

DOI:10. 3971/j. issn. 1000-8578. 2010. 03. 011

蛇葡萄素对人胃癌细胞 SGC-7901 裸鼠移植瘤生长的抑制作用

郑作文¹,郭成贤²,唐云丽²,谭 为²,毛 健²

Anti-tumor Effects of Ampelopsin on Human Gastric Cancer SGC-7901 Implanted in Nude Mice

ZHENG Zuo-wen¹, GUO Cheng-xian², TANG Yun-li², TAN Wei², MAO Jian²

1. Pharmacology Staff Room Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China; 2. Guangxi Traditional Chinese Medical University

Abstract: Objective To investigate the effects of ampelopsin(APS) on the growth of human gastric cancer cell SGC-7901 in nude mice. **Methods** SGC-7901 cells were inoculated into the nude mice to establish gastric cancer model. Then the BALB/C nude mice with xenograft tumor were randomized into 5 groups. The ampelopsin was administered at 3 dosages by irrigate the stomach daily for 10 d. The anti-tumor effects of ampelopsin was evaluated based on the tumor volume, relative tumor volume(RTV), tumor weight, relative tumor proliferative rate (T/C)and tumor inhibition rate(IR). **Results** At the 600 mg/kg, 300 mg/kg, 150 mg/kg dose of APS, the relative tumor proliferation rate was 52. 84%, 71. 12% and 62. 14%, respectively, and the growth inhibition of the transplanted tumor was 38. 8%, 27. 5% and 27. 3%, respectively. **Conclusion** APS in appears to be a potent anti-tumor agent that was firstly discovered in the transplanted human gastric cancer cell SGC-7901 in nude mice *in vivo*.

Key words: Ampelopsin; Nude mice; SGC-7901

摘 要:目的 观察蛇葡萄素(APS)体内抗人胃癌作用。**方法** 采用人胃癌细胞裸鼠移植瘤模型,将裸鼠随机分成 5 组,APS 三个剂量连续灌胃给药 10 天,观察肿瘤体积、相对肿瘤体积(RTV)、相对肿瘤增殖率(T/C)、瘤重、抑瘤率(IR),以此评价 APS 的抗肿瘤作用。**结果** 在人胃癌细胞株 SGC-7901 裸鼠移植瘤的抑瘤实验 APS 600 mg/kg、300 mg/kg、150 mg/kg 灌胃给药 10 天,其相对肿瘤增殖率为 52. 84%、71. 12%、62. 14%,其抑瘤率分别为 38. 8%、27. 5%、27. 3%。**结论** APS 对人胃癌细胞株 SGC-7901 裸鼠移植瘤有明显的抑制作用。

关键词:蛇葡萄素;裸鼠;SGC-7901

中图分类号:R735. 2;R979. 1 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2010)03-0284-03

0 引言

藤茶(Ampelopsis grossedentata(Hand-Mazz) W. T. Wang)系葡萄科蛇葡萄属植物显齿蛇葡萄的嫩茎叶^[1]。藤茶中含有大量黄酮类有效成分,其中 APS 含量最高^[2]。现有研究表明^[3-5],APS 体外对白血病细胞 HL-60、K562,肝癌细胞 Bel-7402、人鼻咽癌细胞 HK-1 和人乳腺癌细胞 MCF-7 及体内对人肺癌 GLC-282 裸鼠移植瘤均有明显的抑制作用。但尚未见有关 APS 抗人胃癌的研究报道。课题组前期研究表明 APS 对人胃癌 SGC-7901 细胞

增殖具有较强的抑制作用^[6],本研究通过人胃癌裸鼠移植瘤的体内抗瘤实验来进一步揭示 APS 的抗肿瘤作用。

1 材料与方法

1. 1 药物与试剂

蛇葡萄素:本院中药化学教研室提取分离,纯度为 98. 5%;5-Fu:南通精华制药有限公司产品,批号 H32022246;注射用 0. 9%氯化钠溶液:徐州莱恩药业公司产品,批号 051122;RPMI-1640 干粉:美国 Gibco 公司产品;新生牛血清:杭州四季青公司产品;二甲基亚砷:博大泰克公司产品;0. 25%胰蛋白酶:美国 Hyclone Lab 公司产品。

1. 2 细胞

人胃癌细胞 SGC-7901,由广西中医学院分子生物学实验中心惠赠。

收稿日期:2008-09-18;修回日期:2009-04-20
基金项目:广西科学基金资助项目(0639052)
作者单位:1. 530001 南宁,广西中医学院药理教研室;
2. 广西中医学院
作者简介:郑作文(1957-),男,硕士,教授,主要从事抗肿瘤中草药研究

1.3 动物

BALB/C 裸小鼠,53 只,4~5 周龄,雄性。由上海斯莱克实验动物有限公司提供,在无特定病原体(SPF)条件下饲养。

1.4 人胃癌裸鼠模型的建立

取对数生长期的人胃癌 SGC-7901 细胞,消化吹打成细胞悬液,接种于裸鼠右前肢皮下,约两周成瘤,成瘤率为71.42%,肿瘤呈结节状浸润生长。此时取下瘤块,置于含双抗的 Hank's 液中,去除包膜和坏死组织,研磨成细胞,200 目细胞筛滤过,将细胞悬液放入培养瓶内培养,传代 2~3 次,待其生长至对数期时,收集细胞制备成浓度为 1×10^7 单细胞悬液,在超净工作台内于裸鼠右前肢背部皮下注射 0.2 ml 的单细胞悬液,注射局部出现明显皮丘,接种 53 只裸鼠。7 天后 53 只裸鼠右前肢背部出现直径大于 5 mm 的皮下结节,移植瘤模型建立。

1.5 动物分组及给药

接种 15 天后选取瘤体在 550 mm^3 左右的 40 只裸鼠随机分成五组,每组 8 只,设为0.9%氯化钠溶液组、5-Fu 阳性对照组、APS 高(600 mg/kg)、中(300 mg/kg)、低(150 mg/kg)剂量组。5-Fu 组 20 mg/kg 腹腔注射,余各组均灌胃给药,一天给药一次,连续 10 天。

1.6 抑瘤评价方法

开始给药后每三天测量裸鼠体重、瘤体体积。每天观察各组裸鼠的精神、饮食、活动、大小便等。停药后次日,裸鼠称重,测瘤体体积,处死裸鼠,剥离瘤组织,称取瘤重。按以下评价方式评价药物活性:

抑瘤率(IR) = $(1 - \text{实验组瘤重} / \text{对照组瘤重}) \times 100\%$ 。

相对肿瘤体积(RTV) = 末次瘤体体积/给药前体积;

相对肿瘤增殖率(T/C) = 给药组 RTV/空白组 RTV $\times 100\%$ 。

1.7 统计学方法

采用 SPSS11.0 软件包进行统计分析,实验数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用组间比较的 *t* 检验方法进行显著性检验。

2 结果

2.1 一般情况观察

实验过程中无一只裸鼠死亡。给药后,除 5-Fu 组裸鼠活动减少、便秘外,余各组裸鼠的精神、行为、饮食、大小便与给药前无明显变化。

2.2 裸鼠体重变化

除 5-Fu 组裸鼠体重与0.9%氯化钠溶液组比较

差异有统计学意义外($P < 0.01$),余各组体重下降与0.9%氯化钠溶液组比差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 裸鼠体重变化($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Change in nude body weight($\bar{x} \pm s$)

Groups	<i>n</i>	Weight before experiment(g)	Weight after experiment(g)	Weight change(g)
Control (Saline)	8	20.84 ± 1.93	19.20 ± 2.02	1.64 ± 1.52
5-Fu	8	19.94 ± 2.32	14.71 ± 1.27	5.15 ± 1.2*
600 mg•kg ⁻¹ of APS	8	19.98 ± 1.82	19.03 ± 0.73	0.95 ± 2.20
300 mg•kg ⁻¹ of APS	8	20.70 ± 1.90	18.54 ± 2.28	2.24 ± 2.26
150 mg•kg ⁻¹ of APS	8	19.48 ± 1.13	17.15 ± 1.77	2.23 ± 1.95

Note: Compared with the control group(saline), * $P < 0.01$

2.3 裸鼠瘤体体积变化

各药物组相对肿瘤体积(RTV)与0.9%氯化钠溶液组比较差异均有统计学意义($P < 0.01$),且 APS 高剂量组相对肿瘤增殖率(T/C)为52.84%,表明高剂量组有较强的抗肿瘤作用,见表 2。

表 2 裸鼠瘤体体积变化($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Changes in the volume of tumor in nude mice($\bar{x} \pm s$)

Groups	<i>n</i>	Volumene before experiment (mm ³)	Volumene after experiment (mm ³)	RTV	T/C (%)
Control (Saline)	8	561.4 ± 187.2	2 912.9 ± 480.1	5.2 ± 2.1	
5-Fu	8	523.1 ± 244.2	1 313.5 ± 249.8	2.5 ± 1.7*	48.39
600 mg•kg ⁻¹ of APS	8	548.7 ± 200.7	1 504.6 ± 610.8	2.7 ± 1.5**	52.84
300 mg•kg ⁻¹ of APS	8	552.1 ± 213.4	2 037.4 ± 564.7	3.7 ± 1.9	71.12
150 mg•kg ⁻¹ of APS	8	524.0 ± 280.2	1 689.8 ± 491.5	3.2 ± 1.5*	62.14

Note: Compared with the control group(saline), * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.4 裸鼠瘤重变化

如表 3 所示,各药物组瘤重与0.9%氯化钠溶液组比较差异均有统计学意义($P < 0.01$),其中 APS 高剂量组抑瘤率(IR)为38.86%,表明高剂量组有较强的抗肿瘤作用。

3 讨论

胃癌是人类常见的消化道肿瘤,在我国已经是继肺癌和肝癌之后的第三大常见肿瘤,每年新发胃

表 3 裸鼠瘤重($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Tumors weight in nude mice($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	tumor weight(g)	IR(%)
Control(Saline)	8	1.74 ± 0.19	
5-Fu	8	0.68 ± 0.12**	60.94
600 mg•kg ⁻¹ of APS	8	1.06 ± 0.34**	38.86
300 mg•kg ⁻¹ of APS	8	1.25 ± 0.27**	27.52
150 mg•kg ⁻¹ of APS	8	1.26 ± 0.29**	27.38

Note: Compared with the control group(saline), ** $P < 0.01$

癌患者约 40 万人,每年胃癌死亡人数高达 30 万人。目前尚无理想的治疗胃癌药物,因此研究有效低毒的抗胃癌的药物具有十分重要的意义。黄酮类化合物具有多种生物活性,如抗肿瘤,抗突变,抗氧化,改善循环,提高免疫力等,其中抗肿瘤作用较强,且毒性低、副作用小^[7]。因此,研究黄酮类化合物抗肿瘤作用有较广阔的开发利用前景,是目前抗肿瘤药物研究中的热点领域。裸鼠先天性无胸腺,胸腺依赖性免疫功能缺乏,其 T 细胞功能接近于零,但 B 细胞功能基本正常,体内不具有排斥反应,故是人体肿瘤异体移植的理想宿主。该模型的优点在于异种移植于裸鼠体内的人体肿瘤仍保持其原有的组织形态及生化功能,以及特有的染色体组型和对抗肿瘤药原有的敏感性,故人体肿瘤异种移植于裸鼠的模式与临床有较好的相关性,对临床疗效有重要的参考价值。实验结果证实 APS 对人胃癌有明显的抑制作用,高剂量组肿瘤相对增殖率(T/C)为 52.84%,抑瘤率(IR)为 38.86%。APS 抑瘤率虽比阳性药 5-Fu 低,但 APS 组裸鼠体重降低与 0.9%氯化钠溶液组比差异无统计学意义,而 5-Fu 组体重明显下降,且 5-Fu 组裸鼠有活动减少,腹泻等现象,表明 5-Fu 毒性较 APS 大。

目前已认识到肿瘤是一种细胞凋亡过少而增殖过多的疾病,肿瘤细胞的增殖与凋亡是在细胞凋亡相关基因调控下进行的,肿瘤的发生是癌基因的激活与抑癌基因的失活共同作用的结果。近年研究发现,端粒酶是一种由 RNA 和蛋白质组成的特异核糖核酸蛋白复合体,具有逆转录的酶活性,能以自身 RNA 为模板合成端粒 DNA(TTAGGG),以弥补细胞有丝分裂时端粒 DNA 的丢失,使细胞永生化。端粒酶主要存在于恶性肿瘤,而在大多数正常组织中没有活性或活性极低,肿瘤发生时端粒序列以缩短为主要特征,当缩短达一定程度时将导致染色体失稳,或激活癌基因而引发肿瘤。APS 对人胃癌的抑制作用,其机制可能与调节肿瘤凋亡相关基因和(或)端粒酶有关。因此,我们拟进行细胞凋亡相关基因如抑癌基因 p53、癌基因 bcl-2 及端粒酶等的研究,以揭示 APS 可能的抗肿瘤作用机制。

参考文献:

[1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴. 补编. 第二册 [M]. 北京:科学出版社,1983:349-356.
[2] 何桂霞,裴刚,周天达,等. 显齿蛇葡萄中总黄酮和二氢杨梅素的含量测定[J]. 中国中药杂志,2000,25(7):423-425.
[3] 周宁宁,朱孝峰,谢冰芬,等. 无刺根中蛇葡萄素体外抗肿瘤作用研究[J]. 广东药学,2000,10(4):79-82.
[4] 刘德育,郑宏强,罗高琴. 蛇葡萄素体内外对小鼠 B16 黑色素瘤侵袭和转移的抑制作用[J]. 中国中药杂志,2003,28(10):957-959.
[5] 曾飒,刘德育,叶燕丽,等. 双氢杨梅树皮素对人肺癌 GLC-282 裸鼠移植瘤的抑制作用[J]. 中药材,2004,27(11):842-843.
[6] 郑作文,郭成贤,唐云丽,等. 藤茶蛇葡萄素抗人胃癌的实验研究[J]. 中国药物应用与监测,2007,4(1):29-31.
[7] 陈国有,齐鹤,徐东花. 黄酮类化合物的生物活性研究进展[J]. 黑龙江医药,2008,21(3):81-82.

[编辑:贺文;校对:刘红武]

(上接第 283 页)

[5] Seo JS,Cho NY,Kim HR,et al. Cell cycle arrest and lytic induction of EBV-transformed B lymphoblastoid cells by a histone deacetylase inhibitor, Trichostatin A [J]. Oncol Rep, 2008,19(1):93-98.
[6] 张嵩,张焱,杜彤,等. 曲古抑菌素和紫杉醇对子宫内膜癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2008,15(6):517-521.
[7] Galfi P, Neogrady Z, Csordas A. Apoptosis sensitivity is not correlated with sensitivity to proliferation inhibition by the histone deacetylase inhibitors butyrate and TSA[J]. Cancer Lett,

2002,188(1-2):141-152.
[8] Khokhlatchev A,Rabizadeh S,Xavier R,et al. Identification of a novel Ras - regulated proapoptotic pathway[J]. Curr Biol, 2002,12 (4):253-265.
[9] 安锦霞,杨永秀,王秀华,等. RASSF1A 基因在宫颈癌中的甲基化检测及临床意义[J]. 肿瘤防治研究,2005,32(4):216-219.
[10] Kawamoto K,Okino ST,Place RF,et al. Epigenetic modifications of RASSF1A gene through chromatin remodeling in prostate cancer[J]. Clin Cancer Res,2007,13(9):2541-2548.

[编辑:周永红;校对:安凤]