

# 人参多糖注射液对胃癌细胞SGC-7901凋亡的诱导作用及机制

黄 靓, 李国庆, 毛振江, 谷 苗

**背景资料**  
恶性肿瘤的发生与发展与肿瘤细胞的增殖与凋亡密切相关, 细胞凋亡具有负向调节作用, 促进细胞凋亡可有效抑制肿瘤生长。如何诱导肿瘤细胞凋亡已成为抗肿瘤治疗的新方向。

黄靓, 李国庆, 毛振江, 南华大学附属第二医院消化内科 湖南省衡阳市 421001

谷苗, 南华大学附属第二医院急诊科 湖南省衡阳市 421001

黄靓, 硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 黄靓与李国庆对此文所作贡献均等; 此课题由黄靓设计; 李国庆教授指导; 研究过程由黄靓与毛振江操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由黄靓提供; 数据分析由黄靓与谷苗完成; 本论文写作由黄靓与李国庆完成。

通讯作者: 李国庆, 教授, 主任医师, 421001, 湖南省衡阳市解放大道35号, 南华大学附属第二医院消化内科. ligq1970@163.com  
电话: 0734-8899977

收稿日期: 2014-09-17 修回日期: 2014-10-08

接受日期: 2014-10-15 在线出版日期: 2014-11-28

## Ginseng polysaccharide injection induces apoptosis of gastric carcinoma SGC-7901 cells

Liang Huang, Guo-Qing Li, Zhen-Jiang Mao, Miao Gu

Liang Huang, Guo-Qing Li, Zhen-Jiang Mao, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China

Miao Gu, Department of Emergency Medicine, the Second Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China

Correspondence to: Guo-Qing Li, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Nanhua University, 35 Jiefang Avenue, Hengyang 421001, Hunan Province, China. ligq1970@163.com

Received: 2014-09-17 Revised: 2014-10-08

Accepted: 2014-10-15 Published online: 2014-11-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the apoptosis-inducing effect of ginseng polysaccharide injection in gastric carcinoma SGC-7901 cells and the possible mechanism involved.

**METHODS:** SGC-7901 cells were treated with different concentrations (0, 12.5, 25.0, 50.0, 100.0  $\mu\text{L/mL}$ ) of ginseng polysaccharide injection for different durations (24, 48 or 72 h). Cell apoptosis was assessed by flow cytometry, and protein expression of Bax and Bcl-2 was determined by Western blot.

**RESULTS:** Ginseng polysaccharide injection significantly induced the apoptosis of SGC-7901 cells *in vitro* in a dose- and time-dependent manner. Treatment with ginseng polysaccharide injection significantly increased Bax protein expression and Bax/Bcl-2 ratio, and reduced Bcl-2 protein expression in a dose- and time-dependent manner.

**CONCLUSION:** Ginseng polysaccharide injection is able to induce apoptosis of gastric carcinoma SGC-7901 cells possibly by regulating Bax and Bcl-2 protein expression.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Ginseng polysaccharide injection; Gastric carcinoma; Apoptosis; Bax; Bcl-2

Huang L, Li GQ, Mao ZJ, Gu M. Ginseng polysaccharide injection induces apoptosis of gastric carcinoma SGC-7901 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(33): 5114-5117 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5114.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i33.5114>

## 摘要

**目的:** 人参多糖注射液对胃癌细胞SGC-7901凋亡的诱导作用及机制。

**方法:** 采用不同浓度(0、12.5、25.0、50.0、100.0  $\mu\text{L/mL}$ )、不同时间(24、48、72 h)人参多糖注射液处理SGC-7901细胞, 分别采用流式细胞仪及Western blot检测细胞凋亡及Bax、Bcl-2蛋白表达。

**结果:** 人参多糖注射液对SGC-7901细胞体外凋亡具有显著的促进作用, 并呈现剂量及时间依赖性。人参多糖注射液处理后, SGC-7901细胞Bax蛋白表达及Bax/Bcl-2蛋白表达比值显著升高, Bcl-2蛋白表达显著降低, 并呈现剂量及时间依赖性。

**同行评议者**  
王蒙, 副教授, 第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外综合治疗一科

**结论:** 人参多糖注射液可诱导胃癌SGC-7901细胞凋亡, 调节凋亡相关基因Bax、Bcl-2表达是其可能作用机制。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 人参多糖注射液; 胃癌; 凋亡; Bax; Bcl-2

**核心提示:** 本研究采用流式细胞仪及Western blot检测人参多糖注射液处理后胃癌细胞凋亡及Bax、Bcl-2蛋白表达。提示人参多糖注射液通过上调Bax表达、下调Bcl-2表达, 改善Bax/Bcl-2平衡, 这可能是其诱导胃癌细胞SGC-7901凋亡的重要机制。

黄靓, 李国庆, 毛振江, 谷苗. 人参多糖注射液对胃癌细胞SGC-7901凋亡的诱导作用及机制. 世界华人消化杂志 2014; 22(33): 5114-5117 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5114.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i33.5114>

## 0 引言

人参多糖(ginseng polysaccharides)是从五加科、人参属多年生草本植物人参(*Panax ginseng* C. A. Mey)中提取出来的高分子葡萄糖, 具有免疫调节、降血压、降血糖等多种生物学活性, 近年来其抗肿瘤作用日益受到关注<sup>[1]</sup>。既往研究证实人参多糖注射液可抑制白血病<sup>[2]</sup>、非小细胞肺癌<sup>[3]</sup>等细胞增殖并诱导其凋亡, 但人参多糖注射液对胃癌细胞凋亡的相关研究尚未见报道。为探讨人参多糖注射液对胃癌细胞的作用, 本研究选用胃癌细胞株SGC-7901为研究对象, 采用体外培养方法, 观察不同浓度、不同时间人参多糖注射液处理对胃癌细胞株SGC-7901凋亡及对Bax、Bcl-2表达的影响, 旨在为胃癌的临床治疗提供可靠理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人参多糖注射液(长春博奥生化药业有限公司, 国药准字: H22024889); 胃癌细胞株SGC-7901(ATCC细胞库, 美国); 胎牛血清、DEME培养基、PBS缓冲液、胰蛋白酶(Gibco公司); Annexin-V-FITC凋亡试剂盒(Beckman coulter公司); Bcl-2、Bax单抗(Santa Cruz公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养:** 复苏胃癌细胞株SGC-7901, PBS洗涤3次, 用含有双抗及10%胎牛血清的DMEM培养液重悬细胞, 并于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱

中培养, 收集对数生长期细胞。

**1.2.2 细胞凋亡率检测:** 收集对数生长期的细胞, DMEM培养基调整细胞浓度为 $2 \times 10^5$ 个/mL, 将细胞加至24孔培养板, 1 mL/孔。将细胞置于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养2 h, 采用不同终浓度人参多糖注射液(12.5、25.0、50.0、100.0 μL/mL)和不同刺激时间(24、48、72 h)对SGC-7901细胞进行预处理, 加入同体积PBS作为空白对照, 每孔设3个复孔, 共5组。细胞置于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中分别培养, 培养结束后, 800 r/min离心10 min, 弃上清, 流式细胞仪检测细胞凋亡率, 操作步骤严格按试剂盒说明书进行。

**1.2.3 Bax、Bcl-2蛋白表达检测:** 细胞培养方法如前述, 采用Western blot检测Bax、Bcl-2蛋白表达。收集不同浓度人参多糖注射液刺激72 h后的细胞, 提取其胞质蛋白, 按标准程序进行Western blot检测。

**统计学处理** 采用SPSS19.0进行统计学分析, 所有数据以mean±SD表示, 率的比较采用 $\chi^2$ 检验, 均数比较采用t检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 人参多糖注射液对SGC-7901细胞体外凋亡率的影响** 人参多糖注射液对SGC-7901细胞体外凋亡具有显著的促进作用。在同一时间条件下, 人参多糖注射液浓度越高则SGC-7901凋亡促进作用越明显( $P < 0.05$ ); 在同一浓度条件下, 人参多糖注射液处理时间越长则SGC-7901细胞凋亡促进作用越明显( $P < 0.05$ )。提示人参多糖注射液对SGC-7901细胞体外凋亡的促进作用呈现显著的剂量依赖性和时间依赖性(表1)。

**2.2 人参多糖注射液对SGC-7901细胞Bax、Bcl-2蛋白表达的影响** 人参多糖注射液处理后SGC-7901细胞72 h后, Bcl-2蛋白表达显著降低, 其降低程度与人参多糖注射液浓度呈正相关; Bax蛋白表达显著升高, 其降低程度与人参多糖注射液浓度呈正相关(表2, 图1)。

**2.3 人参多糖注射液对SGC-7901细胞Bax/Bcl-2蛋白表达比值的影响** 人参多糖注射液对SGC-7901细胞 Bax/Bcl-2蛋白表达比值具有显著的促进作用。在同一时间条件下, 人参多糖注射液浓度越高Bax/Bcl-2蛋白表达比值越高( $P < 0.05$ ); 在同一浓度条件下, 人参多糖注射液处理时间越长则SGC-7901细胞Bax/Bcl-2蛋白表达比值越高( $P < 0.05$ )。提示人参多糖注射液可上

### 研发前沿

本团队既往研究证实, Bax/Bcl-2比值是决定细胞凋亡的重要因素。人参多糖注射液可抑制白血病、非小细胞肺癌等细胞增殖并诱导其凋亡, 本研究观察人参多糖注射液处理对胃癌细胞株SGC-7901凋亡及对Bax、Bcl-2表达的影响, 为胃癌的临床治疗提供理论依据。

### 相关报道

人参多糖可增强机体自身免疫, 还可通过多途径杀灭肿瘤细胞, 其抗肿瘤疗效已从药理及临床等多方面得到证实。范家铭等以鼻咽癌细胞CNE-2为研究对象, 提示人参多糖可能是通过Wnt/ $\beta$ -catenin通路介导人鼻咽癌细胞CNE-2凋亡。

### 创新盘点

本研究显示人参与糖注射液处理后可显著促进胃癌细胞SGC-7901凋亡,同时Western blot分析Bax表达的上调及Bcl-2表达的下调,Bax/Bcl-2蛋白表达比值亦显著增加。提示人参与糖注射液通过上调Bax表达、下调Bcl-2表达,改善Bax/Bcl-2平衡,这可能是其诱导胃癌细胞SGC-7901凋亡的重要机制。

表 1 不同浓度人参与糖注射液对SGC-7901细胞体外凋亡率的影响 (mean ± SD, %)

分组	人参与糖注射液浓度(μL/mL)	24 h	48 h	72 h
对照组	0.0	3.57 ± 0.52	3.62 ± 0.54	3.60 ± 0.57
试验组	12.5	7.21 ± 0.84 <sup>a</sup>	11.45 ± 0.91 <sup>ac</sup>	15.34 ± 0.67 <sup>ac</sup>
	25.0	13.44 ± 0.67 <sup>a</sup>	17.32 ± 0.76 <sup>ac</sup>	22.23 ± 0.72 <sup>ac</sup>
	50.0	16.25 ± 0.89 <sup>a</sup>	23.2 ± 0.92 <sup>ac</sup>	28.19 ± 0.94 <sup>ac</sup>
	100.0	18.217 ± 0.73 <sup>a</sup>	27.11 ± 0.79 <sup>ac</sup>	36.54 ± 0.88 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup>*P*<0.05 vs 对照组; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs 24 h试验组。

表 2 凋亡因子表达定量分析结果

指标	对照组	人参与糖注射(μL/mL)			
		12.5	25.0	50.0	100.0
Bax	345.8 ± 37.3	485.6 ± 41.2	584.9 ± 37.8	1003.2 ± 113.4	1472.8 ± 183.5
Bcl-2	956.8 ± 72.6	829.4 ± 46.2	632.4 ± 73.1	423.5 ± 43.6	235.9 ± 33.2
β-actin	689.4 ± 53.2	734.5 ± 62.1	711.2 ± 60.3	702.5 ± 63.1	692.8 ± 60.2

表 3 不同浓度人参与糖注射液对SGC-7901细胞Bax/Bcl-2蛋白表达比值的影响 (mean ± SD)

分组	人参与糖注射液浓度(μL/mL)	24 h	48 h	72 h
对照组	0.0	0.24 ± 0.08	0.25 ± 0.07	0.24 ± 0.07
试验组	12.5	0.36 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.47 ± 0.04 <sup>ac</sup>	0.68 ± 0.06 <sup>ac</sup>
	25.0	0.57 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.69 ± 0.06 <sup>ac</sup>	1.23 ± 0.09 <sup>ac</sup>
	50.0	0.79 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.91 ± 0.07 <sup>ac</sup>	2.09 ± 0.24 <sup>ac</sup>
	100.0	0.97 ± 0.09 <sup>a</sup>	1.13 ± 0.05 <sup>ac</sup>	5.76 ± 0.66 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup>*P*<0.05 vs 对照组; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs 24 h试验组。

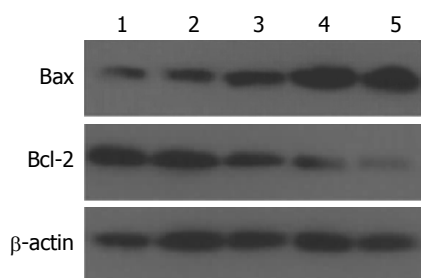


图 1 人参与糖注射液处理后SGC-7901细胞72 h后Bax、Bcl-2蛋白表达。1: 对照组; 2: 12.5 μL/mL人参与糖注射液; 3: 25.0 μL/mL人参与糖注射液; 4: 50.0 μL/mL人参与糖注射液; 5: 100.0 μL/mL人参与糖注射液。

调SGC-7901细胞Bax/Bcl-2蛋白表达比值,并呈现显著的剂量依赖性和时间依赖性(表3)。

### 3 讨论

细胞凋亡是指细胞在基因调控下进行的自主

性、有序性死亡,是维持细胞内环境稳定的重要机制<sup>[4-7]</sup>。与细胞坏死的被动过程不同,细胞凋亡是一个主动过程,并与一系列基因的激活、表达及调控密切相关。恶性肿瘤的发生与发展与肿瘤细胞的增殖与凋亡密切相关,细胞凋亡具有负向调节作用,促进细胞凋亡可有效抑制肿瘤生长<sup>[8-10]</sup>。因此,如何诱导肿瘤细胞凋亡已成为抗肿瘤治疗的新方向。

人参与糖作为多效性天然活性物质,不仅可增强机体自身免疫,还可通过多途径杀灭肿瘤细胞,其抗肿瘤疗效已从药化、药理及临床等多方面研究得到证实<sup>[11,12]</sup>。范家铭等<sup>[13]</sup>以人鼻咽癌细胞CNE-2为研究对象,探讨人参与糖对其凋亡的诱导作用,结果显示人参与糖处理48 h后即可通过激光共聚焦观察到胞核中β-catenin和TCF4表达下调,Western blot结果可见CNE-2细

### 应用要点

本文对人参与糖注射液可在体外诱导胃癌细胞SGC-7901凋亡,并呈剂量和时间依赖性,调节凋亡相关基因Bax、Bcl-2表达是其可能作用机制有了更深入的了解。但对人参与糖是否还可诱导其他肿瘤细胞凋亡,其介导途径又是哪些均需进一步深入研究。

胞Bcl-2表达下调, Bax表达上调, 且人参多糖抑制细胞增殖作用呈明显剂量、时间依赖性, 提示人参多糖可能是通过Wnt/ $\beta$ -catenin通路介导人鼻咽癌细胞CNE-2凋亡。

本研究结果显示, 人参多糖注射液处理后可显著促进胃癌细胞SGC-7901凋亡, 同时还观察到Bax表达的上调及Bcl-2表达的下调, Bax/Bcl-2蛋白表达比值亦显著增加。Bcl-2基因家族包括抑制细胞凋亡基因(*Bcl-2*、*Bcl-XL*、*Bcl-W*)及促进细胞凋亡的基因(*Bax*、*Bcl-Xs*)等, 是调控细胞凋亡的重要组成部分。既往研究<sup>[14]</sup>证实, Bax过表达可显著促进细胞凋亡, Bcl-2过表达则显著抑制细胞凋亡。Bax广泛存在于胞质中, 可与Bcl-2形成异源二聚体或自身形成同源二聚体。当Bcl-2过表达时, 大量Bcl-2与Bax结合形成异源二聚体, 使Bax表达降低, 从而抑制细胞凋亡; 相反, 当胞质内Bax过表达时, 则可显著增加自身同源二聚体的形成, 从而促进细胞凋亡。因此, Bax/Bcl-2比值是决定细胞凋亡的重要因素<sup>[15]</sup>。由此推测, 人参多糖注射液通过上调Bax表达、下调Bcl-2表达, 改善Bax/Bcl-2平衡, 这可能是其诱导胃癌细胞SGC-7901凋亡的重要机制。

总之, 人参多糖注射液可在体外诱导胃癌细胞SGC-7901凋亡, 并呈显著的剂量依赖性和时间依赖性, 调节凋亡相关基因*Bax*、*Bcl-2*表达是其可能作用机制。但人参多糖注射液是否还可诱导其他肿瘤细胞凋亡, 其介导途径又是哪些, 这些问题均需进一步深入研究。

#### 4 参考文献

- 1 Yoo DG, Kim MC, Park MK, Park KM, Quan FS, Song JM, Wee JJ, Wang BZ, Cho YK, Compans RW, Kang SM. Protective effect of ginseng polysaccharides on influenza viral infection. *PLoS One* 2012; 7: e33678 [PMID: 22442708 DOI: 10.1371/journal.pone.0033678]
- 2 何轩, 姜蓉, 李静, 左国伟, 雷翠蓉, 王亚平, 王建伟, 陈地龙. 人参多糖注射液体外诱导人白血病细胞株K562增殖抑制及分化. *中国组织工程研究* 2010; 14: 9225-9226
- 3 王媛媛, 吉西他滨. 人参多糖对人非小细胞肺癌A549细胞增殖与凋亡的影响. 武汉: 华中科技大学, 2006
- 4 Ouyang L, Shi Z, Zhao S, Wang FT, Zhou TT, Liu B, Bao JK. Programmed cell death pathways in cancer: a review of apoptosis, autophagy and programmed necrosis. *Cell Prolif* 2012; 45: 487-498 [PMID: 23030059 DOI: 10.1111/j.1365-2184.2012.00845.x]
- 5 Benderska N, Chakilam S, Hogle M, Ivanovska J, Gandesiri M, Schulze-Luhrmann J, Bajbouj K, Croner R, Schneider-Stock R. Apoptosis signalling activated by TNF in the lower gastrointestinal tract-review. *Curr Pharm Biotechnol* 2012; 13: 2248-2258 [PMID: 21605069]
- 6 Li-Weber M. Targeting apoptosis pathways in cancer by Chinese medicine. *Cancer Lett* 2013; 332: 304-312 [PMID: 20685036 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.07.015]
- 7 Hu C, Song G, Zhang B, Liu Z, Chen R, Zhang H, Hu T. Intestinal metabolite compound K of panaxoside inhibits the growth of gastric carcinoma by augmenting apoptosis via Bid-mediated mitochondrial pathway. *J Cell Mol Med* 2012; 16: 96-106 [PMID: 21323864 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2011.01278.x]
- 8 Wang P, Zhang K, Zhang Q, Mei J, Chen CJ, Feng ZZ, Yu DH. Effects of quercetin on the apoptosis of the human gastric carcinoma cells. *Toxicol In Vitro* 2012; 26: 221-228 [PMID: 22222411 DOI: 10.1016/j.tiv.2011.11.015]
- 9 Zhang L, Tao L, Ruan J, Li W, Wu Y, Yan L, Zhang F, Fan F, Zheng S, Wang A, Lu Y. Xanthatin induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis in human gastric carcinoma MKN-45 cells. *Planta Med* 2012; 78: 890-895 [PMID: 22532019 DOI: 10.1055/s-00031-1298481]
- 10 Tomioka H, Mukohara T, Kataoka Y, Ekyalongo RC, Funakoshi Y, Imai Y, Kiyota N, Fujiwara Y, Minami H. Inhibition of the mTOR/S6K signal is necessary to enhance fluorouracil-induced apoptosis in gastric cancer cells with HER2 amplification. *Int J Oncol* 2012; 41: 551-558 [PMID: 22614071 DOI: 10.3892/ijo.2012.1485]
- 11 刘江, 冯锐, 郑颖, 陈闻萍. 含多糖类中药抗肿瘤作用的研究进展. *中国药房* 2013; 24: 4497-4500
- 12 王晓敏. 人参多糖药理活性研究进展. *中国社区医师* 2014; 30: 335-336
- 13 范家铭, 刘泽洪, 李静, 王亚平, 杨绿源, 黄江菊. 人参多糖介导Wnt/ $\beta$ -catenin信号转导诱导人鼻咽癌细胞CNE-2的凋亡. *中国中药杂志* 2013; 38: 3332-3337
- 14 董雅洁, 高维娟. Bcl-2, bax, caspase-3在细胞凋亡中的作用及其关系. *中国老年学杂志* 2012; 32: 4828-4830
- 15 彭昌能, 李国庆, 谷苗. 1, 25-二羟维生素D3联合塞来昔布对胃癌细胞株SGC-7901凋亡的影响. *医学研究杂志* 2014; 43: 74-78

同行评价  
本文章的科学性、可读性较好。

编辑 郭鹏 电编 都珍珍

