

ISSN 1009-3079

CN 14-1260/R

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003年9月15日 第11卷 第9期

(Volume 11 Number 9)



9/2003

ISSN 1009-3079



9 771009 307001

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

World Journal of Gastroenterology® 被 SCI®-E, Research Alert®, Current Contents®/Clinical Medicine, Journal Citation Reports®, Index Medicus, MEDLINE, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2002 年 JCR® 报告 WJG 影响因子 2.532. 世界华人消化杂志® 被 Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2001 年中国科技期刊引证报告: 世界华人消化杂志® 影响因子 3.733, WJG 影响因子 2.920.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ●

2003 年 9 月 15 日 第 11 卷

第 9 期 (总第 113 期)

述 评

- 1269 胃肠道肿瘤的影像诊断和介入治疗 程英升, 尚克中
1273 胃食管反流病的内镜缝合治疗 杨云生, 令狐恩强

胃 癌

- 1275 α -连接素表达与胃癌生物学行为的关系 徐采朴, 周永宁, 陈渝
1279 老年人胃癌前黏膜癌变的胃镜随访 王孟薇, 杨少波, 张子其, 祝庆孚, 王刚石, 李晖, 姚晨, 吴本俨, 尤纬缔
1282 内皮抑素-血管内皮细胞抑制因子重组腺病毒对荷胃癌裸鼠的治疗 潘欣, 李喆, 张珉, 王泳, 潘卫, 戚中田
1286 PKC β 1 和 PKC β 2 在早期胃癌中的表达 冯瑞娥, 陈杰, 崔全才, 詹阳, 王振宇
1290 二烯丙基二硫对人胃癌 MGC803 细胞生长的影响 张良运, 凌晖, 苏琦, 宋颖, 梁晓秋
1294 胃黏膜癌变过程中 PTEN 基因编码产物的表达及意义 李异玲, 何向民, 郑华川, 吴东璘, 杨雪飞, 辛彦, 傅宝玉
1297 进展期胃癌病理和预后影响因素的关系 黄海力, 吴本俨, 尤纬缔, 申明识
1302 雌激素诱导基因 PS2/TFF1 在胃癌及癌前病变中的表达 李俊美, 罗和生, 姚宏昌
1306 GSTM1, GSTT1 基因多态与胃腺癌及幽门螺杆菌感染的关联 张友才, 邓长生, 周燕, 朱尤庆
1310 基质金属蛋白酶-7 表达与胃癌临床病理生物学行为的关系 孙晋民, 郑华川, 杨雪飞, 辛彦, 张荫昌
1314 毒物代谢酶基因多态与胃癌的关联 叶梅, 刘君炎, 邓长生
1318 胃癌中医证型相关基因的表达谱 刘莺, 李俊军, 朱文锋, 刘平

肝 癌

- 1322 MUC1 基因免疫抑制 H22 肝癌生长的实验研究 袁时芳, 王岭, 李开宗, 颜真, 韩苇, 张英起
1326 纺锤体组装关卡基因 hsMAD2 在人肝细胞肝癌中的表达及其意义 李擒龙, 王文亮, 张晓晖, 晏伟
1329 GnRH 类似物诱导肝癌细胞凋亡的体外研究 刘庆元, 窦科峰, 张金山, 孙岚, 黄鲁豫, 张远强
1333 bFGF 对人肝癌细胞系 Bel-7402 的生长调控 于卉影, 孙利平, 孙黎光, 丁晓慧
1337 经肝动脉注射 5-FU 白芨微球治疗兔 VX₂ 移植性肝癌 李欣, 冯敦生, 郑传胜, 柳曦, 孔健
1341 KAI1 正反义基因对 MHCC97-H 肝癌细胞 KAI1 蛋白表达的影响 司遂海, 杨建民, 罗元辉, 房殿春, 周平
1345 中药复方胃肠安血清诱导肝癌 SMMC-7721 细胞分化 赵海磊, 刘成, 赵爱光
1349 肝癌患者乙型肝炎病毒 X 基因变异的研究 代志琰, 徐启桓, 李刚, 马会慧, 汤正好, 舒欣, 姚集鲁
1353 复方中药 99-克星超声介入治疗肝癌裸鼠移植瘤凋亡与增生 林晓东, 林礼务, 何以教, 高上达, 杨发端, 薛恩生
1357 羟基磷灰石纳米粒子诱导人肝癌细胞凋亡模型的构建 刘志苏, 唐胜利, 艾中立, 孙权, 钱群, 何跃明, 朱忠超
1362 β -catenin 和 Cyclin D1 在肝癌肝内转移中的作用 苏小康, 赵先明, 李锦清, 崔学教, 谢晓华, 杨海燕, 徐发彬, 石明
1365 DC 负载凋亡肝癌细胞后的免疫应答 郭建巍, 秦力维, 蔡美英, 吕同德
1369 TRAIL 诱导肝癌细胞系 SMMC-7721 的凋亡作用 李小安, 房殿春, 司佩任, 张汝刚, 杨柳芹, 秦建平

大 肠 癌

- 1372 大肠肿瘤组织线粒体形态结构定量研究 吴正蓉, 申洪
1375 IL-4 增强 IL-2 活化的 A-NK 细胞对人直肠癌 CC95 的抗肿瘤作用 王志华, 申宝忠, 史历
1378 人源性大肠癌抗原基因的 SEREX 筛选 刘宇虎, 张振书, 钟东, 武金宝, 但汉雷, 赖卓胜, 王亚东, 张亚历, 肖冰
1382 直肠癌组织 CD44v6, DNA 含量的联合检测及临床意义 丁志杰, 单吉贤, 都姝妍
1385 胃泌素拮抗剂增加 CD 自杀基因对结直肠癌细胞的杀伤作用 王小军, 马庆久, 赖大年, 黎成金, 李金茂, 武永忠, 王青
1389 aFGF 和 genistein 对大肠癌细胞株 CCL229 PKC 及 ERK 活性的影响 尚海, 张颐, 单吉贤

基础 研究

- 1392 牛磺酸对 CCl₄ 诱导的大鼠肝纤维化的保护作用及其机制的研究 梁健, 杨光业, 张锡流, 庞玉生, 袁海峰, 梁劲松, 黄仁彬, 韦新, 韦明
1396 胰腺移植 ICAM-1 的表达及信号转导的因素 梁健, 王凤山, 刘永锋, 刘利民, 刘树荣, 崔宏, 邵春泉, 何三光

临床研究	1399 聚乙二醇 4 000 治疗老年人功能性便秘 85 例 张长青, 张国伟, 张葵玲, 付奕其
焦点论坛	1402 胃肠道肿瘤的影像诊断和介入治疗 程英升 1402 胃肠道肿瘤的 X 线诊断 尚克中, 程英升, 吴春根 1404 胃肠道肿瘤 CT 诊断 吴春根, 程英升, 尚克中 1406 胃肠道肿瘤 MRI 诊断 吴春根, 程英升, 尚克中 1408 胃肠道肿瘤超声诊断 胡兵, 周进祝 1410 胃肠道肿瘤核素诊断 陆汉魁 1413 胃肠道肿瘤血管和非血管双介入治疗 程英升, 尚克中
治疗指南	1416 肝细胞癌的诊断和治疗 陆嵘, 房静远
文献综述	1420 DNA 高甲基化与抑癌基因 刘仲敏, 刘芝华, 吴旻 1425 胃癌供血及其动脉介入化疗的研究进展 沈波, 朱金水 1429 腹膜粘连的分子机制及药物防治 曾健, 李晓辉 1433 肿瘤多药耐药和进展期大肠癌耐药细胞株建立研究进展 姚学清, 林锋 1436 肽转运载体的分子特征 韩飞, 施用晖, 乐国伟, 王立宽 1443 肝星状细胞与肝纤维化的研究进展 蒋业贵, 李兆申 1447 环氧化酶-2 与结直肠癌 姚红兵, 吴爱国, 朱卉娟 1451 幽门螺杆菌疫苗的研究进展 姜政, 黄爱龙, 陶小红, 王丕龙 1457 脂肪酸结合蛋白研究进展 冯爱娟, 陈东风 1460 肝移植后乙型肝炎病毒再感染相关因素的研究进展 王永刚, 王宇明
读者来信	1352 陈祖林 1368 汤伟
消息	1301 欢迎订阅 2004 年度世界华人消化杂志 1332 欢迎订阅 2004 年度 World Journal of Gastroenterology® 1424 世界华人消化杂志获得 2001 年度百种中国杰出学术期刊 1450 WJG 搭建我国消化基础 and 临床研究惟一国际交流的平台 1464 世界胃肠病学杂志英文版获得 2003-2004 年国家自然科学基金重点学术期刊专项基金资助
封面故事	巴松湖又名错宗湖, 在藏文里又是绿色湖水的意思, 位于西藏林芝地区工布江达县境内, 该湖湖面海拔 3464 m, 是川藏东部最大的淡水堰塞湖之一。湖水清澈见底, 四周雪山倒映其中, 湖周原始森林密布, 群山环绕, 景美如画。湖中央飘着一座秀丽的湖心小岛, 湖心岛上有一座错宗寺, 建于唐代末年。(马俐 马娜 摄影)。

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

(月刊)

创刊 1993-01-15

改刊 1998-01-25

出版 2003-09-15

原刊名 新消化病学杂志

总顾问 陈可冀

黄象谦

黎介寿

刘耕陶

裘法祖

汤钊猷

王宝恩

危北海

吴孟超

吴成中

张金哲

张学庸

赵东海

周殿元

社长总编辑 马连生

中文编辑 潘伯荣

王瑾晖

英文编辑 王先林

排版 李少华

校对 李天华

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会

030001, 山西省太原市双塔西街 77 号

E-mail: wjcd@wjgnet.com

出版 世界胃肠病学杂志社

100023, 北京市 2345 信箱

E-mail: wjcd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

电话 (010)85381892

传真 (010)85381893

印刷 北京科信印刷厂

发行 国内 北京报刊发行局

国外 中国国际图书贸易总公司

(100044, 北京 399 信箱)

订购 全国各地邮电局

邮购 世界胃肠病学杂志社发行部

(100023, 北京市 2345 信箱)

电话: (010)85381892

传真: (010)85381893

2003 年版权归世界胃肠病学杂志社所有

本刊已被国内外

检索系统收录

美国《化学文摘(CA)》

荷兰《医学文摘库/医学文摘(EM)》

俄罗斯《文摘杂志(PJ)》

中国科技论文统计与分析

中国学术期刊文摘

中国中医药信息服务网

中国生物医学文献光盘数据库

《中文科技资料目录(医药卫生)》

中国生物医学期刊目次数据库

中国医学文摘外科学分册(英文版)

中国医学文摘内科学分册(英文版)

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社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。

ISSN 1009-3079

CN 14-1260/R

邮发代号

82-262

国外代号

M 4481

国内定价

每期 24.00 元 全年 288.00 元

广告经营许可证

1401004000050

www.wjgnet.com

二烯丙基二硫对人胃癌 MGC803 细胞生长的影响

张良运, 凌 晖, 苏 琦, 宋 颖, 梁晓秋

张良运, 凌晖, 苏琦, 宋颖, 南华大学肿瘤研究所 湖南省衡阳市 421001
梁晓秋, 中国科学院生物物理研究所 北京市 100101
张良运, 男, 1972-05-21 生, 湖南省衡阳市人, 汉族, 2001 年南华大学病理学硕士毕业, 现在广东省佛山市人民医院病理科工作。
湖南省科委基金资助课题, No. 97610319, No. 00SSY3019
湖南省自然科学基金课题, No. 01JJY2146, No. 02JJY2026
项目负责人: 苏琦, 421001, 湖南省衡阳市, 南华大学肿瘤研究所. sq8888@cmmail.com
电话: 0734-8281547 传真: 0734-8281547
收稿日期: 2002-10-17 接受日期: 2002-11-30

Inhibitory effect of diallyl disulfide on human gastric cancer cell line MGC803 *in vitro*

Liang-Yun Zhang, Hui Ling, Qi Su, Ying Song, Xia-Qiu Liang

Liang-Yun Zhang, Hui Ling, Qi Su, Ying Song, Institute of Oncology, Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China
Xia-Qiu Liang, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China
Supported by the Science and Technology Commission Foundation of Hunan Province, No. 97610319, No. 00SSY3019, and the National Natural Science Foundation of Hunan Province, No. 01JJY2146, No. 02JJY2026.
Correspondence to: Dr. Qi Su, Institute of Oncology, Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province China. sq8888@cmmail.com
Received: 2002-10-17 Accepted: 2002-11-30

Abstract

AIM: To investigate the effect of diallyl disulfide (DADS) on human gastric cancer MGC803 cell line *in vitro*.

METHODS: The effect of DADS was confirmed by MTT assay, cell growth curve analysis, cell viability detection, clony formation in soft agar and inversion microscopy.

RESULTS: *In vitro* growth of MGC803 cells was significantly inhibited by DADS in a dose-dependent manner ($P < 0.05$) when MGC803 cells were cultured for 96 hours, and at a higher concentration of 35 mg/L. The inhibiting effect of DADS displayed a time-dependent manner ($P < 0.05$). Cell viability decreased from 97.4 % in negative control group to 80.4 % in treatment group. There was no significance existed between the two groups ($P > 0.05$), and average doubling time was delayed from 33.75 h in negative control group to 84.0 h in treatment group ($P < 0.05$). Clony formation ratio was also decreased from 1.23 % in negative control group to 0.33 % in treatment group ($P < 0.05$). After treated by DADS, MGC803 cells showed pleomorphic and atypia declining, small size, uniform spindle shape, abundant cytoplasm and smaller nuclei. All these appeared in 20 mL/L DMSO treated MGC803 cells as well as in DADS-exposed cells.

CONCLUSION: The effect of growth inhibition of DADS on human gastric cancer MGC803 cells *in vitro* is significant

and exhibits a dose-dependent manner.

Zhang LY, Ling H, Su Q, Song Y, Liang XQ. Inhibitory effect of diallyl disulfide on human gastric cancer cell line MGC803 *in vitro*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2003;11(9):1290-1293

摘要

目的: 研究二烯丙基二硫(DADS)对人胃癌MGC803细胞生长的抑制作用。

方法: 采用MTT法、生长曲线分析、细胞活力检测、双层软琼脂集落形成率、及倒置显微镜等方法, 观察DADS对体外培养的人胃癌MGC803细胞的影响。

结果: DADS对MGC803细胞具有明显的生长抑制效应, 且呈剂量-效应依赖关系($P < 0.05$)。培养96 h, 35 mg/L DADS的抑制作用呈时间-效应依赖关系($P < 0.05$)。细胞群体倍增时间由33.8 h延长至DADS处理后的84.0 h ($P < 0.05$); 细胞存活率分别为阴性对照组97.4 %和DADS处理组80.4 % ($P > 0.05$); 软琼脂集落形成率由1.23 %下降到0.33 % ($P < 0.05$)。阴性对照组细胞多角形、圆形, 体积大, 多形性明显, 核大小不一, 见双核及核仁, 细胞生长紧密呈堆叠生长。DADS处理后细胞异型性降低, 为形态一致的梭形, 体积小, 境界清楚而分散, 胞质丰富, 核明显变小。

结论: DADS对体外培养的MGC803细胞具有明显的增生抑制作用, 且呈现剂量-效应依赖关系。

张良运, 凌晖, 苏琦, 宋颖, 梁晓秋. 二烯丙基二硫对人胃癌 MGC803 细胞生长的影响. 世界华人消化杂志 2003;11(9):1290-1293

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1290.asp>

0 引言

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一^[1-9], 尤其在我国的发病率和死亡率仍居首位^[10-12]。流行病学调查显示, 食用大蒜可以减少胃癌的发生率与死亡率^[13]。研究表明, 大蒜及其烯丙基硫化物对结肠癌、白血病、乳腺癌、肺癌等均有明显的抑制作用^[14-17]。本室以前研究证实大蒜可以抑制MNNG诱发大鼠腺胃癌和癌前病变^[18], 同时具有抗突变、抗癌变和促进淋巴细胞转化等功能^[19-22], 并发现二烯丙基三硫(diallyl trisulfide, DATS)可抑制胃癌 MGC803 细胞生长^[23]。现研究不同浓度的二烯丙基二硫(diallyl disulfide, DADS)对体外培养的人胃癌 MGC803 细胞的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 MGC803 细胞(为人胃低分化黏液癌, 山东师范大学生物系建株, 从湖南医科大学肿瘤所引进)用含 100 mL/L 小牛血清的 RPMI1640 (GIBCO)培养液置 37 °C, 含 50 mL/L CO₂, 恒湿、恒温培养箱中培养。取对数生长期细胞, 按所需细胞浓度接种于培养瓶或培养板内, 待细胞完全贴壁 6 h 后, 换用含或不含药物的培养液培养至预定时间。实验设立不同浓度的 DADS (Fluka, d₄²⁰=1.0, M_r 146.28, 纯度 80 %, 含 10-20 % DAS)、DAS (Fluka, d₄²⁰=0.887, M_r 114.21, 纯度 97 %)处理组, 20 mL/L DMSO 的阳性对照组, Tween 80+ 生理盐水溶媒对照组以及常规培养的阴性对照组。

1.2 方法 取对数生长期细胞, 接种于 96 孔平底培养板, 细胞贴壁 6-8 h 后, 加入处理因素, 继续培养 96 h。然后加入 5 g/L MTT (AMRESCO) 20 μL 液培养 6 h 即终止培养。加入 DMSO (SIGMA)振摇 10 min, 以溶解细胞内外形成的甲簪, 置酶联免疫检测仪以空白对照组调零, 读取各孔 A₅₇₀ 值(取 6 复孔)。按公式计算: 抑制率(IR %)=(1 - 实验组 A₅₇₀ 值/0 对照组 A₅₇₀) × 100 %。细胞活力检测采用台盼蓝排斥法, 倒置显微镜下计数活细胞与死细胞。按公式计算: 细胞活力(%)=活细胞数/(活细胞数+死细胞数) × 100 %。双层琼脂糖集落形成实验用三蒸水制备 15 g/L 和 9 g/L 两个浓度的低熔点琼脂糖溶液, 高温高压灭菌后维持于 40 °C 水浴中; 同时制备 3 × RPMI1640 培养液(含 300 mL/L 小牛血清和 3 倍双抗), 保存于 37 °C 温箱中。临用时 1:2 混合琼脂糖与 3 × RPMI1640 培养液, 调整细胞浓度使最终细胞接种量为 1000 个/孔。每组 3 个平行样本, 2 wk 后观察集落形成情况并计数集落数, 计算集落形成率。取对数生长期细胞, 接种于 24 孔培养板。每 24 h 取 3 孔细胞计数, 每孔计数 4 次, 求出三孔细胞的均值, 连续 96 h 绘制生长曲线。肿瘤细胞群体倍增时间 T_D 按公式计算: T_D=t × lg2/lg(N_t/N₀)(N_t 为 t 时间的细胞数, N₀ 为初种细胞数)。对活细胞在接触处理因素前后细胞形态学及生长状况的变化进行动态观察。

统计学处理 采用 SPSS10.0 for Windows 统计软件进行方差分析、χ² 检验、协方差分析及 Poisson 分布分析, 确定 P < 0.05 为差异有显著性统计学意义。

2 结果

2.1 MTT 法测细胞的吸光度 A₅₇₀ DADS 浓度由 20 mg/L⁻¹ 增至 45 mg/L 时, MGC803 细胞的生长抑制率由 15.1 % 提高到 65.8 %, 呈明显的浓度依赖关系, 且表明 DADS 对 MGC803 细胞的 IC₅₀ 在 25-30 mg/L 之间(表 1)。方差分析显示, 各浓度组之间均有显著性差异(P < 0.05)。根据表 3 的结果绘制 DADS 对 MGC803 细胞生长抑制效应量-效应曲线图 1。当 DAS 浓度在 40-100 mg/L 时, 对 MGC803 细胞生长具有一定的抑制作用, 抑制率由 6 % 递增至 20 % (表 2), 但浓度低于 40 mg/L 时, 其对 MGC803 细

胞的生长几无影响。在 DADS 溶液的实验浓度范围内, DAS 最大含量为 10 mg/L, 此浓度对 MGC803 细胞生长无影响。可以认为 DADS 溶液对 MGC803 细胞的生长以抑制作用是由其单一成分 DADS 作用所致。DMSO 对 MGC803 细胞的生长抑制作用也呈现出浓度依赖关系。当 DMSO 浓度由 1.0 % 增加到 2.5 % 时, 生长抑制率由 11.3 % 递增至 57.5 %。方差分析, 各浓度组之间有显著性差异(P < 0.05, 表 3)。DMSO 对 MGC803 细胞的 IC₅₀ 值接近于 2.0 %。本实验选取 2.0 % 的 DMSO 作为阳性对照。

表 1 DADS 处理 MGC803 细胞 96 h 内的吸光度值(n=6)

	DADS (mg/L)						
	0	20	25	30	35	40	45
$\bar{x} \pm s$	0.73	0.62	0.46	0.34	0.27	0.27	0.25
	0.068	0.038	0.049	0.055	0.065	0.024	0.051
抑制率(%)	0.0	15.1	37.0	56.2	63.1	63.1	65.8

表 2 DAS 处理 MGC803 细胞 96 h 内的吸光度值(n=6)

	DAS(mg/L)								
	0	10	20	30	40	50	60	80	100
$\bar{x} \pm s$	0.54	0.52	0.54	0.54	0.54	0.51	0.49	0.48	0.43
	0.053	0.045	0.060	0.067	0.054	0.046	0.041	0.044	0.058
抑制率(%)	0.0	3.7	0.0	0.0	0.0	5.5	9.3	11.1	20.4

表 3 DMSO 处理 MGC803 细胞 96 h 内的吸光度 A₅₇₀ 值(n=6)

	DMSO(mL/L)				
	0	10	15	20	25
$\bar{x} \pm s$	0.80	0.73	0.63	0.41	0.34
	0.089	0.061	0.076	0.069	0.036
抑制率 (%)	0.0	11.3	21.3	48.7	57.5

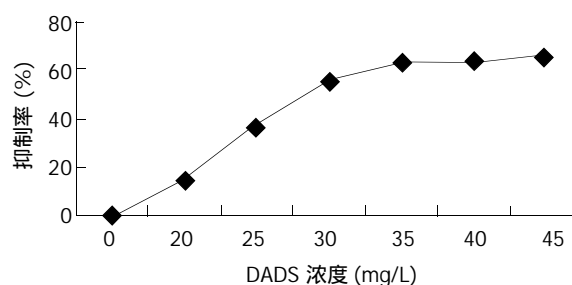


图 1 DADS 对 MGC-803 细胞生长抑制效应。

2.2 生长曲线及时间-效应曲线 根据细胞生长曲线(图 2)绘制 35 mg/L⁻¹ I, 25 mg/L⁻¹ 的 DADS, 2.0 % DMSO 及 Tween 80 溶媒对 MGC803 细胞生长抑制作用的时间-效应关系曲线(图 3)。2.0 % DMSO 对 MGC803 细胞生长抑制作用于 72 h 达到高峰(56.95 %)而后下降, 呈现时间-效应依赖关系; DADS 在 35 mg/L⁻¹ 时, 随培养时间的延长, 细胞生长抑制率随之增加, 72 h 后进入平台期, 呈

现时间-效应依赖关系; DADS在 25 mg/L^{-1} 时, 随时间的延长, 细胞生长抑制率稍有增加而近成直线, 表明 25 mg/L^{-1} 的 DADS 对 MGC803 细胞生长抑制效应稳定, 与时间无关 ($P < 0.05$). Tween 80 溶媒对 MGC803 细胞生长抑制作用于第 24 h 为最大, 而后随时间的延长, 其对 MGC803 细胞生长抑制效应逐渐降低.

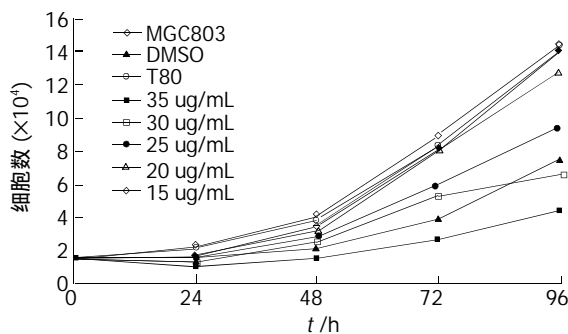


图2 MGC803 细胞生长曲线.

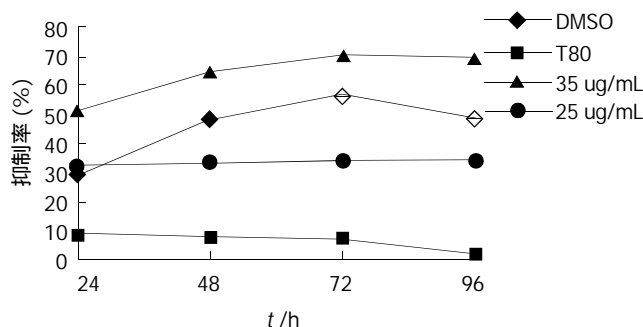


图3 DADS 对 MGC803 细胞抑制作用的时间效应.

2.3 细胞群体倍增时间和活力 常规培养的 MGC803 细胞群体倍增时间为 33.8 h; 当 DADS 浓度由 20 mg/L 增加到 35 mg/L 时, 其细胞群体倍增时间由 36.0 h 延长到 84.0 h, 表明 MGC803 细胞经 DADS 作用后, 其细胞群体倍增时间明显延长, 细胞增生周期延长, 从而细胞增生速度减慢. 20 mL/L DMSO 也将 MGC803 细胞群体倍增时间延长至 50.7 h, Tween 80 对 MGC803 细胞群体倍增时间无影响(表4). DADS 处理组细胞存活率比常规培养的 MGC803 对照组有所下降, 但无统计学差异 ($P > 0.05$); DMSO 及 Tween 80 与常规培养的 MGC803 对照组间亦无差异性 ($P > 0.05$, 表 5).

2.4 集落形成和镜检 经 DADS 和 DMSO 处理后的 MGC803 细胞集落形成能力明显降低. Poisson 分布检验表明, 除 20 mg/L DADS 组, DMSO 组与对照组细胞集落形成率无差异性 ($P > 0.05$) 外, 25 mg/L , 30 mg/L , 35 mg/L DADS 各组均有显著性差异 ($P < 0.05$, 表 6). 未处理组与 Tween 80 溶媒组的细胞形态呈多角形、圆形, 细胞体积大, 边缘不清, 多形性明显; 胞质较丰富, 饱满而透亮; 核大小不一, 可见核分裂、双核及核仁; 细胞生长紧密甚至呈堆叠生长(图4). DADS 与 DMSO 处理组细胞形态变化明显, 由多角形为主变为形态一致、以梭形为主, 胞质丰富透亮, 可见部分圆形漂浮的细胞, 其胞质

内见许多颗粒; 大部分细胞体积小, 贴壁紧密, 分散存在, 细胞境界清楚; 细胞核明显变小, 未见核分裂(图5).

表 4 处理前后 MGC803 细胞群体平均倍增时间

参数	MGC803	DMSO	T80	DADS(mg/L)			
				20	25	30	35
初种细胞数($\times 10^4$)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
细胞记数($\times 10^4$)	14.44	7.46	14.06	12.77	9.48	6.46	4.44
倍增时间(h)	33.75	50.74	34.21	35.99	42.90	56.99	83.96

表 5 MGC803 细胞存活率改变

参数	MGC803	DMSO	T80	DADS (mg/L^{-1})			
				35	30	25	20
死细胞数	7	10	13	22	38	28	100
活细胞数	261	130	247	117	156	172	559
细胞活力(%)	97.37	92.87	95.00	84.21	80.38	86.00	84.83

表 6 软琼脂培养 MGC803 细胞克隆集落形成率

参数	MGC803	DMSO	T80	DADS(mg/L)			
				20	25	30	35
接种细胞数	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000
$\bar{x} \pm s$	12.33	8.67	13.00	10	7.67	4.33	3.33
	1.247	0.471	0.816	0.816	1.699	1.247	1.247
相对集落形成率(%)	70.32	$\uparrow 5.4$	81.10	62.21	35.12	27.01	

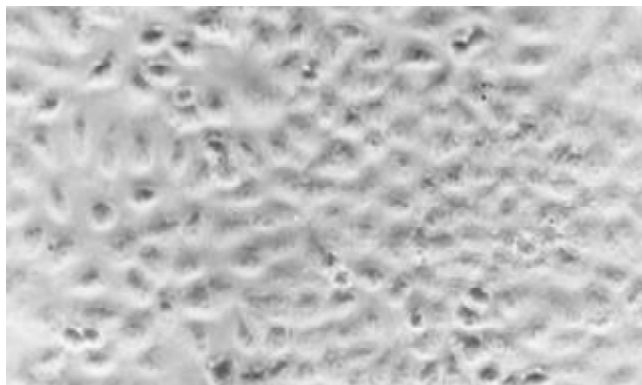


图4 未处理 MGC803 细胞 $\times 20$.

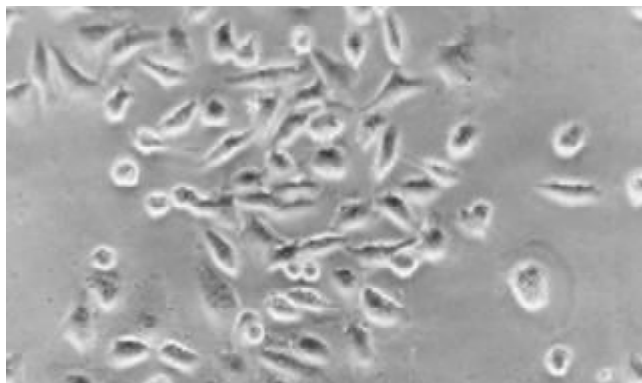


图5 DADS 处理后 MGC803 细胞 $\times 20$.

3 讨论

DADS是大蒜主要有效成分烯丙基硫化物中的一类低分子量非水溶性化合物. 近年来研究表明, DADS对结肠癌、白血病、乳腺癌、肺癌等多种肿瘤均有明显的抑制作用^[14-17]. 关于DADS抗癌机制, 目前认为可能与其可明显增加GST、QR、EH等解毒酶的活性^[24, 25], 刺激淋巴细胞增生, 增强巨噬细胞吞噬能力, 促进IL-2, TNF- α , IF- γ 释放, 提高NK, LAK细胞活性; 阻断细胞周期演进, 使细胞停滞于G2期, 诱导肿瘤细胞凋亡^[14-16]; 干扰癌细胞信号传导途径, 影响癌基因与抑癌基因的表达有关. 而DADS对人胃癌细胞生长抑制的研究不多. 我们采用MTT法、生长曲线分析、细胞活力检测、双层琼脂集落形成率及倒置显微镜等方法, 观察DADS对体外培养的人胃癌MGC803细胞的影响. MTT比色实验表明, DADS作用MGC803细胞后, DADS浓度由20 mg/L增至45 mg/L时, MGC803细胞的生长抑制率由15.1%提高到65.8%, 呈现浓度-效应依赖关系, 各浓度组之间均有显著性差异($P < 0.05$), DADS对MGC803细胞的IC₅₀在25-30 mg/L之间, 且DADS浓度大于35 mg/L时, MGC803细胞的生长抑制率并不随DADS浓度增加而增加. 我们同时对DADS中所含DAS的作用进行了实验, 结果显示DAS浓度在40 mg/L以下时, 其对MGC803细胞生长无影响. 因而可以提示, DADS对MGC803细胞的生长抑制作用仅仅是单体DADS作用的结果. 集落形成率结果显示, 经DADS和DMSO处理后的MGC803细胞集落形成能力明显降低, 除20 mg/L DADS组、20 mL/L DMSO组无差异性外, 25 mg/L, 30 mg/L, 35 mg/L DADS各组与对照组均有显著性差异($P < 0.05$).

细胞过度增生, 分化与凋亡的阻遏是肿瘤的基本特征. 我们发现DADS在一定浓度范围内对MGC803细胞具有良好的生长抑制作用且呈剂量-效应依赖关系; 较高浓度(35 mg/L) DADS对MGC803细胞的生长抑制作用还表现出时间-效应依赖关系, 25 mg/L DADS则作用稳定, 与接触时间无关. MGC803细胞在DADS处理后其细胞群体倍增时间明显延长, 而细胞存活率与阴性对照之间无显著性差异, 表明DADS抑制MGC803细胞生长作用不是直接杀伤细胞而使进入分裂增生的细胞数量减少所致, 这与阳性对照的DMSO结果相一致. 综合形态学观察, DADS处理后MGC803细胞异型性降低, 为形态一致的梭形, 体积小, 胞质丰富, 核明显变小, 提示DADS可能具有诱导MGC803细胞分化的作用.

4 参考文献

- 1 Parkin DM. Global cancer statistics in the year 2000. *Lancet Oncol* 2001;2:533-543
- 2 Zheng ZH, Sun XJ, Qiu GR, Liu YH, Wang MX, Sun KL. E-cadherin gene mutation in precancerous condition early and advanced stages of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2002;10:153-156
- 3 Cheng SD, Wu YL, Zhang YP, Qiao MM, Guo QS. Abnormal drug accumulation in multidrug resistant gastric carcinoma cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:131-134

- 4 Chen GY, Wang DR. The expression and clinical significance of CD44v in human gastric cancers. *World J Gastroenterol* 2000; 6:125-127
- 5 Wang RQ, Fang DC, Liu WW. MUC2 gene expression in gastric cancer and preneoplastic lesion tissues. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:285-288
- 6 Guo YQ, Zhu ZH, Li JF. Flow cytometric analysis of apoptosis and proliferation in gastric cancer and precancerous lesion. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:983-987
- 7 Chen SY, Wang JY, Ji Y, Zhang XD, Zhu CW. Effects of *Helicobacter pylori* and protein kinase C on gene mutation in gastric cancer and precancerous lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:302-307
- 8 Xu AG, Li SG, Liu JH, Gan AH. Function of apoptosis and expression of the proteins Bcl-2, p53 and C-myc in the development of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2001;7:403-406
- 9 Wu K, Zhao Y, Liu BH, Li Y, Liu F, Guo J, Yu WP. RRR- α -tocopheryl succinate inhibits human gastric cancer SGC-7901 cell growth by inducing apoptosis and DNA synthesis arrest. *World J Gastroenterol* 2002;8:26-30
- 10 He XS, Su Q, Chen ZC, He XT, Long ZF, Ling H, Zhang LR. Expression, deletion and mutation of p16 gene in human gastric cancer. *World J Gastroenterology* 2001;7:515-521
- 11 Sun XD, Mu R, Zhou YS, Dai XD, Qiao YL, Zhang SW, Huangfu XM, Sun J, Li LD, Lu FZ. 1990-1992 mortality of stomach cancer in China. *Zhongguo Zhongliu Zazhi* 2002;24:4-8
- 12 Yang L, Kuang LG, Zheng HC, Li JY, Wu DY, Zhang SM, Xin Y. PTEN encoding product: a marker for tumorigenesis and progression of gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003; 9:35-39
- 13 Fleischauer AT, Arab L. Garlic and cancer: a critical review of the epidemiologic literature. *J Nutr* 2001;131:1032-1040
- 14 Robert V, Mouille B, Mayeur C, Michaud M, Blachier F. Effects of the garlic compound diallyl disulfide on the metabolism, adherence and cell cycle of HT-29 colon carcinoma cells: evidence of sensitive and resistant sub-populations. *Carcinogenesis* 2001;22: 1155-1161
- 15 Kwon KB, Yoo SJ, Ryu DG, Yang JY, Rho HW, Kim JS, Park JW, Kim HR, Park BH. Induction of apoptosis by diallyl disulfide through activation of caspase-3 in human leukemia HL-60 cells. *Biochem Pharmacol* 2002;63:41-47
- 16 Nakagawa H, Tsuta K, Kiuchi K, Senzaki H, Tanaka K, Hioki K, Tsubura A. Growth inhibitory effects of diallyl disulfide on human breast cancer cell lines. *Carcinogenesis* 2001;22:891-897
- 17 Hong YS, Ham YA, Choi JH, Kim J. Effects of allyl sulfur compounds and garlic extract on the expression of Bcl-2, Bax and p53 in non small cell lung cancer cell lines. *Exp Mol Med* 2000; 32:127-134
- 18 Su Q, Luo ZY, Li YQ, He XE. Inhibitory and reverse effect of garlic on experimental gastric carcinoma and precancerous lesion. *Aizheng* 1996;15:172-174
- 19 Su Q, Luo ZY, Teng H, Ying WD, Li YQ. Effect of garlic on serum contents of Tch, LDL and HDL observed in MNNG-induced experimental gastric carcinoma and precancerous lesion. *Zhongguo Zhongliu Linchuang* 1997;23:130-133
- 20 Su Q, Luo ZY, Teng H, Yun WD, Li YQ, He XE. Effect of garlic and garlic-green tea mixture on serum lipids in MNNG-induced experimental gastric carcinoma and precancerous lesion. *World J Gastroenterol* 1998;4:29
- 21 Su Q, Luo ZY, Ou-Yang G, Li YQ, Zhou JG, Zhang D. Effect of garlic on micronucleus frequency of peripheral blood lymphocytes in MNNG-induced gastric carcinoma and precancerous lesion in rats. *Xin Xiaohuabingxue Zazhi* 1997;5:689-690
- 22 Tan M, Su Q, Ouyang G, Luo ZY, Li YQ. Effect of garlic on lymphocyte function and carcinogenesis in experimental gastric carcinoma. *Shiyong Zhongliu Zazhi* 1997;12:203-204
- 23 Peng J, Su Q, Song Y, Zhang LY, Liang XQ. Effect of growth inhibition of diallyl trisulfide on gastric cancer MGC-803 cell line in vitro. *Zhongguo Yaolixue Tongbao* 2002;18:210-213
- 24 Wu CC, Sheen LY, Chen HW, Tsai SJ, Lii CK. Effects of organosulfur compounds from garlic oil on the antioxidation system in rat liver and red blood cells. *Food Chem Toxicol* 2001; 39:563-569
- 25 Chen HW, Yang JJ, Tsai CW, Wu JJ, Sheen LY, Ou CC, Lii CK. Dietary fat and garlic oil independently regulate hepatic cytochrome p(450) 2B1 and the placental form of glutathione S-transferase expression in rats. *J Nutr* 2001;131:1438-1443



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

