

# 黔产莪术油对人直肠癌细胞血管生成因子表达的影响

朱诗国<sup>1</sup>, 许政旭<sup>1</sup>, 罗俊<sup>1</sup>, 潘年松<sup>2\*</sup>, 廖彬汛<sup>1</sup>

(1. 贵州医科大学, 贵阳 550025; 2. 遵义医药高等专科学校, 贵州 遵义 563006)

**[摘要]** **目的:**通过黔产莪术油对人直肠癌 SW1463 细胞血管内皮生长因子(VEGF)和趋化因子(chemokine, CXC)蛋白表达的影响,探讨莪术挥发油对肿瘤血管生成的作用机制。**方法:**将经水蒸气蒸馏提取的黔产莪术挥发油,配制成 80, 120, 160, 200 mg·L<sup>-1</sup>不同质量浓度,干预直肠癌 SW1463 细胞 24 h 后,倒置显微镜下观察不同浓度莪术油对直肠癌 SW1463 细胞的形态学影响;采用免疫细胞化学和蛋白免疫印迹法(Western blot)检测直肠癌 SW1463 细胞中 VEGF, 白细胞介素-8(IL-8)和 CXC 趋化因子受体 2(CXCR2), CXC 趋化因子受体 3(CXCR3)蛋白的表达。**结果:**经莪术油处理直肠癌 SW1463 细胞 24 h 后,与空白组比较,莪术挥发油组细胞中 VEGF, IL-8, CXCR2 蛋白表达量明显下调( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),莪术油能抑制肿瘤细胞中 VEGF, IL-8, CXCR2 蛋白的表达;莪术挥发油组细胞中 CXCR3 蛋白表达量明显上调( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),莪术油能促进肿瘤细胞 CXCR3 蛋白的表达。**结论:**黔产莪术油可能通过下调促血管生成相关因子的表达,上调抑制性血管生成相关趋化因子的表达,从而抑制肿瘤血管生成,起到抑制肿瘤细胞的增殖作用。

**[关键词]** 黔产莪术油; 直肠癌 SW1463 细胞; 血管内皮生长因子; 趋化因子; 血管新生

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)04-0152-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017040152

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161129.1504.036.html>

**[网络出版时间]** 2016-11-29 15:04

## Effect of Zedoary Turmeric Oil from Guizhou on Expression of Angiogenesis Factors in Human Colorectal Cancer SW1463 Cells

ZHU Shi-guo<sup>1</sup>, XU Zheng-xu<sup>1</sup>, LUO Jun<sup>1</sup>, PAN Nian-song<sup>2\*</sup>, LIAO Bin-xun<sup>1</sup>

(1. Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China;

2. Zunyi Medical and Pharmaceutical College, Zunyi 563006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the mechanism of zedoary turmeric oil on tumor angiogenesis through the research of zedoary turmeric oil effect on vascular endothelial growth factor (VEGF) and chemokine (CXC) protein expression levels in rectal cancer SW1463 cells. **Method:** Steam distillation was used to extract volatile oil from *Rhizoma curcuma*, and prepared into different concentrations 80, 120, 160 and 200 mg·L<sup>-1</sup>. After 24 h treatment on rectal cancer SW1463 cells, their effects on morphology of rectal cancer SW1463 cells were observed by inverted microscope. The protein expression levels of VEGF, CXC, interleukin (IL)-8 and its receptors CXCR2, CXCR3 in rectal cancer SW1463 cells were detected by immunocytochemistry and Western blot. **Result:** After treatment on rectal cancer SW1463 cells for 24 h by zedoary turmeric oil, the protein expression levels of VEGF, IL-8 and CXCR2 in cells were significantly down-regulated as compared with the normal blank group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). The protein expression levels of VEGF, IL-8, CXCR2 could be inhibited in tumor cells by zedoary turmeric oil. However, the protein expression level of CXCR3 in cells was significantly up-regulated as compared with the normal blank group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). The protein expression level of CXCR3 can be

**[收稿日期]** 20160612(008)

**[基金项目]** 贵州省科技计划课题项目(黔科合 LG 字[2011]006 号);贵州省社会发展项目(黔科合 SY(2008)3027 号)

**[第一作者]** 朱诗国, 硕士, 从事中药药理研究, Tel:15761600532, E-mail:490119122@qq.com

**[通讯作者]** \*潘年松, 博士, 教授, 从事中药药理研究, Tel:13765963366, E-mail:783044500@qq.com

promoted in tumor cells by zedoary turmeric oil. **Conclusion:** Different concentrations of zedoary turmeric oil from Guizhou can inhibit rectal cancer SW1463 cells proliferation and alter cellular morphology. Zedoary turmeric oil from Guizhou can inhibit tumor angiogenesis through down-regulation of pro-angiogenesis-associated factors VEGF, IL-8, CXCR2 and up-regulation of angiogenesis-related chemokines CXCR3.

[**Key words**] zedoary turmeric oil from Guizhou; rectal cancer SW1463 cells; vascular endothelial growth factor (VEGF); chemokine (CXC); angiogenesis

结直肠癌 (colorectal carcinoma, CRC) 包括结肠癌与直肠癌, 是下消化道常见的恶性肿瘤之一。我国结直肠癌的发病率和死亡率均保持上升趋势, 2011 年结直肠癌的发病率和死亡率分别 23.03/10 万和 11.11/10 万<sup>[1]</sup>。莪术为姜科姜黄属植物蓬莪术 *Curcuma phaeocaulis*, 广西莪术 *C. kwangsiensis* 和温郁金 *C. wenyujin* 的干燥根茎, 具有行气破血、消积止痛之功效<sup>[2]</sup>。现代药理研究表明, 莪术油具有抗肿瘤、抗菌、抗炎、调节免疫等广泛药理作用<sup>[3]</sup>。肿瘤是血管依赖性病变, Folkman<sup>[4]</sup> 教授于 1971 年首次提出了肿瘤的生长需要新生血管形成。当肿瘤体积超过 2 mm<sup>3</sup> 必须启动血管生成, 刺激周围成熟的血管通过出芽的方式形成新的血管, 为肿瘤提供养分和带走代谢废物。阻断新生血管生成将阻止肿瘤生长, 甚至导致肿瘤缩小。因而, 抗肿瘤血管生成已成为目前治疗肿瘤的研究热点之一。

趋化因子 (CXC) 是一类能趋化细胞定向移动的小分子分泌蛋白, 由 700 ~ 1 000 个氨基酸组成 (8 ~ 12 kDa), 是目前已知的最大细胞因子超家族<sup>[5]</sup>。众多实验证据表明, 许多肿瘤细胞可以限定性表达某些趋化因子及趋化因子受体, 并受趋化因子及其受体的网络调控<sup>[6]</sup>。CXC 在肿瘤血管生成中发挥着重要作用, 如乳腺癌、肝癌、胃癌、结肠癌、直肠癌等<sup>[7-10]</sup>。CXC 抗肿瘤血管生成的靶向治疗已成为一个非常有潜力的治疗手段。但目前缺乏有关莪术油对 CXC 影响的研究报道。故本实验从抑制肿瘤血管生成的角度出发, 探讨莪术挥发油对肿瘤细胞中 CXC 表达的影响, 阐明其抗肿瘤血管生成的作用机制, 为中药防癌、抗癌的临床应用提供基础实验依据。

## 1 材料

**1.1 药物** 黔产莪术购自遵义市湄潭县基地 (从四川崇州引种植), 经遵义市食品药品检验所冯华研究员鉴定为姜科姜黄属植物广西莪术 *Curcuma kwangsiensis* 的干燥根茎。

黔产莪术油为黔产莪术干燥根茎经水蒸气蒸馏提取的挥发油, 用聚山梨酯-80 (tween-80) 溶解所提

取的莪术挥发油, 配制成 10 g·L<sup>-1</sup> 的母液 (tween-80 体积分数为 0.5%), 经 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌, -80 °C 避光保存。

**1.2 细胞株** 人直肠癌细胞株 SW1463, 购于上海奥陆生物技术有限公司, 来源 ATCC, 批号 CCL-234。

**1.3 试剂** BCA 蛋白定量试剂盒, ECL 化学发光试剂盒, RIPA 裂解液 (北京康为世纪生物科技有限公司, 批号分别为 00121506, 00101510, 1014D); DAB 显色试剂盒, CXC 趋化因子受体 3 (CXCR3) 兔多克隆抗体, 血管内皮生长因子 (VEGF) 兔多克隆抗体, 即用型 SABC (小鼠/兔 IgG) 试剂盒 (武汉博士德生物工程有限公司, 批号分别为 K163323C, ZP575BP75, BP88, 10L18B); 白细胞介素-8 (IL-8), CXC 趋化因子受体 2 (CXCR2) 鼠单克隆抗体 (美国 Santa Cruz 公司, 批号分别为 L0238, 17095); 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 兔多克隆抗体, 辣根酶标记山羊抗鼠免疫球蛋白 (Ig)G (美国 Proteintech 公司, 批号分别为 10494-1-AP, SA00001-1); 辣根酶标记山羊抗兔 IgG (北京中杉金桥生物公司, 批号 109525); 噻唑蓝 (MTT) 试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司, 批号 20141011)。

**1.4 仪器** Centrifuge 5810R 型高速冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司), ELx800-MV 酶标仪 (美国 Bio-Tek 公司), DYY-7C 型电泳仪 (北京市六一仪器厂), Image Pro Plus 图像分析管理系统 (美国 Media Cybernetics 公司), IX71 型荧光倒置显微镜 (日本奥林巴斯株式会社), TS-8 型转移脱色摇床 (江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司), Universal Hood II 型凝胶成像系统 (美国 Bio-Rad 公司)。

## 2 方法

**2.1 细胞培养** 将 SW1463 细胞接种到含 3 mL DMEM 培养基 (含 10% 胎牛血清和青霉素 100 U·mL<sup>-1</sup>, 链霉素 100 mg·L<sup>-1</sup>) 的 25 cm<sup>2</sup> 细胞培养瓶中, 置于 37 °C 5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度进行传代培养。

**2.2 MTT 法检测细胞增殖抑制**

**2.2.1** tween-80 作用于直肠癌 SW1463 细胞增殖检测 将对数生长期的 SW1463 细胞用胰酶消化并

制备成单细胞悬液,调整细胞密度为  $6 \times 10^4$  个/mL,按每孔 180  $\mu$ L 接种于 96 孔板,将细胞分为空白组(无血清培养基),tween-80 组(0.002%, 0.004%, 0.006%, 0.008%, 0.010%, 0.012%, 0.014%, 0.016% 梯度体积浓度)。每个体积浓度组设立 6 个平行复孔。细胞培养 24 h 后弃上清,各组加入含不同浓度药物的培养基 200  $\mu$ L,培养 24 h。每孔加入  $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  MTT 20  $\mu$ L,培养 4 h 后弃上清,每孔加入二甲亚砜(DMSO) 150  $\mu$ L,振荡 10 min,置于自动酶标仪上,490 nm 测定吸光度  $A$ 。

**2.2.2 黔产莪术油作用于直肠癌 SW1463 细胞后增殖检测** 细胞培养同 2.2.1 项,将细胞分为调零组(仅加培养基)、空白组(无血清培养基)、莪术油(40, 80, 120, 160, 200, 240, 280  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )组。计算各浓度细胞抑制率,采用 SPSS 19.0 通过回归计算半数抑制率( $\text{IC}_{50}$ )。

$$\text{细胞抑制率} = [1 - (A_{\text{药物组}} - A_{\text{调零组}}) / (A_{\text{空白组}} - A_{\text{调零组}})] \times 100\%$$

**2.3 细胞形态学检测** 将对数生长期 SW1463 细胞制成单细胞悬液后接种于 12 孔板,培养 24 h,加入含莪术油(80, 120, 160, 200  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )的培养液干预 SW1463 细胞 24 h,设空白组,倒置显微镜下观察各组细胞形态并拍照。

**2.4 免疫细胞化学检测蛋白表达** 直肠癌 SW1463 细胞在经防脱片剂处理的载玻片上进行培养,经莪术油(80, 120, 160, 200  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )干预细胞 24 h 后,设空白组,弃培养基,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤。4% 多聚甲醛固定 20 min,3% 冰乙酸室温浸泡 20 min,灭活内源性过氧化物酶。5% BSA 封闭 20 min。滴加一抗(1:50)20 ~ 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 2 h 或 4  $^{\circ}\text{C}$  过夜。滴加生物素化山羊抗小鼠 IgG 或兔 IgG,20 ~ 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 20 min。滴加 SABC,20 ~ 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 20 min。DAB 显色,苏木素复染细胞核,水洗。在显微镜下照相。每张免疫组化切片随机选取 5 个不同视野,对每个视野进行阳性细胞计数,统计分析阳性细胞率。

**2.5 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 VEGF, IL-8, CXCR2 和 CXCR3 蛋白表达** 经莪术油(80, 120, 160, 200  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )干预细胞 24 h 后,设空白组, PBS 漂洗 2 次,加预冷的 RIPA 细胞裂解缓冲液,裂解 30 min,提取细胞总蛋白,4  $^{\circ}\text{C}$ , 12 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 20 min,收集上清液备用。BCA 法测定所提取物质的蛋白浓度。定量成总体积 20  $\mu$ L 含总蛋白 30  $\mu\text{g}$  的待测样品,经 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分

离并转移至 PVDF 膜上。3% BSA 封闭 1 h 后,一抗(GAPDH 1:8 000, IL-8 1:200, CXCR2 1:200, CXCR3 1:200, VEGF 1:200)室温孵育 2 h 或 4  $^{\circ}\text{C}$  过夜,经 TBST 漂洗后二抗室温孵育 1 h。滴加 ECL 工作液,在 ChemiDoc<sup>TM</sup> XRS + 凝胶成像仪上曝光显影,并用 Biorad Image Lab 图像分析各条带的灰度值。

**2.6 统计学处理** 采用 SPSS 19.0 软件,计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,多组均数比较采用单因素方差分析方法进行处理,以  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 tween-80 对直肠癌 SW1463 细胞增殖的影响** 当 tween-80 体积浓度  $< 0.012\%$  时,随 tween-80 体积浓度的增加,各时间点内  $A$  与空白组比较差异均无统计学意义,表明在此浓度范围内 tween-80 对细胞的增殖并无明显影响。但当 tween-80 体积浓度  $\geq 0.012\%$  时 tween-80 组  $A$  较空白组明显降低( $P < 0.05$ ),表明在此体积浓度范围内 tween-80 具有抑制肿瘤细胞增殖的作用。见表 1。

表 1 tween-80 对 SW1463 细胞增殖  $A$  的影响( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )  
Table 1 Effect of tween-80 on proliferation of SW1463 cells( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	体积浓度/%	24 h
空白	-	0.376 $\pm$ 0.063
tween-80	0.002	0.395 $\pm$ 0.051
	0.004	0.382 $\pm$ 0.053
	0.006	0.393 $\pm$ 0.088
	0.008	0.380 $\pm$ 0.071
	0.010	0.337 $\pm$ 0.032
	0.012	0.290 $\pm$ 0.023 <sup>1)</sup>
	0.014	0.255 $\pm$ 0.039 <sup>1)</sup>
	0.016	0.263 $\pm$ 0.041 <sup>1)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ 。

**3.2 黔产莪术油对直肠癌 SW1463 细胞增殖的影响** 随莪术油浓度的增加,药物对 SW1463 细胞的增殖抑制作用逐渐增强,呈现出一定的剂量依赖性。莪术油对 SW1463 细胞的  $\text{IC}_{50}$  为(128.30  $\pm$  9.55)  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。因此,将药物组莪术油质量浓度设置为 80, 120, 160, 200  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  干预细胞 24 h 作为后期实验条件。见图 1。

**3.3 黔产莪术油对直肠癌 SW1463 细胞形态学的影响** 正常情况下,SW1463 呈梭形,贴壁生长,

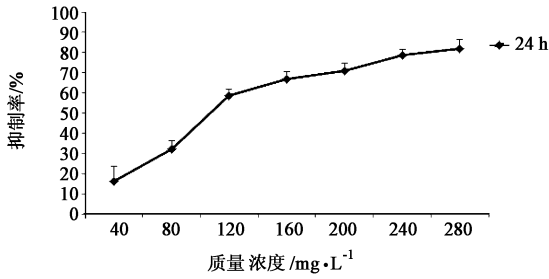
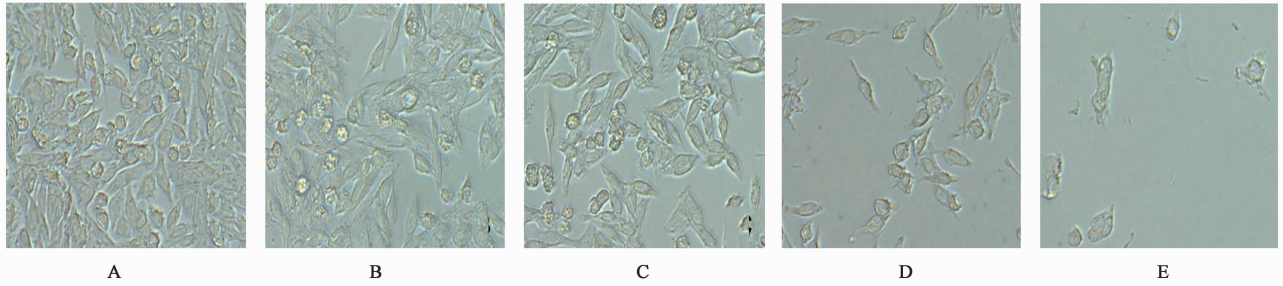


图 1 莪术油对 SW1463 细胞增殖的影响( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )  
Fig.1 Effect of zedoary turmeric oil on proliferation of SW1463 cells( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

细胞生长密集,细胞核清晰,呈圆形或椭圆形,边界清楚。不同质量浓度莪术油作用 SW1463 细胞 24 h 后形态发生不同程度的改变,莪术油 80 mg·L<sup>-1</sup> 作用下细胞出现皱缩,胞膜尚完整,细胞的数量开始减少;随着莪术油质量浓度升高(120,160 mg·L<sup>-1</sup>),细胞明显减少,排列紊乱,胞膜完整性受破坏;莪术油(200 mg·L<sup>-1</sup>)时,细胞大量死亡,细胞稀少、皱缩,形态呈不规则改变,并可见大量细胞碎片,见图 2。

### 3.4 黔产莪术油对直肠癌 SW1463 细胞蛋白表达



A. 空白组;B. 莪术油 80 mg·L<sup>-1</sup>组;C. 莪术油 120 mg·L<sup>-1</sup>组;D. 莪术油 160 mg·L<sup>-1</sup>组;E. 莪术油 200 mg·L<sup>-1</sup>组(图 3~7 同)

图 2 莪术油对 SW1463 细胞形态学的影响(倒置显微镜,×200)

Fig.2 Effect of zedoary turmeric oil on morphological changes of SW1463 cells(inverted microscope, ×200)

的影响 VEGF, IL-8, CXCR2 和 CXCR3 在直肠癌 SW1463 细胞的细胞质中表达,阳性表达为棕黄色颗粒。与空白组比较,随莪术油质量浓度增加,VEGF,IL-8 和 CXCR2 阳性细胞率逐渐降低( $P < 0.05, P < 0.01$ ),表明莪术油对 SW1463 细胞中

VEGF,IL-8 和 CXCR2 蛋白表达均有抑制作用;与空白组比较,随着莪术油质量浓度增加,CXCR3 阳性细胞率逐渐增高( $P < 0.05, P < 0.01$ ),表明莪术油对 SW1463 细胞 CXCR3 蛋白表达有促进作用。见表 2,图 3~6。

表 2 莪术油对 SW1463 细胞中各目的蛋白表达阳性细胞率的影响( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	质量浓度 / mg·L <sup>-1</sup>	VEGF	IL-8	CXCR2	CXCR3
空白	-	79.48 ± 3.49	84.00 ± 1.37	83.58 ± 1.30	27.16 ± 1.23
莪术油	80	74.70 ± 1.41 <sup>1)</sup>	83.43 ± 2.70	75.84 ± 1.23	30.99 ± 1.60 <sup>1)</sup>
	120	65.24 ± 1.39 <sup>2)</sup>	70.70 ± 2.34 <sup>2)</sup>	58.29 ± 1.97 <sup>2)</sup>	61.80 ± 1.56 <sup>2)</sup>
	160	53.81 ± 1.67 <sup>2)</sup>	42.58 ± 2.12 <sup>2)</sup>	44.44 ± 2.09 <sup>2)</sup>	68.62 ± 0.63 <sup>2)</sup>
	200	42.30 ± 2.40 <sup>2)</sup>	36.34 ± 3.10 <sup>2)</sup>	43.13 ± 2.85 <sup>2)</sup>	78.84 ± 1.13 <sup>2)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05, ^{2)}$  $P < 0.01$ 。

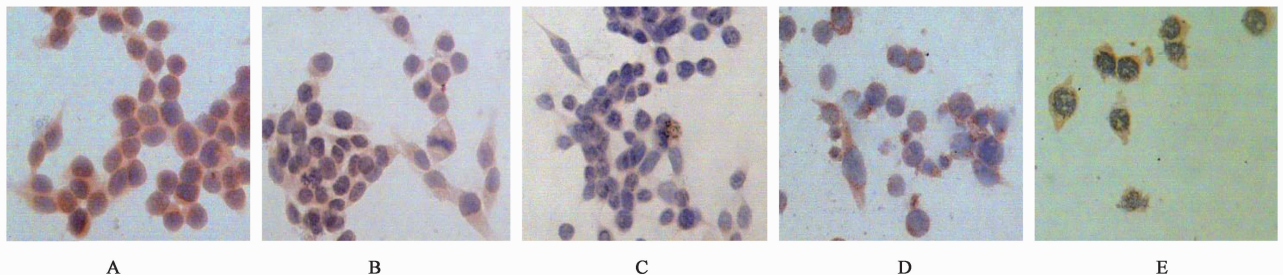


图 3 莪术油对 SW1463 细胞 VEGF 蛋白表达的影响(免疫组化,×400)

Fig.3 Effect of zedoary turmeric oil on VEGF expression of target proteins in rectal cancer SW1463 cells(IHC, ×400)

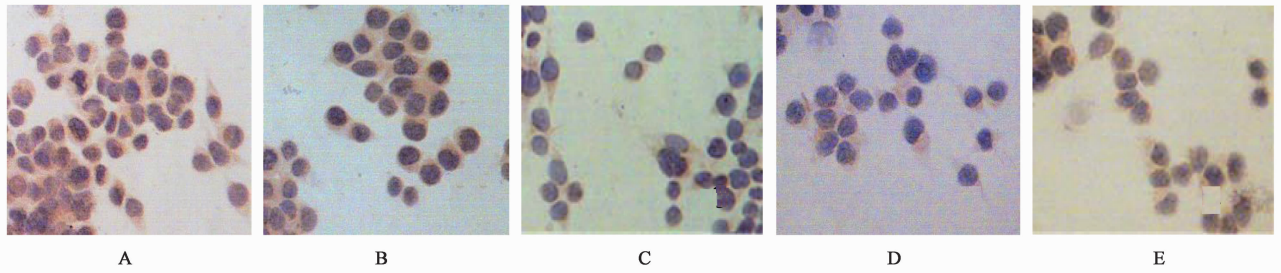


图 4 莪术油对 SW1463 细胞 IL-8 蛋白表达的影响(免疫组化, ×400)  
Fig. 4 Effect of zedoary turmeric oil on IL-8 expression of target proteins in rectal cancer SW1463 cells(IHC, ×400)

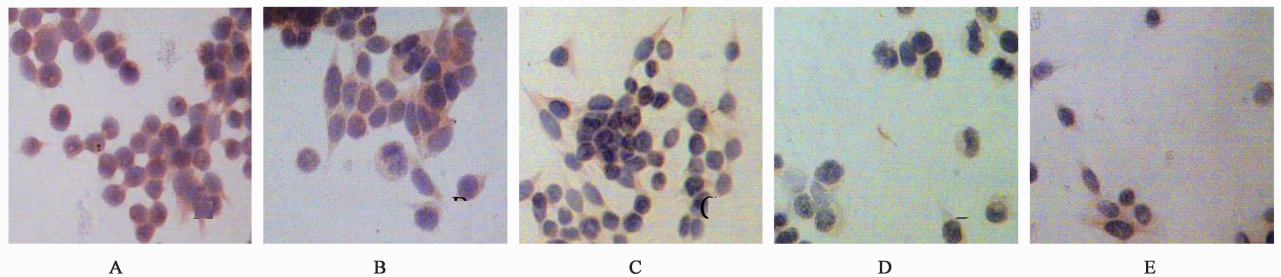


图 5 莪术油对 SW1463 细胞 CXCR2 蛋白表达的影响(免疫组化, ×400)  
Fig. 5 Effect of zedoary turmeric oil on CXCR2 expression of target proteins in rectal cancer SW1463 cells(IHC, ×400)

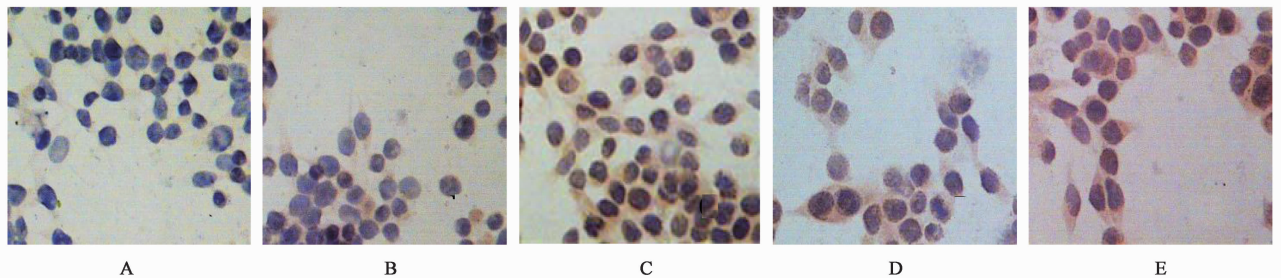


图 6 莪术油对 SW1463 细胞 CXCR3 蛋白表达的影响(免疫组化, ×400)  
Fig. 6 Effect of zedoary turmeric oil on CXCR3 expression of target proteins in rectal cancer SW1463 cells(IHC, ×400)

**3.5 莪术油对直肠癌 SW1463 细胞蛋白表达的影响** 与空白组比较,随莪术油质量浓度增加,VEGF, IL-8 和 CXCR2 蛋白表达量逐渐下调( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),表明莪术油对 SW1463 细胞中 VEGF, IL-8 和 CXCR2 的表达均有抑制作用;随莪术油质量浓度增加,与空白组比较, CXCR3 蛋白表达量逐渐上调( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),表明莪术油对 SW1463 细胞 CXCR3 的表达有促进作用。见图 7。

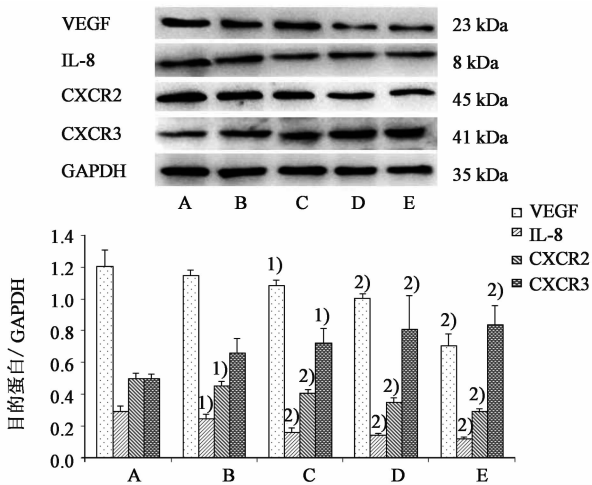
#### 4 讨论

tween-80 为常用非离子型表面活性剂,广泛用作乳化剂和油类物质的增溶剂。通过检测发现当 tween-80 体积浓度  $< 0.012\%$  时,对直肠癌 SW1463 细胞的增殖并无明显影响,对实验结果不会产生明显的干扰。黔产莪术油对直肠癌 SW1463 细胞增殖有明显抑制作用,且抑制细胞增殖能力与莪术油浓

度呈正相关,随着莪术油浓度增加,细胞活力下降,大量死亡,数量减少,排列紊乱,出现不规则形态改变。

在多数肿瘤中,VEGF 是最重要的诱导血管生成因子。在肿瘤组织中 VEGF 表达与肿瘤微血管密度(MVD)呈正相关,VEGF 过度表达能促进血管再生,进而产生大量结构与功能异常的肿瘤血管,最终导致 MVD 增加<sup>[11-12]</sup>。对肿瘤进行干预后,肿瘤组织 VEGF 的表达降低,肿瘤 MVD 降低,进而影响肿瘤血管生成,抑制肿瘤细胞的生长增殖<sup>[13-15]</sup>。本实验结果表明,莪术油可下调 SW1463 细胞中 VEGF 蛋白的表达,提示黔产莪术油可能通过抑制肿瘤细胞 VEGF 的表达抑制肿瘤新生血管的生成,导致直肠癌细胞的增殖受到抑制。

ELR<sup>+</sup> CXC 类趋化因子与受体 CXCR2 结合,可



与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$

图 7 莪术油对 SW1463 细胞蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 7 Effect of zedoary turmeric oil on various proteins in SW1463 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

直接作用于血管内皮细胞促进血管生成,介导肿瘤生长和转移。在肿瘤组织中,IL-8 与受体 CXCR2 结合后,通过 G 蛋白介导的信号通路促进 VEGF 表达,肿瘤组织中微血管密度增加,进而促进肿瘤血管的生成<sup>[16-17]</sup>。而阻断 CXCR2 受体可引起肿瘤组织坏死,肿瘤细胞生长增殖受到抑制,VEGF 表达下降,微血管密度降低,从而抑制肿瘤新生血管的形成<sup>[18-19]</sup>。本实验结果显示,莪术油可下调 SW1463 细胞中 IL-8 及其受体 CXCR2 蛋白的表达,且两者与 VEGF 下调趋势一致,提示黔产莪术油可能通过抑制肿瘤细胞趋化因子 IL-8 和 CXCR2 的表达,同时阻碍 IL-8 与受体 CXCR2 的结合而起到抑制肿瘤血管生成的作用,从而发挥抑制肿瘤细胞增殖的作用。

CXCR3 作为 ELR<sup>-</sup> CXC 类趋化因子的共同受体,具有抑制肿瘤生长、迁移及血管形成作用<sup>[20]</sup>。肿瘤中新生血管生成增多,VEGF 表达量上调,机体可能通过反馈通路诱导巨核细胞及肿瘤细胞中合成和释放抑制性趋化因子血小板因子 4 (CXCL4),来反馈性抑制 VEGF 的促血管作用,而 CXCR3 表达增强可能与其配体的高表达有关<sup>[21]</sup>。通过上调肿瘤细胞 CXCR3 及配体单核因子 (MIG) 和诱导蛋白-10 (IP-10) 表达水平,共同参与血管新生抑制过程,控制肿瘤异常血管增生,抑制肿瘤生长<sup>[22-23]</sup>。本实验结果显示,莪术油可上调 SW1463 细胞中抑制性趋化因子受体 CXCR3 蛋白的表达,且与 VEGF 蛋白的表达呈负性相关,表明黔产莪术油有可能通过增强抑制性趋化因子受体 CXCR3 的表达来抑制 VEGF

的促血管生成作用,从而抑制肿瘤血管的生成,导致肿瘤细胞的增殖受到抑制。

趋化因子作用于血管生成并不是孤立的,趋化因子与干扰素,VEGF,EGF 等其他因子之间互相联系,互相影响,共同组成了更为复杂的调节肿瘤血管生成的网络系统。由于黔产莪术油中成分复杂,具有广泛的生物学效应,对肿瘤细胞的作用也并非针对单一靶点,因此对莪术油抑制直肠癌细胞生长、增殖的作用机制及其相关信号通路仍需进一步深入研究。

[参考文献]

[1] 中华医学会肿瘤学分会. 中国结直肠癌诊疗规范 (2015 版)[J]. 中华普通外科学文献:电子版,2015,9 (6):506-523.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:257-258.

[3] Gupta S C, Patchva S, Koh W, et al. Discovery of curcumin, a component of golden spice, and its miraculous biological activities[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol,2012,39(3):283-299.

[4] Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications [J]. New Engl J Med,1971,285(21):1182-1186.

[5] Sharma M. Chemokines and their receptors: orchestrating a fine balance between health and disease [J]. Crit Rev Biotechnol,2010,30(1):1-22.

[6] Wallace B M. Inflammation and cancer: a comparative view[J]. J Vet Intern Med,2012,26(1):18-31.

[7] 林明臻,王会东,吴楠,等. CXCR3 在乳腺癌中的表达及其临床意义[J]. 潍坊医学院学报,2014,36(5):327-329.

[8] 张巍巍,孟欣颖,马春红,等. 胃腺癌组织 CXCL10 与 CXCR3 的表达及意义[J]. 齐鲁医学杂志,2015,30 (1):21-23.

[9] 边月红,黄淑红,杨凌,等. 趋化因子 IL-8 和受体 CXCR1, CXCR2 在胃肠和肝肿瘤中的表达[J]. 山东大学学报:理学版,2012,47(3):21-26.

[10] 任鹏,郝青,王杰书,等. 趋化因子受体 3 及血管生成拟态在结肠癌肝转移中的作用[J]. 山东大学学报:医学版,2012,50(8):96-99.

[11] 沈叶,盛友华,冯一中. 乳腺癌组织中 VEGF、bFGF 表达变化及其与微血管密度的关系[J]. 山东医药,2014,54(28):73-74.

[12] 赵长林,孙壮,张甘露,等. 直肠癌组织 PI3K 和 Survivin 及 VEGF 表达与肿瘤侵袭转移相关性的探讨 [J]. 中华肿瘤防治杂志,2012,19(1):63-67.

[13] 祝永福,夏黎明,郑圣齐. 复方守宫散抗人胃癌裸鼠移植瘤血管生成的实验研究[J]. 中国中医药,2013,

- 11(23):155-156.
- [14] 郑惊雷,梁力建,王在国,等. 肝动脉灌注化疗抑制肝癌血管生成的研究[J]. 中国医学创新,2014,11(3):1-3.
- [15] 刘晓菲,宋爱莉,李静蔚,等. 莪术油对大鼠乳腺癌前病变MVD及相关调控因子VEGF/FLK表达的干预作用研究[J]. 中医药学报,2011,39(4):19-21.
- [16] 牛秀珑,邢杰,张晓雷,等. IL-8调节卵巢癌细胞VEGF表达、体外黏附与侵袭特性的机制研究[J]. 免疫学杂志,2013,29(6):467-473.
- [17] Lee Y S, Choi I, NING Y, et al. Interleukin-8 and its receptor CXCR2 in the tumour microenvironment promote colon cancer growth, progression and metastasis [J]. Br J Cancer, 2012, 106(11):1833-1841.
- [18] 刘欣,戴晓冬,李星云,等. CXCR1/CXCR2受体拮抗剂-G31P抑制前列腺癌血管新生的体内实验[J]. 肿瘤防治研究,2012,39(7):784-786.
- [19] Varney M L, Singh S, LI A, et al. Small molecule antagonists for CXCR2 and CXCR1 inhibit human colon cancer liver metastases [J]. Cancer Lett, 2011, 300(2):180-188.
- [20] Strieter R M, Burdick M D, Gomperts B N, et al. Cancer CXC chemokine networks and tumour angiogenesis [J]. Eur J Cancer, 2006, 42(6):768-778.
- [21] 刘猛,赵瑞力. 喉癌组织中CXCL4、CXCR3的表达及与微血管形成相关性的研究[D]. 石家庄:河北医科大学第四医院,2015.
- [22] Lasagni L, Francalanci M, Annunziato F, et al. An alternatively spliced variant of CXCR3 mediates the inhibition of endothelial cell growth induced by IP-10, Mig, and I-TAC, and acts as functional receptor for platelet factor4 [J]. J Exp Med, 2003, 197(11):1537-1549.
- [23] 李琳,钱晓萍,杜娟,等. 趋化因子CXCL9和CXCL10介导的胃癌免疫细胞浸润的探讨[J]. 现代肿瘤医学,2015,23(20):2899-2904.
- [责任编辑 张丰丰]

## 《中国实验方剂学杂志》2014—2016年度优秀审稿专家名单

田元祥教授(中国中医科学院中医临床基础医学研究所)  
刘春生教授(北京中医药大学)  
沈祥春教授(贵阳医学院药学院)  
王长虹教授(上海中医药大学)  
倪艳教授(山西省中医药研究院)  
倪健教授(北京中医药大学)  
赵艳玲研究员(解放军302医院)  
李孝栋教授(福建中医药大学)  
康文艺教授(河南大学)  
张艳教授(辽宁中医药大学)  
任钧国研究员(中国中医科学院西苑医院)  
蔡宇教授(暨南大学药学院)  
王冰副教授(上海中医药大学)  
袁子民副教授(辽宁中医药大学)  
张华副教授(山东中医药大学)

获奖的优秀审稿专家是在2014—2016年度一贯积极支持编辑部工作,能认真负责、按时完成审稿任务,且审稿数量较多的专家,由责任编辑推荐,编委会年会通过并颁发了获奖证书及奖金。