

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

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2020 年 11 月 28 日 第 28 卷 第 22 期 (Volume 28 Number 22)



22 / 2020

《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。

ISSN 1009-3079



9 771009 307056



述评

- 1107 浅谈联合动脉切除的胰腺癌根治术的进展
贾浪, 朱世凯
- 1112 炎症性肠病的发病机制及基于肠道菌群的药物研究策略
廖紫琼, 纪秋风, 周本杰

基础研究

- 1121 翠云草总黄酮对胃癌细胞增殖、凋亡及糖酵解水平的影响
张建海, 俞建洪
- 1128 基于*HOXB8*基因的结直肠癌预后模型及列线图的建立与验证
池强伟, 赵畅, 李绍堂

临床研究

- 1137 无创模型在慢性乙型肝炎肝纤维化诊断中的价值
杨晴, 王岩, 关欣, 谷野, 李鲁平, 戴文颖, 卞丽, 尚宁
- 1145 乳头括约肌不同大小切开联合大气囊扩张术对胆总管大结石患者远期结石复发的影响
周盟, 何家俊, 费诗茵, 王婷婷, 陈炜炜, 陈超伍, 刘军

文献综述

- 1150 胰腺癌细胞内吉西他滨耐药机制的研究进展
顾宗廷, 李宗泽, 王成锋
- 1162 水辅助结肠镜的发展现状
沈军权

消 息

- 1111 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
1136 《世界华人消化杂志》正文要求
1161 《世界华人消化杂志》外文字符标准
1166 《肠道微生物与消化系统疾病》书讯

封面故事

闫峰, 男, 主任医师、医学博士、博士后、硕士研究生导师. 厦门市首批创新创业人才, 首批厦门市科技计划杰出青年基金获得者. 中国医师协会结直肠癌专委会委员、中国医师协会肥胖及糖尿病外科医师委员会中青年委员、中国NOSES联盟福建省分会常务理事、福建省肿瘤防治联盟胃癌专委会委员. 《世界华人消化杂志》编委. 在胃肠道肿瘤基础与临床、肿瘤多药耐药相关研究方面成绩突出. 主持国家自然科学基金、中国医学基金会、福建省自然科学基金等课题多项. 发表论文近30篇, 其中SCI收录6篇, 研究成果获厦门市科技进步奖. 擅长胃癌、结直肠癌的腹腔镜微创手术治疗、胃肠间质瘤的手术及靶向治疗、便秘的综合治疗等.

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 2020-11-28

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.



EDITORIAL

- 1107 Recent advances in radical resection combined with arterial resection in pancreatic cancer

Jia L, Zhu SK

- 1112 Strategies for inflammatory bowel disease drug research by targeting gut microbiota

Liao ZQ, Ji QF, Zhou BJ

BASIC RESEARCH

- 1121 Effect of total flavones of *Selaginella uncinata* (Desv.) spring on proliferation, apoptosis, and glycolysis in gastric cancer cells

Zhang JH, Yu JH

- 1128 Development and validation of a *HOXB8* gene-based prognostic model and nomogram for colorectal cancer patients

Chi QW, Zhao C, Li S

CLINICAL RESEARCH

- 1137 Evaluation of liver fibrosis by non-invasive diagnostic indexes in patients with chronic hepatitis B

Yang Q, Wang Y, Guan X, Gu Y, Li LP, Dai WY, Bian L, Shang N

- 1145 Effect of different size sphincterotomy combined with large balloon dilatation on long-term recurrence of choledocholithiasis in patients with large common duct stones

Zhou M, He JJ, Fei SY, Wang TT, Chen WW, Chen CW, Liu J

REVIEW

- 1150 Research advances of intracellular mechanisms underlying gemcitabine resistance in pancreatic cancer

Gu ZT, Li ZZ, Wang CF

- 1162 Current status of water-assisted colonoscopy

Shen JQ

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 28 Number 22 November 28, 2020

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Feng Yan, Chief Physician, Associate Professor, Zhongshan Hospital Xiamen University, No. 201, Hubin South Road, Siming District, Xiamen 361004, Fujian 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 November 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.

翠云草总黄酮对胃癌细胞增殖、凋亡及糖酵解水平的影响

张建海, 俞建洪

张建海, 俞建洪, 绍兴文理学院附属医院(绍兴市立医院)老年医学科
浙江省绍兴市 312000

张建海, 本科, 主治医师, 研究方向为大内科.

作者贡献分布: 此课题由张建海与俞建洪设计; 研究过程由张建海与俞建洪操作完成; 研究所用试剂由张建海提供; 数据分析由俞建洪完成; 本文写作由张建海完成

通讯作者: 张建海, 主治医师, 312000, 浙江省绍兴市越城区中兴南路999号绍兴文理学院附属医院老年医学科, 绍兴文理学院附属医院(绍兴市立医院)老年医学科. zjhsjh8589@163.com

收稿日期: 2020-08-03

修回日期: 2020-09-22

接受日期: 2020-10-16

在线出版日期: 2020-11-28

Effect of total flavones of *Selaginella uncinata* (Desv.) spring on proliferation, apoptosis, and glycolysis in gastric cancer cells

Jian-Hai Zhang, Jian-Hong Yu

Jian-Hai Zhang, Jian-Hong Yu, Department of Geriatric Medicine, Affiliated Hospital of Shaoxing College of Arts and Sciences (Shaoxing Municipal Hospital), Shaoxing 312000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Jian-Hai Zhang, Bachelor Degree, Attending Physician, Department of Geriatric Medicine, Affiliated Hospital of Shaoxing College of Arts and Sciences (Shaoxing Municipal Hospital), No. 999 Zhongxing South Road, Yuecheng District, Shaoxing 312000, Zhejiang Province, China. zjhsjh8589@163.com

Received: 2020-08-03

Revised: 2020-09-22

Accepted: 2020-10-16

Published online: 2020-11-28

Abstract

BACKGROUND

Plant extracts have anti-gastric cancer effects, but

the specific mechanisms of action have not yet been elucidated. Total flavones of *Selaginella uncinata* (Desv.) spring (TFS) have anti-inflammatory, antioxidant, and anti-tumor effects, but their effect on the biological behavior of gastric cancer cells and the underlying mechanism have not been elucidated.

AIM

To explore the effect of TFS on the proliferation, apoptosis, and glycolysis in gastric cancer cells and its regulatory effect on circ_0009910.

METHODS

Human gastric cancer cell line AGS was cultured *in vitro*, and the cells were treated with different concentrations of TFS. pcDNA and pcDNA-circ_0009910 were transfected into AGS cells, respectively, and the cells were then treated with TFS. Cell proliferation was detected by MTT method and plate clone formation assay. Flow cytometry was used to detect the apoptosis rate. The lactate dehydrogenase colorimetric method was used to detect lactic acid content and glucose consumption. The expression of circ_0009910 was detected by qRT-PCR method. Western blot method was used to detect the expression of Bax and Bcl-2 proteins.

RESULTS

TFS treatment significantly reduced cell viability, the protein level of Bcl-2, glucose consumption, the level of lactate ($P < 0.05$), and the number of formed clones ($P < 0.05$), and increased the apoptosis rate and the protein level of Bax ($P < 0.05$). The expression level of circ_0009910 was decreased ($P < 0.05$) in a dose-dependent manner. Compared with the TFS-H + pcDNA group, cell viability, the protein level of Bcl-2, glucose consumption, the lactate level, and the number of formed clones in the TFS-H + pcDNA-circ_0009910 group were increased significantly ($P < 0.05$), and the apoptosis rate and the protein level of Bax were significantly reduced (P

<0.05).

CONCLUSION

TFS can promote apoptosis, inhibit proliferation, and reduce glycolysis by down-regulating the expression of circ_0009910 in gastric cancer cells.

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

Key Words: Total flavones of *Selaginella uncinata* (Desv.) spring; Gastric cancer; circ_0009910; Proliferation; Apoptosis; Glycolysis

Citation: Zhang JH, Yu JH. Effect of total flavones of *Selaginella uncinata* (Desv.) spring on proliferation, apoptosis, and glycolysis in gastric cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2020; 28(22): 1121-1127

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i22/1121.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i22.1121>

摘要

背景

植物提取物具有抗胃癌的作用, 但关于其具体作用机制尚未阐明. 翠云草总黄酮具有抗炎、抗氧化及抗肿瘤的作用, 但翠云草总黄酮对胃癌细胞生物学行为的影响及其可能作用机制尚未阐明.

目的

探讨翠云草总黄酮(TFS)对胃癌细胞增殖、凋亡、糖酵解水平的影响及其对环状RNA_circ_0009910(circ_0009910)的调控作用.

方法

体外培养人胃癌细胞AGS, 使用不同浓度的TFS处理细胞, 同时分别将pcDNA、pcDNA-circ_0009910转染至AGS细胞, 继而使用TFS处理细胞; 采用MTT法与平板克隆形成实验检测细胞增殖能力; 流式细胞术检测细胞凋亡率; 采用乳酸脱氢酶比色法检测乳酸含量, 以及检测葡萄糖消耗; 采用qRT-PCR法检测circ_0009910的表达量; Western blot法检测Bax、Bcl-2蛋白表达量.

结果

TFS处理后可明显降低细胞活力与Bcl-2蛋白水平及葡萄糖消耗、乳酸水平($P<0.05$), 减少克隆形成数($P<0.05$), 提高凋亡率及Bax蛋白水平($P<0.05$), 降低circ_0009910的表达水平($P<0.05$), 且呈剂量依赖性; 与TFS-H+pcDNA组比较, TFS-H+pcDNA-circ_0009910组细胞活力、Bcl-2蛋白水平及葡萄糖消耗、乳酸水平显著升高($P<0.05$), 克隆形成数显著增多($P<0.05$), 凋亡率及Bax蛋白水平显著降低

($P<0.05$).

结论

翠云草总黄酮可通过下调circ_0009910的表达从而促进胃癌细胞凋亡, 抑制细胞增殖, 以及降低糖酵解水平.

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

关键词: 翠云草总黄酮; 胃癌; circ_0009910; 增殖; 凋亡; 糖酵解

核心提要: 翠云草总黄酮治疗胃癌的分子机制尚未阐明, 本研究采用不同浓度的翠云草总黄酮处理胃癌细胞, 并观察其对细胞增殖、凋亡及糖酵解水平的影响, 旨在为阐释翠云草总黄酮抗胃癌的分子机制奠定实验基础, 并可为胃癌的治疗提供新方向.

文献来源: 张建海, 俞建洪. 翠云草总黄酮对胃癌细胞增殖、凋亡及糖酵解水平的影响. *世界华人消化杂志* 2020; 28(22): 1121-1127

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i22/1121.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i22.1121>

0 引言

胃癌是我国常见的消化系统恶性肿瘤之一, 其发病率逐年上升, 已严重威胁人类生命安全, 由于胃癌发病初期较为隐匿导致大部分患者确诊时已处于癌症晚期, 失去最佳治疗时机, 随着不断深入研究以及研发新型治疗药物, 胃癌患者预后明显改善, 但患者的远期生存情况不佳, 而化疗药物具有较强的毒副作用从而限制其应用^[1,2]. 因而研发治疗效果好且副作用小的药物具有重要意义. 天然中药的提取物成为治疗癌症的热点研究, 研究表明部分中药提取物具有抗胃癌的作用, 但关于其具体作用机制尚未阐明^[3,4]. 翠云草属于卷柏科卷柏属植物, 其具有清热解毒、止血等作用, 其主要活性成分为黄酮, 研究表明翠云草总黄酮(total flavones of *Selaginella uncinata* (Desv.) spring, TFS)可抑制肺癌细胞增殖及诱导细胞周期阻滞^[5]. 但翠云草总黄酮对胃癌的治疗效果及其可能作用机制尚未阐明. 环状RNA (circular RNA, circRNA)在肿瘤发生及发展过程中可能发挥癌基因或抑癌基因作用, 环状RNA_circ_0009910(circular RNA_0009910, circ_0009910)在胃癌细胞中表达水平升高, 并可促进细胞增殖、迁移及侵袭^[6]. 但翠云草总黄酮是否以circ_0009910为作用靶点而发挥作用尚未可知. 因此, 本研究主要探讨翠云草总黄酮对胃癌细胞增殖、凋亡及糖酵解水平的影响, 探究其对circ_0009910

的调控作用。

1 材料和方法

1.1 材料 翠云草购自三原天域生物制品有限公司; 胃癌细胞AGS购自美国ATCC细胞库; DMEM培养液、胎牛血清、胰蛋白酶购自美国Hyclone公司; Lipofectamine2000购自美国Thermo Fisher公司; Trizol试剂购自北京全式金生物技术有限公司; 荧光定量检测试剂盒购自北京天根生化科技有限公司; pcDNA3.1购自上海索宝生物科技有限公司; MTT购自北京鼎国昌盛生物技术有限公司; Annexin V-FITC/PI双染法细胞凋亡检测试剂盒购自美国Sigma公司; 乳酸水平检测试剂盒与葡萄糖消耗检测试剂盒购自美国Bivision公司; 兔抗人Bax、Bcl-2抗体购自美国CST公司; HRP标记的山羊抗兔二抗购自美国Abcam公司。

1.2 方法

1.2.1 实验分组: 翠云草总黄酮制备: 精确称量1000 g翠云草, 研磨呈粉状, 使用60目筛过滤, 阿计入60%乙醇后加热处理20 min, 收集滤液, 减压, 蒸发, 烘干, 加入吸附树脂进行纯化, 加入70%乙醇洗脱, 浓缩干燥后获得翠云草提取物, 以芦丁为对照品, 翠云草提取物中加入甲醇进行溶解, 应用酶标仪进行扫描, 在波长510 nm处有最大吸收峰, 其吸收光谱与芦丁相似, 同时以芦丁为标准品绘制标准曲线, 根据回归方程计算翠云草提取物中的总黄酮含量(2.68 mg/g), 翠云草总黄酮加入DMSO进行溶解, 配置浓度为1 mg/mL的母液, 根据实验需要进行稀释液, 浓度分别为5 μ g/mL、15 μ g/mL、25 μ g/mL^[7]。

胃癌细胞AGS接种于96孔板(1×10^4 个/孔), 分别加入不同浓度(5 μ g/mL、15 μ g/mL、25 μ g/mL)的翠云草总黄酮干预24 h, 分别记作TFS-L组、TFS-M组、TFS-H组。同时将正常培养的细胞作为Con组。参照Lipofectamine2000说明书分别将pcDNA、pcDNA-circ_0009910转染至AGS细胞, 加入含有浓度为25 μ g/mL 翠云草总黄酮的培养液处理24 h, 分别记作TFS-H+pcDNA组、TFS-H+pcDNA-circ_0009910组。

1.2.2 MTT检测细胞增殖: 收集各组AGS细胞(3×10^4 个/mL)接种于96孔板(100 μ L/孔), 每孔加入20 μ L MTT溶液, 置于培养箱内培养4 h, 弃上清, 分别加入150 μ L DMSO, 室温孵育10 min, 应用酶标仪检测各孔在波长490 nm处的光密度值(OD值)。

1.2.3 平板克隆形成实验: 收集各组AGS细胞种于细胞培养皿(200个/皿), 置于培养箱孵育24 h, 弃旧培养基, PBS洗涤, 加入消化液消化, 加入含有10%胎牛血清培养液制备细胞悬液, 接种于6孔板(200个/孔), 置于培养

箱孵育, 每3 d更换一次培养液, 14 d后出现肉眼可见细胞克隆的形成, 移除培养液, 加入PBS洗涤, 加入0.1%结晶紫染色20 min, 清水洗涤, 观察细胞克隆形成数, 高于50个克隆数即为有效克隆。

1.2.4 流式细胞术检测细胞凋亡率: 收集各组AGS细胞, 预冷PBS洗涤, 细胞沉淀中加入500 μ L结合缓冲液, 参照细胞凋亡检测试剂盒依次分别加入5 μ L Annexin V-FITC与5 μ L PI, 室温振荡孵育10 min, 应用FACS Calibur流式细胞仪及应用Cellaquest软件检测各组细胞凋亡率。

1.2.5 检测细胞中葡萄糖消耗及乳酸水平: 采用乳酸脱氢酶比色法检测各组细胞培养基中的乳酸含量, 严格按照试剂盒说明书进行操作。根据葡萄糖消耗检测试剂盒说明书检测各组细胞葡萄糖消耗, 严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.2.6 实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测circ_0009910的表达水平: 收集各组AGS细胞, 采用Trizol法提取细胞总RNA。参照反转录试剂盒合成cDNA。circ_0009910正向引物5'-GCCAGCTGTGAGTGTT TCTT-3', 反向引物: 5'-CGCATCGATCAG CTACACG-3'; GAPDH正向引物5'-GGAGCGAGATCCCTC CAAAAT-3', 反向引物: 5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3, 引物由上海生工生物工程股份有限公司设计合成。以cDNA为模板进行qRT-PCR扩增, 反应体系: 10 \times PCR Buffer 2.5 μ L, MgSO₄ 2.5 μ L, dNTPs 2.5 μ L, 正反向引物各0.5 μ L, cDNA 2 μ L, RNase-Free ddH₂O补足体系至25 μ L; 反应条件: 95 $^{\circ}$ C预变性2 min, 95 $^{\circ}$ C变性30 s, 58 $^{\circ}$ C退火30 s, 72 $^{\circ}$ C延伸30 s, 共36次循环。circ_0009910以GAPDH为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算circ_0009910相对表达量。

1.2.7 蛋白免疫印迹(Western blot)检测Bax、Bcl-2蛋白表达: 收集各组AGS细胞, 加入蛋白裂解液提取细胞总蛋白, 采用BCA法测定蛋白浓度, 取50 μ g变性蛋白进行SDS-PAGE), 转膜, 封闭, 分别加入一抗稀释液(1:1000), 4 $^{\circ}$ C孵育24 h, TBST洗涤, 加入二抗稀释液(1:2000), 室温孵育1 h, TBST洗涤, 暗室内曝光显影, 应用ImageJ软件分析各条带灰度值。

统计学处理 采用SPSS 21.0统计学软件分析数据, 计量资料以mean \pm SD表示且均符合正态分布, 两组间比较采用独立样本t检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 翠云草总黄酮对胃癌细胞AGS增殖的影响 与Con组比较, TFS-L组、TFS-M组、TFS-H组细胞活力显著降

低($P<0.05$), 克隆形成数显著减少($P<0.05$), 且TFS-L组、TFS-M组、TFS-H组各指标比较差异均具有统计学意义($P<0.05$), 见表1。

2.2 翠云草总黄酮对胃癌细胞AGS凋亡的影响 与Con组比较, TFS-L组、TFS-M组、TFS-H组凋亡率显著升高($P<0.05$), Bax蛋白水平显著升高($P<0.05$), Bcl-2蛋白水平显著降低($P<0.05$), 且TFS-L组、TFS-M组、TFS-H组各指标比较差异均具有统计学意义($P<0.05$), 见图1、表2。

2.3 翠云草总黄酮对胃癌细胞AGS中糖酵解水平的影响 与Con组比较, TFS-L组、TFS-M组、TFS-H组葡萄糖消耗、乳酸水平显著降低($P<0.05$), 且TFS-L组、TFS-M组、TFS-H组各指标比较差异均具有统计学意义($P<0.05$), 见表3。

2.4 翠云草总黄酮对胃癌细胞AGS中circ_0009910表达量的影响 与Con组比较, TFS-L组、TFS-M组、TFS-H组circ_0009910的表达水平显著降低($P<0.05$), 且TFS-L组、TFS-M组、TFS-H组间circ_0009910的表达水平比较差异均具有统计学意义($P<0.05$), 见表4。

2.5 circ_0009910过表达可降低翠云草总黄酮对胃癌细胞AGS增殖及凋亡的作用 与TFS-H+pcDNA组比较, TFS-H+pcDNA-circ_0009910组细胞活力显著升高($P<0.05$), 克隆形成数显著增多($P<0.05$), 凋亡率显著降低($P<0.05$), Bax蛋白水平显著降低($P<0.05$), Bcl-2蛋白水平显著升高($P<0.05$), 见图2、表5。

2.6 circ_0009910过表达可降低翠云草总黄酮对胃癌细胞AGS中糖酵解水平的作用 与TFS-H+pcDNA组比较, TFS-H+pcDNA-circ_0009910组葡萄糖消耗、乳酸水平显著升高($P<0.05$), 见表6。

3 讨论

目前多数研究表明中药具有抗胃癌等作用, 并可能通过调控细胞增殖、迁移及侵袭等从而发挥作用, 但关于其作用机制尚未完全阐明^[8,9]。circRNA在胃癌发生及发展过程中发挥重要调控作用, 并可能作为胃癌靶向治疗的潜在靶点^[10]。但circRNA是否可介导中药提取物对胃癌的治疗过程尚未阐明。

翠云草黄酮类化合物具有抗氧化、抗肿瘤等作用, 但其对胃癌的治疗效果及其可能作用机制尚未阐明^[11-13]。本研究结果显示不同浓度的翠云草总黄酮可降低胃癌细胞活力, 减少克隆形成数, 且呈剂量依赖性, 提示翠云草总黄酮可抑制胃癌细胞增殖。细胞增殖与凋亡失衡是促进胃癌等肿瘤发生及发展的重要原因之一, 细胞凋亡过程中Bcl-2表达上调可抑制细胞凋亡, Bax表达上调可促进细胞凋亡^[14]。本研究结果显示不同浓度的翠云草总

黄酮可提高细胞凋亡率, 促进Bax表达及抑制Bcl-2表达, 且呈剂量依赖性, 提示翠云草总黄酮可促进胃癌细胞凋亡。糖酵解水平升高可促进胃癌等肿瘤增殖、细胞迁移及侵袭^[15]。本研究结果显示不同浓度的翠云草总黄酮可降低胃癌细胞中葡萄糖消耗、乳酸水平, 且随着药物剂量的升高而显著降低, 提示翠云草总黄酮可抑制糖酵解反应从而抑制胃癌细胞增殖。

circ_0009910表达上调可促进胃癌细胞增殖及转移^[16]。沉默circ_0009910可通过促进miR-20a-5p表达而抑制急性髓性白血病细胞的生长^[17]。circ_0009910通过调控miR-335-5p/ROCK1分子轴促进肝癌细胞增殖及转移^[18]。本研究结果显示不同浓度的翠云草总黄酮处理后胃癌细胞中circ_0009910的表达水平明显降低, 而circ_0009910过表达后可明显减弱翠云草总黄酮对胃癌细胞增殖、凋亡及糖酵解的作用。

4 结论

综上所述, 翠云草总黄酮可通过下调circ_0009910的表达从而抑制胃癌细胞增殖、糖酵解反应及促进细胞凋亡, 为进一步阐释翠云草总黄酮抗肿瘤作用奠定实验基础。但关于circ_0009910如何调控下游基因表达及其可能作用机制仍需进一步探究。

文章亮点

实验背景

胃癌发病机制尚未阐明, 由于胃癌早期临床症状不明显导致大部分患者确诊时已处于晚期, 失去最佳治疗时机, 化疗等药物对人体造成一定损害, 而天然植物提取物具有抗胃癌等作用, 但关于其具体作用机制尚未阐明。

实验动机

翠云草总黄酮的主要活性成分为黄酮, 其具有抗炎、抗氧化与抗肿瘤等作用, 但翠云草总黄酮对胃癌的治疗效果尚未可知, 因而本研究采用体外细胞实验初步验证翠云草总黄酮对胃癌细胞增殖、凋亡及糖酵解水平的影响, 为胃癌的治疗提供新方向。

实验目标

翠云草总黄酮具有抗胃癌的作用, 其作用机制可能通过调控circ_0009910的表达而实现。

实验方法

采用MTT实验与平板克隆形成实验检测翠云草总黄酮对胃癌细胞增殖能力的影响; 采用流式细胞术检测翠云

表 1 翠云草总黄酮对胃癌细胞AGS增殖的影响(mean ± SD, $n = 9$)

组别	OD值	克隆形成数(个)
Con	0.70 ± 0.04	93.89 ± 6.64
TFS-L	0.59 ± 0.03 ^a	76.00 ± 4.95 ^a
TFS-M	0.49 ± 0.03 ^{ab}	58.44 ± 4.61 ^{ab}
TFS-H	0.32 ± 0.07 ^{abc}	29.44 ± 3.68 ^{abc}
<i>F</i>	112.916	262.541
<i>P</i> 值	0.000	0.000

与Con组比较, ^a $P < 0.05$; 与TFS-L组比较, ^b $P < 0.05$; 与TFS-M组比较, ^c $P < 0.05$.

表 2 翠云草总黄酮对胃癌细胞AGS凋亡的影响(mean ± SD, $n = 9$)

组别	凋亡率(%)	Bax	Bcl-2
Con	5.79 ± 1.54	0.29 ± 0.04	0.98 ± 0.06
TFS-L	13.13 ± 1.83 ^a	0.50 ± 0.06 ^a	0.77 ± 0.05 ^a
TFS-M	18.18 ± 1.10 ^{ab}	0.77 ± 0.09 ^{ab}	0.58 ± 0.06 ^{ab}
TFS-H	24.85 ± 2.23 ^{abc}	0.93 ± 0.05 ^{abc}	0.39 ± 0.07 ^{abc}
<i>F</i>	196.084	183.703	157.973
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000

与Con组比较, ^a $P < 0.05$; 与TFS-L组比较, ^b $P < 0.05$; 与TFS-M组比较, ^c $P < 0.05$.

表 3 翠云草总黄酮对胃癌细胞AGS中糖酵解水平的影响(mean ± SD, $n = 9$)

组别	葡萄糖消耗($\times 10^6 \mu\text{mol/L}$)	乳酸($\times 10^6 \mu\text{mol/L}$)
Con	17.32 ± 1.16	27.81 ± 0.62
TFS-L	14.61 ± 0.52 ^a	22.45 ± 1.50 ^a
TFS-M	10.98 ± 0.90 ^{ab}	18.90 ± 0.76 ^{ab}
TFS-H	8.22 ± 0.78 ^{abc}	13.26 ± 1.76 ^{abc}
<i>F</i>	191.107	213.336
<i>P</i> 值	0.000	0.000

与Con组比较, ^a $P < 0.05$; 与TFS-L组比较, ^b $P < 0.05$; 与TFS-M组比较, ^c $P < 0.05$.

表 4 翠云草总黄酮对胃癌细胞AGS中circ_0009910表达量的影响(mean ± SD, $n = 9$)

组别	circ_0009910
Con	1.01 ± 0.01
TFS-L	0.79 ± 0.06 ^a
TFS-M	0.58 ± 0.05 ^{ab}
TFS-H	0.34 ± 0.10 ^{abc}
<i>F</i>	182.667
<i>P</i> 值	0.000

与Con组比较, ^a $P < 0.05$; 与TFS-L组比较, ^b $P < 0.05$; 与TFS-M组比较, ^c $P < 0.05$.

草总黄酮对胃癌细胞凋亡能力的影响; 根据试剂盒检测翠云草总黄酮对胃癌细胞糖酵解水平的影响; 采用qRT-

PCR实验检测翠云草总黄酮对胃癌细胞中circ_0009910表达水平的影响; circ_0009910过表达载体转染入胃癌

表 5 circ_0009910过表达可降低翠云草总黄酮对胃癌细胞AGS增殖及凋亡的作用(mean ± SD, n = 9)

组别	circ_0009910	OD值	克隆形成数(个)	凋亡率(%)	Bax	Bcl-2
TFS-H+pcDNA	1.00 ± 0.01	0.31 ± 0.06	29.67 ± 7.60	24.68 ± 3.49	0.93 ± 0.03	0.38 ± 0.09
TFS-H+pcDNA-circ_0009910	2.36 ± 0.39 ^a	0.63 ± 0.09 ^a	67.22 ± 12.98 ^a	13.90 ± 1.57 ^a	0.58 ± 0.06 ^a	0.78 ± 0.08 ^a
<i>t</i>	10.458	8.875	7.489	8.451	15.652	9.965
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与TFS-H+pcDNA组比较, ^a*P*<0.05.

表 6 circ_0009910过表达可降低翠云草总黄酮对胃癌细胞AGS中糖酵解水平的作用(mean ± SD, n = 9)

组别	葡萄糖消耗(× 10 ⁶ μmol/L)	乳酸(× 10 ⁶ μmol/L)
TFS-H+pcDNA	8.23 ± 0.46	13.28 ± 0.77
TFS-H+pcDNA-circ_0009910	15.38 ± 0.80 ^a	20.41 ± 1.59 ^a
<i>t</i>	23.244	12.108
<i>P</i> 值	0.000	0.000

与TFS-H+pcDNA组比较, ^a*P*<0.05.

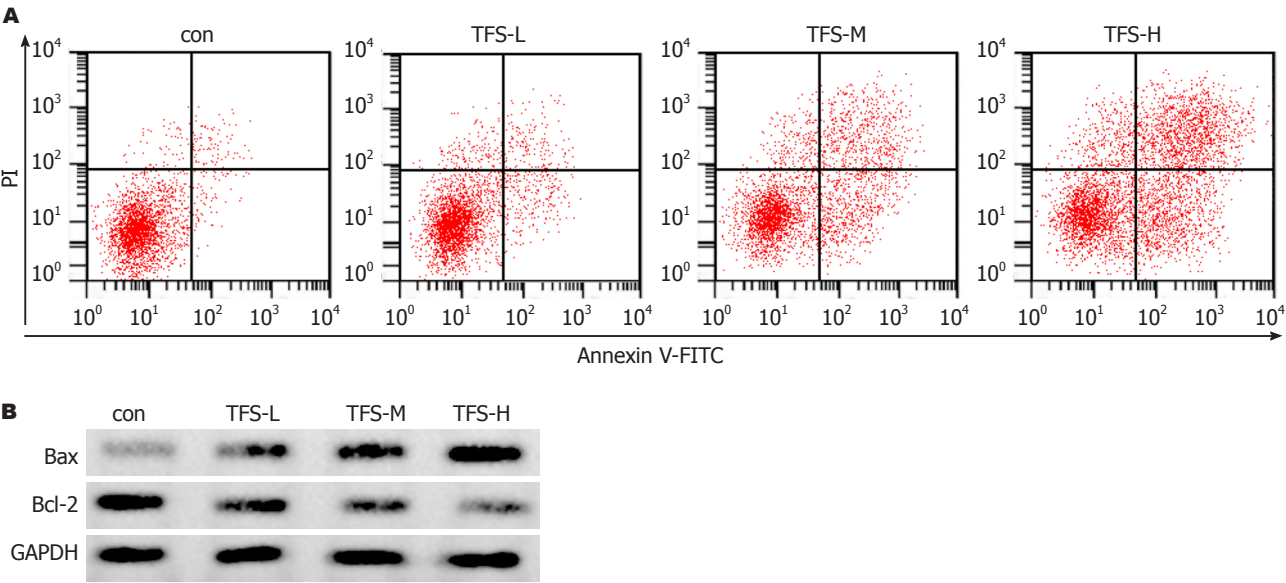


图 1 翠云草总黄酮对胃癌AGS细胞凋亡的影响. A: 流式细胞术检测AGS细胞凋亡; B: Western blot法检测Bax、Bcl-2蛋白表达.

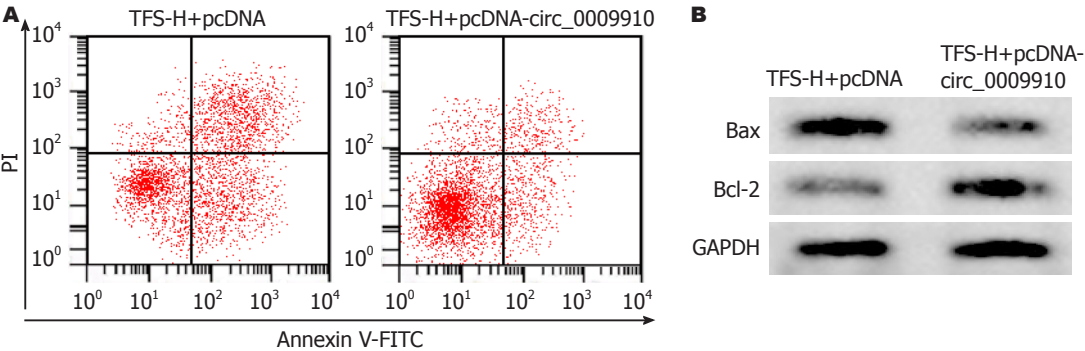


图 2 circ_0009910过表达可降低翠云草总黄酮对胃癌细胞AGS凋亡的作用. A: 流式细胞术检测AGS细胞凋亡; B: Western blot法检测Bax、Bcl-2蛋白表达.

细胞后加入翠云草总黄酮培养, 采用上述方法检测细胞增殖、凋亡及糖酵解水平。

实验结果

翠云草总黄酮可抑制胃癌细胞增殖及降低糖酵解水平, 并可诱导细胞凋亡; circ_0009910过表达可明显逆转翠云草总黄酮对胃癌细胞增殖、凋亡及糖酵解水平的作用。

实验结论

翠云草总黄酮可抑制胃癌细胞增殖、糖酵解反应及促进细胞凋亡, 其作用机制可能与下调circ_0009910的表达有关。

展望前景

circ_0009910可充当miRNA的海绵分子, 关于其如何调控下游miRNA表达而参与胃癌细胞增殖、凋亡及糖酵解反应过程尚需进一步探究。

5 参考文献

- 汪晓辉, 卫莹芳, 程红. 汉黄芩素对胃癌细胞SGC7901凋亡、侵袭迁移及Wnt/ β -catenin信号通路的影响研究. 中药材 2016; 39: 1372-1376 [DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2016.06.043]
- 宣平, 李子芳, 周亮, 李厥宝. 槲寄生多糖调控胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的机制研究. 世界华人消化杂志 2019; 27: 80-86 [DOI: 10.11569/wjcd.v27.i2.80]
- 徐里, 赵川, 张延武. 桔梗皂苷-D对胃癌细胞侵袭迁移能力的影响及机制研究. 中药材 2017; 40: 1727-1731 [DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2017.07.049]
- 孙玉成, 朴松山. 蒲公英提取物抑制人胃癌细胞侵袭迁移能力的实验研究. 中国临床研究 2019; 32: 477-481 [DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2019.04.010]
- 舒姮, 毛知娟, 杨勇, 周燕, 叶卉. 翠云草总黄酮对肺癌细胞生长的抑制作用. 中药与临床, 2019; 10: 27-29
- 刘铭, 张乐, 刘凯东, 白月奎. circ_0009910在胃癌细胞中作用机制初步研究. 国际外科学杂志 2020; 47: 240-245
- 孙颖楠, 陈科力, 刘震. 翠云草总黄酮对结肠癌HT-29细胞COX-2 mRNA表达的抑制作用. 中国药师 2010; 13: 163-164
- 王爱红, 黄兰燕, 米志宽. 中药抑制胃癌肿瘤细胞增殖研究进展. 陕西中医 2018; 39: 403-405 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-7369.2018.03.041]
- 张莹, 王广, 左天, 张小海, 张祚, 徐燃, 张绍鹏. 竹节参皂苷IV、IVa和V对胃癌SGC-7901细胞增殖、凋亡、迁移及侵袭的作用. 中药新药与临床药理 2019; 30: 796-801
- Zhang Y, Liu H, Li WD, Yu J, Li J, Shen ZY, Ye GT, Qi XL, Li GX. CircRNA_100269 is downregulated in gastric cancer and suppresses tumor cell growth by targeting miR-630. *Aging (Albany NY)* 2017; 9: 1585-1594 [PMID: 28657541 DOI: 10.18632/aging.101254]
- 邱宏聪, 刘布鸣, 陈小刚. 翠云草的研究进展. 中医药导报 2015; 21: 93-96
- 马家宝, 韦丽富, 梁建莉, 周婷婷, 麦蓝尹, 陈勇. 翠云草的化学成分及药理作用研究概况. 广西中医药大学学报 2014; 17: 67-77
- Zou H, Xu PS, Liu R, Zou ZX, Li J, Zhong AG, Hu JZ, Xu KP, Tan GS. Selacyclicbiflavone A, an Unusual Macrocyclic Biflavone from *Selaginella uncinata* (Desv.) Spring. *Tetrahedron Lett* 2016; 57: 892-894 [DOI: 10.1016/j.tetlet.2016.01.038]
- Chen C, Maimaiti A, Zhang X, Qu H, Sun QL, He QS, Yu WB. Knockdown of RAI14 suppresses the progression of gastric cancer. *Onco Targets Ther* 2018; 11: 6693-6703 [PMID: 30349303 DOI: 10.2147/OTT.S175502]
- 关波, 张松, 郭舜, 张甜, 石磊, 刘琳娜. 芒果苷通过抑制糖酵解反应影响胃癌细胞迁移及侵袭. 中国药师 2019; 22: 2213-2217
- Liu M, Liu KD, Zhang L, Cai J, Yao HW, Bai YK, Zhang ZT. Circ_0009910 Regulates Growth and Metastasis and Is Associated With Poor Prognosis in Gastric Cancer. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2018; 22: 8248-8256 [PMID: 30556864 DOI: 10.26355/eurev_201812_16519]
- Lei P, Chen JJ, Liao CS, Liu GH, Zhou M. Silencing of circ_0009910 inhibits acute myeloid leukemia cell growth through increasing miR-20a-5p. *Blood Cells Mol Dis* 2019; 75: 41-47 [PMID: 30612066 DOI: 10.1016/j.bcmd.2018.12.006]
- Li HW, Liu J. Circ_0009910 promotes proliferation and metastasis of hepatocellular carcinoma cells through miR-335-5p/ROCK1 axis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2020; 24: 1725-1735 [PMID: 32141540 DOI: 10.26355/eurev_202002_20349]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁





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

