磊, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路
62号, 远洋国际中心D座903室
电话: +86-10-85381901

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2023 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.



BASIC RESEARCH

- 477 Resveratrol reverses drug resistance of esophageal cancer cell line Eca109/DDP *via* regulating ferroptosis
Wang CD, Ma BQ, Yi BS
- 485 Regulatory effect of tetramethylpyrazine on cell proliferation, migration, invasion, and glycolysis in gastric cancer cells
Wang HY, Chen Y, Zhu SM

CLINICAL RESEARCH

- 492 Diagnostic value of shear wave velocity measured by virtual touch tissue imaging quantification combined with hepatic blood flow index measured by single-photon emission computed tomography first-pass method for hepatitis B fibrosis
Liu XY, Lu JF, Wang LD, Wang ZY

CLINICAL PRACTICE

- 501 Impact of medical conjoined mode on standardized diagnosis and treatment of *Helicobacter pylori* infection by primary doctors
Zhao ZZ, Shen J, Hua YB, Wang TJ, Zheng YX
- 508 Effect of propofol combined with different anesthetic drugs on respiratory circulation function and erythrocyte immunity in patients undergoing intestinal endoscopic submucosal dissection
Xu J, Xia SF, Fang JT

CASE REPORT

- 515 Ustekinumab for treatment of refractory ulcerative colitis in an elderly patient: A case report
Xiao QL, Xu YT

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 31 Number 12 June 28, 2023

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Chun-Jie Liu, PhD, Professor, Doctoral Supervisor. State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity, Institute of Biotechnology, Academy of Military Medical Sciences, No. 20 Dongda Street, Fengtai District, Beijing 100071, China. liucj@bmi.ac.cn

Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, CNKI, CSTJ and Superstar Journals Database.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Yan-Liang Zhang*

Review Editor: *Yan-Liang Zhang*

Production Editor: *Yan-Liang Zhang*

English Language Editor: *Tian-Qi Wang*

Proof Editor: *Xu Guo*

Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date June 28, 2023

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

CO-EDITORS-IN-CHIEF

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, The Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xiao-Zhong Guo, Professor, Department of Gastroenterology, North Theater General Hospital, Shenyang 110840, Liaoning Province, China

Li-Juan Huo, Chief Physician, Department of Gastroenterology, The First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Digestive Center of The Second Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250001, Shandong Province, China

Yan-Tao Tian, Professor, Chief Physician, National Cancer Center/Department of Pancreatic and Gastric Surgery, Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing

100021, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

EDITORIAL OFFICE

Jin-Lei Wang, Director

World Chinese Journal of Digestology

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381901

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2023 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

川芎嗪对胃癌细胞增殖、迁移、侵袭及糖酵解的调控作用

王韩英, 陈勇, 朱双媚

王韩英, 陈勇, 朱双媚, 丽水市人民医院肿瘤放疗科 浙江省丽水市 323000

王韩英, 主治医师, 主要从事肿瘤方面的基础与临床研究.

作者贡献分布: 此课题由王韩英设计; 研究过程由王韩英及陈勇操作完成; 研究所用试剂及分析工具由王韩英提供; 数据分析由王韩英及朱双媚完成; 本论文写作由王韩英及陈勇完成.

通讯作者: 王韩英, 本科, 主治医师, 浙江省丽水市莲都区岩泉街道丽阳街 1188号, 丽水市人民医院东院区肿瘤放疗科. wanghanying225@2980.com

收稿日期: 2023-03-24

修回日期: 2023-04-26

接受日期: 2023-05-24

在线出版日期: 2023-06-28

Regulatory effect of tetramethylpyrazine on cell proliferation, migration, invasion, and glycolysis in gastric cancer cells

Han-Ying Wang, Yong Chen, Shuang-Mei Zhu

Han-Ying Wang, Yong Chen, Shuang-Mei Zhu, Department of Tumor Chemoradiotherapy, Lishui People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Han-Ying Wan, Physician-in-Charge, Department of Tumor Chemoradiotherapy, Lishui City People's Hospital, No. 1188 Liyang Street, Yanquan Street, Liandu District, Lishui 323000, Zhejiang Province, China. wanghanying225@2980.com

Received: 2023-03-24

Revised: 2023-04-26

Accepted: 2023-05-24

Published online: 2023-06-28

Abstract

BACKGROUND

Tetramethylpyrazine (TMP) has been reported to have

antitumor effects, but its effect on gastric cancer and the underlying mechanism are not fully understood.

AIM

To investigate the regulatory effect and potential mechanism of TMP on the proliferation, migration, invasion, and glycolysis of gastric cancer cells.

METHODS

Gastric cancer cells cultured *in vitro* were randomly divided into four groups: Control group (Ctrl), low-dose TMP group (TMP-L, 10 μ M), medium-dose TMP group (TMP-M, 20 μ M), and high-dose TMP group (TMP-H, 40 μ M). After treatment, cell viability was detected by CCK-8 assay, and cell proliferation, migration, and invasion were detected by colony formation assay and transwell assay. Glucose metabolism was determined by measurements of glucose uptake, lactate production, oxygen consumption rate (OCR), and extracellular acidification rate (ECAR). The activity of hexokinase (HK) and lactate dehydrogenase (LDH) was determined. The expression of glycolysis-related proteins and activation of the protein kinase B (AKT)/glucose transporter-1 (GLUT1) axis were assessed by Western blot assay.

RESULTS

TMP reduced the viability of gastric cancer cells in a dose-dependent manner ($P < 0.05$). Compared to the Ctrl group, medium- and high-dose TMP inhibited cell proliferation, migration, and invasion ($P < 0.05$). After treatment with TMP, glucose uptake, lactate production, OCR, and ECAR were decreased significantly ($P < 0.05$), and the activity of HK and LDH was reduced significantly in the TMP-H group ($P < 0.05$). Western blot analysis showed that the expression of p-AKT/AKT, GLUT1, HK2, and LDHA in gastric cancer cells treated with TMP was downregulated ($P < 0.05$).

CONCLUSION

TMP reduces glycolysis and inhibits cell proliferation and

migration in gastric cancer cells.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Tetramethylpyrazine; Gastric cancer cells; Proliferation; Migration; Glycolysis

Citation: Wang HY, Chen Y, Zhu SM. Regulatory effect of tetramethylpyrazine on cell proliferation, migration, invasion, and glycolysis in gastric cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2023; 31(12): 485-491

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i12/485.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i12.485>

摘要

背景

川芎嗪(tetramethylpyrazine, TMP)被报道具有抗肿瘤作用,但其对胃癌的作用及其机制并不完全清楚。

目的

探讨TMP对胃癌细胞增殖、迁移、侵袭和葡萄糖代谢的影响及潜在的作用机制。

方法

体外培养的胃癌细胞随机分为4组: 对照组(control, Ctrl)、低剂量TMP组(TMP-L, 10 μ M)、中剂量TMP组(TMP-M, 20 μ M)、高剂量TMP组(TMP-H, 40 μ M)。胃癌细胞经相应处理后,采用CCK-8检测细胞活力、集落形成实验及transwell细胞实验分别用来检测细胞的增殖及迁移侵袭能力;此外,检测细胞的葡萄糖摄取、乳酸生成、氧消耗速率(oxygen consumption rate, OCR)以及胞外酸化率(extra-cellular acidification rate, ECAR)来反映细胞的葡萄糖代谢情况并分析糖酵解关键酶[己糖激酶(hexokinase, HK)和乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)]的活性;Western blot检测糖酵解相关蛋白的表达以及蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)/葡萄糖转运蛋白1(glucose transporter-1, GLUT1)信号通路的活性。

结果

TMP可剂量依赖性抑制胃癌细胞的活力($P<0.05$)。相较于对照组,中、高剂量TMP可抑制细胞增殖、迁移及侵袭($P<0.05$)。此外,给予TMP干预后,胃癌细胞中葡萄糖摄取量和乳酸产量降低($P<0.05$),OCR及ECAR也显著降低($P<0.05$);高剂量的TMP可显著降低细胞HK和LDH的活性($P<0.05$)。Western blot检测结果显示,TMP干预后细胞内p-AKT/AKT、GLUT1、HK2以及LDHA蛋白表达水平均显著下调($P<0.05$)。

结论

TMP可降低胃癌细胞的糖酵解水平,抑制细胞的增殖、迁移及侵袭。

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 川芎嗪; 胃癌细胞; 增殖; 迁移; 糖酵解

核心提要: 川芎嗪可抑制胃癌细胞糖酵解、增殖、迁移、侵袭和蛋白激酶B/葡萄糖转运蛋白1信号活性。

文献来源: 王韩英, 陈勇, 朱双媚. 川芎嗪对胃癌细胞增殖、迁移、侵袭及糖酵解的调控作用. *世界华人消化杂志* 2023; 31(12): 485-491

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i12/485.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i12.485>

0 引言

据国家癌症中心2022年发布的全国癌症统计学数据显示,胃癌作为常见的消化系统肿瘤,其发病例数和死亡率均位居第三^[1]。临床上胃癌早期筛出率较低,常见为中晚期胃癌患者,手术及放疗效果有限^[2,3],寻找高效的抗肿瘤药物及靶点依旧是临床胃癌辅助治疗的重点研究领域。2000年和2011年Weinberg及其研究伙伴^[4,5]总结了包括能量代谢异常、持续的增殖信号、逃避生长抑制以及侵袭转移等在内的肿瘤十大特征。能量代谢在肿瘤细胞的恶性增殖过程中具有重要的作用,研究显示,胃癌细胞的糖酵解代谢十分活跃,符合Warburg效应的代谢特征^[3,6]。抑制肿瘤细胞的糖酵解代谢对抑制肿瘤的生长具有重要的意义,也为抗肿瘤药物的研发提供了新的方向和思路。中医药在肿瘤的治疗上具有独特的优势,川芎嗪(tetramethylpyrazine, TMP)是中药川芎的主要活性成分,目前常用于辅助治疗心脑血管疾病。但现代药理学研究显示,TMP具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤等多效作用,且对机体多个系统均具有调节效应,临床应用前景广阔^[7-9]。本研究以胃癌细胞株为对象,评估TMP对其增殖、迁移的影响,并从葡萄糖代谢的角度初步探讨其可能的作用机制,为TMP的临床应用提供一定理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料 细胞培养用RPMI-1640培养基购自美国Invitrogen公司;川芎嗪(TMP, 纯度>98%)购自上海源叶生物科技有限公司;胃癌细胞株AGS和SGC7901购自武汉中国典型培养物保藏中心;蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)、p-AKT和 β -actin抗体购自美国Cell Signaling公司;葡萄糖转运蛋白1(glucose transporter-1, GLUT1)、己糖激酶2(hexokinase 2, HK2)及乳酸脱氢酶A(lactate dehydrogenase A, LDHA)抗体购自美国Abcam公司;CCK-8细胞增殖检测试剂盒购自上海翊试生物技术有限公司;葡萄糖(glucose, GLU)、乳酸(lactic acid, LD)、己糖激酶(hexokinase, HK)及乳酸脱氢酶(lactate

dehydrogenase, LDH)检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所;其余试剂均为国产市售分析纯。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及CCK-8细胞活力测定: 胃癌细胞株AGS和SGC7901生长于含10%胎牛血清、100 U/mL青霉素及100 U/mL链霉素的RPMI-1640细胞培养基中,培养条件: 5%二氧化碳、37 °C细胞培养箱,定期更换培养基并传代,维持细胞良好的生长状态。将消化后的AGS和SGC7901细胞(5000个/孔)分别接种至细胞培养皿中,同步化处理后加TMP浓度梯度设置: (0、5、10、20、40、80) μ M分别干预24 h、48 h、72 h。每孔中加入10 μ L的CCK-8试剂,孵育2 h后经酶标仪检测450 nm波长处各孔的吸光度值(OD)。每组均设置三个复孔,结果取其均值,同时设不加细胞的单孔作为空白对照;绘制细胞生长曲线。实验重复3次($n=3$)。

1.2.2 细胞增殖检测: 采用细胞克隆形成实验检测细胞增殖情况。将生长良好的细胞接种至培养皿中,贴壁同步化后,依据实验分组加药干预至实验预定的时间。吸弃培养基,加4%多聚甲醛固定后,结晶紫染色并于显微镜下拍照计数细胞克隆数,计算细胞克隆形成率。细胞分组设置: 对照组(control, Ctrl)、低剂量TMP组(TMP-L, 培养基中TMP浓度为10 μ M)、中剂量TMP组(TMP-M, 培养基中TMP浓度为20 μ M)、高剂量TMP组(TMP-H, 培养基中TMP浓度为40 μ M)。

1.2.3 细胞迁移检测: 采用transwell细胞迁移实验检测细胞的迁移。依据实验分组设计,将AGS和SGC7901细胞对应的各自的细胞悬液加入transwell小室的上室中,下室中加入相应的培养基,置于细胞培养箱中继续培养48 h。移除上室表面未迁移的细胞,迁移细胞经甲醇固定后加结晶紫染色,置于显微镜下拍照观察并计算细胞迁移率。

1.2.4 细胞侵袭检测: 采用transwell细胞侵袭实验检测细胞的侵袭能力。预先将Matrigel胶均匀铺至Transwell小室底部膜的上室面,37 °C培养箱中孵育,使基质胶聚合成薄膜,用以模拟细胞外基质;而后将各组处理的AGS和SGC7901细胞对应的各自的细胞悬液加入transwell小室的上室中,操作步骤同1.2.3,最后经结晶紫染色,并置于显微镜下拍照观察并计算细胞侵袭率。

1.2.5 细胞葡萄糖代谢指标检测: AGS和SGC7901细胞分别经相应的上述分组处理后,均依据公司提供的试剂盒说明书进行GLU摄取、LD产量、HK及LDH指标的检测操作。

1.2.6 氧消耗速率(oxygen consumption rate, OCR)及细胞外酸化率(extra-cellular acidification rate, ECAR)检测: 采用细胞能量分析仪(Seahorse XF24, 美国Seahorse

Bioscience公司)检测细胞经TMP干预后OCR以及ECAR。将胃癌细胞株AGS和SGC7901细胞分别接种至专用培养板(10000个/孔)。依据说明书操作如下: 贴壁后更换细胞培养基为检测液,先监测基础条件下的OCR和ECAR,依次加药(寡霉素、解偶联剂FCCP、抗霉素A)后检测并分析OCR和ECAR的结果。

1.2.7 细胞相关蛋白表达水平检测: 采用western blot实验检测各组胃癌细胞株AGS和SGC7901经TMP干预后葡萄糖代谢相关蛋白的表达以及AKT/GLUT1信号通路的活性。RIPA裂解并离心收集细胞蛋白,BCA蛋白定量法对细胞蛋白进行定量后,采用SDS-PAGE蛋白凝胶电泳上样并分离目的蛋白,之后通过电转法将目的蛋白转移至PVDF膜上。5%的脱脂牛奶孵育封闭后,按说明书要求依次加入相应的一抗和二抗孵育,暗室中利用ECL化学发光液显影,定影并对结果进行灰度半定量分析。

统计学处理 所得数据录入GraphPad 8.3软件中进行统计学分析。实验结果均以均值 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)表示,多组间的比较采用方差分析,各组均数间的两两比较用Bonferroni校正的 t 检验, $P<0.05$ 表示有显著差异。

2 结果

2.1 TMP对胃癌细胞活力的影响 CCK-8法检测细胞活力的结果显示如图1所示,随TMP浓度及作用时间增加,胃癌细胞AGS和SGC7901的活力均逐步降低。本实验后续选取10 μ M、20 μ M和40 μ M的TMP处理胃癌细胞48 h分别作为低、中、高剂量处理组。

2.2 TMP对胃癌细胞增殖和迁移的影响 克隆形成实验检测胃癌细胞的增殖情况,结果如图2A所示,TMP可剂量依赖性抑制AGS和SGC7901细胞增殖形成的细胞群落;统计学结果显示,中、高剂量组克隆形成数显著低于对照组($P<0.05$)。

Transwell细胞迁移及侵袭实验检测胃癌细胞AGS和SGC7901的迁移情况及侵袭情况,结果如图2B和C所示,TMP可剂量依赖性抑制AGS和SGC7901细胞迁移及侵袭;统计学分析表明,中、高剂量组细胞迁移率和侵袭率均显著低于对照组($P<0.05$)。

2.3 TMP对胃癌细胞葡萄糖代谢的影响 检测结果如表1所示,中、高剂量的TMP可显著抑制胃癌细胞对葡萄糖的利用,并抑制细胞内乳酸生成;同时中、高剂量TMP组的OCR和ECAR值较对照组显著降低。

2.4 TMP对胃癌细胞葡萄糖代谢过程中关键酶活性的影响 进一步检测TMP对胃癌细胞葡萄糖代谢过程中关键酶HK、LDH活性的影响,结果显示(图3),高剂量TMP可显著抑制HK和LDH的活性,差异有统计学意义

表 1 川芎嗪对胃癌细胞葡萄糖代谢的影响

组别		葡萄糖摄取($\mu\text{L}/\text{mL}$)	乳酸产量(mM)	氧消耗速率($\text{mM}/\text{min}/105\text{cells}$)	胞外酸化率($\text{mMol}/\text{min}/105\text{cells}$)
AGS	Ctrl	2.97 ± 0.49	4.59 ± 0.41	277.38 ± 25.56	443.37 ± 38.95
	TMP-L	2.31 ± 0.55	3.84 ± 0.53	235.74 ± 35.12	399.54 ± 30.65
	TMP-M	1.07 ± 0.52^a	3.37 ± 0.45^b	202.19 ± 18.74^c	321.28 ± 25.36^d
	TMP-H	0.76 ± 0.43^a	2.03 ± 0.38^b	179.26 ± 10.33^c	300.56 ± 21.28^d
SGC7901	Ctrl	3.05 ± 0.62	4.78 ± 0.43	301.56 ± 27.32	474.82 ± 41.26
	TMP-L	2.74 ± 0.57	3.89 ± 0.52	256.63 ± 25.48	409.28 ± 35.51
	TMP-M	2.05 ± 0.43^e	3.01 ± 0.44	212.91 ± 20.76^g	337.72 ± 27.34^h
	TMP-H	0.89 ± 0.45^e	2.26 ± 0.51^f	183.46 ± 12.38^g	306.65 ± 23.27^h

$n = 3$, mean $\pm$ SD, $^aP < 0.05$, $^bP < 0.05$, $^cP < 0.05$, $^dP < 0.05$ vs Ctrl组AGS细胞; $^eP < 0.05$, $^fP < 0.05$, $^gP < 0.05$, $^hP < 0.05$ vs Ctrl组SGC7901细胞. Ctrl: 对照组; TMP-L: 低剂量川芎嗪组; TMP-M: 中剂量川芎嗪组; TMP-H: 高剂量川芎嗪组.

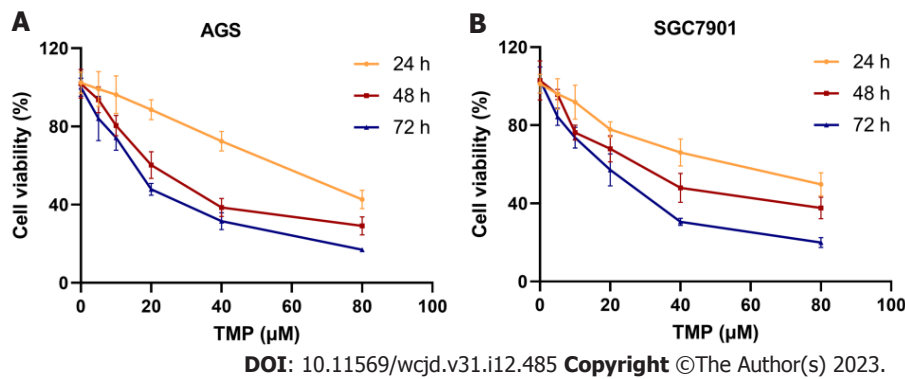


图 1 川芎嗪对胃癌细胞增殖活力的影响. A: CCK-8法检测的梯度浓度(0 μM 、5 μM 、10 μM 、20 μM 、40 μM 和80 μM)TMP干预AGS细胞不同时间(24 h、48 h、72 h)后的细胞活力数据的统计结果; B: CCK-8法检测的梯度浓度(0 μM 、5 μM 、10 μM 、20 μM 、40 μM 和80 μM)TMP干预SGC7901细胞不同时间(24 h、48 h、72 h)后的细胞活力数据的统计结果. TMP: 川芎嗪. $n = 3$.

($P < 0.05$).

2.5 TMP对胃癌细胞AKT/GLUT1信号及葡萄糖代谢相关蛋白的影响 Western blot检测结果如图4所示, 与对照组相比, TMP孵育可显著降低胃癌AGS及SGC7901细胞中磷酸化AKT的水平, 总AKT蛋白表达不变; 同时可抑制AGS及SGC7901细胞中GLUT1、HK2及LDHA的蛋白表达水平.

3 讨论

TMP具有抗肿瘤活性, 在胃癌中的研究显示, TMP可通过激活ROS/AMPK通路促进SGC7901胃癌细胞经线粒体途径凋亡^[9]. 另一项研究也同样表明^[10], 在SGC7901胃癌细胞中TMP可通过核因子 κB 及周期调控因子发挥抑制增殖及促凋亡的效应. 本研究旨在探讨TMP对AGS及SGC7901胃癌细胞增殖及迁移能力的影响以及其中涉及的能量代谢异常问题. 结果显示TMP可浓度依赖性降低AGS及SGC7901胃癌细胞活力, 并抑制其增殖及迁移.

本实验进一步从能量代谢的角度研究了TMP抑制胃癌细胞生长可能涉及的作用机制. 依据Warburg效应,

AGS和SGC7901胃癌细胞与其他肿瘤细胞类似, 以有氧糖酵解代谢为主要的能量来源; 为维持自身无限增殖的信号, 胃癌细胞对一方面培养环境中葡萄糖的需求量较大, 另一方面有氧糖酵解代谢会生成大量的乳酸, 维持其生存所需的酸性微环境^[11,12]. 故而本研究首先检测了胃癌细胞及培养体系中葡萄糖的消耗量和乳酸的生成量, 结果显示经TMP干预后, AGS细胞及SGC7901细胞消耗的葡萄糖量及乳酸的生成量显著降低. OCR测量细胞的耗氧量可以反应线粒体的氧化磷酸化作用, ECAR测定的培养基酸化速率也是一种检测葡萄糖代谢的方法. 检测结果表明TMP可降低胃癌细胞的耗氧量和培养基酸化速率; 这些结果均提示TMP可抑制AGS及SGC7901胃癌细胞利用葡萄糖进行有氧糖酵解代谢, 能量代谢异常可能是导致肿瘤细胞增殖及迁移能力下降的原因之一.

肿瘤细胞有氧糖酵解代谢过程中同样需要己糖激酶、乳酸脱氢酶等关键酶的催化. 胃癌细胞中HK2表达上调与细胞的恶性生物学行为密切相关^[13], HK2水平降低可阻碍细胞利用葡萄糖, 抑制糖酵解的顺利进行. 作

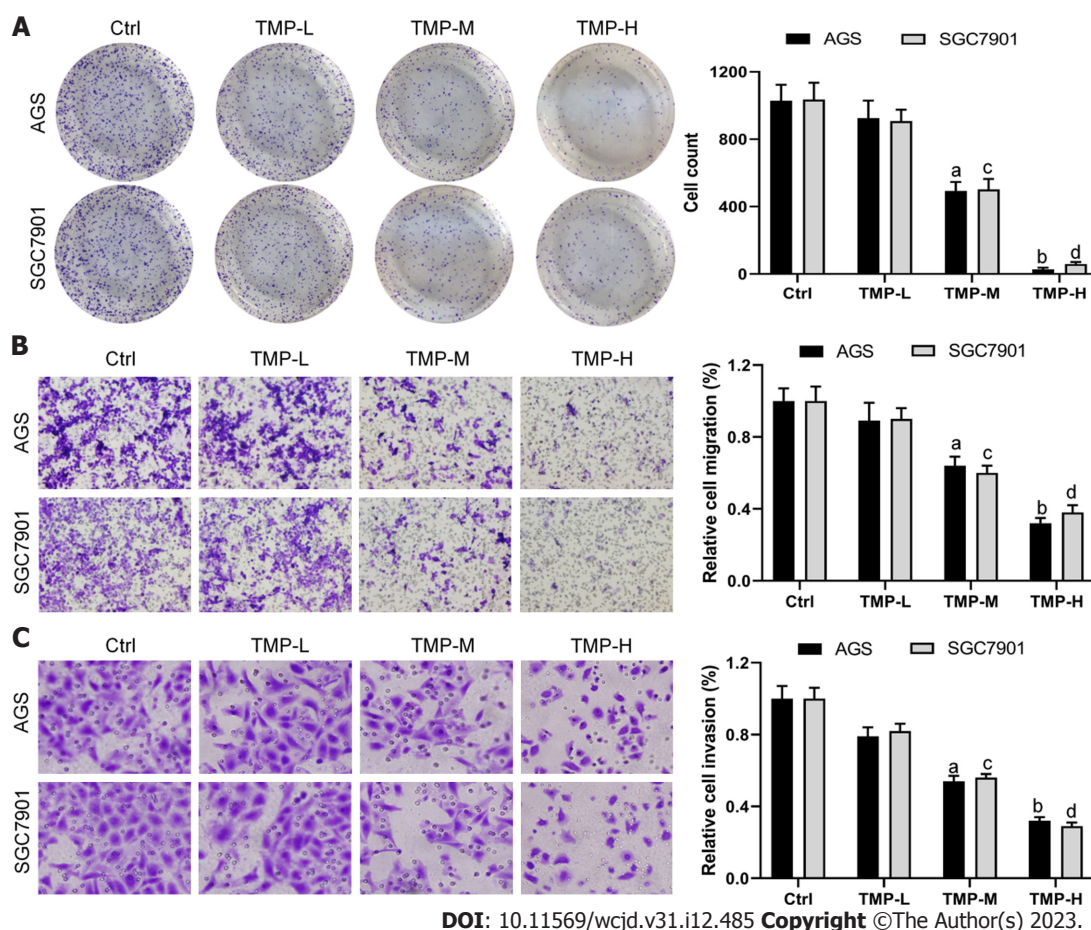


图 2 川芎嗪对胃癌细胞增殖和迁移的影响。A: 集落形成实验的代表性图像和统计学结果, $n = 3$, mean $\pm$ SD, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs Ctrl组AGS细胞; ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs Ctrl组SGC7901细胞。B: Transwell迁移实验的代表性图像和统计学结果, $n = 3$, mean $\pm$ SD, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs Ctrl组AGS细胞; ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs Ctrl组SGC7901细胞。C: Transwell侵袭实验的代表性图像和统计学结果, $n = 3$, mean $\pm$ SD, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs Ctrl组AGS细胞; ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs Ctrl组SGC7901细胞。Ctrl: 对照组; TMP-L: 低剂量川芎嗪组; TMP-M: 中剂量川芎嗪组; TMP-H: 高剂量川芎嗪组。

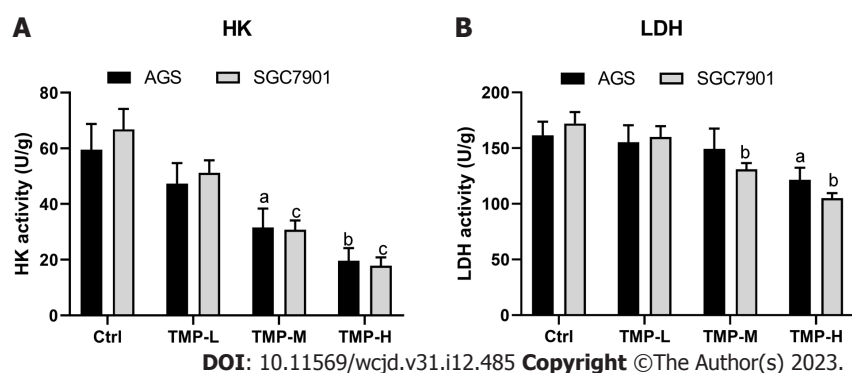
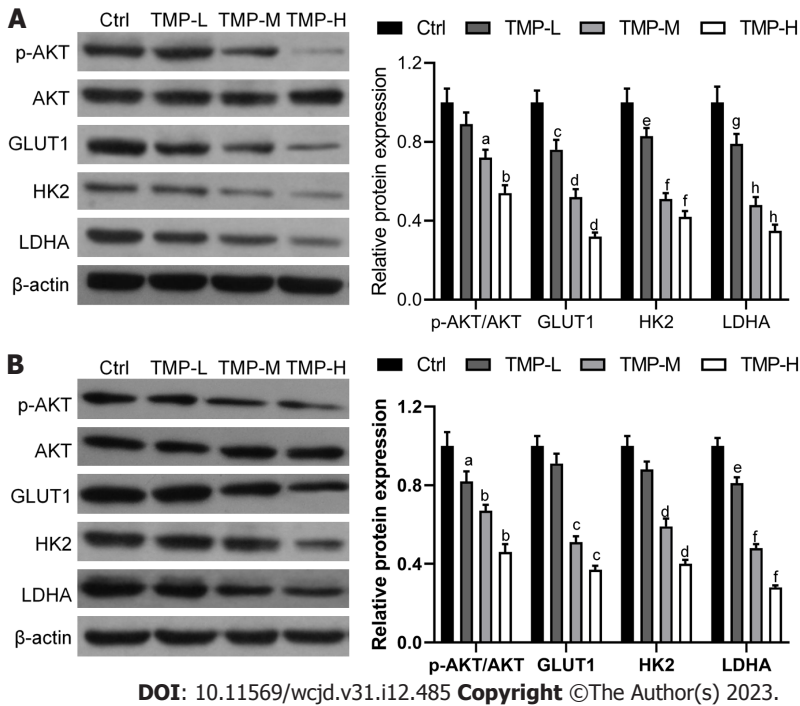


图 3 川芎嗪对胃癌细胞葡萄糖代谢过程中关键酶活性的影响。A: HK活性的统计学结果, $n = 3$, mean $\pm$ SD, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs Ctrl组AGS细胞; ^a $P < 0.01$ vs Ctrl组SGC7901细胞。B: LDH活性的统计学结果; $n = 3$, mean $\pm$ SD, ^a $P < 0.05$ vs Ctrl组AGS细胞; ^b $P < 0.05$ vs Ctrl组SGC7901细胞。Ctrl: 对照组; TMP-L: 低剂量川芎嗪组; TMP-M: 中剂量川芎嗪组; TMP-H: 高剂量川芎嗪组; HK: 己糖激酶; LDH: 乳酸脱氢酶。

为乳酸生成的关键酶之一, LDHA在胃癌组织中表达显著高于癌旁正常对照组织, 且LDHA的高表达与胃癌患者的不良预后密切相关^[14,15]。故而本研究进一步检测了胃癌细胞中, HK2和LDH的表达以及活性。结果显示,

TMP可显著抑胃癌细胞中HK2和LDH的活性, 同时抑制HK2和LDHA的蛋白表达。AKT信号已被证实参与调节肿瘤生长代谢, 磷酸化激活AKT之后可促进肿瘤细胞膜上葡萄糖转运蛋白的表达以及转位, 进而增加细胞摄取



DOI: 10.11569/wcjd.v31.i12.485 Copyright ©The Author(s) 2023.

图 4 川芎嗪对胃癌细胞AKT/GLUT1信号及葡萄糖代谢相关蛋白的影响. A: AGS细胞, $n = 3$, mean $\pm$ SD, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$, ^e $P < 0.01$, ^f $P < 0.01$, ^g $P < 0.01$ vs Ctrl组; B: SGC7901细胞, $P < 0.05$, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$, ^e $P < 0.01$ vs Ctrl组. Ctrl: 对照组; TMP-L: 低剂量川芎嗪组; TMP-M: 中剂量川芎嗪组; TMP-H: 高剂量川芎嗪组.

葡萄糖的速度, 促进肿瘤细胞的有氧糖酵解代谢和肿瘤的生长^[16,17]. 本研究的检测结果显示, TMP可显著抑制胃癌细胞中AKT的磷酸化和GLUT1的蛋白表达水平. 以上结果提示TMP可抑制AKT/GLUT1信号轴, 下调糖酵解代谢关键酶HK2和LDHA的表达, 进而抑制胃癌细胞的有氧糖酵解代谢; 然而该信号轴是否会对胃癌细胞其他相关的生物学行为产生影响, 所涉及的具体机制如何, 还需进一步的研究.

4 结论

综上所述, TMP可抑制AGS及SGC7901胃癌细胞增殖及迁移, 并通过AKT/GLUT1信号轴抑制胃癌细胞有氧糖酵解代谢.

文章亮点

实验背景

川芎嗪具有多种抗癌作用, 而其对胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭的影响和潜在的细胞学机制尚不完全清楚.

实验动机

糖酵解在胃癌细胞的生长以及转移中发挥巨大作用, 川芎嗪抑制胃癌细胞的增殖、迁移与侵袭的过程中是否涉及抑制糖酵解并不清楚.

实验目标

评估川芎嗪对胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响, 并以糖酵解的角度初步探讨其涉及的细胞学机制.

实验方法

用10 μ M、20 μ M和40 μ M川芎嗪处理胃癌细胞后, 检测细胞活性、迁移与侵袭、葡萄糖代谢指标、葡萄糖代谢关键酶活性的变化; 并用Western blot分析糖酵解相关蛋白的表达和蛋白激酶B/葡萄糖转运蛋白1信号活性.

实验结果

川芎嗪抑制胃癌细胞糖酵解、增殖、迁移、侵袭和蛋白激酶B/葡萄糖转运蛋白1信号活性.

实验结论

川芎嗪抑制胃癌细胞增殖及转移的作用可能涉及到抑制蛋白激酶B/葡萄糖转运蛋白1信号轴介导的糖酵解.

展望前景

川芎嗪可能是潜在的抗胃癌药剂.

5 参考文献

- Zheng RS, Zhang SW, Zeng HM, Wang SM, Sun KX, Chen R, Li L, Wei WQ, He J. Cancer incidence and mortality in China, 2016. *Journal of the National Cancer Center* 2022; 2: 1-9 [DOI: 10.1016/

- jjncc.2022.02.002]
- 2 Thrift AP, El-Serag HB. Burden of Gastric Cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2020; 18: 534-542 [PMID: 31362118 DOI: 10.1016/j.cgh.2019.07.045]
 - 3 Machlowska J, Baj J, Sitarz M, Maciejewski R, Sitarz R. Gastric Cancer: Epidemiology, Risk Factors, Classification, Genomic Characteristics and Treatment Strategies. *Int J Mol Sci* 2020; 21 [PMID: 32512697 DOI: 10.3390/ijms21114012]
 - 4 Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144: 646-674 [PMID: 21376230 DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013]
 - 5 Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70 [PMID: 10647931 DOI: 10.1016/s0092-8674(00)81683-9]
 - 6 Luo Y, Liu JS, Dai B, Qian K. The influence of metabolic syndrome on gastric cancer: A meta-analysis. *Asian J Surg* 2021; 44: 1596-1597 [PMID: 34511362 DOI: 10.1016/j.asjsur.2021.08.014]
 - 7 Zou J, Gao P, Hao X, Xu H, Zhan P, Liu X. Recent progress in the structural modification and pharmacological activities of ligustrazine derivatives. *Eur J Med Chem* 2018; 147: 150-162 [PMID: 29432947 DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.01.097]
 - 8 Lin J, Wang Q, Zhou S, Xu S, Yao K. Tetramethylpyrazine: A review on its mechanisms and functions. *Biomed Pharmacother* 2022; 150: 113005 [PMID: 35483189 DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113005]
 - 9 Yi B, Liu D, He M, Li Q, Liu T, Shao J. Role of the ROS/AMPK signaling pathway in tetramethylpyrazine-induced apoptosis in gastric cancer cells. *Oncol Lett* 2013; 6: 583-589 [PMID: 24137375 DOI: 10.3892/ol.2013.1403]
 - 10 Ji AJ, Liu SL, Ju WZ, Huang XE. Anti-proliferation effects and molecular mechanisms of action of tetramethylpyrazine on human SGC-7901 gastric carcinoma cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15: 3581-3586 [PMID: 24870761 DOI: 10.7314/apjcp.2014.15.8.3581]
 - 11 Zhao M, Wei F, Sun G, Wen Y, Xiang J, Su F, Zhan L, Nian Q, Chen Y, Zeng J. Natural compounds targeting glycolysis as promising therapeutics for gastric cancer: A review. *Front Pharmacol* 2022; 13: 1004383 [PMID: 36438836 DOI: 10.3389/fphar.2022.1004383]
 - 12 Deng P, Li K, Gu F, Zhang T, Zhao W, Sun M, Hou B. LINC00242/miR-1-3p/G6PD axis regulates Warburg effect and affects gastric cancer proliferation and apoptosis. *Mol Med* 2021; 27: 9 [PMID: 33514309 DOI: 10.1186/s10020-020-00259-y]
 - 13 Xu J, Xu Y, Ye G, Qiu J. LncRNA-SNHG1 promotes paclitaxel resistance of gastric cancer cells through modulating the miR-216b-5p-hexokinase 2 axis. *J Chemother* 2022; 1-12 [PMID: 36548909 DOI: 10.1080/1120009X.2022.2157618]
 - 14 Sun X, Sun Z, Zhu Z, Li C, Zhang J, Xu H, Sun M. Expression of SIP1 is strongly correlated with LDHA and shows a significantly poor outcome in gastric cancer. *Tumour Biol* 2015; 36: 7521-7530 [PMID: 25913622 DOI: 10.1007/s13277-015-3470-7]
 - 15 Li X, Zhang C, Zhao T, Su Z, Li M, Hu J, Wen J, Shen J, Wang C, Pan J, Mu X, Ling T, Li Y, Wen H, Zhang X, You Q. Lysine-222 succinylation reduces lysosomal degradation of lactate dehydrogenase a and is increased in gastric cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 2020; 39: 172 [PMID: 32859246 DOI: 10.1186/s13046-020-01681-0]
 - 16 Xu L, Chen J, Jia L, Chen X, Awaleh Moumin F, Cai J. SLC1A3 promotes gastric cancer progression via the PI3K/AKT signalling pathway. *J Cell Mol Med* 2020; 24: 14392-14404 [PMID: 33145952 DOI: 10.1111/jcmm.16060]
 - 17 Zhou D, Jiang L, Jin L, Yao Y, Wang P, Zhu X. Glucose Transporter-1 Cooperating with AKT Signaling Promote Gastric Cancer Progression. *Cancer Manag Res* 2020; 12: 4151-4160 [PMID: 32581586 DOI: 10.2147/CMAR.S251596]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com



ISSN 1009-3079

