

## 二冬膏延缓胃癌发生的作用机制

刘燕<sup>1</sup>, 赵益<sup>2\*</sup>, 蓝希明<sup>1</sup>, 罗畅<sup>1</sup>, 庞文琳<sup>1</sup>, 徐国良<sup>2</sup>, 刘红宁<sup>2\*</sup>

(1. 江西中医药大学中医基础理论分化发展研究中心, 南昌 330004;

2. 江西省中医病因生物学重点实验室, 南昌 330004)

**[摘要]** 目的:通过分析大鼠胃组织细胞凋亡和血浆差异代谢产物,探讨二冬膏延缓胃癌发生的作用机制。方法:大鼠随机分为正常组、模型组、维甲酸( $12 \times 10^{-3} \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )组、二冬膏低、高剂量( $6, 12 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )组,除正常组外,其余大鼠 *ig* *N*-甲基-*N'*-硝基-*N*-亚硝基胍(MNNG)  $0.2 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  建立模型,10 d/次,共9次。各组每天 *ig* 相应药物,正常组 *ig* 等体积生理盐水,治疗3个月后处理动物,苏木素伊红(HE)染色分析胃癌程度及病理变化的改善;实时荧光定量PCR(Real-time PCR)测定胃组织中凋亡抑制基因B淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)mRNA表达;脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法(TUNEL)检测胃组织细胞凋亡;血浆代谢组学寻找差异代谢产物。结果:与模型组比较,二冬膏低、高剂量组病变主要在良性的乳头状瘤和乳头状增生,说明二冬膏能够改善胃癌病变程度;低剂量组能明显降低胃组织 Bcl-2 mRNA 的表达( $P < 0.01$ ),TUNEL显示二冬膏低、高剂量组胃组织细胞凋亡数比模型组高。二冬膏低剂量血浆代谢产物中发现的鞘氨醇-1-磷酸(Sphingosine-1-phosphate),20-羟基-二十烷四烯酸(20-HETE),甘氨酸胆酸(Glycocholic acid)等与细胞凋亡相关。结论:二冬膏能够促进胃癌大鼠胃组织发生细胞凋亡,延缓胃癌发生。

**[关键词]** 二冬膏;胃癌;细胞凋亡;代谢产物;B淋巴细胞瘤-2;鞘氨醇-1-磷酸;20-羟基-二十烷四烯酸;甘氨酸胆酸

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)20-0132-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016200132

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160830.0828.038.html>

**[网络出版时间]** 2016-08-30 8:28

## Preventive Mechanism of Erdong Gao on Gastric Cancer

LIU Yan<sup>1</sup>, ZHAO Yi<sup>2\*</sup>, LAN Xi-ming<sup>1</sup>, LUO Chang<sup>1</sup>, PANG Wen-lin<sup>1</sup>, XU Guo-liang<sup>2</sup>, LIU Hong-ning<sup>2\*</sup>

(1. *Research Center for Differentiation and Development of Traditional Chinese Medicine (TCM) Basic Theory,*

*Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China;* 2. *Jiangxi Provincial*

*Key Laboratory of TCM Etiopathogenesis, Nanchang 330004, China)*

**[Abstract]** **Objective:** To study of the effect and mechanism of Erdong Gao on gastric cancer rats through the analysis on cell apoptosis and bio-marker. **Method:** The rats was divided into normal group, model group, retinoic acid ( $12 \times 10^{-3} \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) group, and low-dose and high-dose Erdong Gao ( $6, 12 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) groups. Except for normal group, the model was made through gavage with *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG)  $0.2 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , once every 10 days, for a total of 9 times. Each group was given corresponding drugs through gavage, and the normal group was given isopyknic NS. After 3 months, rats ware sacrificed, the pathological changes were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining, the mRNA expression of Bcl-2 was detected by Real-time PCR, the

**[收稿日期]** 20151207(014)

**[基金项目]** 江西省高等学校科技落地计划项目(KJLD12086);江西省自然科学基金重大项目(20152ACB20021);江西中医药大学校级研究生创新专项资金项目(JZYCI5S05);江西中医药大学校级课题项目(2014ZR001)

**[第一作者]** 刘燕, 硕士, 从事中药药理学抗肿瘤研究, Tel:0791-87142859, E-mail:353434393@qq.com

**[通讯作者]** \* 赵益, 在读博士, 讲师, 从事肿瘤病因学研究, Tel:0791-87142859, E-mail:zhysyz2008@163.com;

\* 刘红宁, 博士, 教授, 从事中医病因学研究, Tel:0791-87142858, E-mail:lh0791@139.com

cell apoptosis was detected by TdT-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL), and the plasma metabolomics was performed to find differentiated metabolites. **Result:** Different doses of Erdong Gao can improve the pathological changes of gastric cancer, mainly by targeting at the benign papillary hyperplasia and papilloma; low-dose Erdong Gao can significantly suppress the mRNA expression of Bcl-2 ( $P < 0.01$ ). According to TUNEL, high and low-dose Erdong Gao groups showed a higher rate of cell apoptosis than the model group. Plasma metabolites of low-dose Erdong Gao showed Sphingosine-1-phosphate, 20-hydroxyeicosatetraenoic acid (20-HETE), and glycocholic acid, which were correlated with cell apoptosis. **Conclusion:** Erdong Gao could promote cell apoptosis in gastric cancer rats.

[**Key words**] Erdong Gao; gastric cancer; cell apoptosis; metabolite; Bcl-2; Sphingosine-1-phosphate; 20-hydroxyeicosatetraenoic acid; glycocholic acid

胃癌是常见的消化道恶性肿瘤,据报道,2012 年全球新增胃癌病例近 1 亿,占发病总数的 9%,死亡率占总癌症人数的 7%<sup>[1]</sup>。中国 2015 年胃癌的发病率为 15.8%,死亡率为 17.6%,在癌症中排名第 2<sup>[2]</sup>。胃癌早期症状无特异性,但到中晚期,患者的 5 年存活率低下,胃癌的预防已成为降低患癌风险、提高生活质量及改善预后的重要内容。中医“治未病”对胃癌的预防和癌前病变逆转具有独到的见解。二冬膏出自明朝洪基《摄生秘剖》,由麦冬、天冬两味中药组成,是滋补肺阴的经典方,有提高机体免疫力、促进机体能量代谢、抗菌、抗病毒等作用<sup>[3]</sup>,能够抑制肿瘤转移,延缓诱发性肺癌的发生<sup>[4]</sup>。细胞凋亡在预防癌症上具有重要的生物学意义<sup>[5]</sup>,本课题组前期工作证明二冬膏具有诱导细胞凋亡的作用<sup>[6]</sup>,但对胃癌的防治作用还未见报道。故用化学致癌剂 *N*-甲基-*N*-硝基-*N*-亚硝基胍 (MNNG) 诱导大鼠胃癌发生,造模同时灌胃给予二冬膏进行预防,最终通过检测胃组织细胞凋亡事件的发生、细胞凋亡相关基因 B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2) 的表达及血浆代谢产物分析,探讨二冬膏延缓胃癌发生的作用,并探究其作用与诱导胃组织细胞凋亡的相关性,为今后的进一步研究提供实验依据。

## 1 材料

**1.1 动物** 清洁级 Wistar 大鼠,雄性,体重 (140 ± 10) g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2012-0002。

**1.2 药物与试剂** 天冬(康美药业股份公司,批号 140104061),麦冬(四川新荷花中药有限公司,批号 1401124),维甲酸(山东良福制药有限公司,批号 140101),MNNG(东京化成工业株式会社,批号 MV340RC),维甲酸(山东良福制药有限公司,批号 140101),甲醇、乙腈(天地公司,批号分别为 MS1922-801, AS1122-801), DeadEnd™ Fluorometric

TUNEL System, Eastep 通用型总 RNA 提取试剂盒, GoScript™ Reverse Transcription System (Promega 公司,批号分别为 0000128141, 20130601, 0000138589); FastStart Essential DNA Green Master (Roche 公司,批号 10922000)。引物由生工生物工程(上海)有限公司合成, Bcl-2 (139 bp): 上游 5'-GGTGGACAACATCGCTCTG-3'; 下游 5'-CAGCCAGGAGAAATCAAACA-3'; 内参  $\beta$ -肌动蛋白 ( $\beta$ -actin) (150 bp): 上游 5'-CCCATATATGAGGGTTACGC-3'; 下游 5'-TTTAATGTCACGCACGATTTC-3'。

二冬膏水提物制备:药材经江西中医药大学药学院邓可众副教授鉴定,天冬为百合科天冬 *Asparagus cochinchinensis* 的干燥块根,麦冬为百合科麦冬 *Ophiopogon japonicus* 的干燥块根。称取天冬、麦冬各 200 g,第 1 次加入 8 倍量水煎煮 3 h,第 2 次加入 6 倍量的水煎煮 2 h,合并 2 次滤液,浓缩至含生药 1.2 g·mL<sup>-1</sup>,即得。

**1.3 仪器** 1290 型超高效液相色谱仪, 6538 型 Q-TOF 质谱仪(美国安捷伦公司); Veriti™ 96 型梯度 PCR 仪(美国 ABI 公司); LightCycler96 型荧光定量仪(瑞士罗氏公司); IX71 型倒置荧光显微镜(日本 Olympus 公司)。

## 2 方法

**2.1 动物造模及给药** 大鼠根据体重随机分为正常组、模型组、维甲酸 (12 mg·kg<sup>-1</sup>) 组、二冬膏低、高剂量 (6, 12 g·kg<sup>-1</sup>) 组,每组 12 只。除正常组外,其余大鼠 *ig* MNNG (0.2 g·kg<sup>-1</sup>) 建立模型,每 10 d *ig* 1 次,共 9 次。造模同时每天 *ig* 相应药物,正常组 *ig* 生理盐水 (10 mL·kg<sup>-1</sup>)。3 个月后用戊巴比妥麻醉动物,股动脉取血,3 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,取血浆于 -80 °C 保存。取胃组织,保存于 4% 多聚甲醛及液氮中。

**2.2 苏木素伊红 (HE) 染色检测大鼠胃组织病变程**

度 取 4% 多聚甲醛固定胃组织,脱水、透明、浸蜡、包埋后,制成 6 μm 切片,HE 染色,镜下观察胃组织病变情况。

**2.3 实时荧光定量 PCR (Real-time PCR) 检测 Bcl-2 mRNA 表达** 取保存于液氮中的组织,按照试剂盒说明书提取和反转录。PCR 热循环条件:95 ℃ 15 s,60 ℃ 30 s,72 ℃ 30 s,40 个循环。基因表达水平采用相对定量  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算。

**2.4 脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法 (TUNEL) 检测大鼠胃组织细胞凋亡** 取保存于 4% 多聚甲醛的组织,应用重组末端脱氧核苷酸转移酶 (rTdT 酶) 的 dUTP 缺口末端标记法,按凋亡试剂盒所示步骤操作,荧光显微镜观察。

**2.5 血浆代谢组学潜在生物标记物寻找** 取二冬膏低剂量组血浆室温解冻,取血浆 200 μL,加甲醇-乙腈溶液 (1:9) 800 μL,涡旋 2 min,4 ℃ 恒温静置 3 h,13 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min 后取上清液,氮气吹干,加水-甲醇溶液 (85:15) 400 μL 定容,涡旋混匀 1 min,4 ℃,15 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min,取上清液于样品瓶,进样。

色谱条件:色谱柱 Extend C<sub>18</sub> 反相分析柱 (2.1 mm × 100 mm, 3.5 μm, Agilent 公司),流动相 0.1% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B),流速 0.4 mL·min<sup>-1</sup>,自动进样器温度设定 30 ℃,载气为氮气,梯度洗脱 (0 ~ 3 min, 2% ~ 20% B; 3 ~ 4.5 min, 20% ~ 50% B; 4.5 ~ 12 min, 50% ~ 95% B; 12 ~ 13.5 min, 50% ~ 95% B; 13.5 ~ 15.1 min, 95% ~ 2% B)。

质谱条件:采用 Dual ESI 源,干燥气温度 350 ℃,干燥气流速 10 L·min<sup>-1</sup>,雾化气压力 275.8 kPa,毛细管电压 4 000 V,碎片电压 120 V;质量数扫描 100 ~ 1 500 Da。使用 Centroid 模式保存质谱数据。数据采集过程中参比液实时监测校准质谱系统。二级质谱数据采集时,根据化合物不同,设置不同碰撞能。

表 1 二冬膏对大鼠胃组织病变的影响

Table 1 Effect of Erdong Gao on pathological changes of rat gastric tissues

n (%)

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	n	癌变	乳头状瘤	乳头状增生	非典型增生
模型	-	12	4 (33.3)	6 (50)	1 (8.33)	1 (8.33)
维甲酸	0.012	8	0 (0)	7 (87.5)	1 (12.5)	0 (0)
二冬膏	6	6	0 (0)	4 (67)	2 (33)	0 (0)
	12	9	2 (22)	2 (22)	5 (56)	0 (0)

**3.2 二冬膏对胃癌大鼠胃组织 Bcl-2 mRNA 表达的影响** 与正常组比较,模型组胃组织 Bcl-2 mRNA 表达明显升高 ( $P < 0.05$ ),与模型组比较,二冬膏低

数据分析:使用 Mass Hunter Workstation 提取代谢物信息,利用分子特征提取 (MFE) 算法提取总离子流图 (TIC) 中特征离子。提取离子丰度阈值为 200,基峰丰度阈值为 1 000,正、负离子模式和离子种类分别为  $[M + H]^+$  和  $[M - H]^-$ ,提取单电荷离子。提取后代谢物信息包括保留时间,精确质量数和丰度,将提取后的数据,利用 MPP 软件进行数据预处理。使用保留时间和精确质量数对离子峰进行对齐,数据对齐时保留时间偏差设置为  $\pm 0.15$  min,质量数偏差  $\pm 10$ ,然后对离子响应值进行归一化处理,利用归一化后的离子丰度中位数进行数据的中心化,筛选在每组 60% 样本中能被检测的离子建立代谢物数据矩阵。主成分分析 (PCA) 进行数据分型,根据 FC 值和单因素方差分析,统计差异代谢物,差异代谢物使用精确的质量数和二级质谱图,利用 METLIN Metabolomics Database, KEGG Pathway Database, The Human Metabolome Database 等数据库鉴定代谢标记物,分析代谢通路。

**2.6 统计学方法** 采用 SPSS 20.0 软件进行数据分析,采用 *t* 检验进行组间比较,计量数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 二冬膏对胃癌程度以及病理变化的影响** 第 2 个月各组出现不同程度动物死亡,解剖后发现动物胃部被药物胀满,胃内膜有乳头状突起,推测死亡原因,维甲酸存在一定的肝毒性<sup>[7]</sup>,二冬膏多糖成分多,不易消化。鳞状上皮层被破坏,层次和极性紊乱,细胞异型性,判定为癌变,模型组的癌变率为 33.3%;维甲酸组病变主要为乳头状瘤 (87.5%) 及乳头状增生 (12.5%);二冬膏低剂量组主要为乳头状瘤,鳞状上皮呈乳头状排列,层次增多;二冬膏高剂量组主要以鳞状上皮乳头状增生为主,部分细胞有异型性。见表 1,图 1。

剂量组胃组织 Bcl-2 mRNA 表达明显降低 ( $P < 0.05$ ),二冬膏高剂量组胃组织 Bcl-2 mRNA 与模型组差异不明显。见表 2。

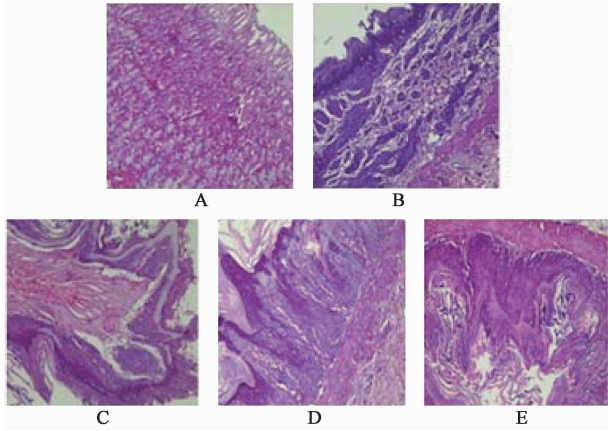


图 1 二冬膏对大鼠胃组织病变的影响 (HE, ×200)

Fig.1 Effect of Erdong Gao on pathological changes of rat gastric tissues(HE, ×200)

表 2 二冬膏对大鼠胃组织 Bcl-2 mRNA 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 2 Effect of Erdong Gao on Bcl-2 mRNA expression of rat gastric tissues( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	Bcl-2 mRNA
正常	-	1.002 7 ± 0.090 04
模型	-	1.444 0 ± 0.118 75 <sup>1)</sup>
维甲酸	0.012	0.661 3 ± 0.123 58 <sup>3)</sup>
二冬膏	6	0.928 0 ± 0.068 56 <sup>2)</sup>
	12	0.962 3 ± 0.208 53

注:与正常组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ;与模型组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ,  
<sup>3)</sup>  $P < 0.01$ 。

**3.3 二冬膏对胃癌大鼠细胞凋亡的影响** 经 TUNEL 染色,凋亡的细胞核染成绿色,未凋亡的细胞染成红色。模型组和维甲酸组细胞凋亡数少,二冬膏低剂量组有大量细胞凋亡,二冬膏高剂量组细胞凋亡较二冬膏低剂量组少。见图 2。

### 3.4 血浆代谢组学潜在生物标记物

**3.4.1 总离子流** 血浆样品中各峰具有较好的分离度,基线稳定。说明此实验条件能够较好的实现血浆中小分子物质的分离,适合大鼠内源性物质检测。见图 3。

**3.4.2 差异代谢物** PCA 分析得到的三维得分图,见图 4。每一个点代表一个样本,其位置由自身的代谢物成分决定,相似的样本聚到一起,差异较大的样本则距离较远。本方法能够将正常组、模型组、二冬膏组区分,且二冬膏组的代谢变化较模型组趋于正常。见表 3。

**3.4.3 差异代谢物鉴定** 根据差异代谢物的精确

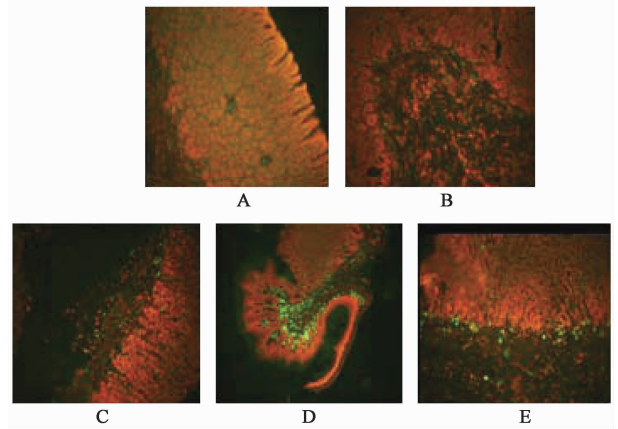
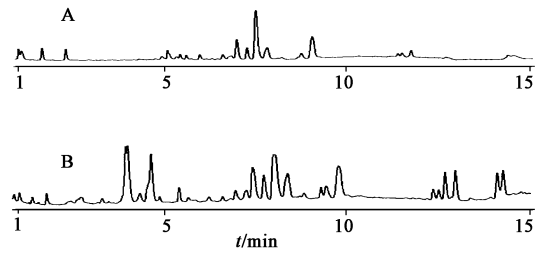


图 2 二冬膏对大鼠胃组织细胞凋亡的影响 (TUNEL, ×200)

Fig.2 Effect of Erdong Gao on cell apoptosis of rat gastric tissues (TUNEL, ×200)



A. 正离子模式;B. 负离子模式

图 3 大鼠血浆 HPLC-TOF/MS TIC 分析

Fig.3 HPLC-TOF/MS TIC analysis of plasma samples of gastric cancer rats

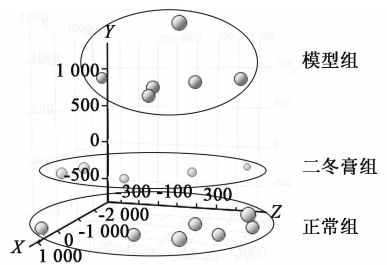
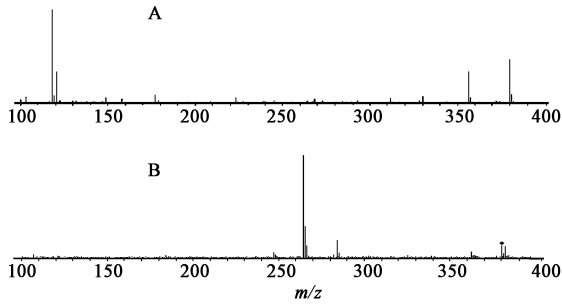


图 4 大鼠血浆代谢 PCA 分析

Fig.4 PCA analysis of plasma metabolites of gastric cancer rats

相对分子质量和二级质谱图,鉴定差异代谢物。通过统计学分析和质谱图验证的结果,证实  $m/z$  380.256 的代谢物含量组间存在显著差异。使用精确相对分子质量数据检索,再通过正离子模式下的二级质谱碎裂方式推测代谢物结构,其二级质谱主要的碎裂形式(子离子  $m/z$ , 峰强度): 264.268 1, 317 5;284.295 6,528.7;247.241 8,155;362.248 3, 177.5。通过 METLIN 数据库 MS/MS 图对比, $m/z$  380.256 的离子被鉴定为 sphingosine-1-phosphate。其他差异代谢物使用类似方法鉴别,4 种差异代谢

产物得到鉴定。见图 5, 表 3。



A. 一级质谱; B. 二级质谱

图 5 大鼠血浆代谢组学质谱

Fig. 5 Mass spectrum of plasma metabolomics of gastric cancer rats

表 3 大鼠血浆差异代谢产物

Table 3 Differentiated plasma metabolites of gastric cancer rats

Metlin ID	m/z	化合物	化学式	趋势	CE/V	采集模式	生物活性
3891	380.256	sphingosine-1-phosphate	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub> NO <sub>5</sub> P	up	10	ESI <sup>+</sup>	鞘脂类信号通路
36337	319.229	20-HETE	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>	up	20	ESI <sup>-</sup>	花生四烯酸代谢
202	464.303	glycocholic acid	C <sub>26</sub> H <sub>43</sub> NO <sub>6</sub>	up	40	ESI <sup>-</sup>	胆汁酸合成与分泌

通过抑制细胞凋亡增加肿瘤发生的机会,并促进肿瘤发展,其编码产物 Bcl-2 蛋白可以阻断半胱氨酸蛋白酶(Caspase)活化的下游信号通路,调控细胞凋亡和增殖的动态平衡<sup>[11]</sup>。研究表明在胃癌细胞中 Bcl-2 基因的高度表达会引起细胞凋亡减少和过度增生<sup>[12]</sup>。本实验用二冬膏干预大鼠胃癌发生,二冬膏组病变主要在良性的乳头状瘤和乳头状增生,说明其能够延缓胃癌进程,改善胃组织的病理变化。二冬膏组胃组织 Bcl-2 基因较模型组表达下降,说明二冬膏可能通过降低凋亡抑制基因 Bcl-2 的表达促进胃组织细胞凋亡;TUNEL 结果显示二冬膏低、高剂量组出现不同程度细胞凋亡,证明二冬膏组确实可以促进胃癌变大鼠胃组织发生细胞凋亡,这与文献报道一致<sup>[6]</sup>。

同时,本实验结合血浆代谢组学,在整体上探究二冬膏诱导细胞凋亡的作用机制。1-磷酸鞘氨醇(S1P)是细胞膜鞘脂的代谢产物,分泌到胞外的 S1P 主要通过不同的细胞膜表面的 S1P 受体(S1PR)结合而发挥生物学作用<sup>[13]</sup>。当 S1P 与受体 S1PR2 结合时,可促进细胞凋亡<sup>[14]</sup>,与 Caspase-3 的活性有关<sup>[15]</sup>。在二冬膏用药后,S1P 的含量较模型组呈上升趋势,说明鞘脂类信号通路可能参与了二冬膏促进大鼠细胞凋亡的作用。20-羟二十烷四烯酸(20-HETE)是由细胞色素 P450(CYP450) $\omega$ -羟化酶催化花生四烯酸生成的产物,其生成与释放,可激

#### 4 讨论

胃黏膜癌变是多步骤的演变过程,主要是从良性增生性病变(乳头状增生)、良性肿瘤(乳头状瘤)、癌前病变至恶性肿瘤的发展过程<sup>[8]</sup>。本模型复制过程与其一致,可以用于后续实验开展。肿瘤的发生发展不仅与细胞的过度增殖有关,也与细胞凋亡减少密切相关。在恶性肿瘤的发生过程中,细胞凋亡异常可能源自于细胞凋亡控制的所有方面。其中,研究最深入的是凋亡抑制基因和凋亡活化基因的异常<sup>[9]</sup>。在胃癌病变的过程中,细胞凋亡受到抑制,胃黏膜病变细胞凋亡减少,生存期延长,细胞大量堆积,从而导致胃癌的发生<sup>[10]</sup>。Bcl-2 基因可

活 PKC,提升还原型辅酶 II(NADPH)氧化酶衍生的 ROS 产物水平,从而激活凋亡蛋白 Caspase-3 的活性,诱导细胞凋亡<sup>[16]</sup>。与模型组比较,二冬膏组血浆 20-HETE 含量升高,变化趋于正常组,说明花生四烯酸代谢可能参与了二冬膏促进细胞凋亡的作用。甘氨酸胆酸具有抗炎、调节免疫的作用,能够降低细胞谷胱甘肽的含量,减弱其抗氧化作用,提高凋亡特异蛋白酶 Caspase-9 和 Caspase-3 的活性,对细胞凋亡晚期有显著促进作用<sup>[17]</sup>。与模型组比较,二冬膏组血浆甘氨酸胆酸含量较高,变化趋于正常组,说明二冬膏的促进细胞凋亡作用可能与胆汁酸合成与分泌有关。Caspase 家族是细胞凋亡过程中的关键元件,其激活与超常表达均引起细胞凋亡,可通过与众多蛋白因子的相互作用调控细胞凋亡<sup>[18]</sup>。本实验鉴定的 3 个差异代谢产物均与 Caspase 家族相关,说明二冬膏促进胃癌变大鼠的细胞凋亡作用可能与 Caspase 家族有关,同时也在代谢水平证明二冬膏延缓胃癌发生的作用与细胞凋亡相关。

本文结合整体和局部、基因水平和代谢水平来说明二冬膏能够促进胃癌变大鼠胃组织发生细胞凋亡,延缓胃癌发生。同时,本实验发现其对细胞凋亡的促进作用与 Caspase 家族的相关性,这为以后进一步探究其作用通路提供了方向。

[参考文献]

- [1] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5):359-386.
- [2] Chen W Q, Zheng R S, Baade P D, et al. Cancer Statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2):115-132.
- [3] 赵益, 张启云, 李冰涛, 等. 二冬汤对大鼠尿液代谢产物的影响[J]. *中药新药与临床药理*, 2013, 24(2):173-176.
- [4] 孙昊鑫, 朱金华, 郭慧君, 等. 二冬膏对小鼠诱发性肺肿瘤发生及 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10、Foxp3 的影响[J]. *中药药理与临床*, 2013, 29(6):1-3.
- [5] Sun S Y, Jr H N, Lotan R. Apoptosis as a novel target for cancer chemoprevention. [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2004, 96(9):662-672.
- [6] 赵益, 罗蓉, 尚广彬, 等. 二冬汤含药血清对肺癌细胞 A549 的作用研究[J]. *新中医*, 2012, 44(9):113-115.
- [7] 陈雁虹, 盖仁华, 吴洪海. 全反式维 A 酸给药 4 周对大鼠的毒性作用[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2013, 27(2):248-255.
- [8] 李春英, 梁爱华, 高双荣, 等. 大鼠胃癌前病变模型的建立[J]. *中国中药杂志*, 2012, 37(1):89-93.
- [9] 黄文林, 朱孝峰. 信号转导与疾病[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2012:356.
- [10] 蒋时红, 刘旺根, 张文娟, 等. 中医治法对胃癌前病变大鼠胃黏膜细胞凋亡的影响[J]. *世界华人消化杂志*, 2010, 18(28):3012-3015.
- [11] Kok S H, Cheng S J, Hong C Y, et al. Norcantharidin-induced apoptosis in oral cancer cells is associated with an increase of proapoptotic to antiapoptotic protein ratio [J]. *Cancer Lett*, 2005, 217(1):43-52.
- [12] 伍冬梅, 李春鸣. Bcl-2、Bax 在胃癌及胃癌前病变中的表达与细胞凋亡的关系[J]. *遵义医学院学报*, 2014, 37(2):201-203.
- [13] Spiege S, Milstien S. Sphingosine-1-phosphate: an enigmatic signalling lipid [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2003, 4(5):397-407.
- [14] 张丽志, 温克. 1-磷酸鞘氨醇对恶性肿瘤生物学行为调控的研究进展[J]. *肿瘤*, 2012, 32(11):936-939.
- [15] 张富洋, 周芬, 闫文俊, 等. 缺氧前、后处理 1-磷酸鞘氨醇对心肌细胞缺氧/复氧损伤拮抗作用的差异及相关机制[J]. *心脏杂志*, 2014, 26(1):6-9.
- [16] 韩勇. 20-HETE 对心肌缺血再灌注损伤及细胞凋亡的作用及机制研究[D]. 长春: 东北师范大学, 2013.
- [17] 辛慧, 丁月霞, 李培锋. 甘氨酸对小鼠体外脾淋巴细胞凋亡的影响[J]. *内蒙古农业大学学报: 自然科学版*, 2011, 32(1):28-33.
- [18] 刘勇, 史立军, 孟宪红, 等. PUMA、Caspase-3 蛋白在胃癌组织中的表达及其临床意义[J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2010, 19(11):972-974.

[责任编辑 张丰丰]