

# 参芪抑瘤方含药血清对 BGC-823 胃癌细胞增殖和周期的影响

皮林君<sup>1</sup>, 马春林<sup>1</sup>, 李海龙<sup>1,2</sup>, 曾庆涛<sup>1</sup>, 刘佳楠<sup>1</sup>, 吴红彦<sup>1,2,3\*</sup>

(1. 甘肃中医药大学, 兰州 730000; 2. 甘肃省方药挖掘和创新转化重点实验室, 兰州 730000;  
3. 甘肃省中药新产品创制工程实验室, 兰州 730000)

**[摘要]** **目的:**探讨参芪抑瘤方含药血清对胃癌细胞 BGC-823 增殖和周期的影响,并探讨其作用机制。**方法:**以参芪抑瘤方 3%、5%、10% 含药血清干预 BGC-823 细胞后,采用 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐法检测其对细胞增殖的影响;采用流式细胞仪检测细胞周期变化;采用实时荧光定量 PCR (Real-time PCR) 检测细胞周期蛋白依赖性激酶 (cyclin-dependent kinase inhibitor, CDKN) 1B, CDKN1C mRNA 表达;蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测 p27, p57 蛋白表达情况。**结果:**不同浓度含药血清作用于 BGC-823 细胞 24, 48, 72 h 后,细胞存活率显著降低 ( $P < 0.01$ ),且与时间和浓度呈依赖关系;不同浓度含药血清作用于 BGC-823 细胞 24 h 后, G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞增多, S 期细胞减少; Real-time PCR 结果表明,与溶剂组和空白血清组比较,参芪抑瘤方各组 CDKN1B, CDKN1C mRNA 表达上调 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); Western blot 结果显示,与溶剂组比较,参芪抑瘤方各组 p27, p57 蛋白表达上调 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。**结论:**参芪抑瘤方含药血清可以抑制胃癌 BGC-823 细胞的增殖,其机制可能通过调节 CDKN1B, CDKN1C mRNA 及 p27, p57 蛋白表达,进而干预细胞周期有关。

**[关键词]** 参芪抑瘤方含药血清; 胃癌细胞; 含药血清; 细胞增殖; 细胞周期

**[中图分类号]** R22; R2-031; R273; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)05-0121-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2018050121

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171125.1449.012.html>

**[网络出版时间]** 2017-11-25 14:49

## Effect of Serum Containing Shenqi Yiliu Prescription on Proliferation and Cycle of Gastric Cancer BGC-823 Cells

PI Lin-jun<sup>1</sup>, MA Chun-lin<sup>1</sup>, LI Hai-long<sup>1,2</sup>, ZENG Qing-tao<sup>1</sup>, LIU Jia-nan<sup>1</sup>, WU Hong-yan<sup>1,2,3\*</sup>

(1. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China;

2. State Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine (TCM) Excavation Innovation and Transformation of Gansu Province, Lanzhou 730000, China; 3. Laboratory for TCM New Products Development Engineering of Gansu Province, Lanzhou 730000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of serum containing Shenqi Yiliu prescription on inhibiting cell proliferation and blocking cell cycle of gastric cancer cell lines BGC-823, and explore its possible mechanism. **Method:** After being treated with 3%, 5% and 10% serum containing Shenqi Yiliu prescription, gastric cancer cell lines BGC-823 were tested by 3-(4, 5-dimethyl-2-thiazolyl)-2, 5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide for proliferation; flow cytometry was used to detect the cell cycle; Real-time PCR technique was used to detect the mRNA expression of cyclin-dependent kinase inhibitor 1B (CDKN1B) and cyclin-dependent kinase inhibitor 1C (CDKN1C) genes; and Western blot was employed to test the protein expression levels of p27 and p57. **Result:** After 24, 48, 72 hours treatment with different concentrations of serum containing Shenqi Yiliu prescription, the cell viability was decreased significantly ( $P < 0.01$ ) in a time and dose dependent manner. Flow

**[收稿日期]** 20170612(019)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81660760);兰州市人才创新创业扶持项目(2015-RC-24)

**[第一作者]** 皮林君,在读硕士,从事方剂作用机制及药效物质基础研究, Tel:18129218788, E-mail:2238371742@qq.com

**[通信作者]** \* 吴红彦,教授,博士生导师,从事方剂作用机制及药效物质基础研究, Tel:0931-8765367, E-mail:wu.hy@163.com

cytometry analysis showed, when treated by different concentrations of serum containing Shenqi Yiliu prescription for 24h, BGC-823 cells count in S phase was decreased significantly and increased in G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> phase. Real-time PCR results showed, as compared with blank control group and solvent group, CDKN1B and CDKN1C mRNA expression levels were increased in each Shenqi Yiliu prescription group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Western blot results showed that as compared with blank control group, p27 and p57 protein expression levels were increased significantly in each Shenqi Yiliu prescription group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** The serum containing Shenqi Yiliu prescription can inhibit the BGC-823 cell proliferation and the mechanism may be associated with regulating CDKN1B, CDKN1C mRNA and protein expression to intervene in the cell cycle.

[**Key words**] Shenqi Yiliu prescription; gastric cancer cell; serum containing drugs; cell proliferation; cell cycle

胃癌是我国常见的恶性肿瘤之一。胃癌的发病率和致死率存在城乡差异和性别差异,总体上均处于上升趋势,对我国居民健康造成严重危害,成为了家庭、社会及国家沉重的负担<sup>[1]</sup>。近年来,随着国家对中医药事业发展的的大力支持,中医药在肿瘤防治方面的研究逐渐展开,中医药具有良好的抗肿瘤作用。参芪抑瘤方为导师吴红彦教授临床治疗肿瘤患者的有效经验方,具有解毒散结,扶正抑瘤的功效,符合肿瘤虚、痰(湿)、毒、瘀的病机<sup>[2-4]</sup>。尽管本方中医的组方思路及配伍意义是明确的,但其主要药效成分及作用机制尚不清楚,有待对组方中药及所含药效成分做相关分析和阐述,并进一步深入开展必要的实验研究,以期阐明该方发挥治疗作用的具体药效成分和作用机制。本课题在前期研究的基础上<sup>[3-10]</sup>,进一步探索该方抗肿瘤的相关作用机制,为中医药抗肿瘤新药研发提供一定的依据。

## 1 材料

**1.1 细胞株及动物** BGC-823 胃癌细胞株受赠于甘肃省方药挖掘和创新转化实验室。SPF级SD大鼠50只,6~8周龄,体质量(200±20)g,由甘肃中医药大学实验动物中心提供,许可证号SYXK(甘)2015-0005,动物在室温20~25℃,湿度45%~55%条件下分笼饲养,喂标准饲料,饮食自由,经甘肃中医药大学实验动物伦理委员会批准,批号2015-43。

**1.2 试剂** DMEM高糖培养基,胰蛋白酶(Gibco公司,批号分别为AAJ207791, J130025);胎牛血清(浙江天杭生物科技有限公司,批号20150315);噻唑蓝(MTT, Sigma公司,批号3BH0357);逆转录试剂盒(Roche公司,批号11316120);扩增试剂盒(Bioneer公司,批号1318L);RIPA裂解液(北京普利莱基因技术有限公司,批号C1053);化学发光液(Thermo公司,批号PJ207479);周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinase inhibitor, CDKN)1B,

CDKN1C,甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)单克隆抗体,Goat Anti-Rabbit IgG(H+L)HRP(Affinity公司,货号分别为LOT#19U71, LOT#19U71, LOT#19U71, LOT#19U71)。

**1.3 药物** 参芪抑瘤方由苦参、黄芪、当归、土贝母、白花蛇舌草、地龙等组成。药材由甘肃中医药大学附属医院中药房提供,经该院杨锡仓主任药师鉴定符合2015年版《中国药典》规定。

**1.4 仪器** HFsafe-1200LC型生物安全柜, HF212型细胞培养箱(上海力申科学仪器有限公司); CKX41+DP21型倒置显微镜(日本Olympus公司); EPICS XL型流式细胞仪(美国Beckman Coulter公司); Benchmark Plus型连续波长酶标仪, 721BR004526型电泳槽、转印槽及配套电源, CFX96 Touch型PCR仪, 1708195型凝胶成像仪(美国Bio-Rad公司)。

## 2 方法

**2.1 制备灌胃汤药和含药血清** 用10倍量水冷浸中药饮片1h,加热至沸腾后,中火煎煮40min,滤出。加6倍量水继续煎煮30min后滤出,跟头煎液混合,浓缩为含生药5.7g·mL<sup>-1</sup>,4℃保存备用。

SPF级SD大鼠(雌雄各半)50只,随机分为药物组和空白组。药物组灌服参芪抑瘤方41.5g·kg<sup>-1</sup>(用药量为人等效剂量5倍),另一组灌服等剂量的饮用水,每日2次,连续灌胃7d,于末次灌胃1h后,股动脉取血,4℃,3000r·min<sup>-1</sup>离心10min,分别收集两组大鼠血清,0.22μm微孔滤膜滤过,灭活冻存备用。

**2.2 细胞复苏、培养** BGC-823细胞株复苏后,在5%CO<sub>2</sub>恒温恒湿培养箱中,用完全培养基于无菌培养瓶中单层贴壁培养。待铺满瓶底后,用胰酶消化,加新完全培养基,制成细胞悬液后继续接种传代。

**2.3 细胞抑制率测定** 取对数生长期细胞,制备成

$5 \times 10^4$  个/mL 细胞悬液, 取 96 孔板以 100  $\mu\text{L}$ /孔接种细胞悬液。待贴壁后, 设 5 个组, 每组 6 个复孔。溶剂组予完全培养基 100  $\mu\text{L}$  常规培养, 空白血清组、含药血清低、中、高剂量组予完全培养基 80  $\mu\text{L}$  的同时, 每孔分别加入空白大鼠血清 20, 14, 10, 0  $\mu\text{L}$ , 药物大鼠血清 0, 6, 10, 20  $\mu\text{L}$ , 使各孔终体积为 200  $\mu\text{L}$ /孔。按时取出干预了 1, 2, 3 d 后 96 孔板, 加 5  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  MTT (20  $\mu\text{L}$ /孔), 再培养 4 h 后弃培养液, 加二甲亚砜 (DMSO, 150  $\mu\text{L}$ /孔), 摇床震荡 10 min, 用酶联免疫分析仪测 570 nm 波长处各孔吸光度  $A$ , 计算细胞抑制率, 细胞抑制率 =  $(1 - A_{\text{给药孔}} / A_{\text{空白孔}}) \times 100\%$ 。

**2.4 流式细胞仪检测细胞周期** 取对数生长期细胞接种于 6 孔板中, 分组同 2.3 项, 增殖为 80% 时, 加入不同浓度的含药血清处理 24 h, 检测前用胰酶消化, 1 500  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min, 吸弃上清, 磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗 2 次, 用 70% 乙醇, 4  $^{\circ}\text{C}$  固定过夜。用 PBS 配制成单细胞悬液, 50  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  碘化丙啶染色液室温染色 30 min 后, 流式细胞仪分析细胞周期。

**2.5 实时荧光定量 PCR (Real-time PCR) 检测 CDKN1B, CDKN1C mRNA 表达** 提取干预 1 d 后各组 BGC-823 细胞的总 RNA, 测定浓度纯度后, 逆转录成 cDNA 冻存备用。引物由宝生物工程 (大连) 有限公司合成, 序列见表 1。PCR 扩增条件为 95  $^{\circ}\text{C}$  预热 5 min, 95  $^{\circ}\text{C}$  变性 20 s, 60  $^{\circ}\text{C}$  退火与延伸 45 s, 45 个循环。扩增反应按说明在 CFX96 Real-time 荧光 PCR 仪上进行。分析溶解曲线, 确认扩增产物的特异性, 采取  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算 mRNA 相对表达量。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequence

引物	引物序列 (5'-3')	长度/bp
$\beta$ -actin	上游 GGAGATTACTGCCCTGGCTCCTA	150
	下游 GACTCATCGTACTCCTGCTTGCTG	
CDKN1B	上游 GAAGCACTGCAGACATGGA	93
	下游 CACCTTGCAGGCACCTTTG	
CDKN1C	上游 CTGCACTATCTCTCCATGTTT	95
	下游 GCGATCTCACACTTGTTC	

**2.6 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测蛋白 p27, p57 蛋白表达** 按说明书用蛋白提取试剂盒提取干预 1 d 后各组 BGC-823 细胞的总蛋白, BCA 法检测, 并调整各组蛋白浓度。用 15% 聚丙烯酰胺凝胶 100 V 恒压电泳分离约 2 h; 经 200 mA, 2 h, 转至 PVDF 膜; 用封闭液封闭 1.5 h 后, 分别加入一抗 p27, p57, GAPDH (1:500) 抗体 4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜, TBST

洗 2 次, TBS 洗 1 次, 5 min/次; 用二抗室温孵育 1 h, TBST 洗 2 次, TBS 洗 1 次, 每次 5 min; 加 ECL 工作液, 在凝胶成像仪下曝光成像。运用 ImageJ2X 专业图像软件分析目的蛋白条带灰度值, 以目的条带灰度值与内参灰度值比值表示蛋白相对表达量。

**2.7 数据统计** 统计数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 应用 SPSS 16.0 软件包处理, 根据方差齐性检验结果, 多组间比较采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 参芪抑瘤方含药血清对 BGC-823 细胞增殖的影响** 与溶剂组相比, 不同浓度含药血清对 BGC-823 细胞均有抑制作用, 含药血清  $A$  显著降低 ( $P < 0.01$ )。BGC-823 细胞含药血清干预 24 h 后参芪抑瘤方低、中、高剂量组的抑制率分别为 5.77%, 9.35%, 26.16%, 48 h 抑制率分别为 7.76%, 14.92%, 17.38%, 72 h 抑制率分别为 14.69%, 21.00%, 31.82%, 呈浓度和时间依赖性。见表 2。

表 2 参芪抑瘤方含药血清对 BGC-823 细胞增殖抑制的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

Table 2 Effect of serum containing Shenqi Yiliu prescription on inhibition of BGC-823 cell proliferation ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

组别	体积分数	24 h	48 h	72 h
溶剂	-	0.86 $\pm$ 0.04	0.99 $\pm$ 0.06	1.16 $\pm$ 0.03
空白血清	-	0.85 $\pm$ 0.03	1.00 $\pm$ 0.03	1.10 $\pm$ 0.02
参芪抑瘤方	3%	0.82 $\pm$ 0.02 <sup>1,2)</sup>	0.91 $\pm$ 0.06 <sup>1,2)</sup>	0.99 $\pm$ 0.01 <sup>1)</sup>
	5%	0.77 $\pm$ 0.04 <sup>1,2)</sup>	0.84 $\pm$ 0.06 <sup>1,2)</sup>	0.92 $\pm$ 0.02 <sup>1,2)</sup>
	10%	0.71 $\pm$ 0.03 <sup>1,2)</sup>	0.73 $\pm$ 0.04 <sup>1,2)</sup>	0.79 $\pm$ 0.01 <sup>1,2)</sup>

注: 与溶剂组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ; 与空白血清组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (表 5 同)。

**3.2 参芪抑瘤方含药血清对 BGC-823 细胞周期的影响** 与溶剂组相比, 不同浓度含药血清干预 BGC-823 细胞 24 h 后, 低、中、高剂量组  $G_0/G_1$  期比例上升, S 期比例下降。见表 3。

表 3 参芪抑瘤方含药血清对 MGC-823 细胞周期分布的影响

Table 3 Effect of serum containing Shenqi Yiliu prescription on blocking cell cycle of gastric cancer cell lines BGC-823 %

组别	体积分数	$G_0/G_1$	S	$G_2/M$
溶剂	-	46.0	50.3	3.67
空白血清	-	45.8	48.7	5.48
参芪抑瘤方	3%	49.4	41.1	9.5
	5%	50.8	36.3	12.8
	10%	65.8	20.4	13.8

**3.3 参芪抑瘤方含药血清对 BGC-823 细胞**

CDKN1B, CDKN1C mRNA 表达的影响 与溶剂组和空白血清组相比,含药血清干预 BGC-823 细胞 24 h 后,含药血清组中抑癌基因 CDKN1B, CDKN1C mRNA 表达明显上调 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。见表 4。

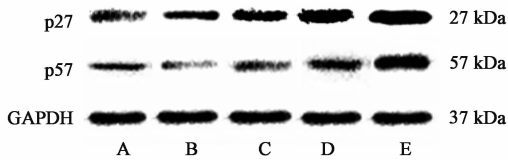
表 4 参芪抑瘤方含药血清影响 BGC-803 细胞 CDKN1B, CDKN1C mRNA 相对表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 4 Effect of serum containing Shenqi Yiliu prescription on relative expression of CDKN1B, CDKN1C mRNA in BGC-803 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	体积分数	CDKN1B	CDKN1C
溶剂	-	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
空白血清	-	1.43 ± 0.27	1.39 ± 0.26
参芪抑瘤方	3%	2.03 ± 0.03 <sup>1,2)</sup>	2.38 ± 0.27 <sup>1,3)</sup>
	5%	4.98 ± 0.39 <sup>1,3)</sup>	6.04 ± 0.25 <sup>1,3)</sup>
	10%	8.86 ± 0.26 <sup>1,3)</sup>	10.39 ± 0.30 <sup>1,3)</sup>

注:与溶剂组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ;与空白血清组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ,  
<sup>3)</sup>  $P < 0.01$ 。

3.4 参芪抑瘤方含药血清对 BGC-823 细胞 p27, p57 蛋白表达的影响 与溶剂组相比,空白血清组及各参芪抑瘤方含药血清组 p27 蛋白相对表达量显著增加 ( $P < 0.01$ ),与溶剂组、空白血清组相比,参芪抑瘤方含药血清组 p27, p57 蛋白相对表达量显著增加 ( $P < 0.01$ )。见图 1,表 5。



A. 溶剂组; B. 空白血清组; C~E. 参芪抑瘤方低、中、高剂量组

图 1 含药血清干预 BGC-823 细胞后 p27, p57 蛋白表达电泳  
Fig.1 Electrophoresis of p27 and p57 protein after BGC-823 cells were intervened by medicated serum

表 5 参芪抑瘤方含药血清干预 BGC-823 细胞后 p27, p57 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 5 Effect of serum containing Shenqi Yiliu prescription on p27 and p57 protein expression for BGC-823 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	体积分数	p27/GAPDH	p57/GAPDH
溶剂	-	0.506 ± 0.005	0.322 ± 0.064
空白血清	-	0.656 ± 0.005 <sup>1)</sup>	0.412 ± 0.004
参芪抑瘤方	3%	0.761 ± 0.003 <sup>1,2)</sup>	0.738 ± 0.048 <sup>1,2)</sup>
	5%	1.047 ± 0.008 <sup>1,2)</sup>	1.865 ± 0.047 <sup>1,2)</sup>
	10%	1.288 ± 0.024 <sup>1,2)</sup>	1.498 ± 0.028 <sup>1,2)</sup>

#### 4 讨论

胃癌是全球性的医学问题,对它的发病机制和治疗方法,不同的医学群体会有不同的认知和见解,但对它的危害性却是有目共睹、毋庸置疑的。现代中医继承了中医学的精神实质和核心内涵,借鉴现

代的科研技术和微观认识,对疾病提出了许多独到见解和理论阐述。包括胃癌在内的肿瘤的发病,大多数中医学者认为无论体内还是体表瘤块,都只是病变在局部的表现,其发病机制包括正气亏虚、癌毒内阻、瘀血久滞和痰浊凝结等多个方面,强调是多因素兼加致病。对于肿瘤的防治,中医讲求未病先防、已病防变,四诊合参、辨证论治,整体调节、重视局部,多法并举、以人为本的治疗思路,提倡个体化治疗。中医重视生病之人,强调扶助人体正气,祛邪必伤正,倡导肿瘤患者“与瘤共存”,避免过度治疗,耗伤正气而加重病情。中药作为中医治疗疾病的主要手段之一,具有多靶点、多途径、多方位的整体调节作用,可持久服用,毒副作用低,能延长肿瘤患者生存时间,提高其生存质量。

参芪抑瘤方由当归贝母苦参丸加味而成。当归贝母苦参丸出自《金匱要略》,用来治疗妊娠小便不利。全方为当归、土贝母、苦参组成,具有养血开郁清热除湿的功效。参芪抑瘤方在此基础上加益气解毒药黄芪、白花蛇舌草、地龙等中药组成新方,具有解毒散结,扶正抑瘤的功效,符合肿瘤虚、痰(湿)、毒、瘀的病机。血清药理学,通过效仿人服用药物,模拟药物机体间发生相互作用过程,观察中药在体内吸收、代谢变化,综合整体药效,从方法学方面解决了中药难于直接用于体外实验的问题,为分子生物学等现代技术应用于中医药离体实验提供了可能性,此外,通过药效药动学研究比较含药血清与中药粗提物的成分,可以找出中药产生药效的具体的物质基础,为复方中药组方优化及作用规律探讨提供了新的思路<sup>[11]</sup>。

前期研究证实参芪抑瘤方能够抑制胃癌细胞的侵袭转移<sup>[3,6]</sup>,对 H22 肝癌细胞移植瘤小鼠所荷肿瘤的生长具有明显的抑制作用<sup>[12]</sup>。本研究着重对参芪抑瘤方含药血清对胃癌细胞周期的调控作用展开研究。细胞周期一般分为 G<sub>1</sub> 期, S 期, G<sub>2</sub> 期和 M 期 4 个阶段,是细胞从上一次分裂完成开始到下一次分裂结束所经历的一个非常复杂的过程。包括了 RNA 和核糖体的合成期, DNA 及组蛋白的合成期,有丝分裂准备期和细胞分裂期等。细胞自有一套精细的周期调控机制,参与该机制的分子主要有细胞周期蛋白(cyclin),细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK),细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂(CKI)等 3 大类,维持着细胞周期各时相依次有序交替变更。

作为该调控的核心,CDKs 的异常提示可能有肿瘤形成。CDK 能够促进细胞周期时相转变、启动

DNA合成、调控细胞转录等。此外,细胞周期运行过程中有3个调控点, $G_1/S$ 调控点(最为重要与CDK紧密相关<sup>[13]</sup>), $G_2/M$ 调控点和纺锤体组装调控点。CKI作为CDK的抑制剂,能够作用于细胞周期调控核心,使细胞不能通过周期检查点,对细胞产生周期阻滞和诱导凋亡作用。肿瘤被认为是细胞周期调控机制遭到渐进性破坏的一类疾病,CKI基因的突变或缺失,使CKI对CDKs的负性调控作用降低甚至完全丧失<sup>[14]</sup>。

CDKN1B( $p27^{kip}$ )和CDKN1C( $p57^{kip2}$ )基因分别定位于染色体12p13和11p15.5上,都是cip/kip家族成员,是重要的细胞周期素依赖激酶抑制因子。 $p27^{kip1}$ 和 $p57^{kip2}$ 蛋白的失常表达与胃癌的发生密切相关,其机制可能是表达下调的 $p27^{kip}$ 增强了cyclin-CDK2复合物的活性,使细胞在 $G_1$ 期转变到S期的过程加速,导致其恶性增殖而引发癌变;而 $p57^{kip2}$ 的缺乏导致cyclinD-CDK6的聚集,Rb蛋白活性被抑制,转录因子E2F释放增加,进而激活相关应答基因转录,细胞开始增殖,导致cyclinE-CDK2等激酶复合物的持续激活,升高cyclinA的表达水平,进而利于细胞更快地进入S期<sup>[15-19]</sup>。而升高 $p27^{kip}$ 的表达,使其能通过与细胞周期蛋白结合,抑制大多数cyclin/CDK复合物的激酶活性,CDK的活化过程受到干预,细胞 $G_1$ 期转变到S期被抑制<sup>[20]</sup>。而正常表达的 $p57^{kip2}$ 基因所编码的蛋白对细胞周期 $G_1$ 期和S期的cyclinE/CDK2等激酶复合物具有抑制作用,能在 $G_1$ 期阻滞细胞周期的继续转变<sup>[21-22]</sup>。

本研究表明,参芪抑瘤方含药血清对BGC-823细胞的增殖以及由 $G_1$ 期向S期的转化有抑制作用,其机制可能与调节CDKN1B,CDKN1C的表达,促使其与cyclin结合,进而抑制了cyclin-CDK2等复合物的活性有关。

#### [参考文献]

[1] 陈万青,张思维,曾红梅,等. 中国2010年恶性肿瘤发病与死亡[J]. 中国肿瘤,2014,23(11):1-10.  
[2] 田静,吴海良. 中医治疗胃癌研究进展[J]. 中医指南,2011,24(36):52-53.  
[3] 师金凤,李海龙,吴红彦,等. 当归贝母苦参丸含药血清对胃癌细胞SGC-7901和侵袭转移能力和周期的影响[J]. 辽宁中医药大学学报,2014,16(10):30-33.  
[4] 陈杰,吴红彦,李海龙,等. 参芪抑瘤方对H22荷瘤小鼠瘤组织VEGF及TGF基因表达的影响[J]. 时珍国医国药,2015,26(12):2899-2901.  
[5] 吴红彦,荣倩倩,李海龙,等. 当归贝母苦参丸含药血

清对胃癌细胞SGC-7901抑制作用机制的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(2):137-141.  
[6] 马春林,吴红彦,李海龙,等. 参芪抑瘤方含药血清对胃癌MKN-45细胞周期阻滞及抗侵袭转移的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2016,23(4):64-67.  
[7] 马春林,吴红彦,李海龙,等. 参芪抑瘤方含药血清对胃癌MGC-803细胞增殖的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2017,24(3):53-56.  
[9] 刘春萍,李海龙,张艳,等. 当归贝母苦参丸加味方对荷瘤小鼠H22肝癌肿瘤组织MMP13和bFGF表达的影响[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(12):153-156.  
[10] 张艳,李海龙,荣倩倩,等. 加味当归贝母苦参丸对H22肝癌荷瘤小鼠血清IL-2、IL-4、IFN- $\gamma$ 表达的影响[J]. 甘肃中医药大学学报,2017,34(3):6-9.  
[11] 李海龙,王勇,翟宇,等. 加味当归贝母苦参丸对MFC胃癌荷瘤小鼠瘤组织Toll样受体通路分子的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2017,24(8):54-59.  
[12] 王洪武,倪青,林兰. 中药含药血清的研究进展及其在中医学中的应用[J]. 北京中医药,2008,27(9):698-701.  
[13] 荣倩倩. 参芪抑瘤方对荷瘤小鼠H22肝癌的抑制作用及抗血管生成机制研究[D]. 兰州:甘肃中医药大学,2015.  
[14] 田翠孟,魏素菊. 细胞周期蛋白依赖性激酶与肿瘤关系的研究进展[J]. 实用肿瘤杂志,2010,25(4):449-502.  
[15] 马骥,刘文超. 细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂与肿瘤相关性的研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2009,16(3):315-318.  
[16] 高希春,陈勇,高知玲.  $p27^{kip}$ 蛋白在胃癌组织中的表达及其与病理分期的关系[J]. 山东医药,2012,52(12):34-35.  
[17] 刘娟妮,张中冕,陈琛. ERCC1、 $p27^{kip1}$ 、CyclinE在胃癌组织中的表达及其临床意义[J]. 肿瘤防治研究,2010,37(5):540-543.  
[18] 张也频. Cip/Kip家族的独特成员 $p57^{kip2}$ 的研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2011,18(15):574-580.  
[19] LI G, Domenico J, Lucas J J, et al. Identification of multiple cell cycle regulatory functions of  $p57^{kip2}$  in human T lymphocytes[J]. J Immunol, 2004, 173(4):2383-2391.  
[20] 谢启超,胡义德.  $p27$ 研究进展[J]. 国外医学:肿瘤学分册,2003,30(1):48-50.  
[21] 孙志强,李卓江.  $p57^{kip2}$ 与肿瘤[J]. 中国医学文摘·肿瘤学,2001,15(3):261-263.  
[22] 高涵,周涛,张春晶,等. 细胞周期调控因子P16<sup>INK4</sup>、 $p57^{kip2}$ 和Ki67在肝癌中的表达及意义[J]. 重庆医学,2015(9):1165-1167.

[责任编辑 张丰丰]