

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 VX ₂ 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 CCl ₄ 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, 袁海锋, 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
黄志强
黎介寿
刘耕陶
裘法祖
汤钊猷
王宝恩
危北海
吴孟超
吴咸中

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

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

尚海, 辽宁省肿瘤医院肝胆胰外科 辽宁省沈阳市 110042
张颐, 中国医科大学附属第一医院妇科 辽宁省沈阳市 110001
单吉贤, 中国医科大学附属第一医院肿瘤外科 辽宁省沈阳市 110001
尚海, 男, 1968-01-26 生, 辽宁省沈阳市人, 汉族. 肿瘤学博士, 讲师. 主要从事消化道肿瘤的研究.
项目负责人: 尚海, 110042, 辽宁省沈阳市, 辽宁省肿瘤医院肝胆胰外科. syzi@163.com
电话: 024-22711682
收稿日期: 2003-03-06 接受日期: 2003-03-25

Effects of aFGF and genistein on PKC and ERK activity in human colorectal cancer cell line CCL229

Hai Shang, Yi Zhang, Ji-Xian Shan

Hai Shang, Department of Hepatobiliary Surgery, Liaoning Provincial Tumor Hospital, Shenyang 110042, Liaoning Province, China
Yi Zhang, Department of Gynecology, First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China
Ji-Xian Shan, Department of Oncology, First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China
Correspondence to: Hai Shang, Liaoning Provincial Tumor Hospital, Shenyang 110042, Liaoning Province, China. syzi@163.com.cn
Received: 2003-03-06 Accepted: 2003-03-25

Abstract

AIM: To observe the effects of aFGF and TPK inhibitor genistein on intracellular PKC and ERK activity in CCL229 cell line.

METHODS: The activities of PKC and ERK in cells induced by different concentrations of aFGF (0.15 mg/L, 0.30 mg/L, 0.60 mg/L, 1.20 mg/L) and genistein (6.00 mg/L, 12.00 mg/L, 24.00 mg/L, 48.00 mg/L) were detected by incorporation of [γ - 32 P]-ATP into exogenous substrates.

RESULTS: The intracellular PKC and ERK activity increased with aFGF in a dose dependent manner ($P < 0.05$). When the concentration of aFGF was 1.20 mg/L, the activity of PKC in cytosol and PKC in membrane and ERK was 2.60, 2.79, 1.77 times higher than control group. Genistein suppressed the intracellular PKC and ERK activity also in a dose dependent manner ($P < 0.05$). When the concentration of genistein was 48.00 mg/L, the activity of PKC in cytosol and PKC in membrane and ERK was 0.41, 0.36, 0.50 times higher than that in control group. The activity of PKC and ERK decreased apparently when the cells were treated with aFGF.

CONCLUSION: aFGF receptor in human colorectal cancer cell line CCL229 possesses TPK activity. Tyrosine-specific protein phosphorylation may initiate a cascade of biochemical

events, which may increase the intracellular PKC and ERK activity.

Shang H, Zhang Y, Shan JX. Effects of aFGF and genistein on PKC and ERK activity in human colorectal cancer cell line CCL229. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2003;11(9):1389-1391

摘要

目的: 观察 aFGF 及 TPK 抑制剂 genistein 对大肠癌细胞株 CCL229 细胞内 PKC 及 ERK 活性的影响, 探讨其信号传导途径.

方法: 以不同浓度的 aFGF (0.15 mg/L, 0.30 mg/L, 0.60 mg/L, 1.20 mg/L) 和 genistein (6.00 mg/L, 12.00 mg/L, 24.00 mg/L, 48.00 mg/L) 诱导 CCL229 细胞, 利用 [γ - 32 P]ATP 掺入外源性底物的方法, 液体闪烁测定 PKC 及 ERK 活性.

结果: 随着 aFGF 浓度的增加, PKC 及 ERK 活性随之升高, 与 aFGF 浓度呈显著正相关 ($P < 0.05$). 当 aFGF 浓度为 1.20 mg/L 时, PKC (胞质), PKC (胞膜) 和 ERK 活性分别为对照组的 2.60, 2.79, 1.77 倍. genistein 抑制细胞内 PKC 及 ERK 活性, 且与 genistein 浓度呈剂量依赖效应 ($P < 0.05$). 当 genistein 浓度为 48.00 mg/L 时, PKC (胞质), PKC (胞膜) 和 ERK 活性分别为对照组的 0.41, 0.36, 0.50 倍. genistein 对 aFGF 诱导的 PKC 及 ERK 活性抑制更显著.

结论: 大肠癌细胞株 CCL229 中 aFGF 受体具有 TPK 活性, TPK 激活后促进蛋白质和酶磷酸化, 导致 PKC 和 ERK 活性升高, 进一步证明 PKC 及 ERK 确是 TPK 的下游信号分子.

尚海, 张颐, 单吉贤. aFGF 和 genistein 对大肠癌细胞株 CCL229 PKC 及 ERK 活性的影响. *世界华人消化杂志* 2003;11(9):1389-1391

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1389.asp>

0 引言

酸性成纤维细胞生长因子 (acidic fibroblast growth factor, aFGF) 是一种多肽生长因子, 能刺激血管生长, 与肿瘤的生长密切相关. 目前 aFGF 在实体瘤细胞内的信号传导途径尚不清楚. 我们观察 aFGF 对大肠癌细胞株 CCL229 细胞蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 和细胞外信号调节激酶 (extracellular regulated kinase, ERK) 活性的影响, 以及用酪氨酸蛋白激酶 (tyrosine protein kinase, TPK) 抑制剂 genistein 处理后 PKC 及 ERK 的变化趋势, 进一步认识肿瘤细胞的信号传导机制.

1 材料和方法

1.1 材料 人大肠癌细胞系 CCL229, 由中国医科大学细胞生物教研室提供; aFGF 购自北京邦定科技有限公司; Genistein, DMEM 培养基、鱼精蛋白(protamine)、髓鞘碱性蛋白(myelin basic protein, MBP)均购自 Sigma 公司; [γ - 32 P]ATP 购自北京亚辉生物制品公司; 液闪仪(美国 Beckman 1801 型), 紫外分光光度计(UV310 型).

1.2 方法 CCL229 细胞在含 100 mL/L 小牛血清、100 kU/L 青霉素, 100 g/L 链霉素的 DMEM 培养基中贴壁生长, 于 37 °C, 50 mL/L CO₂, 950 mL/L 空气培养箱中传代培养. 将培养的 CCL229 细胞随机分为: 空白对照组; aFGF 组(0.15 mg/L, 0.3 mg/L, 0.6 mg/L, 1.2 mg/L); Gen 组(6 mg/L, 12 mg/L, 24 mg/L, 48 mg/L); aFGF+ genistein 组. 当细胞达到亚融合状态时, 吸出旧培养液, 每瓶加入无血清培养液 2 mL, 12 h 后吸出旧培养液, 按分组要求分别加入肝素 15 μ L (40 μ g/L), 不同量的 aFGF, Genistein 及培养液, 使各瓶终体积均为 2 mL. aFGF+ genistein 组, 细胞与 Genistein 温浴 30 min 后加入 aFGF, 3 h 后测定 PKC 及 ERK 活性.

1.2.1 PKC 活性的测定 按改良 Takai 法. 将处理的细胞于粉碎缓冲液(1 mmol/L EDTA, 1 mmol/L EGTA, 10 mmol/L Tris-HCl pH7.5, 100 mmol/L NaCl, 50 mmol/L NaF, 1 mmol/L PMSF, 0.01 μ g/L 亮肽素, 0.01 μ g/L 抑肽酶, 0.01 μ g/L 胃酶抑素, 50 mmol/L β -磷酸甘油, 1 mmol/L 二硫苏糖醇, 0.9 g/L Brig35)超声粉碎, 离心(100 000 g, 1 h, 4 °C), 上清为胞质蛋白提取液. 沉淀部分加入溶膜液(2 mmol/L EDTA, 10 mmol/L EGTA, 20 mmol/L Tris-Cl pH7.5, 0.25 mol/L 蔗糖), 悬起后超声粉碎, 4 °C 过夜, 离心(100 000 g, 1 h, 4 °C), 上清为膜蛋白提取液. PKC 活性测定, 以 PKC 使 [γ - 32 P]ATP 掺入外源性底物鱼精蛋白的磷酸放射活性为 PKC 活性标志. 取胞质及胞膜提取液, 每个样品取 3 个平行管, 每管 20 μ L, 同加有 [γ - 32 P]ATP 的底物混合液 30 μ L (25 mmol/L 醋酸镁 10 μ L, 2.5×10^{-4} mol/L ATP 10 μ L, 10 g/L protamine 2 μ L, 1 mol/L Tris-HCl pH7.5 1 μ L, H₂O 7 μ L), 30 °C 反应 8 min, 反应完成后取 25 μ L 点在 Whatman 强阳离子交换滤纸上, 在 75 mmol/L 磷酸溶液中洗 3 次, 每次 3 h, 装入液闪瓶, 液体闪烁测定 cpm 数.

1.2.2 ERK 活性测定 取胞质提取液 20 μ L (3 个平行管), 同 10 μ L 加有 [γ - 32 P]ATP 底物混合液(5 mmol/L MgCl₂, 2.5×10^{-4} mol/L ATP, MBP, 20 mmol/L Tris-HCl pH7.5, H₂O)混合, 30 °C 反应 30 min, 其余同测 PKC 活性.

统计学处理 数据以 $\bar{x} \pm s$ 标准差表示. 数据分析采用统计程序软件包(SPSS8.0 for Windows)进行方差分析和多重比较. 应用 Student' t 检验来判断差异的统计学意义, P < 0.05 具有显著性.

2 结果

2.1 aFGF 诱导大肠癌细胞株 CCL229 后, PKC 及 ERK

活性均增高, 且与 aFGF 呈剂量依赖效应. 与对照组比较, 有显著差异(P < 0.05). 对比之下, 胞膜 PKC 活性比胞质 PKC 活性升高更为明显(表 1).

表 1 aFGF 诱导后 CCL229 细胞 PKC 及 ERK 活性变化($\bar{x} \pm s$, nkat/L)

aFGF(mg/L)	PKC(胞质)	PKC(胞膜)	ERK
0.00	6.30 \pm 1.56	6.61 \pm 1.27	0.22 \pm 0.04
0.15	6.63 \pm 1.69	7.30 \pm 2.23	0.24 \pm 0.03
0.30	9.44 \pm 2.20 ^a	10.46 \pm 2.09 ^a	0.30 \pm 0.06 ^a
0.60	11.39 \pm 2.12 ^a	13.32 \pm 1.81 ^a	0.34 \pm 0.05 ^a
1.20	16.38 \pm 1.93 ^a	18.42 \pm 2.87 ^a	0.39 \pm 0.07 ^a

^aP < 0.05 vs 对照组.

2.2 Genistein 诱导作用 加入抑制剂 Genistein 后, PKC 及 ERK 活性与对照组相比, 明显受抑制(P < 0.05, 表 2). 其抑制程度与 Genistein 浓度呈剂量依赖关系.

表 2 Genistein 诱导后 CCL229 细胞 PKC 及 ERK 活性变化($\bar{x} \pm s$, nkat/L)

Genistein (mg/L)	PKC(胞质)	PKC(胞膜)	ERK
0.00	6.30 \pm 1.56	6.61 \pm 1.27	0.22 \pm 0.04
6.00	5.96 \pm 1.84	6.05 \pm 1.64	0.20 \pm 0.05
12.00	5.04 \pm 1.44 ^a	5.19 \pm 2.02 ^a	0.17 \pm 0.03 ^a
24.00	3.56 \pm 1.46 ^a	3.40 \pm 1.21 ^a	0.15 \pm 0.03 ^a
48.00	2.61 \pm 1.20 ^a	2.40 \pm 1.08 ^a	0.11 \pm 0.02 ^a

^aP < 0.05 vs 对照组.

2.3 Genistein 及 aFGF 作用 Gen 组与 aFGF+ gen 组比较可见, Genistein 对 aFGF+ Gen 组细胞的 PKC 及 ERK 抑制作用更明显(P < 0.05, 表 3).

表 3 aFGF+ Gen 组 PKC 及 ERK 活性变化($\bar{x} \pm s$, nkat/L)

aFGF(mg/L)	Genistein(mg/L)	PKC(胞质)	PKC(胞膜)	ERK
0.60	0.00	11.39 \pm 2.12	13.32 \pm 1.81	0.34 \pm 0.05
0.60	6.00	10.25 \pm 1.99	11.60 \pm 1.51	0.30 \pm 0.03
0.60	12.00	8.20 \pm 2.06 ^a	10.26 \pm 2.10 ^a	0.24 \pm 0.01 ^a
0.60	24.00	5.47 \pm 1.56 ^a	5.33 \pm 1.38 ^a	0.14 \pm 0.02 ^a
0.60	48.00	4.10 \pm 1.78 ^a	3.46 \pm 1.52 ^a	0.07 \pm 0.01 ^a

^aP < 0.05 vs 对照组.

3 讨论

aFGF 是一种强有力的细胞分裂促进因子, 对成纤维细胞在内的多种细胞具有促进增生和分化的功能, 与肿瘤生长密切相关^[1-13]. 我们观察 aFGF 诱导大肠癌细胞株 CCL229 细胞 PKC 及 ERK 活性变化, 并用 TPK 抑制剂 genistein 作用细胞, 进一步认识 aFGF 诱导肿瘤细胞分裂增生的细胞内信号传导机制. PKC 是一种丝/苏氨酸蛋白激酶, 广泛分布于真核细胞, 在跨膜信息传递、细胞

增生分化及肿瘤侵袭转移等方面均发挥重要作用^[14-24]. ERK 则是有丝分裂原活化蛋白激酶(Mitogen-activated protein kinase, MAPK)家族的成员之一, 可被生长因子、激素、神经递质等激活, 在细胞生长、发育、分裂、死亡及恶性转化等过程中起重要作用^[25-27]. 我们发现不同浓度的 aFGF 作用于细胞后, 可导致该细胞内 PKC 及 ERK 活性明显升高, 且其升高程度与 aFGF 浓度均呈显著正相关. 说明 aFGF 在一定浓度范围内, 可激活该细胞株 PKC 及 ERK. 随 aFGF 浓度升高, PKC 及 ERK 的活性变化趋势基本一致. 说明 PKC 及 ERK 两个途径不是孤立的, aFGF 对该细胞株的影响在这两个系统中持续循环放大. 胞质 PKC 及胞膜 PKC 活性均显著升高, 尤其胞膜 PKC 活性升高更明显, 提示 PKC 激活时可能发生膜转移现象.

VEGF 诱导内皮细胞的促有丝分裂作用通过激活 PKC 途径, 酪氨酸蛋白激酶抑制剂可阻断此反应, 从而说明 PKC 是 TPK 的下游信号分子. 本实验用 TPK 的特异性抑制剂 Genistein 作用细胞, 发现细胞内 PKC 及 ERK 活性均明显受抑制, 且抑制程度与 Genistein 浓度呈剂量依赖效应. Genistein 对 aFGF+Gen 组 PKC 及 ERK 的活性的抑制作用明显强于 Gen 组. 提示 aFGF 对 CCL229 细胞 PKC 及 ERK 的激活是通过 TPK 来介导的, TPK 抑制剂 Genistein 可阻断 aFGF 诱导的 PKC 及 ERK 活化; aFGF+Gen 组细胞 PKC 及 ERK 活性受抑制更明显, 提示 CCL229 细胞中 aFGF 主要通过 TPK 途径来激活 PKC 与 ERK, 从而促进细胞增生.

4 参考文献

- Jemth P, Kreuger J, Kusche-Gullberg M, Sturiale L, Gimenez-Gallego G, Lindahl U. Biosynthetic oligosaccharide libraries for identification of protein-binding heparan sulfate motifs. Exploring the structural diversity by screening for fibroblast growth factor (FGF)1 and FGF2 binding. *J Biol Chem* 2002; 277:30567-30573
- Rogala E, Skopinska-Rozewska E, Sommer E, Pastewka K, Chorostowska-Wynimko J, Sokolnicka I, Kazon M. Assessment of the VEGF, bFGF, aFGF and IL8 angiogenic activity in urinary bladder carcinoma, using the mice cutaneous angiogenesis test. *Anticancer Res* 2001;21:4259-4263
- El-Hariry I, Pignatelli M, Lemoine NR. FGF-1 and FGF-2 regulate the expression of E-cadherin and catenins in pancreatic adenocarcinoma. *Int J Cancer* 2001;94:652-661
- Chiu IM, Touhalisky K, Baran C. Multiple controlling mechanisms of FGF1 gene expression through multiple tissue-specific promoters. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 2001;70:155-174
- So F, Daley TD, Jackson L, Wysocki GP. Immunohistochemical localization of fibroblast growth factors FGF-1 and FGF-2, and receptors FGFR2 and FGFR3 in the epithelium of human odontogenic cysts and tumors. *J Oral Pathol Med* 2001;30:428-433
- Sebti SM, Hamilton AD. Design of growth factor antagonists with antiangiogenic and antitumor properties. *Oncogene* 2000; 19:6566-6573
- El-Hariry I, Pignatelli M, Lemoine NR. FGF-1 and FGF-2 modulate the E-cadherin/catenin system in pancreatic adenocarcinoma cell lines. *Br J Cancer* 2001;84:1656-1663
- La Rosa S, Sessa F, Colombo L, Tibiletti MG, Furlan D, Capella C. Expression of acidic fibroblast growth factor (aFGF) and fibroblast growth factor receptor 4 (FGFR4) in breast fibroadenomas. *J Clin Pathol* 2001;54:37-41
- Shin EY, Lee BH, Yang JH, Shin KS, Lee GK, Yun HY, Song YJ, Park SC, Kim EG. Up-regulation and co-expression of fibroblast growth factor receptors in human gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000;126:519-528
- Sakorafas GH, Tsiotou AG, Tsiotos GG. Molecular biology of pancreatic cancer; oncogenes, tumour suppressor genes, growth factors, and their receptors from a clinical perspective. *Cancer Treat Rev* 2000;26:29-52
- Dorkin TJ, Robinson MC, Marsh C, Neal DE, Leung HY. aFGF immunoreactivity in prostate cancer and its co-localization with bFGF and FGF8. *J Pathol* 1999;189:564-569
- Zhang L, Kharbanda S, McLeskey SW, Kern FG. Overexpression of fibroblast growth factor 1 in MCF-7 breast cancer cells facilitates tumor cell dissemination but does not support the development of macrometastases in the lungs or lymph nodes. *Cancer Res* 1999;59:5023-5029
- Madiat F, Hackshaw KV, Chiu IM. Characterization of the entire transcription unit of the mouse fibroblast growth factor 1 (FGF-1) gene. Tissue-specific expression of the FGF-1. A mRNA. *J Biol Chem* 1999;274:11937-11944
- Spitaler M, Wiesenhofer B, Biedermann V, Seppi T, Zimmermann J, Grunicke H, Hofmann J. The involvement of protein kinase C isoenzymes alpha, epsilon and zeta in the sensitivity to antitumor treatment and apoptosis induction. *Anticancer Res* 1999;19:3969-3976
- Barrett CM, Lewis FL, Roaten JB, Sweatman TW, Israel M, Cleveland JL, Lothstein L. Novel extranuclear-targeted anthracyclines override the antiapoptotic functions of Bcl-2 and target protein kinase C pathways to induce apoptosis. *Mol Cancer Ther* 2002;1:469-481
- Gopalakrishna R, Gundimeda U. Antioxidant regulation of protein kinase C in cancer prevention. *J Nutr* 2002;132:3819S-3823S
- Chen Y, Wu Q, Song SY, Su WJ. Activation of JNK by TPA promotes apoptosis via PKC pathway in gastric cancer cells. *World J Gastroenterol* 2002;8:1014-1018
- Martelli AM, Bortul R, Tabellini G, Faenza I, Cappellini A, Bareggi R, Manzoli L, Cocco L. Molecular characterization of protein kinase C-alpha binding to lamin A. *J Cell Biochem* 2002; 86:320-330
- Langzam L, Koren R, Gal R, Kugel V, Paz A, Farkas A, Sampson SR. Patterns of protein kinase C isoenzyme expression in transitional cell carcinoma of bladder. Relation to degree of malignancy. *Am J Clin Pathol* 2001;116:377-385
- Sumitomo M, Shen R, Goldberg JS, Dai J, Navarro D, Nanus DM. Neutral endopeptidase promotes phorbol ester-induced apoptosis in prostate cancer cells by inhibiting neuro peptide-induced protein kinase C delta degradation. *Cancer Res* 2000; 60:6590-6596
- Buchner K. The role of protein kinase C in the regulation of cell growth and in signalling to the cell nucleus. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000;126:1-11
- Zhu GH, Wong BC, Eggo MC, Ching CK, Yuen ST, Chan EY, Lai KC, Lam SK. Non-steroidal anti-inflammatory drug-induced apoptosis in gastric cancer cells is blocked by protein kinase C activation through inhibition of c-myc. *Br J Cancer* 1999;79:393-400
- Perletti GP, Marras E, Concari P, Piccinini F, Tashjian AH Jr. PKCdelta acts as a growth and tumor suppressor in rat colonic epithelial cells. *Oncogene* 1999;18:1251-1256
- Cowell HE, Garrod DR. Activation of protein kinase C modulates cell-cell and cell-substratum adhesion of a human colorectal carcinoma cell line and restores 'normal' epithelial morphology. *Int J Cancer* 1999;80:455-464
- Arabi S, Maier RV. Mitogen-activated protein kinases. *Crit Care Med* 2002;30:S74-S79
- Zhu X, Castellani RJ, Takeda A, Nunomura A, Atwood CS, Perry G, Smith MA. Differential activation of neuronal ERK, JNK/SAPK and p38 in Alzheimer disease: the 'two hit' hypothesis. *Mech Ageing Dev* 2001;123:39-46
- Kim SC, Hahn JS, Min YH, Yoo NC, Ko YW, Lee WJ. Constitutive activation of extracellular signal-regulated kinase in human acute leukemias: combined role of activation of MEK, hyperexpression of extracellular signal-regulated kinase, and downregulation of a phosphatase, PAC1. *Blood* 1999;93:3893-3899



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

