

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2020 年 10 月 28 日 第 28 卷 第 20 期 (Volume 28 Number 20)



20 / 2020

ISSN 1009-3079



20>

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。



述评

- 999 胃肠间质瘤耐药的研究现状与进展
李勇, 安昭杰, 檀碧波, 赵群, 范立侨, 赵雪峰
- 1004 提高对胆石性肠梗阻的认识
孙宏伟, 闫洪峰, 孙培鸣, 崔彦

基础研究

- 1009 内质网应激-自噬肝癌SMMC-7721细胞模型的复制及金刚藤的干预
凌江红, 文一惠, 周芬敏, 陈珺明, 郭锦荣

临床研究

- 1016 益生菌应用于重症急性胰腺炎治疗效果的Meta分析
陈炜, 谢思明, 龚菊, 徐若欣, 黄坚

文献综述

- 1025 生物节律与肝脏能量代谢
高文康, 舒艳芸, 叶进, 潘晓莉
- 1036 胃底腺息肉的临床特征及其与结直肠肿瘤相关性的研究进展
杨雪梅, 徐红

临床实践

- 1042 增强CT与超声双重造影术前评估胃癌T分期的对比研究
沈伟芬, 周华玲, 李阳

病例报告

- 1048 失代偿期肝硬化合并感染性心内膜炎瓣膜穿孔1例
项艺, 王曦, 梅雪灿, 韩怡, 孔德润

消 息

- 1003 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
1015 《世界华人消化杂志》修回稿须知
1024 《肠道微生物与消化系统疾病》书讯
1041 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事

封面故事

胥萍, 主任技师, 苏州市第五人民医院. 苏州大学硕士生导师, 中国医院协会传染病医院管理分会自身免疫肝病管理学组常委、江苏“卫生拔尖人才”, 苏州市姑苏卫生重点人才. 近年来承担各级自然科学基金20余项, 获省市科技奖项多次, 发明专利1项, 实用新型专利3项, 任《世界华人消化杂志》、《抗感染药理学》杂志编委, 以第一作者或通讯作者在国内外统计源期刊发表文章60余篇, SCI 30余篇. 主要从事临床医学检验工作, 主要研究方向为感染免疫(肝炎、结核、艾滋等)及细胞免疫治疗.

本期责任人

编务 王栋梅; 送审编辑 张晗; 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 吴云晓健; 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 2020-10-28

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)

主编

党双锁, 教授, 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

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

王小众, 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, 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, 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

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,

CA 94588, 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

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,

CA 94588, 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: +86-10-85381892

《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.

《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

© 2020 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.



Contents

Volume 28 Number 20 October 28, 2020

EDITORIAL

- 999 Research status and progress of drug resistance in gastrointestinal stromal tumors

Li Y, An ZJ, Tan BB, Zhao Q, Fan LQ, Zhao XF

- 1004 Focus on management of gallstone ileus

Song HW, Yan HF, Song PM, Cui Y

BASIC RESEARCH

- 1009 Reproduction of an SMMC-7721 hepatocellular carcinoma cell model of endoplasmic reticulum stress induced autophagy: Impact on interventional effect of Smilax China L

Ling JH, Wen YH, Zhou FM, Chen JM, Guo JR

CLINICAL RESEARCH

- 1016 Efficacy of probiotics for treatment of severe acute pancreatitis: A meta-analysis

Chen W, Xu RX, Gong J, Xie SM, Huang J

REVIEW

- 1025 Circadian clock and liver energy metabolism

Gao WK, Shu YY, Ye J, Pan XL

- 1036 Clinical features of fundic gland polyps and their correlation with colorectal tumors

Yang XM, Xu H

CLINICAL PRACTICE

- 1042 Contrast-enhanced CT vs double contrast-enhanced ultrasound for preoperative evaluation of T stage of gastric cancer

Shen WF, Zhou HL, Li Y

CASE REPORT

- 1048 Decompensated cirrhosis with valve perforation due to infective endocarditis: A case report

Xiang Y, Wang X, Mei XC, Han Y, Kong DR

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 28 Number 20 October 28, 2020

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Ping Xu, Full Senior Technologist, The Fifth People's Hospital of Suzhou. No. 10 Guangqian Road, Xiangcheng District, Suzhou 215137, Jiangsu Province, China

Indexed/Abstracted by

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

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Dong-Mei Wang*

Review Editor: *Han Zhang*

Production Editor: *Yan-Liang Zhang*

English Language Editor: *Tian-Qi Wang*

Proof Editor: *Yun-Xiaojuan Wu*

Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date October 28, 2020

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-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

Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi,

Taiyuan 030001, Shanxi Province, 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

Ya-Juan Ma, Director

World Chinese Journal of Digestology

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, 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: +86-10-85381892

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2020 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.

内质网应激-自噬肝癌SMMC-7721细胞模型的复制及金刚藤的干预

凌江红, 文一惠, 周芬敏, 陈珺明, 郭锦荣

凌江红, 周芬敏, 陈珺明, 郭锦荣, 上海健康医学院附属周浦医院中医科 上海市 200021

凌江红, 上海中医药大学附属曙光医院消化科 上海市 200021

文一惠, 广西医科大学第一附属医院中医科 广西壮族自治区南宁市 530021

凌江红, 博士, 教授, 主要从事中医药防治消化系统疾病诊治研究.

基金项目: 上海市浦东新区卫生系统重点学科建设项目, No. PWZxk2017-02; 国家自然科学基金资助项目, No. 81973774.

作者贡献分布: 凌江红与文一惠对此文所作贡献均等; 此课题由凌江红、周芬敏、陈珺明及郭锦荣设计; 研究过程由凌江红、文一惠、周芬敏、陈珺明及郭锦荣操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由凌江红提供; 数据分析由文一惠完成; 本论文写作由凌江红与文一惠完成.

通讯作者: 凌江红, 博士, 教授, 200021, 上海市浦东新区周园路1500号, 上海健康医学院附属周浦医院中医科. 459183870@qq.com

收稿日期: 2020-07-20

修回日期: 2020-08-18

接受日期: 2020-09-21

在线出版日期: 2020-10-28

Reproduction of an SMMC-7721 hepatocellular carcinoma cell model of endoplasmic reticulum stress induced autophagy: Impact on interventional effect of Smilax China L

Jing-Hong Ling, Yi-Hui Wen, Fen-Min Zhou, Jun-Ming Chen, Jin-Rong Guo

Jing-Hong Ling, Fen-Min Zhou, Jun-Ming Chen, Jin-Rong Guo, Department of Traditional Chinese Medicine, Zhoupu Hospital Affiliated to Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai 200021, China

Jing-Hong Ling, Department of Gastroenterology, Shuguang

Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200021, China

Yi-Hui Wen, Department of Traditional Chinese Medicine, First Affiliated Hospital Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Autonomous Region, China

Supported by: Shanghai Pudong New District Health System Key Subject Construction Project, No. PWZxk2017-02; National Natural Science Foundation of China, No. 81973774.

Corresponding author: Jing-Hong Ling, PhD, Professor, Department of Traditional Chinese Medicine, Zhoupu Hospital Affiliated to Shanghai University of Medicine & Health Sciences, No. 1500, Zhouyuan Road, Pudong New District, Shanghai 200021, China. 459183870@qq.com

Received: 2020-07-20

Revised: 2020-08-18

Accepted: 2020-09-21

Published online: 2020-10-28

Abstract

BACKGROUND

Endoplasmic reticulum stress induced autophagy is a self-protective mechanism of liver cancer cells. The endoplasmic reticulum stress inducer dithiothreitol (DTT) can induce autophagy in liver cancer cells. Previous studies have confirmed that Smilax China L has the effect of inhibiting liver cancer cells, but it is not clear whether the endoplasmic reticulum stress induced autophagy of liver cancer cells affects the role of Smilax China L in inhibiting liver cancer cells.

AIM

To reproduce a SMMC-7721 liver cancer cell model of endoplasmic reticulum stress induced autophagy and to explore the impact of endoplasmic reticulum stress induced autophagy on the interventional effect of Smilax China L.

METHODS

Different doses of dithiothreitol (DTT; 0, 50, 200, and 500 $\mu\text{mol/L}$) were used to treat SMMC-7721 cells for 24 h. Cells were then observed for autophagosomes by transmission electron microscopy. The expression of microtubule-associated protein 1 light chain 3-II (LC3-II) protein in each group was determined by Western blot. The effect of smilax China L on the survival rate of model SMMC-7721 cells was observed by dividing SMMC-7721 cells into the following groups: Control, smilax China L (JGT) alone, and DTT + JGT groups. The control and JGT groups were given blank serum and smilax China L containing serum, respectively. The DTT + JGT group was treated with DTT and smilax China L medicated serum. The CCK-8 method was used to detect the cell survival rate.

RESULTS

Autophagosomes can be seen in the cytoplasm of DTT (50, 200, and 500 $\mu\text{mol/L}$) treated cells. As the concentration of DTT increased, the number of autophagosomes gradually increased, with a large number of autophagosomes visible in the DTT 500 $\mu\text{mol/L}$ group. Compared with the control group, the expression of autophagy-related protein LC3-II in DTT (50, 200, and 500 $\mu\text{mol/L}$) treated cells was significantly increased ($P < 0.05$ for all). Compared with the DTT 200 $\mu\text{mol/L}$ group, the expression of LC3-II protein in the DTT 500 $\mu\text{mol/L}$ group was significantly increased ($P < 0.05$). The cell survival rates in the JGT and DTT + JGT groups were significantly lower than that of the control group ($P < 0.05$). The cell survival rate of the JGT group was significantly lower than that of the DTT + JGT group ($P < 0.05$).

CONCLUSION

DTT can induce autophagy in SMMC-7721 hepatocellular carcinoma cells. Smilax China L can inhibit the survival rate of SMMC-7721 cells, but DTT-induced autophagy can resist the inhibitory effect of Smilax China L on SMMC-7721 cell survival rate.

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Smilax China L; Hepatoma; Endoplasmic reticulum stress; Autophagy; cell; Proliferation

Citation: Ling JH, Wen YH, Zhou FM, Chen JM, Guo JR. Reproduction of an SMMC-7721 hepatocellular carcinoma cell model of endoplasmic reticulum stress induced autophagy: Impact on interventional effect of Smilax China L. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2020; 28(20): 1009-1015

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i20/1009.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i20.1009>

摘要

背景

内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)-

自噬是肝癌细胞一种自我保护性机制。内质网(endoplasmic reticulum, ER)应激诱导剂二硫苏糖醇(dithiothreitol, DTT)能诱导肝癌细胞ERS-自噬。课题组前期研究证实金刚藤具有抑制肝癌细胞的作用,那么肝癌细胞ERS-自噬是否影响金刚藤抑制肝癌细胞的作用尚不清楚。

目的

探讨ERS-自噬肝癌SMMC-7721细胞模型的复制及金刚藤的干预。

方法

ERS-自噬肝癌SMMC-7721细胞模型的复制:采用不同剂量的DTT(50、200、500 $\mu\text{mol/L}$)处理SMMC-7721细胞24 h,设DTT 0 $\mu\text{mol/L}$ 组为control组,透射电镜观察各模型组细胞自噬小体,运用western blot法测定各组细胞微管相关蛋白1轻链3-II(microtubule-associated protein 1 light chain 3-II, LC3-II)蛋白的表达。金刚藤对ERS-自噬肝癌SMMC-7721细胞存活率的影响:将SMMC-7721细胞分为空白组(control组)、金刚藤组(JGT组)、DTT+JGT组,control、JGT组分别给予空白血清、金刚藤含药血清处理,DTT+JGT组给予DTT构建的ERS模型后给予金刚藤含药血清处理,采用CCK-8法检测细胞的存活率。

结果

DTT(50、200、500 $\mu\text{mol/L}$)组细胞的细胞质内均可见自噬小体,随着DTT浓度的增加,自噬小体数量逐渐增加,DTT 500 $\mu\text{mol/L}$ 组可见大量自噬小体;各模型组细胞LC3-II蛋白的表达:与control组比较,DTT(50、200、500 $\mu\text{mol/L}$)组细胞中自噬相关蛋白LC3-II的表达均显著升高(P 均 < 0.05);与DTT 200 $\mu\text{mol/L}$ 组比较,500 $\mu\text{mol/L}$ 组LC3-II蛋白的表达显著升高($P < 0.05$)。金刚藤对ERS-自噬肝癌细胞模型存活率的影响:JGT、DTT+JGT组细胞存活率均显著低于control组(P 均 < 0.05);JGT组细胞存活率显著低于DTT+JGT组($P < 0.05$)。

结论

DTT可诱导肝癌SMMC-7721细胞ERS-自噬;金刚藤可抑制SMMC-7721细胞的存活率,DTT诱导的ERS-自噬可抵抗金刚藤抑制SMMC-7721细胞的存活率。

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 金刚藤; 肝癌; 内质网应激; 自噬; 细胞增殖

核心提要:本研究证实了二硫苏糖醇(dithiothreitol, DTT)能够诱导肝癌细胞内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)-自噬; DTT诱导的ERS-自噬可抵抗金刚藤抑制SMMC-7721细胞的存活率。

文献来源: 凌江红, 文一惠, 周芬敏, 陈珺明, 郭锦荣. 内质网应激-自噬肝癌SMMC-7721细胞模型的复制及金刚藤的干预. 世界华人消化杂志 2020; 28(20): 1009-1015

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i20/1009.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v28.i20.1009>

0 引言

内质网(endoplasmic reticulum, ER)是一个真核生物维持细胞生存的重要的呈网状结构的细胞器. 在某些生理及病理情况下, ER功能紊乱, 细胞为维持自身稳态, 发生内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)^[1], 进而激活自噬^[2]. ERS-自噬是一种重要的细胞自我保护机制, 维持细胞内环境的稳态, 能够促进细胞的生存, 增加肿瘤细胞对抗肿瘤药物的耐药性^[3-5]. 研究表明^[6], 肝癌细胞内存在ERS的活化. 金刚藤具有利湿去浊、祛风除痹、解毒散瘀的功效. 金刚藤对多种实体肿瘤具有一定疗效^[7,8], 课题组前期研究发现金刚藤具有良好的抗肝癌作用^[9]. 本研究运用ERS诱导剂二硫苏糖醇(dithiothreitol, DTT)诱导人肝癌SMMC-772细胞ERS-自噬, 并观察金刚藤对DTT诱导的ERS-自噬SMMC-7721细胞增殖的影响, 旨在深入探讨金刚藤抗肝癌的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级SD大鼠购自上海杰思捷实验动物有限公司, 许可证编号为SCXK(沪)2018-0004, 雌雄不限, 鼠龄8-10 wk, 共8只. 大鼠适应性喂养7 d后用于实验, 喂养期间大鼠自由进食、水. 人肝癌SMMC-7721细胞株由上海中科院细胞库提供. 将SMMC-7721细胞按 1×10^6 个/板接种于含10%胎牛血清、1%青霉素-链霉素双抗的DMEM培养基, 于37 °C、5%CO₂、恒温恒湿条件的细胞培养箱中培养, 1-2 d换液传代1次. 待细胞进入对数生长期后进行实验. 中药金刚藤购自广西民族医药研究所, 产地广西, 批号为161201, 由桂林鼎康中药饮片有限公司生产. DMEM培养基、青霉素-链霉素双抗混合液、胎牛血清购自美国GIBCO公司. DTT购自中国Solarbio公司. Apoptosis Detection Kit购自上海翊圣生物科技有限公司. 细胞微管相关蛋白1轻链3-II(microtubule-associated protein 1 light chain 3-II, LC3-II)抗体购自英国Abcam公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 复苏存活下来的SMMC-7721细胞培养于10 cm细胞培养皿中, 细胞接种 10^6 个/板. 培养基为DMEM+10%FBS+1%双抗, 37 °C、5%CO₂恒温恒湿的细胞培养箱中培养. 1-2 d换液传代备用.

1.2.2 ERS-自噬模型的建立: 实验分组及处理方

法: 取生长状态良好的SMMC-7721细胞按DTT不同浓度分为50、200、500 $\mu\text{mol/L}$ 组, 同时设DTT 0 $\mu\text{mol/L}$ 为control组, 将细胞按80%的汇合度接种到6孔板, 每孔2 mL, 细胞数量为 2×10^5 个/孔, 培养基为DMEM+10%FBS+1%PS, 每组3个复孔. 置于37 °C、5%的CO₂培养箱中培养过夜, 次日分别更换不同浓度(0、50、200、500 $\mu\text{mol/L}$)培养基稀释的DTT, 置于37 °C、5%的CO₂培养箱中继续培养24 h.

Western blot法检测各组细胞LC3-II蛋白表达: 将上述细胞去除培养基, PBS清洗两遍, 去除PBS后, 加入100 μL 含PMSF的裂解液, 4 °C裂解30 min. 裂解完后, 12000 r/min、4 °C离心10 min, 取上清, 用BCA法测定蛋白浓度. 以20 μg 总蛋白上样, 行聚丙烯酰胺凝胶电泳, 电泳结束后转移蛋白至PVDF膜, 用含5%脱脂奶粉封闭1 h. 置于1×TBST缓冲液中, 于摇床上缓慢洗涤3次, 5 min/次. 然后移入一抗 β -actin (1:5000)、LC3-II (1:1000), 置于4 °C孵育过夜. 次日洗膜后加入二抗(羊抗兔1:50000)中, 室温摇床孵育2 h. PBST洗3次, 每次5 min, 显色. 用Image软件对每个条带灰度值进行分析.

1.2.3 透射电镜观察自噬小体: 将细胞离心弃上清, 加入电镜固定液固定, 50%、70%、80%、90%乙醇梯度脱水, 丙酮置换, 浸渍、包埋、切片, 用醋酸双氧铀染色10 min后清洗, 用透射电镜检测.

1.2.4 金刚藤对ERS-自噬肝癌细胞模型增殖能力的影响: 金刚藤水煎液及含药血清的制备: (1)金刚藤水煎液的制备: 200 g金刚藤饮片, 加水至高出药物表面2 cm处, 浸泡2 h武火煮沸后改用文火煎煮30 min, 冷却, 过滤取汁(滤液1), 滤渣如上法再煎2次, 得到滤液2, 滤液3, 混合3次得到的药液, 浓缩至100 mL, 得到2 g/mL的药液, 4 °C保存备用; (2)含药血清的制备: SPF级SD大鼠8只, 随机分为空白组(control组)、金刚藤组(JGT组)、每组4只; JGT组以2 g/mL的金刚藤水煎液灌胃4 mL, control组给予等体积生理盐水灌胃, 每天灌胃2次、间隔12 h, 连续给药3 d; 末次给药1 h后以CO₂窒息法处死小鼠, 心脏取血, 静置后离心15 min取血清, 合并同组血清, 过滤、灭活除菌后得到含药血清, -80 °C冻存备用.

实验分组及给药方法: 取对数生长期SMMC-7721细胞分为control组、JGT-L组、DTT+JGT组, 用DMEM培养液调整细胞浓度为 1×10^5 个/mL, 加入96孔培养板、每孔0.1 mL, 在37 °C、5%CO₂培养箱中过夜, 待细胞贴壁70%-80%时, 弃去细胞培养液. Control、JGT组分别加入空白含药血清和金刚藤含药血清分别培养12 h. DTT+JGT组则予DTT 500 $\mu\text{mol/L}$ 孵育24 h后更换金刚藤含药血清继续培养12 h.

CCK-8法检测各组细胞的存活率: 每组重复6个

副孔, 每孔分别加入10 μ L的CCK-8, 继续置于37 $^{\circ}$ C、5%CO₂培养箱中孵育3 h. 用酶标仪测定450 nm波长处各孔的光密度值(OD值), 计算细胞的存活率, 存活率 = (实验组OD值/对照组OD值) \times 100%.

统计学处理 统计学方法采用SPSS21.0统计软件. 计量资料以mean \pm SD表示, 多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 SMMC-7721细胞ERS模型的建立

2.1.1 各组SMMC-7721细胞LC3-II蛋白的表达: 与control组比较, 各浓度处理组细胞中自噬相关蛋白LC3-II的表达均显著升高(P 均 < 0.05). 与200 μ mol/L组比较, 500 μ mol/L组LC3-II蛋白的表达显著升高($P < 0.05$, 表1, 图1).

2.1.2 各组细胞自噬小体的检测: DTT干预各组细胞内均可见自噬小体(如箭头所示), 并且随着DTT浓度的增加, 自噬小体数量逐渐增加, DTT 500 μ mol/L组可见大量自噬小体(图2).

2.2 金刚藤对ERS肝癌细胞模型存活率的影响

JGT、DTT+JGT组细胞存活率均显著低于control组($P < 0.05$); JGT组细胞存活率显著低于DTT+JGT组($P < 0.05$, 表2).

3 讨论

ER是存在于真核生物细胞内的网状结构, 具有调控细胞生理功能和维持细胞生存的作用, 是细胞对蛋白质合成后进行正确折叠和翻译后修饰的重要细胞器, 维持着细胞生存及功能, 在某些情况下, 如钙稳态失衡、氧化应激、感染等导致ER功能紊乱, 致未折叠或错误折叠的蛋白堆积, 则引发ERS^[10]. 研究表明, 在多种实体肿瘤中, 肿瘤细胞快速增殖, 使得肿瘤细胞在生长的过程中, 普遍存在缺血、缺氧的情况^[11]; 此外, 肿瘤细胞的快速增殖, 需要合成大量蛋白质, 这便可能有部分蛋白质折叠错误或者未折叠产生并堆积^[12]. 有研究发现, 肝癌患者肝癌细胞ERS是被激活的^[6]. DTT是一种ERS诱导剂, 可阻止蛋白质中的半胱氨酸残基的氧化, 干扰蛋白二硫键异构酶(protein disulfide isomerase, PDI)在蛋白质二硫键形成中的催化作用, 导致错误折叠的蛋白大量堆集, 从而诱发ERS^[13]. Cheng等^[14]成功利用DTT复制癌细胞ERS模型. 严冬梅等^[15]等运用DTT诱导SMMC-7721细胞ERS, 并观察了SMMC-7721细胞ERS状态下组蛋白的表达.

自噬系统是真核生物细胞蛋白质降解系统之一^[16]. ERS可诱导自噬的发生^[2,17]. 本研究发现, 不同浓度



图1 各组SMMC-7721细胞微管相关蛋白1轻链3-II的表达. LC3-II: 微管相关蛋白1轻链3-II.

DTT(50、200、500 μ mol/L)处理SMMC-7721细胞24 h后, 细胞中的自噬小体增多, 以DTT 500 μ mol/L组更为明显. 微管相关蛋白1轻链3(microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3), 参与了自噬体的形成. 自噬时, 微管相关蛋白1轻链3-I (microtubule-associated protein 1 light chain 3-I, LC3-I)转变为LC3-II, LC3-II附着在自噬体膜上, 是自噬体结构蛋白, 蛋白活性与细胞自噬水平呈正相关, 是自噬发生的标志^[18]. 本研究运用不同浓度DTT处理SMMC-7721细胞24 h, 观察到DTT可显著上调SMMC-7721细胞中自LC3-II蛋白的表达, 随着DTT浓度的增加, LC3-II蛋白的表达增加, DTT 500 μ mol/L组LC3-II蛋白的表达最高, 与Control组比较, 差异具有统计学意义. 由此可见, DTT可诱导SMMC-7721细胞ERS-自噬的发生.

无限增殖是恶性肿瘤细胞的重要特征之一, 许多抗癌药物都是通过抑制肿瘤细胞增殖来发挥抗肿瘤作用. 课题组前期用MMT法检测10种壮药含药血清对SMMC-7721细胞生长的抑制情况, 观察到金刚藤、藤梨根、叶下珠、半枝莲的含药血清具有较好的抑制肝癌细胞生长及增殖的作用, 其中金刚藤对SMMC-7721细胞抑制作用最强^[9], 课题组另一项研究表明金刚藤能够诱导肝癌细胞凋亡, 将其阻滞于S期, 机制可能与下调癌基因POLD1的表达有关^[19]. 本研究选用CCK-8法检测金刚藤对SMMC-7721细胞增殖的影响, 观察到金刚藤可以抑制SMMC-7721细胞增殖, 与课题组前期研究结果相一致. 有研究表明^[5], ERS-自噬对细胞的保护作用, 是肿瘤细胞化疗药物耐药的重要原因之一. ERS-自噬可抑制化疗药物顺铂抗人肝癌HepG2细胞的作用^[20]. 本研究结果显示, DTT+JGT组对SMMC-7721细胞抑制作用较Control组强($P < 0.05$), 但较JGT组弱($P < 0.05$), 提示DTT诱导的ERS-自噬, 增加了SMMC-7721细胞对金刚藤的抵抗性, 使SMMC-7721细胞在金刚藤的干预下细胞存活率的抑制作用减弱.

4 结论

综上所述, DTT可诱导肝癌SMMC-7721细胞ERS-自噬, 金刚藤可抑制SMMC-7721细胞的存活率, DTT诱导的ERS-自噬可抵抗金刚藤抑制SMMC-7721细胞的存活率. 由此推测, 抑制ERS-自噬在化疗药物耐药方面可能

表 1 各组SMMC-7721细胞微管相关蛋白1轻链3-II的表达(mean \pm SD, $n = 3$)

组别	LC3-II
Control	1.000 \pm 0.126
50 μ mol/L	1.670 \pm 0.073 ^a
200 μ mol/L	1.863 \pm 0.065 ^a
500 μ mol/L	1.992 \pm 0.129 ^{a,c}

^a $P < 0.05$ vs Control组; ^c $P < 0.05$ vs 500 μ mol/L组. LC3-II: 微管相关蛋白1轻链3-II.

表 2 各组SMMC-7721细胞存活率的比较(mean \pm SD, $n = 3$)

组别	存活率(%)
Control	100 \pm 5.533
JGT	28.107 \pm 3.863 ^a
DTT+JGT	79.882 \pm 2.607 ^{a,c}

^a $P < 0.05$ vs Control组; ^c $P < 0.05$ vs JGT组. DTT: 二硫苏糖醇; JGT: 金刚藤.

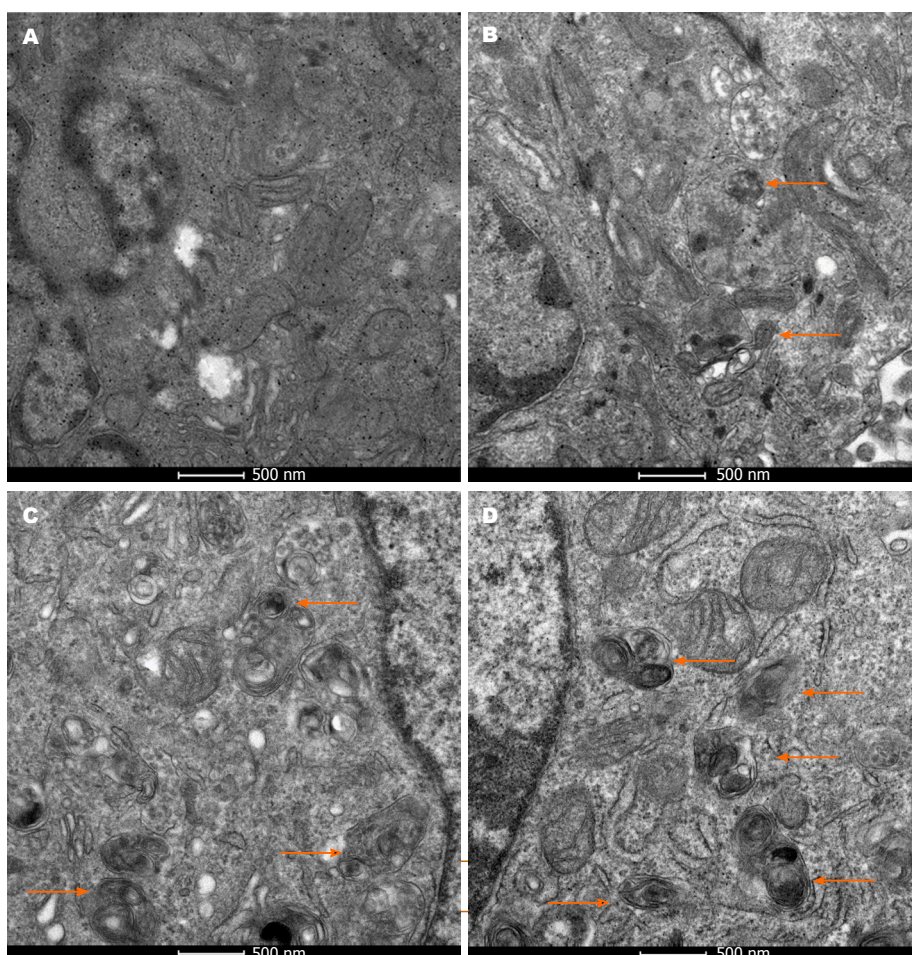


图 2 各二硫苏糖醇处理组SMMC-7721细胞的自噬情况. A: Control组; B: DTT 50 μ mol/L组; C: DTT 200 μ mol/L组; D: DTT 500 μ mol/L组. DTT: 二硫苏糖醇.

具有潜在的应用价值。

文章亮点

实验背景

肝癌是常见的消化道恶性肿瘤, 死亡率位居世界第2位。金刚藤具有抑制肝癌细胞的作用, 而内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)-自噬的保护作用能够促进肝癌细胞生存, 因而探寻肝癌细胞ERS-自噬对金刚藤抑制肝癌细胞作用的影响具有重要意义。

实验动机

临床治疗肝癌主要采用手术及化疗的方法, 但大部分确诊患者已失去手术机会, 而化疗存在副作用大且易产生耐药性。中医药治疗肝癌具有疗效稳定且副作用小的特点, 因而探寻金刚藤抗肝癌细胞的深层机制对于其临床运用及新的研究方向具有重要指导意义。

实验目标

探讨二硫苏糖醇(Dithiothreitol, DTT)诱导SMMC-7721细胞ERS-自噬及金刚藤的干预。

实验方法

ERS-自噬模型的复制: DTT处理SMMC-7721细胞, 采用透射电镜观察自噬小体和Western blot法检测微管相关蛋白1轻链3-II(microtubule-associated protein 1 light chain 3-II, LC3-II)蛋白的表达。金刚藤的干预: 运用金刚藤干预ERS-自噬肝癌SMMC-7721细胞模型, 采用CCK-8法检测细胞的存活率。

实验结果

DTT能够诱导肝癌SMMC-7721细胞ERS-自噬; DTT诱导肝癌SMMC-7721细胞的ERS-自噬可抵抗金刚藤抑制SMMC-7721细胞的存活率。

实验结论

DTT可诱导肝癌SMMC-7721细胞ERS-自噬, 且DTT诱导肝癌细胞的ERS-自噬可抵抗金刚藤抑制SMMC-7721细胞的存活率。

展望前景

抑制ERS-自噬在化疗药物耐药方面可能具有潜在的应用价值。

5 参考文献

- 1 Liu MQ, Chen Z, Chen LX. Endoplasmic reticulum stress: a novel mechanism and therapeutic target for cardiovascular diseases. *Acta Pharmacol Sin* 2016; 37: 425-443 [PMID: 26838072 DOI: 10.1038/aps.2015.145]

- 2 Yin XM, Ding WX, Gao WT. Autophagy in the liver. *Hepatology* 2008; 47: 1773-1785 [PMID: 18393362 DOI: 10.1002/hep.22146]
- 3 Sun WL, Chen J, Wang YP, Zheng H. Autophagy protects breast cancer cells from epirubicin-induced apoptosis and facilitates epirubicin-resistance development. *Autophagy* 2011; 7: 1035-1044 [PMID: 21646864 DOI: 10.4161/auto.7.9.16521]
- 4 Song B, Bian Q, Shao CH, Li G, Liu AA, Jing W, Liu R, Zhang YJ, Zhou YQ, Hu XG, Jin G. Ulinastatin reduces the resistance of liver cancer cells to epirubicin by inhibiting autophagy. *PLoS One* 2015; 10:e0120694 [PMID: 25815885 DOI: 10.1371/journal.pone.0120694]
- 5 TTavernier Q, Legras A, Didelot A, Normand C, Gibault L, Badoual C, Le Pimpec-Barthes F, Puig PL, Blons H, Pallet N. High expression of spliced X-Box Binding Protein 1 in lung tumors is associated with cancer aggressiveness and epithelial-to-mesenchymal transition. *Sci Rep* 2020; 10: 10188 [PMID: 32576923 DOI: 10.1038/s41598-020-67243-8]
- 6 Luo C, Xiong H, Chen L, Liu X, Zou S, Guan J, Wang K. GRP78 Promotes Hepatocellular Carcinoma proliferation by increasing FAT10 expression through the NF-κB pathway. *Exp Cell Res* 2018; 365: 1-11 [PMID: 29458176 DOI: 10.1016/j.yexcr.2018.02.007]
- 7 王静, 刘静, 曲红卫, 慕建宁, 卢占斌. 复方菝葜颗粒联合髂内动脉栓塞灌注化疗治疗局部晚期宫颈癌临床研究. *陕西中医* 2018; 39: 1122-1125 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-7369.2018.08.040]
- 8 尹天雷, 朱立华, 肖娟, 陈莎, 增锦宁. 复方菝葜颗粒治疗晚期非小细胞肺癌30例临床观察. *湖南中医杂志* 2018; 34: 1-3 [DOI: 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2018.12.001]
- 9 张子涵, 曹波, 张钰琴, 凌江红. 10种壮药含药血清抗人肝癌细胞的实验研究. *广西中医药* 2015; 38: 41-44
- 10 Nagelkerke A, Bussink J, Sweep FC, Span PN. The unfolded protein response as a target for cancer therapy. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1846: 277-284 [PMID: 25069067 DOI: 10.1016/j.bbcan.2014.07.006]
- 11 Ruan K, Song G, Ouyang G. Role of hypoxia in the hallmarks of human cancer. *J Cell Biochem* 2009; 107: 1053-1062 [PMID: 19479945 DOI: 10.1002/jcb.22214]
- 12 Feldman DE, Chauhan V, Koong AC. The unfolded protein response: a novel component of the hypoxic stress response in tumors. *Mol Cancer Res* 2005; 3: 597-605 [PMID: 16317085 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-05-0221]
- 13 Wilkinson B, Gilbert HF. Protein disulfide isomerase. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1699: 35-44 [PMID: 15158710 DOI: 10.1016/j.bbapap.2004.02.017]
- 14 Cheng Z, Rendleman J, Vogel C. Time-course proteomics dataset monitoring HeLa cells subjected to DTT induced endoplasmic reticulum stress. *Data in Brief* 2016; 8: 1168-1172 [PMID: 27547793 DOI: 10.1016/j.dib.2016.07.038]
- 15 严冬梅, 刘友平, 代荣阳, 段春燕, 陈绍坤. 肝癌细胞蛋白质组在DTT诱导内质网应激条件下的表达. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1331-1335 [DOI: 10.11569/wjcd.v19.i13.1331]
- 16 孙小霞, 姜昕. 泛素-蛋白酶体系统和自噬之间的关系. *中国医药科学* 2015; 5: 42-44
- 17 Ni Z, Gong Y, Dai X, Ding W, Wang B, Gong H, Qin L, Cheng P, Li S, Lian J, He F. AU4S: a novel synthetic peptide to measure the activity of ATG4 in living cells. *Autophagy* 2015; 11: 403-415 [PMID: 25831015 DOI: 10.1080/15548627.2015.1009773]
- 18 Yu L, McPhee CK, Zheng L, Mardones GA, Rong Y, Peng J, Mi N, Zhao Y, Liu Z, Wan F, Hailey DW, Oorschot V, Klumperman J, Baehrecke EH, Lenardo MJ. Termination of autophagy and reformation of lysosomes regulated by mTOR. *Nature* 2010; 465: 942-946 [PMID: 20526321 DOI: 10.1038/nature09076]
- 19 Cao B, Zhang Z, Zhang Y, Li J, Liang G, Ling J. Effect of Smilax china L.-containing serum on the expression of POLD1 mRNA in human hepatocarcinoma SMMC-7721 cells. *Exp Ther Med* 2013; 6: 1070-1076 [PMID: 24137319 DOI: 10.3892/etm.2013.1264]

20 Zhang LJ, Li ZQ, Yang YP, Li XW, Ji JF. Tunicamycin suppresses cisplatin-induced HepG2 cell apoptosis via

enhancing p53 protein nuclear export. *Mol Cell Biochem* 2009; 327: 171-182 [PMID: 19242657 DOI: 10.1007/s11010-009-0055-z]

科学编辑: 张晗 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2020 Baishideng Publishing Group Inc.
All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

本刊讯 为了保证作者来稿及时发表, 同时保护作者与《世界华人消化杂志》的合法权益, 本刊对修回稿要求如下。

1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版版权转让给本刊编辑部。

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者复核要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期发回的, 作重新投稿处理。

3 版权

本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期); 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》等媒体上长期发布; 作者允许该文章被美国《化学文摘》、荷兰《医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》等国外相关文摘与检索系统收录。



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

