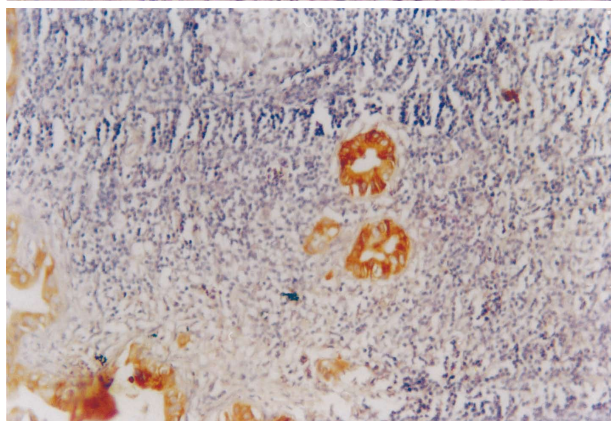
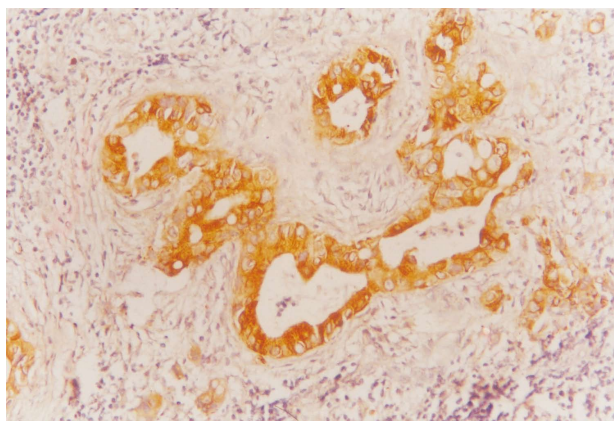
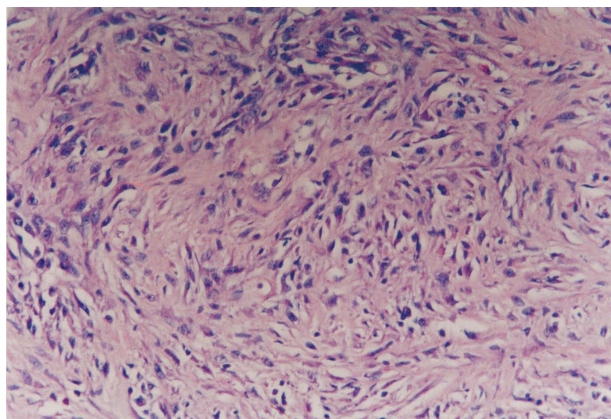
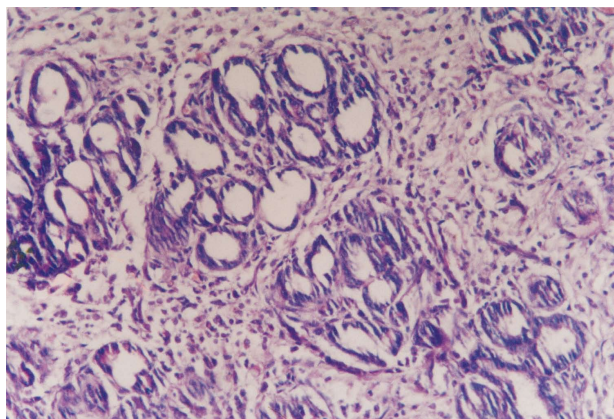


世界华人消化杂志

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2005 年 9 月 28 日 第 13 卷 第 18 期 (Volume 13 Number 18)



18/2005

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊,
2003年百种中国杰出学术期刊,

《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学
类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊.

世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》,
荷兰《医学文摘库/医学文摘》,
俄罗斯《文摘杂志》收录.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ●

2005 年 9 月 28 日

第 13 卷

第 18 期

(总第146期)

述 评

- 2173 临床试验刍议 谭学瑞, 张学中
2179 RNA 干扰在肝病治疗中的研究进展 韩苏夏, 马瑾璐

基 础 研 究

- 2183 甘草甜素下调基质金属蛋白酶组织抑制因子-1基因的表达
王巧侠, 成军, 郭江, 李文凡, 魏红山
2188 改良聚合酶链反应检测 HBV 共价闭合环状 DNA 汤勃, 王宇明, 刘俊, 张瑞
2193 肝癌细胞 BEL7402 中神经元特异性烯醇化酶的表达
朱爱萍, 张青云, 王雅明, 徐建军, 孙丽
2197 肝移植前受体亚低温对急性肝衰大鼠移植肝脏的保护作用
王志东, 韩德恩, 崔云甫, 姜明山, 张新宇, 曾兆林
2201 慢性丙型肝炎患者 CD4⁺CD25⁺调节性T细胞表达增加 杨江华, 张永祥, 苏川, 孙南雄
2205 草苈蓉乙醇提取物对二甲基亚硝胺诱导大鼠肝纤维化的治疗作用 朴熙绪, 黄红果, 朴东明
2210 树突状细胞在黏膜免疫模型鼠体内的分布及趋化因子的表达
谢遵江, 贺业春, 贾立敏, 刘颖, 刘丽
2213 塞来昔布对胃癌细胞生长及 ERK2 表达的影响
张勇, 蒋明德, 曾维政, 徐辉, 熊碧君, 翁敏
2217 益气活血软坚解毒含药血清诱导人肝癌细胞系 Bel-7402 细胞的凋亡
李东涛, 孙桂芝, 裴迎霞, 祁鑫, 李杰, 林洪生
2222 肿瘤坏死因子- α 、细胞间黏附分子-1与扑热息痛肝损害
田丰, 王颖, 吴作艳, 王学清, 李岩
2227 SD 大鼠胰腺癌模型组神经生长因子 mRNA 表达
杨竹林, 邓星辉, 杨乐平, 李清龙, 范文涛, 梁珊, 苗雄鹰

文 献 综 述

- 2231 乳酸杆菌作为一种新型活疫苗抗原递送载体 庾庆华, 杨倩
2235 一氧化氮和一氧化氮合酶与肿瘤放疗敏感性的关系 江春平, 丁义涛
2238 Id 基因家族对消化系统实体瘤作用的研究进展
杨海彦, 刘连新, 曲志博, 刘改云, 陈炜, 郭化鑫, 陈曦
2243 影响拉米夫定相关乙型肝炎病毒 YMDD 变异的因素 陆德云, 王甦, 赵连三
2246 成人间活体肝移植中小肝综合征的预防策略 马跃峰, 李相成
2251 肝细胞癌生物标志物的研究进展 王嘉信, 刘连新
2257 肠黏膜免疫调节紊乱介导炎症性肠病的发生 王旭丹, 袁学勤

研 究 快 报

- 2263 sp600125 对乙醛刺激的大鼠肝星状细胞凋亡及 Caspase-3 蛋白表达的影响 唐文, 蒋明德, 李小安
2266 血小板活化因子对幼鼠肠道免疫屏障功能的影响 王丽杰, 刘冬妍, 孙梅, 赵恂

临 床 经 验

- 2269 肝硬化患者食管静脉曲张的相关因素分析 501 例
崔春吉, 金永日, 朴熙绪, 裴凤郁
2272 中晚期肝门部胆管癌诊治15例
张宗明, 邢海林, 李刚, 刘凯, 朱建平, 宿砚明, 钟华, 郭金星
2275 肝病患者 IgA 和 sIgA 含量变化的临床意义 刘冬妍, 刘沛
2278 全直肠系膜切除术切缘血管内皮生长因子检测的临床意义 战学雷, 田素礼
2281 善宁对急性胰腺炎患者血小板参数变化的影响 黄坚, 陆士奇, 陈建荣

病 例 报 告

- 2284 肝肾联合移植术治疗移植肾慢性失功伴肝硬化 1 例
朱建平, 张宗明, 管德林, 李刚, 黄庆荣, 宿砚明, 陈以安, 刘辉
2287 丙型肝炎肝硬化患者骨髓和血液同时分离出鼠伤寒沙门菌 1 例
郭微媛, 齐桂云, 多丽波, 闫立昕, 孙琪, 张和光

致 谢	2288 致谢世界华人消化杂志编委
消 息	2187 2006年第5届全国肝脏疾病学术研讨会议征文通知 2200 国际肝胆胰协会中国分会第二届全国学术研讨会暨第三届全国普通外科主任论坛第一轮通知 2209 首届北京地坛感染病学术会议 2221 《世界华人消化杂志》欢迎投稿 2226 2006年世界华人消化杂志由半月刊改为旬刊出版发行 2234 WJG和世界华人消化杂志全文网站免费开通 2237 世界华人消化杂志入编《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊 2250 欢迎订阅2006年《世界华人消化杂志》 2256 2006年即将召开的国际会议 2262 消化道肿瘤外科治疗2006高级论坛征文通知 2286 中国生物医学基金论文摘要注册方法
封面故事	2227 SD 大鼠胰腺癌模型组神经生长因子 mRNA 表达 杨竹林, 邓星辉, 杨乐平, 李清龙, 范文涛, 梁珊, 苗雄鹰 世界华人消化杂志 2005;13(18):2227-2230 http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/2227.asp
国际会议	13th United European Gastroenterology Week, UEGW October 15-20, 2005 American College of Gastroenterology Annual Scientific Meeting October 28-November 2, 2005 ISGCON 2005 November 11-15, 2005 isgcon2005@yahoo.co.in isgcon2005.com Advanced Capsule Endoscopy Users Course November 18-19, 2005 www.asge.org/education II Latvian Gastroenterology Congress November 29, 2005 gec@stradini.lv www.gastroenterologs.lv 2005 CCFA National Research and Clinical Conference - 4th Annual Advances in the Inflammatory Bowel Diseases December 1-3, 2005 c.chase@imedex.com www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm 10th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus February 22-25, 2006 isde@sapmea.asn.au www.isde.net

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 2005-09-28
原刊名 新消化病学杂志

名誉总编辑 潘伯荣 社长总编辑 马连生

编辑部主任 张海宁 中文编辑 潘伯荣 张海宁

英文编辑 张海宁 排版校对 张敏 张勇 李琪

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

出版 世界胃肠病学杂志社
100023, 北京市2345信箱

E-mail: wcjd @ wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

电话: 010-85381901

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, 北京市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: 010-85381901

传真: 010-85381893

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊, 2003年百种中国杰出学术期刊, 《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊. 世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》, 俄罗斯《文摘杂志》收录.

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.

2005年版版权归世界胃肠病学杂志社所有

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576.00元

广告经营许可证

1401004000050

www.wjgnet.com

World Chinese Journal of Digestology

September 2005 Contents in Brief Volume 13 Number 18

EDITORIAL

Meager opinions on clinical experimentation

Tan XR, Zhang XZ 2173

Advancement of RNA intervention in the treatment of hepatic diseases

Han SX, Ma JL 2179

BASIC RESEARCH

Glycyrrhizin down-regulates expression of tissue inhibitor of metalloproteinases-1

Wang QX, Cheng J, Guo J, Li WF, Wei HS 2183

Detection of hepatitis B virus cccDNA with modified polymerase chain reaction

Tang B, Wang YM, Liu J, Zhang R 2188

Expression of human neuron-specific enolase gene in human hepatocellular cancer cells BEL7402

Zhu AP, Zhang QY, Wang YM, Xu JJ, Sun L 2193

Moderate hypothermia therapy for acute liver failure in rats before liver transplantation

Wang ZD, Han DE, Cui YF, Jiang MS, Zhang XY, Zeng ZL 2197

Increase of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in peripheral blood of patients with chronic hepatitis C

Yang JH, Zhang YX, Su CH, Sun NX 2201

Therapeutic role of ethanolic extract of *Boschniakia Rossica* in dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in rats

Piao XX, Huang HG, Piao DM 2205

Distribution of dendritic cells and expression of chemokines in mouse models of mucosal immune *in vivo*

Xie ZJ, He YC, Jiao LM, Liu Y, Liu L 2210

Effects of celecoxib on cell proliferation and ERK2 expression of ERK2 in gastric cancer cells

Zhang Y, Jiang MD, Zeng WZ, Xu H, Xiong BJ, Weng M 2213

Growth inhibitory and apoptosis inducing effect on hepatocellular carcinoma Bel-7402 cell line by serum from rabbit fed with *Yiqi Huoxue Ruanjian Jiedu* decoction

Li DT, Shun GZ, Pei YX, Qi X, Li J, Ling HS 2217

Association of tumor necrosis factor- α and intercellular adhesion molecule-1 with acetaminophen-induced liver damages

Tian F, Wang Y, Wu ZY, Wang XQ, Li Y 2222

Expression of nerve growth factor messenger RNA in pancreatic cancer tissues in Sprague Dawley rats

Yang ZL, Deng XH, Yang LP, Li QL, Fan WT, Liang S, Miao XY 2227

REVIEW

Lactobacillus as a new living vaccine carrier in delivery of antigen

Yu QH, Yang Q 2231

Influence of nitric oxide and nitric oxide synthase on tumor radiotherapy sensitivity

Jiang CP, Ding YT 2235

Advance in effect of Id family gene on solid tumor in digestive system

Yang HY, Liu LX, Qu ZB, Liu GY, Chen W, Guo HX, Chen X 2238

Influential factors of Lamivudine associated YMDD variations of hepatic B virus

Lu DY, Wang S, Zhao LS 2243

Preventive methods for small-for-size liver syndrome in adult-to-adult living-donor liver transplantation

Ma YF, Li XC 2246

Advance in research of biological markers of hepato-cellular carcinoma

Wang JB, Liu LX 2251

Occurrence of inflammatory intestinal disease mediated by intestinal mucosal immunoregulation disturbance

Wang XD, Yuan XQ 2257

BRIEF REPORT

Effects of sp600125 on acetaldehyde-induced apoptosis of hepatic stellate cells and expression of Caspase-3 protein in rats

Tang W, Jiang MD, Li XA 2263

Effect of platelet activating factor on intestinal immunological barrier in young rat

Wang LJ, Liu DY, Sun M, Zhao X 2266

CLINICAL PRACTICE

Correlative factors of esophageal varices in patients with hepatocirrhosis: an analysis of 501 cases

Cui CJ, Jin YR, Piao XX, Pei FY 2269

Diagnosis and treatment for advanced hilar cholangiocarcinoma: an analysis of 15 cases

Zhang ZM, Xing HL, Li G, Liu K, Li G, Zhu JP, Su YM, Zhong H, Guo JX 2272

Changes of IgA and sIgA and its clinical significant in hepatic diseases

Liu DY, Liu P 2275

Clinical significance of detection for vascular endothelial growth factor in resection margin following total mesorectal excision

Zhan XL, Tian SL 2278

Effects of octreotide on platelet parameters in patients with acute pancreatitis

Huang J, Lu SQ, Chen JR 2281

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica and Abstract Journals

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

World Chinese Journal of Digestology Monthly

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date September 28, 2005

Honorary-Editor-in-Chief

Bo-Rong Pan

President and Editor-in-Chief

Lian-Sheng Ma

Edited by Editorial Board of

World Chinese Journal of Digestology

PO Box 2345, Beijing 100023, China

Published by The WJG Press

PO Box 2345, Beijing 100023, China

Overseas Distributor

China International Book Trading Corporation

PO Box 399, Beijing 100044, China

Code No.M4481

Mail-Order Circulation Section, The WJG Press

PO Box 2345, Beijing 100023, China

Telephone: +86-10-85381901

Fax: +86-10-85381893

Email: wcjd @ wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

Copyright © 2005 by The WJG Press

塞来昔布对胃癌细胞生长及 ERK2 表达的影响

张勇, 蒋明德, 曾维政, 徐辉, 熊碧君, 翁敏

张勇, 蒋明德, 曾维政, 徐辉, 熊碧君, 翁敏, 中国人民解放军成都军区总医院消化内科 四川省成都市 610083

张勇, 男, 1967-12-13生, 重庆市璧山县人, 汉族, 1995年第三军医大学硕士, 副主任医师. 发表文章30篇, 主要从事功能性胃肠疾病及胃癌的基础与临床研究.

通讯作者: 张勇, 610083, 四川省成都市, 中国人民解放军成都军区总医院消化内科. zhangyo@163.com
电话: 028-86570349

收稿日期: 2005-07-19 接受日期: 2005-07-28

Effects of celecoxib on cell proliferation and ERK2 expression of ERK2 in gastric cancer cells

Yong Zhang, Ming-De Jiang, Wei-Zheng Zeng, Hui-Xu, Bi-Jun Xiong, Min-Weng

Yong Zhang, Ming-De Jiang, Wei-Zheng Zeng, Hui-Xu, Bi-Jun Xiong, Min-Weng, Department of Gastroenterology, General Hospital, Chengdu Military Command of Chinese PLA, Chengdu 610083, Sichuan Province, China

Correspondence to: Yong-Zhang, Department of Gastroenterology, General Hospital, Chengdu Military Command of Chinese PLA, Chengdu 610083, Sichuan Province, China. zhangyo@163.com

Received: 2005-07-19 Accepted: 2005-07-28

Abstract

AIM: To explore the role of celecoxib, a selective COX-2 inhibitor, in the proliferation of human gastric carcinoma cells SGC7901, and to investigate the relationship between cell proliferation and the expression of extracellular signal-regulated kinase 2 (ERK2).

METHODS: The cell proliferation of SGC7901 cells was measured by MTT assay, and the apoptotic rate of the cells was examined by TUNEL staining method and flow cytometry. The expression of phosphorylated ERK2 was detected by immunohistochemistry and quantified measured by image analysis systems.

RESULTS: Celecoxib inhibited the proliferation of SGC7901 gastric carcinoma cells and the expression of phosphorylated ERK2, as well as induced the apoptosis of the SGC-7901 cells in a dose-dependent manner. The growth inhibitory rates of SGC-7901 cells treated with 10, 20, 40, 80 and, 160 $\mu\text{mol/L}$ celecoxib for 48 h were 9.8%, 30%, 58.9%, 76.3%, and 88.3%, respectively. The SGC7901 cells presented typical morphological features of apoptosis by TUNEL staining. By

flow cytometry, the apoptotic rates of SGC-7901 cells ($4.23 \pm 0.81\%$, $15.50 \pm 2.10\%$, $24.35 \pm 2.32\%$, $31.52 \pm 3.64\%$, and $45.82 \pm 5.92\%$ for 10, 20, 40, 80 and 160 $\mu\text{mol/L}$ celecoxib, respectively) were significantly higher than those of the control group ($1.85 \pm 0.31\%$, $P < 0.01$). The optical density value of ERK2 of SGC7901 cells (10, 20, 40, 80 and 160 $\mu\text{mol/L}$ celecoxib: 2.96 ± 0.24 , $P > 0.05$; 2.56 ± 0.24 , $P < 0.05$; 2.04 ± 0.20 , $P < 0.01$; 1.68 ± 0.16 , $P < 0.01$; 1.52 ± 0.09 , $P < 0.01$) were significantly lower than that of the control group (3.32 ± 0.28).

CONCLUSION: Celecoxib can inhibit the growth and induce the apoptosis of SGC7901 cells, and its mechanism may and induce the cell apoptosis. This effect may relate to the inhibition of ERK2 kinase signaling pathway.

Key Words: Celecoxib; Extracellular signal-regulated kinase 2; Gastric adenocarcinoma cells SGC7901

Zhang Y, Jiang MD, Zeng WZ, Xu H, Xiong BJ, Weng M. Effects of celecoxib on cell proliferation and ERK2 expression of ERK2 in gastric cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(18):2213-2216

摘要

目的: 观察选择性环氧合酶-2抑制剂塞来昔布对胃癌细胞株SGC7901增殖的影响, 及细胞增殖与细胞外信号调节激酶2 (ERK2) 表达的关系。

方法: MTT法检测塞来昔布对胃癌细胞生长的影响; TUNEL法及流式细胞仪检测细胞凋亡率; 免疫组化(SP法)检测细胞磷酸化ERK2表达, 图像分析系统计量。

结果: 塞来昔布呈剂量依赖方式抑制胃癌细胞的生长, 诱导细胞凋亡, 抑制胃癌细胞磷酸化ERK2表达。塞来昔布10, 20, 40, 80, 160 $\mu\text{mol/L}$ 作用48 h后其胃癌细胞生长抑制率分别为9.8%, 30%, 58.9%, 76.3%, 88.3%; TUNEL染色显示胃癌细胞具有典型的凋亡细胞形态学特征; 流式细胞仪显示胃癌细胞凋亡率($4.23 \pm 0.81\%$, $15.5 \pm 2.1\%$, $24.35 \pm 2.32\%$, $31.52 \pm 3.64\%$, $45.82 \pm 5.92\%$)显著高于对照组($1.85 \pm$

0.31%, $P < 0.01$); 其磷酸化ERK2平均吸光度(2.96 ± 0.24 , $P > 0.05$; 2.56 ± 0.24 , $P < 0.05$; 2.04 ± 0.20 , $P < 0.01$; 1.68 ± 0.16 , $P < 0.01$; 1.52 ± 0.09 , $P < 0.01$)显著低于对照组(3.32 ± 0.28).

结论: 塞来昔布抑制胃癌细胞增殖并诱导细胞凋亡, 这可能与抑制ERK2信号传导通路有关.

关键词: 塞来昔布; 细胞外信号调节激酶2; 胃癌细胞株SGC790

张勇, 蒋明德, 曾维政, 徐辉, 熊碧君, 翁敏. 塞来昔布对胃癌细胞生长及ERK2表达的影响. 世界华人消化杂志 2005;13(18):2213-2216
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/2213.asp>

0 引言

非甾体类抗炎药(NSAID)可降低胃肠道肿瘤的发生率^[1]. NSAID抗肿瘤作用的机制除了与其抑制环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)活性有关外, 还通过其它途径发挥抗肿瘤作用^[2-5]. 细胞外刺激引起细胞反应是通过细胞内信号传导途径来实现的, 细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)是分裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinases, MAPK) 信号传导通路家族成员之一, 参与细胞外信号传递至细胞核的过程, 与细胞的增殖、分化及肿瘤的发生有关. 关于NSAID对胃癌细胞ERK信号传导通路的影响目前报道很少. 为此, 我们观察了选择性COX-2抑制剂塞来昔布(celecoxib)对人胃癌细胞株SGC7901的增殖、凋亡作用及其对磷酸化ERK2表达的影响如下.

1 材料和方法

1.1 材料 人胃腺癌细胞株SGC7901由第三军医大学西南医院消化实验室惠赠. RPMI1640培养液、SP试剂盒购自北京华美公司; 小牛血清, MTT购自Gibco公司, 二甲基亚砜(DMSO)购自Sigma公司, 塞来昔布购自安徽合肥森瑞公司, TUNEL试剂盒购自武汉博士德公司, 美国Image-Pro Plus专业图像软件分析系统. 胃癌细胞株SGC7901常规培养于含100 mL/L小牛血清, 1×10^5 U/L青霉素及链霉素的RPMI1640培养液中, 置于37℃, 50 mL/L CO₂培养箱内培养.

1.2 方法 取对数生长期的SGC7901细胞按每孔 4×10^3 个细胞接种于96孔板中, 24 h后换液, 加入不同浓度的塞来昔布, 终浓度分别为10, 20, 40, 80, 160 $\mu\text{mol/L}$; 继续培养48 h, 每一浓度点重复3孔, 每孔加入5 g/L MTT液20 μL , 37℃孵育4 h后弃去上清液, 每孔加入DMSO 150 μL , 轻轻振荡10 min, 使结晶物充分溶解, 在570 nm波长酶联免疫检测仪上测定各孔吸光

度A值, 并计算细胞增殖抑制率(%)=(1-实验组平均A值/对照组平均A值)×100%. 设只加等体积溶剂DMSO的对照组. 另取对数生长期细胞以 $1 \times 10^8/\text{L}$ 密度接种于6孔板中, 培养24 h后加入不同浓度塞来昔布(剂量同MTT法), 48 h后按TUNEL试剂盒说明操作. 凋亡指数计算方法: 在高倍视野(400×)下, 随机选5个视野, 分别计数200个细胞及其中的凋亡细胞数. 凋亡指数=凋亡细胞数/总细胞数×100%. 以上试验重复3次. 再取不同浓度塞来昔布作用SGC7901细胞48 h后的各组细胞, 用700 mL/L冷乙醇1.5 mL固定1 h, PBS漂洗混匀细胞, 加入含RNA酶A的碘化吡啶染料, 避光1 h, 上机检测细胞周期. 以上实验重复3次, 取其平均值. 再取不同浓度塞来昔布作用SGC7901细胞48 h后的各组细胞(细胞数 $\geq 1 \times 10^6$)细胞爬片, PBS洗后950 mL/L乙醇固定30 min, 采用常规SP法, 细胞爬片依次用5 mL/L H₂O₂/甲醇 30 min, 正常羊血清室温封闭15 min, 滴加一抗, 37℃孵育2 h, 滴加生物素化二抗37℃孵育15 min, 滴加SP复合物37℃ 15 min, DAB显色, 苏木精复染、脱水、透明、封片, 光镜下观察, 图像分析仪分析, 用平均吸光度表示P-ERK相对表达量. 以上实验重复3次, 取其均值.

统计学处理 实验数据采用SPSS10.0统计分析软件进行t检验, 所有数值以mean±SD表示, $P < 0.05$ 为有统计学意义.

2 结果

2.1 MTT结果 塞来昔布能明显抑制胃癌细胞增殖, 呈剂量依赖性. 0, 10, 20, 40, 80, 160 $\mu\text{mol/L}$ 塞来昔布对胃癌细胞的抑制率分别为0%, 9.8%, 30%, 58.9%, 76.3%, 88.3%.

2.2 塞来昔布对胃癌细胞凋亡的影响 TUNEL染色显示塞来昔布作用于胃癌细胞48 h后, 见典型的凋亡细胞, 现为细胞体积缩小、核固缩深染、凋亡小体形成(图1). 10, 20, 40, 80, 160 $\mu\text{mol/L}$ 塞来昔布作用48 h后胃癌细胞凋亡指数分别为(3.2 ± 0.8)%, (13.0 ± 2.1)%, (21.5 ± 2.2)%, (29.2 ± 3.8)%, (45.8 ± 4.7)%, 较对照组(0.5 ± 0.3)%显著增加($P < 0.01$), 提示塞来昔布呈剂量依赖方式诱导胃癌细胞SGC7901凋亡.

2.3 胃癌细胞周期 随药物剂量的增加, 细胞凋亡率明显增加, 与TUNEL染色结果相近; 对细胞周期分布的表现为G₀/G₁期细胞比例增高, S期细胞比例降低(表1).

2.4 胃癌细胞磷酸化ERK2 胃癌细胞磷酸化ERK2表达主要定位于细胞核内, 细胞质有少量表达, 染成棕黄色(图2). 10, 20, 40, 80, 160 $\mu\text{mol/L}$ 塞来昔布作用48 h后其胃癌细胞磷酸化ERK2的平均吸光度分别为 2.96 ± 0.24 ($P > 0.05$), 2.56 ± 0.24 ($P < 0.05$), 2.04 ± 0.20 ($P < 0.01$), 1.68 ± 0.16 ($P < 0.01$), 1.52 ± 0.09 ($P < 0.01$), 显著

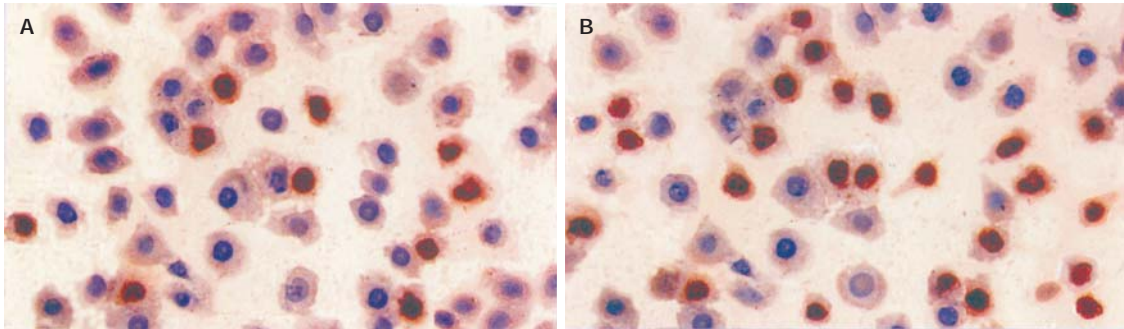


图1 塞来昔布组胃癌细胞凋亡 (TUNEL X400) A: 40 μmol/L B: 160 μmol/L.

表1 塞来昔布对胃癌细胞周期及凋亡的影响

μmol/L		凋亡率	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
0	1.85 ± 0.31	45.43 ± 2.81	43.51 ± 5.35	11.06 ± 1.02	
10	4.23 ± 0.81 ^b	48.53 ± 2.79	41.56 ± 4.76	9.91 ± 0.95	
20	15.50 ± 2.10 ^b	56.68 ± 3.84 ^a	35.48 ± 3.96	7.84 ± 1.01	
40	24.35 ± 2.32 ^b	65.40 ± 5.53 ^b	28.23 ± 3.67 ^a	6.37 ± 0.89	
80	31.52 ± 3.64 ^b	70.98 ± 5.58 ^b	24.16 ± 2.45 ^b	4.86 ± 0.75	
160	45.82 ± 5.92 ^b	74.90 ± 6.65 ^b	21.95 ± 1.82 ^b	3.15 ± 0.82	

^b*P* < 0.01, ^a*P* < 0.05 vs 0 mmol/L.

低于对照组 3.32 ± 0.28 , 随着塞来昔布剂量增加, 其核内磷酸化ERK2表达逐渐减少. 说明塞来昔布能抑制胃癌细胞ERK2磷酸化, 阻止其向核内移位.

3 讨论

NSAID能使结肠癌的发生率降低40~50%^[1]. NSAID的作用靶点—COX-2在胃癌有较高表达^[6-10], NSAID能抑制体外培养的胃癌细胞COX-2的表达及细胞增殖^[11, 12], 抑制裸鼠胃癌原位移植瘤的生长^[13, 14], 对化学致癌剂诱导的大鼠胃癌具有化学预防作用^[15, 16]. NSAID可能通过抑制COX-2活性的途径发挥抗肿瘤作用. 塞来昔布是一种高选择性COX-2抑制剂. NSAID抑制胃癌细胞生长与其诱导细胞凋亡有关^[17-20]. 我们首先用TUNEL法显示塞来昔布作用胃癌细胞后可见大量凋亡细胞出现, 流式细胞仪分析显示塞来昔布可将细胞阻滞在G₀/G₁期, 并诱导细胞凋亡, 10, 20, 40, 80, 160 μmol/L塞来

昔布作用于胃癌细胞24 h后, 凋亡率分别为4.23%, 15.50%, 24.35%, 31.52%, 45.82%, 呈剂量依赖性. 因此, 塞来昔布对胃癌细胞的抑制作用可能与其诱导细胞凋亡有关. 郑文斌 *et al*^[21]还发现高浓度塞来昔布对胃癌多药耐药细胞亦有明显抑制生长的作用.

然而NSAID类药物可以在完全缺乏COX活性的细胞中发挥抗增殖作用, 说明NSAID尚有独立于环氧合酶的其它途径参与对胃癌细胞的抑制作用^[22, 23]. ERK位于胞质, 激活后发生磷酸化转位至胞核^[24, 25], 调节转录因子如NF-κB, AP-1的活性, 产生细胞效应. ERK通路上调与胃黏膜细胞的增殖和转化有关, 与胃癌的发生、TMN分期、淋巴结转移相关^[26-29]. NSAID抑制胃癌细胞生长作用是否与ERK途径有关的问题值得探讨. 我们采用免疫组化方法显示磷酸化ERK2主要分布在细胞核内, 胞质有少量表达. 定量分析显示塞来昔布能使胃癌细胞磷酸化ERK2表达减少, 呈剂量依赖性. 提

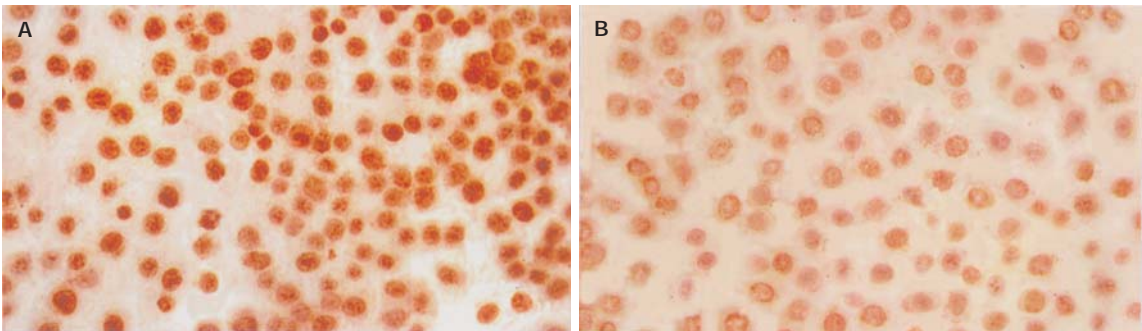


图2 胃癌细胞磷酸化ERK2表达 (SP X400) A: 对照组; B: 80 μmol/L塞来昔布.

示塞来昔布能阻断ERK2磷酸化,从而阻断细胞外信号向细胞内传递,达到抑制胃癌细胞增殖的作用。Husain *et al*^[30]发现两类NSAID都明显抑制ERK2活化。因此我们认为塞来昔布可能通过抑制MAPK(ERK2)途径来抑制人胃癌细胞株SGC7901的增殖和生长,发挥其防癌、抗癌作用。陈波 *et al*^[31]发现PD098059可能通过抑制MAPK的活性,抑制胃癌细胞增殖,对长春新碱诱导MGC803细胞的凋亡具有协同作用。因此,MAPK(ERK)可能成为胃癌治疗的一个新的靶点,塞来昔布对COX-2有很高的选择性,其COX-1 IC₅₀与COX-2 IC₅₀的比值为375,在临床应用有较高的安全性。塞来昔布于2000年被美国食品药品监督管理局首次批准用于家族性息肉病的治疗。国内已有塞来昔布用于预防胃癌的实验研究报道^[15-16]。进一步深入研究COX-2抑制剂抗肿瘤机制,可为临床开辟新的抗癌手段提供理论依据。

4 参考文献

- Baron JA, Cole BF, Sandler RS, Haile RW, Ahnen D, Bresalier R, McKeown-Eyssen G, Summers RW, Rothstein R, Burke CA, Snover DC, Church TR, Allen JI, Beach M, Beck GJ, Bond JH, Byers T, Greenberg ER, Mandel JS, Marcon N, Mott LA, Pearson L, Saibil F, van Stolk RU. A randomized trial of aspirin to prevent colorectal adenomas. *N Engl J Med* 2003;348:891-899
- Soh JW, Mao Y, Kim MG, Pamukcu R, Li H, Piazza GA, Thompson WJ, Weinstein IB. Cyclic GMP mediates apoptosis induced by Sulindac derivatives via activation of c-Jun NH2 Terminal kinase 1. *Clin Cancer Res* 2000;6:4136-4141
- Sanchez-Alcazar JA, Bradbury DA, Pang L, Knox AJ. cyclooxygenase (COX) inhibitors induce apoptosis in non-small cell lung cancer through cyclooxygenase independent pathways. *Lung Cancer* 2003;40:33-44
- Grosch S, Tegeder I, Niederberger E, Brautigam L, Geisslinger G. COX-2 independent induction of cell cycle arrest and apoptosis in colon cancer cells by the selective COX-2 inhibitor celecoxib. *FASEB J* 2001;15:2742-2744
- Nagatsuka I, Yamada N, Shimizu S, Ohira M, Nishino H, Seki S, Hirakawa K. Inhibitory effect of a selective cyclooxygenase-2 inhibitor on liver metastasis of colon cancer. *Int J Cancer* 2002;100:515-519
- Lim HY, Joo HJ, Choi JH, Yi JW, Yang MS, Cho DY, Kim HS, Nam DK, Lee KB, Kim HC. Increased expression of cyclooxygenase-2 protein in human gastric carcinoma. *Clin Cancer Res* 2000;6:519-525
- Yamagata R, Shimoyama T, Fukuda S, Yoshimura T, Tanaka M, Munakata A. Cyclooxygenase-2 expression is increased in early intestinal-type gastric cancer and gastric mucosa with intestinal metaplasia. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002;14:359-363
- Wang BC, Guo CQ, Sun C, Sun QL, Liu GY, Li DG. Mechanism and clinical significance of cyclooxygenase-2 expression in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2005;11:3240-3244
- Koga T, Shibahara K, Kabashima A, Sumiyoshi Y, Kimura Y, Takahashi I, Kakeji Y, Maehara Y. Overexpression of cyclooxygenase-2 and tumor angiogenesis in human gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2004;51:1626-1630
- Saukkanen K, Nieminen O, van Rees B, Vilkkilä S, Harkonen M, Juhola M, Mecklin JP, Sipponen P, Ristimäki A. Expression of cyclooxygenase-2 in dysplasia of the stomach and in intestinal-type gastric adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2001;7:1923-1931
- 李建英, 于皆平, 罗和生, 余保平, 黄杰安. 非甾体类抗炎药对胃癌SGC7901细胞增殖及环氧合酶活性的影响. *世界华人消化杂志* 2002;9:262-265
- 孙波, 吴云林, 张学军, 王升年, 贺恒益, 乔敏敏, 章永平, 钟捷. 舒林酸抑制人胃腺癌细胞增殖及诱导凋亡. *世界华人消化杂志* 2001;9:997-1002
- 付峻林, 吴云林, 章永平, 乔敏敏, 陈颖, 孙波. 环氧合酶-2抑制剂抗胃癌作用的实验观察及其抑制血管生成的研究. *中华消化杂志* 2004;24:608-611
- 刘纯伦, 唐承薇, 万学红. 选择性环氧合酶-2抑制剂对胃癌细胞生长的影响. *四川大学学报(医学版)* 2003;34:480-483
- 兰春慧, 房殿春, 向德兵, 贺志高, 陈东风, 樊丽琳. 环氧合酶-2抑制剂celecoxib抑制胃癌生长的实验研究. *胃肠病学和肝病学杂志* 2005;14:134-136
- 唐保东, 胡品津, 曾志荣, 林汉良, 何瑶. 特异性环氧合酶-2抑制剂预防胃癌的实验研究. *中华消化杂志* 2004;24:158-161
- Uefuji K, Ichikura T, Shinomiya N, Mochizuki H. Induction of apoptosis by JTE-522, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor, in human gastric cancer cell lines. *Anticancer Res* 2000;20:4279-4284
- 谯敏, 高青, 王丕龙, 张俊文. 尼美舒利对人胃癌细胞株SGC-7901增殖和凋亡的影响. *重庆医科大学学报* 2004;29:654-656
- Ma L, Xie YL, Yu Y, Zhang QN. Apoptosis of human gastric cancer SGC-7901 cells induced by mitomycin combined with sulindac. *World J Gastroenterol* 2005;11:1829-1832
- 樊晓明, 郑发寿, 刘红燕, 马元华, 王振宇. 环氧合酶-2特异抑制剂诱导胃癌细胞凋亡的机制研究. *中华肿瘤杂志* 2005;27:145-147
- 郑文斌, 王春晖, 强鸥, 唐承薇. 塞来昔布联合奥曲肽对人胃癌多药耐药细胞生长的影响. *癌症* 2004;23:1628-1632
- 李建生, 张金平, 刘升云. 环氧合酶-2抑制剂对人胃癌细胞株的作用及机制探讨. *中华消化杂志* 2005;25:119-121
- Honjo S, Osaki M, Ardyanto TD, Hiramatsu T, Maeta N, Ito H. COX-2 inhibitor, NS398, enhances Fas-mediated apoptosis via modulation of the PTEN-Akt pathway in human gastric carcinoma cell lines. *DNA Cell Biol* 2005;24:141-147
- Aplin AE, Stewart SA, Assoian RK, Juliano RL. Integrin-mediated adhesion regulates ERK nuclear translocation and phosphorylation of Elk-1. *J Cell Biol* 2001;153:273-282
- Cyert MS. Regulation of nuclear localization during signaling. *J Biol Chem* 2001;276:20805-20850
- 褚传莲, 李延青, 张燕, 李文婕, 赵宪邨. 细胞外信号调节激酶在胃癌组织中的表达及其与幽门螺杆菌感染的关系. *世界华人消化杂志* 2003;11:481-482
- 褚传莲, 李延青, 李文婕, 张燕, 赵宪邨. ERK1、ERK2在胃癌中的表达及临床意义. *山东医药* 2002;42:5-7
- Liang B, Wang S, Zhu XG, Yu YX, Cui ZR, Yu YZ. Increased expression of mitogen-activated protein kinase and its upstream regulating signal in human gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2005;11:623-628
- Shin EY, Ma EK, Kim CK, Kwak SJ, Kim EG. Src/ERK but not phospholipase D is involved in keratinocyte growth factor-stimulated secretion of matrix metalloproteinase-9 and urokinase-type plasminogen activator in SNU-16 human stomach cancer cell. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002;128:596-602
- Husain SS, Szabo IL, Pai R, Soreghan B, Jones MK, Tarnawski AS. MAPK (ERK2) kinase-a key target for NSAID-induced inhibition of gastric cancer cell proliferation and growth. *Life Sci* 2001;69:3045-3054
- 陈波, 杨军, 卢香兰, 王平平, 金锋, 刘兴鹏, 王舒宝. PD 098059对长春新碱诱导胃癌细胞MGC803凋亡的调节作用. *中国医科大学学报* 2003;32:140-142