

者反应敏感度,与 AST 及 ALT 相比,TBA 更明显^[6]。

通过本文研究和相关资料显示,尽管在肝癌组患者中 AST、ALT 及 TBA 等各项指标不存在相关性,但比较健康组和肝癌组之间的各项酶学指标,却有明显差异。同时相关资料显示,若有胆汁滞留在肝脏或胆道梗阻内,可能就会将 GGT 从细胞膜上洗脱出来,最后将其诱导合成^[7]。因此在胆道疾病中,GGT 和其他指标相比明显升高。在肝实质性疾病中 GGT 往往会中度升高,这对于肝胆疾病的诊断和鉴别具有一定的帮助。在肝脏中会有很大一部分的 GGT 和细胞膜结合,所以进入血清中的 GGT 主要来源于肝脏。通过分析相关的结果数据,肝癌患者和健康组患者相比较,GGT 升高得更为显著。

参考文献

[1] 王妍,詹志刚,袁锦峰.肝硬化患者血清胆固醇、胆碱酯酶、总胆汁酸的变化及临床意义探讨[J].临床肝胆病杂志,2007,23(5):371-372.
 [2] 段正军,段生寿,徐杰,等.血清总胆汁酸与肝脏功能酶学

指标联合检测在肝脏疾病诊断中的应用价值[J].国际检验医学杂志,2011,32(5):612-613.

[3] 程环.血清总胆汁酸测定在肝脏疾病诊断中的评价与应用[J].国际检验医学杂志,2009,30(8):788-789.
 [4] 李莹,王育群,张伟.慢乙肝患者血清总胆汁酸意义的临床观察[J].中华实用中西医杂志,2006,19(1):32-33.
 [5] 闫福堂,王华,苏宝凤,等.血清 ACE 与肝功能指标联合检测在肝病诊断中的临床应用[J].现代检验医学杂志,2010,25(3):75-77.
 [6] 唐勇,李锐.联合检测血清胆碱酯酶、总胆汁酸对肝病临床诊断价值的应用[J].国际检验医学杂志,2009,30(5):506,508.
 [7] 任宏新,丁莉.血清总胆汁酸、胆碱酯酶及前清蛋白检测在各种肝病诊断中的应用[J].宁夏医学杂志,2009,31(12):1171-1172.

(收稿日期:2012-09-03 修回日期:2013-01-12)

• 临床研究 •

紫杉醇对胃癌细胞株 SGC7901 的杀伤作用及机制分析

张庆玲¹,刘小云²(1.江都大桥医院检验科,江苏江都 225211;2.徐州医学院附属医院 科研中心,江苏徐州 221004)

【摘要】 目的 探讨紫杉醇作用人胃癌细胞株 SGC7901 后,对细胞的杀伤作用和杀伤机制。**方法** 通过 MTT 观察不同浓度紫杉醇对 SGC7901 细胞凋亡的影响,用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)及免疫组化的方法检测 bax 和 c-myc 基因的表达情况。**结果** 紫杉醇诱导胃癌细胞株的凋亡增加,其中凋亡基因 bax 的表达增高,bax 的蛋白表达也增高;而促进细胞无限增殖的 c-myc 基因表达降低,同时 c-myc 蛋白表达降低。**结论** 紫杉醇对胃癌细胞株生长有明显的抑制作用,紫杉醇通过 bax 和 c-myc 基因的表达变化诱导胃癌细胞株的凋亡。

【关键词】 紫杉醇; 人胃癌细胞株 SGC7901; 凋亡

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.07.044 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)07-0849-02

由于胃癌早期症状无特异性,很多患者就诊时已属晚期,手术治疗是胃癌的主要治疗手段,但对晚期胃癌作用有限。因此,多学科治疗是胃癌的客观需要,其中姑息化疗发挥重要作用^[1-4]。虽然胃癌的化疗取得明显进展,比如氟尿嘧啶(flourouracil,FU)持续滴注及第三代化疗药物奥沙利铂和多西紫杉醇 Docetaxel(TXT)的使用,使晚期胃癌的治疗取得了较好的近期疗效,但目前对于胃癌尚缺乏标准的治疗方案^[5-6]。因此,开展相关临床化疗的机制研究,对于进一步提高反应率、降低毒副反应发生率、延长生存期等都具有重要意义。

1 材料与方 法

1.1 试剂 RPMI-1640 培养基(Hyclone,USA)、胎牛血清(杭州四季青公司)、胰酶(碧云天生物研究所)、MTT 试剂(碧云天生物研究所)、RNA 提取试剂盒(上海捷瑞生物有限公司)、RT-PCR 试剂盒(北京天根生物有限公司)、引物合成(上海 Invitrogen)、鼠抗人 c-myc 单克隆抗体(北京中杉),通用型二抗及染色试剂盒(福州迈新生物有限公司),胃癌 SGC7901 细胞株(徐州医学院附属医院中心实验室赠予)。

1.2 方 法

1.2.1 将 SGC7901 细胞株培养于 RPMI-1640 培养液中(含

10%胎牛血清、100 U/mL 青霉素、100 U/mL 链霉素,pH 7.0~7.2),于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中培养。细胞呈单层贴壁生长,0.25%胰蛋白酶消化传代。

1.2.2 选取对数生长期细胞,以 4×10³ 个/孔接种于 96 孔培养板,每孔 100 μL 培养基,贴壁 24 h 后分别加入紫杉醇,使浓度分别为 0、0.003 65、0.036 5、0.365、3.650 mg/L,设 5 个复孔,药物作用 24 h 后,每孔加 MTT(5 mg/mL)10 μL 试剂,作用 4 h 后加入二甲基亚砷(DMSO)终止反应,并检测吸光度值。

1.2.3 选取对数生长期细胞,接种于 25 cm² 培养瓶中,贴壁 24 h 后加入紫杉醇,使药物浓度相应为 0、0.003 65、0.036 5、0.365、3.65 mg/L,24 h 后收集细胞,用 RT-PCR 的方法检测凋亡基因 bax 以及 c-myc 基因的表达情况。

1.2.4 选取对数生长期细胞按每孔 5×10⁴ 个细胞接种于六孔板,贴壁 24 h,加入紫杉醇,相应的浓度为 0、0.003 65、0.036 5、0.365、3.65 mg/L,作用 24 h 后,4%的多聚甲醛固定,进行免疫组化染色,测定 bax 和 c-myc 蛋白的表达情况。

2 结 果

2.1 MTT 紫杉醇对胃癌细胞株生长有明显的抑制作用,不同浓度的紫杉醇对胃癌细胞株的抑制率分别为 4.4%、

12.4%、26.0%、32.6%，随着紫杉醇浓度在一定范围内的加大，对胃癌细胞株的抑制作用也逐渐增强，见图 1。

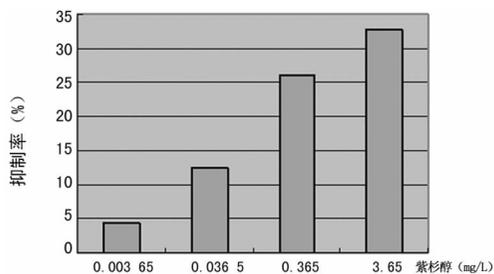
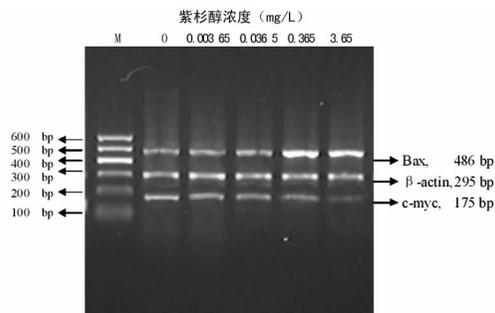


图 1 不同浓度的紫杉醇对胃癌细胞株的抑制率

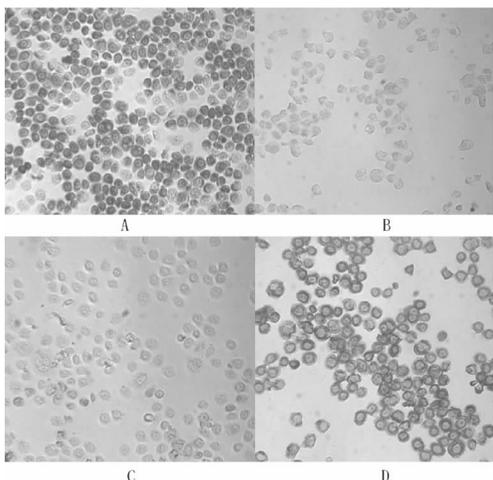
2.2 RT-PCR 紫杉醇诱导胃癌细胞株的凋亡增加，其中凋亡基因 bax 的表达增高，而促进细胞无限增殖的 c-myc 基因表达降低，见图 2。



注：M 为 DNA 相对分子质量标准。

图 2 不同浓度紫杉醇作用后 c-myc、bax 基因的表达

2.3 免疫组化染色 紫杉醇在诱导胃癌细胞株的凋亡过程中，c-myc 蛋白表达降低，bax 蛋白表达增强，见图 3。



注：A 为未用紫杉醇时 c-myc 蛋白表达；B 为紫杉醇浓度为 0.365 mg/L 时 c-myc 蛋白表达；C 为未用紫杉醇时 bax 蛋白表达；D 为紫杉醇浓度为 0.365 mg/L 时 bax 蛋白表达。

图 3 使用紫杉醇前后 c-myc 及 bax 蛋白免疫组织化学染色结果(DAB×100)

3 讨论

紫杉醇是近年来在肿瘤化疗中备受关注的药物，在乳腺癌的化疗中被广泛应用，是目前治疗晚期乳腺癌的最有效药物。紫杉醇在胃癌临床的应用也有逐渐增多的趋势，该药通过促进

微管聚合，阻断微管解聚及正常重组，使细胞不能进行正常的有丝分裂而停止在 G2/M 期，从而发挥抗肿瘤作用。为了取得令人满意的胃癌化疗效果，进一步发挥化疗药物的功效，优化化疗方案，本课题研究了紫杉醇对胃癌细胞的抗肿瘤效果，并探索其作用机制，从而为更有效地发挥紫杉醇对胃癌化疗的作用提供理论依据。

细胞凋亡是通过启动细胞自身的内部死亡机制而产生的一种细胞死亡方式。诱导肿瘤细胞凋亡是许多抗肿瘤药物的作用机制之一。诱导细胞凋亡的基因有多种，其中 Bax 基因是 bcl-2 家族中的一员，Bax 基因编码蛋白是 21 kb 的 bax α 和 24 kb 的 bax β ，与 bcl-2 蛋白有 21% 的氨基酸序列同源。Bax 可与 bcl-2 蛋白结合形成异源二聚体，抑制 bcl-2 的功能，促进细胞凋亡。c-myc 基因既是一种可易位基因，又是一种多种物质调节的可调节基因，也是一种可使细胞无限增殖，获永生化功能，促进细胞分裂的基因。c-myc 基因参与细胞凋零，并与肿瘤的发生发展有关。c-myc 基因转录、表达增强，可促进细胞恶变，使细胞无限增殖。本研究正是从细胞凋亡基因的角度分析，发现紫杉醇可上调 Bax 基因的表达，同时下调 c-myc 基因的表达，从而促进细胞的凋亡，并且随着紫杉醇浓度的增加其诱导凋亡的效果增强。这一结论在理论上支持了紫杉醇对胃癌化疗的作用，并从其浓度对凋亡的影响为临床的优化化疗方案提供了思路。

参考文献

- [1] Lee J, Park CK, Park JO, et al. Impact of E2F-1 expression on clinical outcome of gastric adenocarcinoma patients with adjuvant chemoradiation therapy[J]. Clin Can Res, 2008, 14(1): 82-88.
- [2] Montero E, Abreu C, Tonino P. Relationship between VEGF and p53 expression and tumor cell proliferation in human gastrointestinal carcinomas[J]. J Can Res Clin Oncol, 2008, 134(2): 193-201.
- [3] Lin SZ, Tong HF, You T, et al. Palliative gastrectomy and chemotherapy for stage IV gastric cancer[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2008, 134(2): 187-192.
- [4] 李进. 肿瘤内科诊治策略[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2007: 254.
- [5] Roth AD, Fazio N, Stupp R, et al. Docetaxel, cisplatin, and fluorouracil; docetaxel and cisplatin; and epirubicin, cisplatin, and fluorouracil as systemic treatment for advanced gastric carcinoma; a randomized phase II trial of the Swiss Group for Clinical Cancer Research[J]. J Clin Oncol, 2007, 25(22): 3217-3223.
- [6] Chiesa MD, Buti S, Tomasello G, et al. A pilot phase II study of chemotherapy with oxaliplatin, folinic acid, 5-fluorouracil and irinotecan in metastatic gastric cancer[J]. Tumori, 2007, 93(3): 244-247.

(收稿日期: 2012-08-21 修回日期: 2012-10-12)