

# 鞣花酸抗 S180, H22 肿瘤及其抑制新生血管机制探讨

于娅<sup>1</sup>, 李利民<sup>2</sup>, 潘嘉<sup>2</sup>, 吴建明<sup>3</sup>, 邹文俊<sup>1\*</sup>

(1. 成都中医药大学药学院, 成都 610075; 2. 四川省中医药科学院, 成都 610041;  
3. 泸州医学院药学院, 四川 泸州 646000)

**[摘要]** 目的: 观察鞣花酸对 S180, H22 荷瘤小鼠肿瘤生长及微血管生成的影响, 以及对血小板衍生因子 B (PDGFB), 转录激活因子-3 (STAT3) 及磷酸化 STAT3 (p-STAT3) 基因和蛋白表达的影响, 探讨其抗血管生成作用可能的机制。方法: SPF 级昆明种小鼠 100 只, 建立 S180, H22 皮下荷瘤小鼠 2 种模型, 分别随机分为模型组 (0.5% CMC 溶液)、环磷酰胺组 (阳性药,  $20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )、鞣花酸高、中、低 ( $200, 100, 50 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ) 剂量组, 每组 10 只, 连续给药  $ig$  10 d, 观察鞣花酸对荷瘤小鼠肿瘤生长、体重、胸腺指数及脾脏指数, 免疫组化法检测肿瘤微血管密度, PDGFB, STAT3 及 p-STAT3 的表达情况。结果: 鞣花酸高、中、低剂量组对 S180 小鼠抑瘤率分别为 35.3%, 10.6%, 5.6%, 对 H22 小鼠抑瘤率分别为 36.3%, 38.8%, 20.6%, 其对小鼠体重无明显影响; 与模型组比较, 高剂量组对 S180, H22 小鼠脾脏指数较模型组明显上升 ( $P < 0.05$ ), 鞣花酸高、中剂量组能明显降低 S180, H22 小鼠肿瘤微血管密度 ( $P < 0.05$ ), 鞣花酸高、中、低剂量组在 S180, H22 2 种瘤体中 PDGFB, STAT3 和 p-STAT3 的表达明显降低。结论: 鞣花酸抑制 S180, H22 荷瘤小鼠肿瘤生长及微血管形成, 其机制可能与下调肿瘤组织中 PDGFB 表达并抑制下游 STAT3 的蛋白表达及磷酸化有关。

**[关键词]** 鞣花酸; S180; H22; 肿瘤生长; 血管生成; 血小板衍生因子 B; 转录激活因子-3; 磷酸化 STAT3

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)08-0142-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015080142

**Antitumor Effect of Ellagic Acid Against S180-and H22-bearing Mice and Possible Mechanism of Anti-angiogenesis** YU Ya<sup>1</sup>, LI Li-min<sup>2</sup>, PAN Jia<sup>2</sup>, WU Jian-ming<sup>3</sup>, ZOU Wen-jun<sup>1\*</sup> (1. School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China; 2. Sichuan Academy of Chinese Medicine Sciences, Chengdu 610041, China; 3. School of Pharmacy, Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the antitumor and anti-angiogenesis effect of ellagic acid against the transplantation tumor of S180 and H22 in mice, and to explore its possible mechanism by investigating the protein expressions of platelet-derived growth factor-B (PDGFB), signal transducer and activator of transcription-3 (STAT3) and p-STAT3 *in vivo*. **Method:** Mice bearing S180 and H22 cells were randomly divided into 5 groups: the model group (5% CMC), the cyclophosphamide group ( $20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ), the high-, middle- and low-dose ellagic acid groups ( $200, 100, 50 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ). The mice were administrated with corresponding medicines for successive 10 days. The tumor inhibitory ratios, body weight, the thymus and spleen index were measured, respectively. The effect on microvascular density, PDGFB, p-STAT3 and STAT3 expressions were detected by using an immunohistochemical assay. **Result:** The tumor inhibitory ratios of the high-, middle- and low-dose ellagic acid were 35.3%, 10.6% and 5.6% on S180-bearing mice, and 36.3%, 38.8%, 20.6% on H22-bearing mice. While, no significant influence on the body weight was found. Compared with the model group, the spleen index was higher in the high-dose group ( $P < 0.05$ ), and the microvascular density were lower in the high- and middle-dose groups ( $P < 0.05$ ), the expressions of PDGFB, p-STAT3 and STAT3 were lower in all doses of ellagic acid groups. **Conclusion:** Ellagic acid could inhibit the tumor growth and angiogenesis against the

**[收稿日期]** 20140912(012)

**[基金项目]** 四川省科技厅项目(2012JY0037)

**[第一作者]** 于娅, 在读硕士, 从事中药临床与应用研究, Tel: 13730834400, E-mail: yuyaangela@163.com

**[通讯作者]** \* 邹文俊, 博士, 教授, 从事中药临床与应用研究, Tel: 13388165408, E-mail: zouwenjun@vip.163.com

transplantation tumor of S180, H22 effectively. Its mechanism may be related to decreasing expression of PDGFB and further the expression and the phosphorylation of STAT3.

**[Key words]** ellagic acid; S180; H22; tumor growth; angiogenesis; platelet-derived growth factor-B; signal transducer and activator of transcription-3; p-STAT3

鞣花酸是天然小分子多酚,是没食子酸的二聚体,地榆、五倍子等多种中药均含有鞣花酸类成分。现代研究已表明鞣花酸具有显著的抗肿瘤作用,体外能抑制乳腺癌、口腔癌、胰腺癌等多种肿瘤细胞的生长<sup>[1-3]</sup>,同时能抑制乳腺癌、胰腺癌移植瘤生长<sup>[4-5]</sup>。血小板衍生因子 B(PDGFB)是重要的促血管生成因子,JAK/STAT 通路在 PDGFB 介导的新生血管生成过程中发挥重要作用,与肿瘤及肿瘤血管生成关系密切。目前尚未见鞣花酸通过 PDGFB, JAK/STAT 信号途径发挥抗肿瘤血管生成作用的相关报道。因此本文采用 S180, H22 小鼠皮下移植瘤模型,研究鞣花酸对肿瘤及肿瘤血管生成的影响,并探讨其基于 PDGFB, JAK/STAT 信号途径的作用机制。

## 1 材料

**1.1 动物及细胞** SPF 级昆明种小鼠,由四川省中医药科学院实验动物中心提供,动物合格证号 SCXK(川)2013-0019,体重 18 ~ 22 g; H22, S180 腹水型瘤种由本实验室保种,7 d 腹水传代 1 次,取生长旺盛的腹水用于实验。

**1.2 药物及试剂** 鞣花酸(成都贝斯特试剂有限公司,批号 L130990),环磷酰胺(通化茂祥制药有限公司,批号 130104); CD34 抗体(批号 10CM130), SABC 试剂盒(批号 09A13B), DAB 二氨基联苯胺显色试剂盒(批号 08L11B22),均购于武汉博士德公司;血小板衍生因子 B 抗体(PDGFB,批号 B2013),转录激活因子-3 抗体(STAT3,批号 10913),酪氨酸磷酸化 STAT3 抗体(p-STAT3,批号 F0413),抗体均购于美国 Santa Cruz 公司;山羊抗小鼠 IgG(北京中杉金桥公司,批号 112438)。

**1.3 仪器** RM2135 型切片机(德国徕卡公司), Image-Pro Plus5.1 图像分析系统(美国 Media Cybernetics 公司)。

## 2 方法

**2.1 S180, H22 荷瘤小鼠模型制备、分组及给药** 取小鼠 100 只,适应环境 3 d,第 4 天进行模型制备。无菌抽取生长旺盛的 S180, H22 腹腔积液,计数活细胞,以生理盐水调整肿瘤细胞密度至  $5 \times 10^7$  个/mL,每只小鼠左腋窝下接种 S180, H22 肿瘤细胞悬

液,每只 0.2 mL。次日随机分为 5 组,分别为模型组、阳性药环磷酰胺组、鞣花酸高、中、低剂量组,每组 10 只,雌雄各半。阳性药腹腔给予环磷酰胺  $20 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ,鞣花酸高、中、低给药剂量分别为 200, 100,  $50 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ,模型组给予等体积溶媒(5% CMC), ig 给药,1 次/d,连续 10 d。

**2.2 取肿瘤、胸腺、脾脏并称重** 末次给药 24 h 后,断颈处死动物,取肿瘤、胸腺及脾脏并称重,肿瘤称重后放于 10% 甲醛溶液中保存,用于免疫组化实验。计算抑瘤率。

$$\text{抑瘤率} = (\text{模型组平均瘤质量} - \text{给药组平均瘤质量}) / \text{模型组平均瘤质量} \times 100\%$$

**2.3 免疫组化测肿瘤组织微血管密度, PDGFB, STAT3 及 p-STAT3 表达** 取 2.2 项中固定好的肿瘤组织,自来水反复冲洗,石蜡包埋、切片、脱蜡; 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  室温封闭 10 min, PBS 洗涤 2 次; 正常山羊血清室温封闭 20 min; 滴加 PBS 适当稀释的一抗,  $4^\circ\text{C}$  过夜, PBS 洗涤 3 次; 滴加适当稀释的生物素标记二抗, 室温孵育 2 h, PBS 洗涤 3 次; 滴加 SABC, 室温孵育 1 h, PBS 洗涤 3 次; 滴加 DAB 显色, 洗涤、苏木复染、脱水、封片。微血管密度(MVD)采用 Weidner “热点法”<sup>[6]</sup>,先在低倍镜下找到血管生长最丰富的区域“热点”,再在高倍镜下随机选择 3 个视野计数肿瘤微血管的数目,取平均值作为该片 MVD 值。微血管计数标准:任何一个被染成棕黄色且与周围微血管、肿瘤组织或其他结缔组织界限清楚的单个内皮细胞及内皮细胞簇记为一个微血管,管腔大于 8 个内皮细胞或带有较厚肌肉层的血管不作为微血管计数。PDGFB, STAT3, p-STAT3 蛋白表达分析:每张切片随机拍照 3 张, Image-Pro Plus5.1 软件分析阳性表达面积(Area)和积分吸光度(IA),取平均值作为该片 Area 和 IA。

**2.4 统计学分析** 采用 SPSS 18.0 软件,实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 动物一般情况观察** 实验期间无小鼠死亡,小鼠精神状态均良好,正常活动,于第 5 天开始部分小鼠毛色出现暗淡,部分掉毛。肿瘤生长潜伏期为

4~5 d, 第 4~7 天生长缓慢, 7~10 d 生长较快, 成瘤率 100%。

**3.2 对 S180, H22 荷瘤小鼠肿瘤生长及体重的影响** 鞣花酸高、中、低剂量对 S180 荷瘤小鼠肿瘤生长抑制率分别为 35.3%, 10.6%, 5.6%, 对 H22 荷瘤小鼠肿瘤生长抑制率分别为 36.3%, 38.8%,

20.6%。与 S180 模型组比较, 鞣花酸高剂量组 S180 瘤重明显减轻, 差异明显 ( $P < 0.05$ ); 与 H22 模型组瘤重比较, 鞣花酸高剂量组瘤重有极显著性差异 ( $P < 0.01$ ), 中剂量组差异明显 ( $P < 0.05$ )。给药前后各组小鼠体重并无差异。见表 1, 2。

表 1 鞣花酸对 S180 荷瘤小鼠肿瘤生长及体重的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Effects of ellagic acid on tumor and body weight in S180-bearing mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 / $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	平均体重/g		瘤重/g	抑瘤率/%
		给药前	给药后		
模型	-	25.4 ± 1.2	37.1 ± 4.1	1.42 ± 0.42	-
环磷酰胺	20	25.8 ± 2.0	35.1 ± 3.9	0.87 ± 0.36 <sup>2)</sup>	38.6
鞣花酸	200	24.6 ± 1.6	35.6 ± 3.3	0.92 ± 0.54 <sup>1)</sup>	35.3
	100	24.6 ± 1.1	39.2 ± 3.1	1.27 ± 0.55	10.6
	50	26.0 ± 1.7	38.2 ± 2.3	1.34 ± 0.59	5.6

注: 与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (表 2~7 同)。

表 2 鞣花酸对 H22 荷瘤小鼠肿瘤生长及体重的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Effects of ellagic acid on tumor and body weight in H22-bearing mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	平均体重/g		瘤重/g	抑瘤率/%
		给药前	给药后		
模型	-	27.9 ± 1.4	36.0 ± 4.4	1.16 ± 0.37	-
环磷酰胺	20	29.0 ± 2.7	34.9 ± 4.2	0.73 ± 0.30 <sup>2)</sup>	37.1
鞣花酸	200	28.2 ± 1.5	35.7 ± 5.1	0.74 ± 0.23 <sup>2)</sup>	36.3
	100	28.9 ± 2.4	36.2 ± 4.3	0.71 ± 0.41 <sup>1)</sup>	38.8
	50	28.9 ± 1.9	36.6 ± 3.9	0.92 ± 0.34	20.6

**3.3 对 S180, H22 荷瘤小鼠胸腺指数、脾脏指数的影响** 鞣花酸高剂量组 S180, H22 小鼠脾脏指数上升, 与模型组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 表明鞣花酸高剂量可改善 S180, H22 小鼠引起的脾脏抑制作用, 促进脾脏的生长发育, 鞣花酸对胸腺指数无影响。环磷酰胺组胸腺及脾脏指数均下降 ( $P < 0.05$ ), S180 小鼠胸腺指数下降最为显著 ( $P < 0.01$ ), 表明环磷酰胺对 S180, H22 荷瘤小鼠胸腺及脾脏的生长均有抑制作用。见表 3, 4。

表 3 鞣花酸对 S180 荷瘤小鼠胸腺及脾脏指数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 3 Effects of ellagic acid on thymus and spleen index in S180-bearing mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 / $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	胸腺指数 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	脾脏指数 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
模型	-	4.48 ± 0.83	8.70 ± 1.59
环磷酰胺	20	2.11 ± 0.86 <sup>2)</sup>	6.82 ± 1.47 <sup>1)</sup>
鞣花酸	200	4.80 ± 1.28	10.49 ± 1.70 <sup>1)</sup>
	100	4.33 ± 1.32	8.91 ± 1.99
	50	4.97 ± 1.02	8.46 ± 1.98

表 4 鞣花酸对 H22 荷瘤小鼠胸腺及脾脏指数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 4 Effects of ellagic acid on thymus and spleen index in H22-bearing mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 / $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	胸腺指数 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	脾脏指数 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
模型	-	3.99 ± 1.05	5.79 ± 0.99
环磷酰胺	20	2.59 ± 1.18 <sup>1)</sup>	4.54 ± 1.15 <sup>1)</sup>
鞣花酸	200	3.24 ± 1.04	6.71 ± 0.91 <sup>1)</sup>
	100	4.43 ± 2.15	6.62 ± 1.96
	50	3.91 ± 0.53	6.25 ± 0.76

**3.4 对 S180, H22 荷瘤小鼠微血管密度的影响** 鞣花酸高、中剂量组 S180, H22 肿瘤微血管密度明显减少, 与模型组微血管密度比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 以 S180 模型中剂量组减少最显著 ( $P < 0.01$ )。结果表明鞣花酸高、中剂量组能显著抑制 S180, H22 荷瘤小鼠肿瘤组织中微血管密度。环磷酰胺组微血管密度与模型组比较明显减少 ( $P < 0.05$ )。见表 5。

表 5 鞣花酸对 S180, H22 荷瘤小鼠微血管密度的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Table 5 Effects of ellagic acid on microvascular density in S180-bearing and H22-bearing mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	剂量 / $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	微血管数/个/视野	
		S180	H22
模型	-	26.27 $\pm$ 4.37	20.20 $\pm$ 4.02
环磷酰胺	20	21.27 $\pm$ 3.87 <sup>1)</sup>	16.77 $\pm$ 2.58 <sup>1)</sup>
鞣花酸	200	22.00 $\pm$ 2.30 <sup>1)</sup>	15.80 $\pm$ 2.63 <sup>1)</sup>
	100	20.23 $\pm$ 2.80 <sup>2)</sup>	16.90 $\pm$ 2.61 <sup>1)</sup>
	50	23.67 $\pm$ 3.95	17.97 $\pm$ 3.86

表 6 鞣花酸对 S180 荷瘤小鼠 PDGFB, STAT3, p-STAT3 的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Table 6 Effects of ellagic acid on expression of PDGFB, p-STAT3 and STAT3 in S180-bearing mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	剂量 / $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	PDGFB		p-STAT3		STAT3	
		Area/ $\times 10^3$	IA/ $\times 10^3$	Area/ $\times 10^3$	IA/ $\times 10^3$	Area/ $\times 10^3$	IA/ $\times 10^3$
模型	-	46.72 $\pm$ 9.13	6.61 $\pm$ 2.44	118.81 $\pm$ 19.53	7.25 $\pm$ 1.39	19.88 $\pm$ 7.588	2.00 $\pm$ 0.25
鞣花酸	200	12.59 $\pm$ 2.34 <sup>2)</sup>	1.99 $\pm$ 0.11 <sup>2)</sup>	48.33 $\pm$ 6.49 <sup>2)</sup>	2.36 $\pm$ 0.18 <sup>2)</sup>	17.48 $\pm$ 1.83 <sup>1)</sup>	1.50 $\pm$ 0.19 <sup>1)</sup>
	100	17.93 $\pm$ 4.42 <sup>2)</sup>	2.59 $\pm$ 0.15 <sup>2)</sup>	77.24 $\pm$ 15.78 <sup>1)</sup>	5.52 $\pm$ 0.77 <sup>1)</sup>	20.16 $\pm$ 2.49	1.80 $\pm$ 0.32
	50	16.91 $\pm$ 3.46 <sup>2)</sup>	2.29 $\pm$ 0.29 <sup>2)</sup>	126.35 $\pm$ 13.56	7.45 $\pm$ 0.64	21.62 $\pm$ 0.54	2.35 $\pm$ 0.19

表 7 鞣花酸对 H22 荷瘤小鼠 PDGFB, STAT3, p-STAT3 的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Table 7 Effect of ellagic acid on expression of PDGFB, p-STAT3 and STAT3 in H22-bearing mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	剂量 / $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	PDGFB		p-STAT3		STAT3	
		Area/ $\times 10^3$	IA/ $\times 10^3$	Area/ $\times 10^3$	IA/ $\times 10^3$	Area/ $\times 10^3$	IA/ $\times 10^3$
模型	-	11.33 $\pm$ 0.96	1.68 $\pm$ 0.29	232.29 $\pm$ 8.77	29.49 $\pm$ 5.85	27.18 $\pm$ 4.79	5.37 $\pm$ 0.28
鞣花酸	200	2.24 $\pm$ 0.24 <sup>2)</sup>	0.25 $\pm$ 0.05 <sup>2)</sup>	106.26 $\pm$ 8.29 <sup>2)</sup>	14.24 $\pm$ 2.98 <sup>2)</sup>	14.81 $\pm$ 1.24 <sup>2)</sup>	2.55 $\pm$ 0.12 <sup>2)</sup>
	100	7.41 $\pm$ 1.88 <sup>2)</sup>	0.97 $\pm$ 0.05 <sup>2)</sup>	0.18 $\pm$ 1.86 <sup>1)</sup>	19.19 $\pm$ 3.85 <sup>1)</sup>	19.81 $\pm$ 1.95 <sup>2)</sup>	4.09 $\pm$ 0.98 <sup>1)</sup>
	50	10.19 $\pm$ 2.15	1.86 $\pm$ 0.20	230.56 $\pm$ 5.38	24.16 $\pm$ 8.33	30.16 $\pm$ 2.84	5.38 $\pm$ 1.23

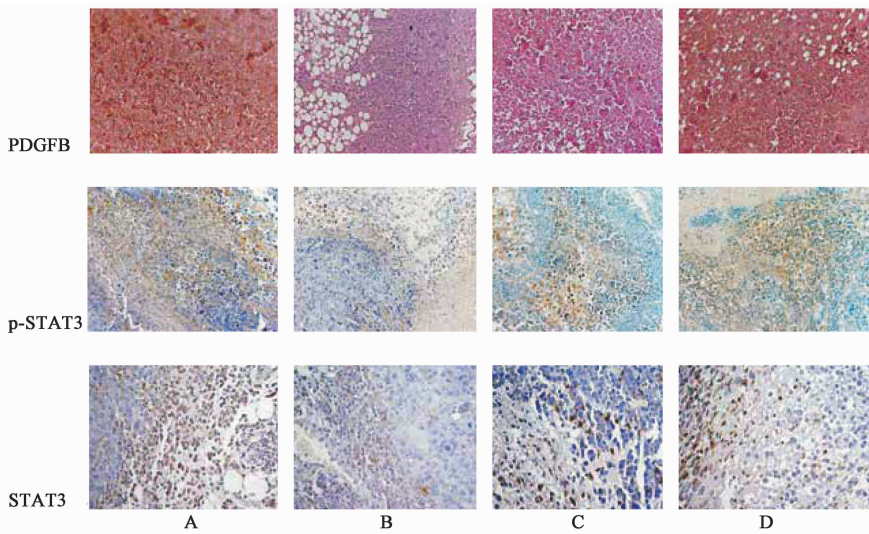
#### 4 讨论

天然药物具有副作用小、价格低廉等优势,从天然药物中寻找新型抗肿瘤及抗肿瘤血管生成单体已成为热点。本研究分别采用 S180, H22 2 种移植肿瘤小鼠模型,确认鞣花酸具有良好抗肿瘤及抑制新生血管生成作用,与文献报道<sup>[4-5]</sup>研究结果一致。

PDGFB 作为一种重要的促血管生成因子,通过多途径发挥促血管生成作用,一方面作用于血管内皮细胞,促进其增殖、迁移及小管形成发挥直接促血管生成作用<sup>[7]</sup>,另一方面与 VEGF, bFGF 等因子发挥协同作用并促进血管平滑肌细胞、周细胞的增殖发挥间接促血管生成作用<sup>[8-9]</sup>。Guo Y 等<sup>[10]</sup>研究表明 PDGFB 过度表达激活下游 AKT 途径发挥促进胃癌细胞的增殖、迁移能力和促进胃癌血管生成作用,提示 PDGFB 靶点可能是抗肿瘤药物的新策略。STAT 是具有信号转导和转录调控双重功能的细胞

因子,STAT 家族包括 STAT1-6,其中 STAT3 与肿瘤关系最密切,在 PDGFB 介导的肿瘤生长及新生血管中发挥重要作用。PDGFB 与内皮细胞上的受体结合,激活细胞内 JAK/STAT 途径,并进一步激活 STAT3 磷酸化 (p-STAT3) 形成活性形式,转入核内调节多种细胞凋亡因子及血管生成因子的表达,从而介导肿瘤生长及肿瘤血管生成。本研究通过免疫组化方法检测结果表明,鞣花酸高、中剂量给药组小鼠肿瘤组织中 PDGFB, p-STAT3, STAT3 蛋白表达水平均明显降低,且呈现一定的量效关系,鞣花酸针对 S180, H22 2 种动物模型所得试验结果类似,提示鞣花酸可能通过抑制 PDGFB 的表达,进一步抑制 STAT3 的表达和磷酸化过程,从而发挥抗肿瘤及肿瘤血管生成作用。

本研究采用传统细胞毒类抗肿瘤药环磷酰胺作为对照药物,近年来不少研究表明环磷酰胺同时具



A. 模型组; B. 鞣花酸 200  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  组; C. 鞣花酸 100  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  组; D. 鞣花酸 50  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  组(图 2 同)

图 1 S180 荷瘤小鼠 PDGFB, p-STAT3, STAT3 免疫组化显微观察 (PDGFB,  $\times 100$ ; p-STAT3,  $\times 100$ ; STAT3,  $\times 200$ )

Fig. 1 Immunohistochemical microscopic observation of PDGFB, p-STAT3, STAT3 in S180-bearing mice (PDGFB,  $\times 100$ ; p-STAT3,  $\times 100$ ; STAT3,  $\times 200$ )

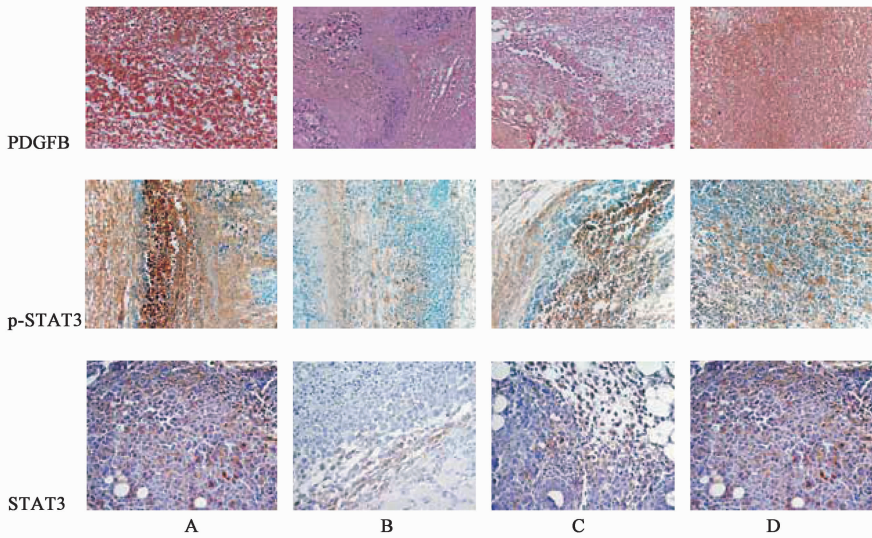


图 2 H22 荷瘤小鼠 PDGFB, p-STAT3, STAT3 免疫组化显微观察 (PDGFB,  $\times 100$ ; p-STAT3,  $\times 100$ ; STAT3,  $\times 200$ )

Fig. 2 Immunohistochemical microscopic observation of PDGFB, p-STAT3, STAT3 in H22-bearing mice (PDGFB,  $\times 100$ ; p-STAT3,  $\times 100$ ; STAT3,  $\times 200$ )

有抗肿瘤血管生成作用,通过促进抗血管生成因子血小板结合蛋白-1(TSP-1)的表达,诱导内皮细胞的凋亡发挥抗肿瘤血管生成作用<sup>[11-12]</sup>,环磷酰胺在抗肿瘤血管生成领域的研究应用价值已逐渐受到关注。本研究表明,环磷酰胺与鞣花酸均具有降低肿瘤微血管密度作用,但环磷酰胺同时明显降低小鼠胸腺和脾脏指数,而鞣花酸相反能提高小鼠脾脏指数,因此,鞣花酸抗肿瘤血管生成同时可能具有促进机体免疫系统作用,较环磷酰胺相比有一定优势。

Ras-MARK 和 JAK/STAT 两条途径是细胞内因子刺激基本信号途径,与肿瘤生长及肿瘤新生血管生成关系极为密切。Neng Wang 等研究表明<sup>[4-5]</sup>,鞣花酸可能通过抑制 VEGF 表达,VEGFR2 的磷酸化,抑制 Ras-MARK 信号途径而发挥抗肿瘤血管生成作用。本研究结果进一步提示,鞣花酸可能同时具有抑制 PDGFB 表达、抑制 JAK/STAT 信号途径而发挥抗肿瘤和抗肿瘤血管生成作用,鞣花酸抗肿瘤血管生成作用具有多靶点、多途径特点,其他相关分子机

制尚待进一步阐明。

[参考文献]

- [ 1 ] Weisbu J H, Schuck A G, Reiss S E, et al. Ellagic acid, a dietary polyphenol, selectively cytotoxic to HSC-2 oral carcinoma cells[J]. *Anticancer Res*, 2013, 33(5):1829-1836.
- [ 2 ] Edderkaoui M, Luqea A, Hui H, et al. Ellagic acid and embelin affect key cellular components of pancreatic adenocarcinoma, cancer, and stellate cells [ J ]. *Nutr Cancer*, 2013, 65(8):1232-1244.
- [ 3 ] Mertens-Talcott S U, Lee J H, Percival S S, et al. Induction of cell death in Caco-2 human colon carcinoma cells id rich fractions from muscadine grapes *vitisrotundifolia*[ J ]. *Aqric Food Chem*, 2006, 54 ( 15 ) : 5336-5343.
- [ 4 ] Wang N, Wang Z Y, Mo S L, et al. Ellagic acid, a phenolic compound, exerts anti-angiogenesis effects via VEGFR-2 signaling pathway in breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, 134:943-955.
- [ 5 ] Min Zhao, Su-Ni Tang, Justin Marsh, et al. Ellagic acid inhibits human pancreatic cancer growth in Balb c nude mice[J]. *Cancer Letters*, 2013, 337:210-217.
- [ 6 ] Weidner N, Folkman J, Pozza F, et al. Tumor angiogenesis; a new significant and independent indicator in early-stage breast carcinoma [ J ]. *Natl Cancer Inst*, 1992, 84(24):1875-1887.
- [ 7 ] Marx M, Perlmutter R A, Madri J A, et al. Modulation of platelet-derived growth factor receptor expression in microvascular endothelial cells during *in vitro* angiogenesis [ J ]. *J Clin Invest*, 1994, 93 ( 1 ) : 131-139.
- [ 8 ] Sufen G, Xiang Hong, Yong Xia C, et al. bFGF and PDGF-BB have a synergistic effect on the proliferation, migration and VEGF releas of endothelialprogenitor cells [ J ]. *Cell Bio Int*, 2011, 35 ( 5 ) : 545-551.
- [ 9 ] Park E S, Lee K P, Junq S H, et al. an intestinal metabolite of ginsenosides, inhibits PDGF-BB-induced VSMC proliferation and migration through G<sub>1</sub> arrest and attenuates neointimal hyperplasia after arterial injury [ J ]. *Atherosclerosis*, 2013, 228(1):53-60.
- [ 10 ] Guo Y, Yin J, Zha L, et al. Over expression of platelet-derived growth factor-B increases the growth, invasion, and angiogenesis of gastric carcinoma cells through protein kinase B [ J ]. *Neoplasma*, 2013, 60 ( 6 ) : 605-612.
- [ 11 ] Yuki Hamano, Hikaru Sugimoto, Mary A Soubasakos, et al. Thrombospondin-1 associated with tumor microenviro-nment contributes to low-dose cyclophosphamide-mediated endothelial cell apoptosis and tumor growth suppression [ J ]. *Cancer Res*, 2004, 64 ( 5 ) : 1570-1574.
- [ 12 ] Bocci G, Francia G, Man S, et al. ThroboSPondin-1, a meditor of the antiangiogenic effects of low-dose metronomic chemotherapy [ J ]. *Proc Narl Acad Sei USA*, 2003, 100(22):12917-12922.

[责任编辑 周冰冰]