

阿奇霉素对胃癌细胞增殖、凋亡及炎症因子表达水平的影响^{*}

唐悦,葛晓明,单廷

江苏省无锡市第二人民医院普外科,江苏无锡 214000

摘要:**目的** 探讨阿奇霉素对人胃癌细胞(AGS 细胞)上清液中炎症因子表达、增殖和凋亡的影响及核转录因子-κB(NF-κB)信号通路的调控作用。**方法** 体外培养 AGS 细胞,将其分为对照组(不进行干预)和不同水平(12.5、25.0、50.0、100.0 μg/mL)阿奇霉素组,干预 24 h,筛选阿奇霉素最适水平用于后续实验。细胞分组:对照组、阿奇霉素组(50.0 μg/mL 阿奇霉素)、阳性药物组(50.0 μg/mL 5-氟尿嘧啶)、抑制剂组(50.0 μg/mL 阿奇霉素+1.0 μmol/L NF-κB 通路抑制剂 BAY11-7082)和激活剂组(50.0 μg/mL 阿奇霉素+1.0 μmol/L NF-κB 通路激动剂 Prostratin),干预 24 h。采用细胞计数试剂盒-8(CCK-8)检测细胞活力;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定细胞上清液中的炎症因子[白细胞介素(IL)-10 及 IL-1β]水平;采用 5-乙炔基-2'脱氧尿嘧啶核苷(EdU)测定细胞增殖率;采用 Hoechst33258 染色试剂盒测定细胞凋亡率;采用蛋白免疫印迹(WB)法测定增殖细胞核抗原(PCNA)、半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)及 NF-κB 通路相关蛋白表达水平。**结果** 用 CCK-8 检测 AGS 细胞活力,根据实验结果选择 50.0 μg/mL 阿奇霉素用于后续实验。与对照组比较,阿奇霉素组和阳性药物组 AGS 细胞上清液中 IL-1β 水平、细胞增殖率、PCNA 表达水平、磷酸化(p)NF-κB p65/NF-κB p65 和 p-IκBα/IκBα 明显降低($P<0.05$),IL-10 水平、细胞凋亡率和 Caspase-3 表达水平明显升高($P<0.05$);与阿奇霉素组比较,抑制剂组中 BAY11-7082 的出现增强了阿奇霉素对 AGS 细胞的作用($P<0.05$),激活剂组中 Prostratin 的出现则削弱了阿奇霉素对 AGS 细胞的作用($P<0.05$)。**结论** 阿奇霉素能抑制 AGS 细胞的炎症和增殖,并诱导其凋亡,其作用机制可能与阻滞 NF-κB 通路信号转导有关。

关键词:阿奇霉素; 胃癌; AGS 细胞; 核转录因子-κB; 信号通路; 炎症; 增殖; 凋亡

中图法分类号:R735.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2024)07-0934-06

Influence of azithromycin on proliferation and apoptosis of gastric cancer cells and inflammatory factor expression level^{*}

TANG Yue,GE Xiaoming,SHAN Ting

Department of General Surgery,Wuxi Municipal Second People's Hospital,
Wuxi,Jiangsu 214000,China

Abstract:**Objective** To investigate the influence of azithromycin on the expression of inflammatory factors in supernatant,proliferation and apoptosis of human gastric cancer cell (AGS) and its regulation effect on nuclear transcription factor-κB (NF-κB) signaling pathway.**Methods** The AGS cells were cultured in vitro and divided into the control group (non-intervention) and different levels (12.5,25.0,50.0,100.0 μg/mL) of azithromycin groups. After 24 h of intervention,the optimal azithromycin level was screened out for the follow-up experiment. Then AGS cells were divided into the control group,azithromycin group (50.0 μg/mL azithromycin),positive drug group (50.0 μg/mL 5-fluorouracil),inhibitor group (50.0 μg/mL azithromycin+1.0 μmol/L NF-κB pathway inhibitor BAY11-7082) and activator group (50.0 μg/mL azithromycin +1.0 μmol/L NF-κB passway activator Prostratin). The intervention lasted for 24 h. The cell counting kit 8 (CCK-8) was used to detect the cell viability. The levels of supernate inflammatory factors interleukin (IL-10) and IL-1β were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The cell proliferation rate was determined by 5-acetyne-2 'deoxyuracil nucleoside (EdU). The Hoechst33258 staining kit was used to determine the apoptosis rate. The expression levels of proliferating cell nuclear antigen (PCNA),Caspase-3 and NF-κB

^{*} **基金项目:**江苏省无锡市卫生健康委员会科研项目(J202109)。
作者简介:唐悦,男,副主任医师,主要从事胃肠肿瘤相关诊疗研究。

pathway-related proteins were determined by Western blotting (WB). **Results** The activity of AGS cells was detected by CCK-8, and 50.0 $\mu\text{g/mL}$ azithromycin was selected for the subsequent experiment. Compared with the control group, the level of IL-1 β , cell proliferation rate, expression level of PCNA, phosphorylation(p)-NF- κB p65/NF- κB p65 and p-I κB α /I κB α protein in AGS cells of the azithromycin group and positive drug group were significantly decreased ($P < 0.05$), and the level of IL-10, cell apoptosis rate and expression level of Caspase-3 were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the azithromycin group, the BAY11-7082 appearance in the inhibitor group enhanced the effect of azithromycin on AGS cells ($P < 0.05$), while the Prostratin appearance in the activator group weakened the effect of azithromycin on AGS cells ($P < 0.05$). **Conclusion** Azithromycin could inhibit the inflammation and proliferation of AGS cells and induce their apoptosis, its mechanism may be related to block NF- κB pathway signal transduction.

Key words: azithromycin; gastric cancer; human gastric cancer cell; nuclear transcription factor- κB ; signal pathway; inflammation; proliferation; apoptosis

胃癌为消化系统常见恶性肿瘤之一,多发于 40 岁以上中老年人群。胃癌的治疗手段主要根据病情发展阶段而定,手术和药物相结合的治疗方式能明显提高早期胃癌患者生存率。转移期胃癌一般使用抗菌药物和细胞毒性化合物(如 5-氟尿嘧啶)等化疗药物进行治疗,但由于化疗药物的耐药性和胃癌的易复发性,不能明显延长胃癌患者生存期。因此,寻找诊断和治疗胃癌的有效手段具有重要意义^[1-2]。阿奇霉素是一种大环内酯类抗菌药物,广泛应用于治疗细菌感染和炎症,具有疗效快、作用强及不良反应少等特点^[3]。近年的研究发现,阿奇霉素具有抗菌和抗肿瘤作用:不仅可通过阻断病原菌的转肽过程治疗急性胃炎,还可通过促进非小细胞肺癌细胞凋亡,达到治疗肺癌的目的^[4]。但关于阿奇霉素调控胃癌细胞生物学功能和影响胃癌恶性进程的相关报道较少。核转录因子- κB (NF- κB)信号通路普遍存在于细胞中,在调控细胞生物学过程中起重要作用^[5]。有研究显示,党参多糖通过抑制 NF- κB 信号通路诱导胃癌细胞凋亡和抑制增殖^[6]。另有研究显示,阿奇霉素通过抑制 NF- κB 通路活性对哮喘患者具有一定治疗作用^[7]。本研究探讨阿奇霉素对人胃癌细胞(AGS 细胞)上清液中炎症因子水平及增殖和凋亡的影响,分析 NF- κB 信号通路在其中的调控作用,旨在为胃癌的治疗提供新的参考。

1 材料与方法

1.1 细胞 AGS 细胞购于上海致备生物科技有限公司。

1.2 仪器与试剂 使用的主要仪器包括 CO₂ 培养箱(深圳市瑞沃德生物科技有限公司,型号:D180),倒置荧光显微镜(上海无陌光学仪器有限公司,型号:WMS-1033),酶标仪(美国 Billerica 公司,型号:Multiskan Ascent),凝胶成像系统(广州科适特科学仪器

有限公司,型号:GD-1000),低温高速离心机(山东博科医用材料有限公司,型号:TGL-16M)等。使用的主要试剂包括阿奇霉素、5-氟尿嘧啶^[8](上海源叶生物科技有限公司,纯度 $\geq 98\%$),NF- κB 通路抑制剂 BAY11-7082^[9]、激活剂 Prostratin^[10](美国 MCE 公司,纯度 $\geq 98\%$),4%多聚甲醛、3%牛血清白蛋白溶液(BSA,上海源叶生物科技有限公司),TritonX-100(北京北京伊塔生物科技有限公司),细胞计数试剂盒-8(CCK-8,上海炎熙生物有限公司),胎牛血清(FBS)、F12K 培养基(美国 Gibco 公司),5-乙炔基-2'脱氧尿嘧啶核苷(EdU)细胞增殖检测试剂盒(北京索莱宝科技有限公司),Hoechst33258 染色试剂盒(北京兰博利德有限公司),酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(上海初态生物有限公司),二喹啉甲酸(BCA)蛋白试剂盒(英国 Abcam 公司),鼠抗人增殖细胞核抗原(PCNA)、半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)、NF- κB p65、磷酸化(p)-NF- κB p65、NF- κB 抑制蛋白(I $\kappa\text{B}\alpha$)、p-I $\kappa\text{B}\alpha$ 、 β -actin 一抗、山羊抗鼠 IgG(H+L)二抗(英国 Abcam 公司)。

1.3 方法

1.3.1 AGS 细胞培养 AGS 细胞接种于 F12K 培养基(含 10% FBS)中培养(37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO₂),70%~80%湿度培养箱中培养,换液间隔天数:2~3 d,传代(密度达 80%)后用于研究(对数期细胞)。

1.3.2 分组与干预 将 AGS 细胞(密度: 2×10^5 个/mL)分为对照组和不同水平阿奇霉素组。对照组不进行干预,不同水平阿奇霉素组分别加 12.5、25.0、50.0、100.0 $\mu\text{g/mL}$ 阿奇霉素,干预 24 h。用 CCK-8 检测细胞活力,筛选最适水平用于后续实验。细胞分组:对照组、阿奇霉素组、阳性药物组、抑制剂组和激活剂组。阿奇霉素组:加入 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 阿奇霉素;阳性药物组:加入 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 5-氟尿嘧啶;抑制剂组:

在 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 阿奇霉素的基础上加入 1.0 $\mu\text{mol/L}$ NF- κB 通路抑制剂 BAY11-7082; 激活剂组: 在 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 阿奇霉素基础上加入 1.0 $\mu\text{mol/L}$ NF- κB 通路激活剂 Prostratin。每组设 3 次重复, 置培养箱, 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 条件下培养 24 h 后进行各项指标测定。

1.3.3 CCK-8 测定 AGS 细胞活力 取 24 h 细胞, 参照 CCK-8 说明书进行操作, 反应完成后检测各孔吸光度(A)值(450 nm 处), 计算细胞活力。细胞活力为各水平阿奇霉素组 A 值与对照组 A 值的百分比。

1.3.4 ELISA 测定 AGS 细胞上清液中的炎症因子水平 取各组细胞上清液, 按照 ELISA 试剂盒说明书测定细胞上清液中的炎症因子[白细胞介素-10(IL-10)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)]水平。

1.3.5 EdU 法测定 AGS 细胞的增殖率 取培养 24 h 的细胞, 具体步骤参照 EdU 说明书操作处理, 处理完成后装片、拍照(荧光显微镜)、处理图片(Image-J 1.8.0 软件)。红色细胞占蓝色细胞的百分比即为增殖率。

1.3.6 Hoechst33258 法测定 AGS 细胞凋亡率 用磷酸盐缓冲液(PBS)清洗细胞 2 次(5 分/次), 固定(0.5 mL, 4% 多聚甲醛)10 min。PBS 清洗 3 次(5 分/次), 染色(Hoechst33258 染色液, 5 mg/L)10 min, PBS 清洗 3 次(5 分/次), 封固后观察(荧光显微镜), 拍照(随机 3 个视野), 计算凋亡率(Image-J 软件)。正常细胞: 细胞核为淡蓝色, 形态清晰; 凋亡细胞: 细胞核染色不均, 亮蓝色, 荧光较强。凋亡率为凋亡细胞数占总细胞数的百分比。

1.3.7 蛋白免疫印迹(WB)法检测 AGS 细胞中 PCNA、Caspase-3 和 NF- κB 信号通路关键蛋白表达水平 收集处理后的细胞, 在冰上裂解并收集上清液。提取蛋白进行定量, 上样后进行凝胶电泳分离蛋白, 后经聚偏二氟乙烯膜转印电泳、封闭、一抗孵育、二抗孵育及膜显色。在凝胶成像系统上采集蛋白条带并用系统配备的分析软件进行蛋白灰度值(G)分析。以 β -actin 为内参, 蛋白表达水平为目标蛋白与内参蛋白的比值。p-NF- κB p65/NF- κB p65 为 p-NF- κB p65 蛋白表达水平与 NF- κB p65 蛋白表达水平的比值, p-I $\kappa\text{B}\alpha$ /I $\kappa\text{B}\alpha$ 为 p-I $\kappa\text{B}\alpha$ 蛋白表达水平与 I $\kappa\text{B}\alpha$ 蛋白表达水平的比值。

1.4 统计学处理 分析软件: SPSS 26.0; 作图软件: GraphPad Prism 9。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 Tukey 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 阿奇霉素对 AGS 细胞活力的影响 对照组, 以及 12.5、25.0、50.0、100.0 $\mu\text{g/mL}$ 阿奇霉素组的细

胞活力分别为(100.63 $\pm$ 5.72)%、(92.93 $\pm$ 2.02)%、(88.80 $\pm$ 4.04)%、(69.43 $\pm$ 4.85)%、(70.94 $\pm$ 3.97)%。不同水平(12.5、25.0、50.0、100.0 $\mu\text{g/mL}$)阿奇霉素组较对照组 AGS 细胞活力降低, 但在 12.5 $\mu\text{g/mL}$ 时的细胞活力比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 而在 25.0、50.0、100.0 $\mu\text{g/mL}$ 的细胞活力比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 其中 AGS 细胞活力在 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 的阿奇霉素处理后的抑制效果最好, 所以选择 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 阿奇霉素作为最适水平用于后续实验。

2.2 各组 AGS 细胞上清液中的炎症因子水平比较 与对照组比较, 阿奇霉素组和阳性药物组细胞上清液中的 IL-1 β 水平下降($P < 0.05$), IL-10 水平上升($P < 0.05$); 与阿奇霉素组比较, 抑制剂组 IL-1 β 水平下降($P < 0.05$), IL-10 水平上升($P < 0.05$); 与阿奇霉素组比较, 激活剂组 AGS 细胞 IL-1 β 水平上升($P < 0.05$), IL-10 水平下降($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组 AGS 细胞炎症因子水平比较
($n=3, \bar{x} \pm s, \text{pg/mL}$)

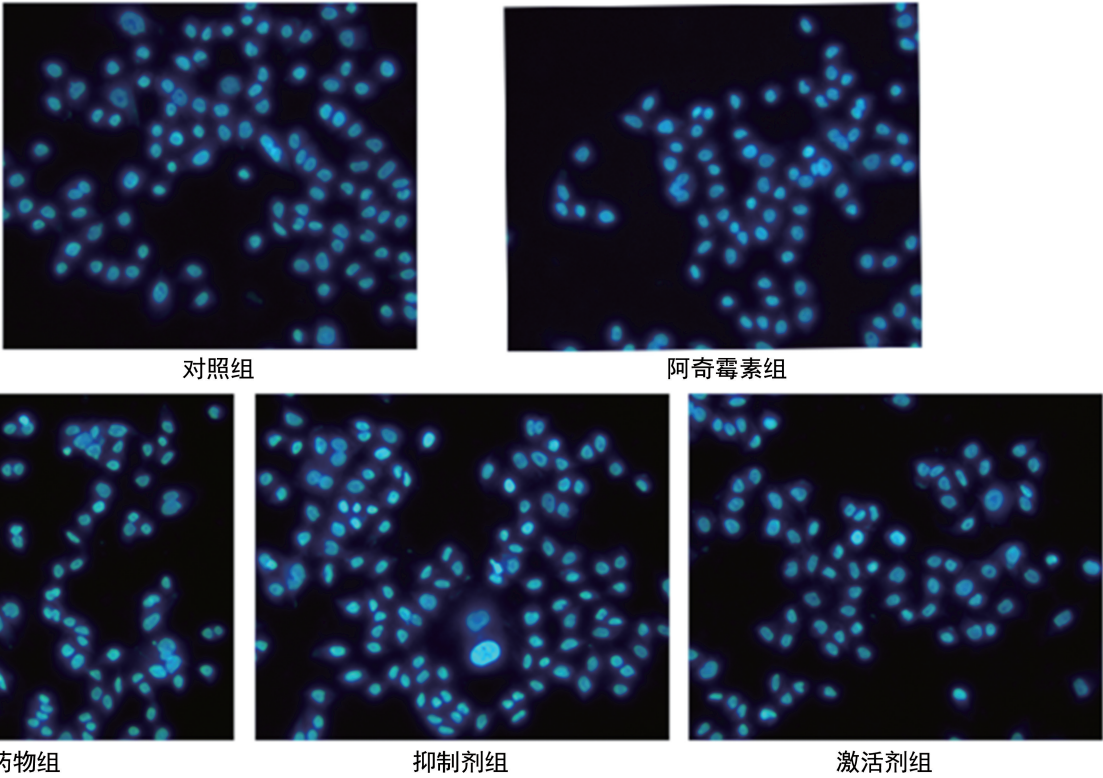
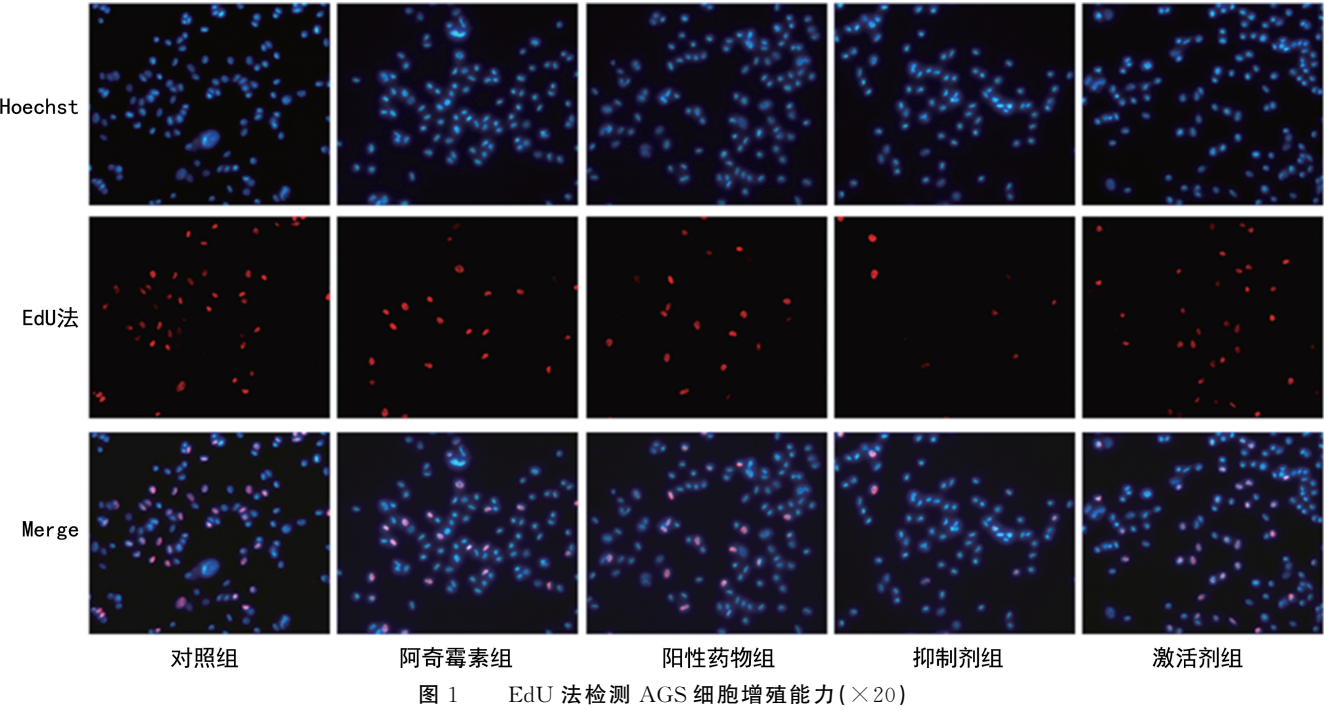
组别	IL-1 β	IL-10
对照组	26.33 $\pm$ 1.27	108.90 $\pm$ 7.40
阿奇霉素组	16.24 $\pm$ 0.28 ^a	154.01 $\pm$ 7.03 ^a
阳性药物组	15.78 $\pm$ 0.51 ^a	170.90 $\pm$ 6.10 ^a
抑制剂组	7.64 $\pm$ 0.49 ^b	248.91 $\pm$ 7.39 ^b
激活剂组	24.61 $\pm$ 1.03 ^b	114.76 $\pm$ 7.80 ^b

注: 与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与阿奇霉素组比较, ^b $P < 0.05$ 。

2.3 各组 AGS 细胞增殖能力比较 对照组、阿奇霉素组、阳性药物组、抑制剂组、激活剂组的 AGS 细胞增殖率分别为(32.75 $\pm$ 2.32)%、(16.78 $\pm$ 0.75)%、(16.05 $\pm$ 0.36)%、(7.82 $\pm$ 1.43)%、(30.20 $\pm$ 2.18)%。结果显示, 与对照组比较, 阿奇霉素组和阳性药物组 AGS 细胞增殖率下降($P < 0.05$); 与阿奇霉素组比较, 抑制剂组 AGS 细胞增殖率下降($P < 0.05$), 激活剂组 AGS 细胞增殖率上升($P < 0.05$)。见图 1。

2.4 各组 AGS 细胞凋亡能力比较 对照组、阿奇霉素组、阳性药物组、抑制剂组、激活剂组的 AGS 细胞凋亡率分别为(3.62 $\pm$ 0.15)%、(10.58 $\pm$ 0.65)%、(11.37 $\pm$ 0.97)%、(23.16 $\pm$ 1.72)%、(5.05 $\pm$ 0.52)%。对照组: 细胞大小均匀、形态清晰、弥散均匀, 细胞核呈淡蓝色; 其他各实验组: 细胞核呈亮蓝色、染色不均、体积浓缩/变小, 荧光较强。量化后发现, 与对照组比较, 阿奇霉素组和阳性药物组 AGS 细胞凋亡率上升($P < 0.05$); 与阿奇霉素组比较, 抑制剂组 AGS 细胞凋亡显著上升($P < 0.05$), 而激活剂组

AGS 细胞凋亡率下降($P<0.05$)。见图 2。



2.5 各组 AGS 细胞 PCNA 和 Caspase-3 表达水平比较 与对照组比较,阿奇霉素组和阳性药物组 AGS 细胞 PCNA 表达水平下降($P<0.05$),而 Caspase-3 表达水平上升($P<0.05$);与阿奇霉素组比较,抑制剂组 AGS 细胞 PCNA 表达水平下降($P<0.05$),而 Caspase-3 表达水平升高($P<0.05$),而激活剂组

AGS 细胞 PCNA 表达水平上升($P<0.05$),Caspase-3 表达水平下降($P<0.05$)。见图 3、表 2。

2.6 各组 AGS 细胞 NF- κ B 通路蛋白比较 与对照组比较,阿奇霉素组 p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 和 p-I κ B α /I κ B α 下降($P<0.05$);与阿奇霉素组比较,抑制剂组 p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 和 p-I κ B α /I κ B α 下降

($P<0.05$),而激活剂组则与抑制剂组趋势相反($P<0.05$)。见图 4、表 3。

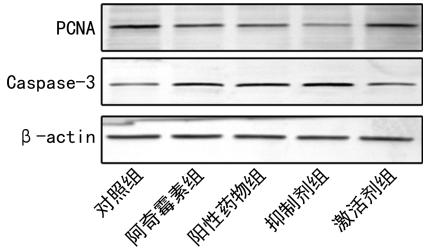


图 3 WB 法检测 AGS 细胞 PCNA 和 Caspase-3 表达情况

表 2 各组 AGS 细胞 PCNA 和 Caspase-3 表达水平比较($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	PCNA	Caspase-3
对照组	0.92±0.01	0.40±0.01
阿奇霉素组	0.61±0.02 ^a	0.69±0.01 ^a
阳性药物组	0.54±0.02 ^a	0.71±0.03 ^a
抑制剂组	0.35±0.02 ^b	0.83±0.03 ^b
激活剂组	0.81±0.03 ^b	0.44±0.01 ^b

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与阿奇霉素组比较,^b $P<0.05$ 。

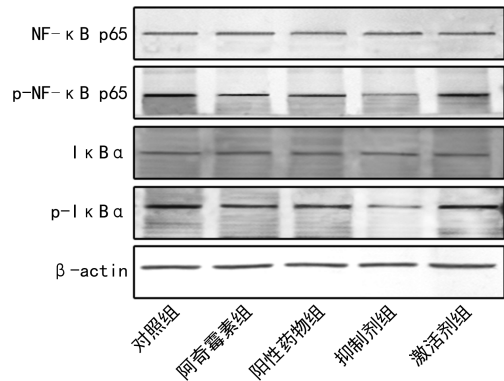


图 4 WB 法检测 AGS 细胞 NF-κB 通路蛋白表达情况

表 3 各组 AGS 细胞 NF-κB 通路蛋白比较($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	p-NF-κB p65/NF-κB p65	p-IκBα/IκBα
对照组	1.81±0.13	2.41±0.03
阿奇霉素组	0.97±0.02 ^a	1.74±0.02 ^a
阳性药物组	0.98±0.08 ^a	1.72±0.15 ^a
抑制剂组	0.47±0.03 ^b	0.77±0.02 ^b
激活剂组	1.66±0.17 ^b	2.25±0.10 ^b

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与阿奇霉素组比较,^b $P<0.05$ 。

3 讨 论

胃癌是病死率较高的恶性肿瘤之一,但无特征性临床症状,确诊时患者往往已进入胃癌进展期,且目前尚无有效的诊断和治疗手段。胃癌的发生是多种因素相互作用的结果,深入研究胃癌的发生、发展机制,寻找治疗胃癌的关键靶点是目前研究的热

点^[11-12]。阿奇霉素是新近发现的大环内酯类抗菌药物,早期主要用于治疗细菌感染,可在细胞中累积并缓慢释放,相较于其他大环内酯类药物,具有更高的局部浓度和更长的半衰期,且不良反应少,因此成为广大学者研究的热点。近年来,阿奇霉素在抗肿瘤方面的作用越来越被人们关注。有研究发现,阿奇霉素能抑制淋巴瘤^[13]和结肠癌^[14]等肿瘤的恶性进程。阿奇霉素通过其抗炎作用对小儿胃炎有一定治疗效果^[15]。但阿奇霉素对胃癌细胞的影响尚不清楚。基于此,本研究利用不同水平(12.5、25.0、50.0、100.0 $\mu\text{g/mL}$)阿奇霉素干预 AGS 细胞,结果发现,25.0、50.0、100.0 $\mu\text{g/mL}$ 阿奇霉素组 AGS 细胞活力明显低于对照组,其中 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 阿奇霉素组细胞活力最低,效果最好,因此选择 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 阿奇霉素为最适水平用于后续实验,与既往研究^[13]结果相符,有一定的参考价值。为了进一步研究阿奇霉素对 AGS 细胞生物学行为的影响,本研究探讨了阿奇霉素对炎症细胞因子、AGS 细胞增殖与凋亡的影响。结果发现,阿奇霉素干预后,IL-1 β 水平、AGS 细胞增殖率和增殖标志物 PCNA 表达水平下降,而 IL-10 水平、凋亡率和凋亡标志物 Caspase-3 表达水平上升,提示阿奇霉素可抑制 AGS 细胞炎症,并诱导其凋亡、抑制增殖,有良好的研究及开发前景。

NF- κ B 属于二聚体转录因子家族,生理状态下以 NF- κ B 和 I κ B α 二聚体的形式存在于细胞质中参与细胞的炎症、增殖和凋亡等生物学过程。其异常激活后,NF- κ B 和 I κ B α 二聚体在蛋白磷酸化酶的参与下发生磷酸化,二聚体 NF- κ B 和 I κ B α 解离,NF- κ B 迅速进入细胞核进行目标基因的转录^[16]。研究发现,相关受体结合丝氨酸/苏氨酸激酶 2 通过下调 p-NF- κ B 和 p-I κ B α 的表达水平,抑制 NF- κ B 信号通路活性,减缓裸鼠胃癌的发展进程^[17]。另有研究证实能够通过 NF- κ B 信号通路抑制胃癌细胞的增殖,并促进其凋亡^[18]。赵朝华等^[19]报道显示,阿奇霉素不仅可以通过抑制 NF- κ B 通路活性改善慢性阻塞性肺模型大鼠肺脏组织形态和纤维化,还可以通过抑制 NF- κ B 信号通路促进牙周膜干细胞的成骨分化^[20]。但是阿奇霉素是否可通过调控 NF- κ B 信号通路改变胃癌的发展进程尚不十分明确。因此,本研究分析了各实验组 AGS 细胞 NF- κ B 信号通路关键蛋白,结果发现,阿奇霉素降低了 p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 和 p-I κ B α /I κ B α ,说明阿奇霉素能明显抑制 NF- κ B 信号通路活性。在阿奇霉素的基础上分别加入 BAY11-7082 和 Prostratin 后,BAY11-7082 增强了阿奇霉素对 AGS 细胞的作用,Prostratin 则明显减弱了阿奇霉素对

AGS 细胞的作用。

综上所述,阿奇霉素通过阻滞 NF- κ B 通路信号转导抑制 AGS 细胞炎症和增殖,并诱导其凋亡。但是本研究仅从细胞层面研究了阿奇霉素对 AGS 细胞的影响,下一步可从体内水平研究阿奇霉素对胃癌的作用,为胃癌的相关治疗提供更有利的参考。

参考文献

[1] SEXTON R E,AL HALLAK M N,DIAB M,et al. Gastric cancer;a comprehensive review of current and future treatment strategies[J]. Cancer Metastasis Rev,2020,39(4):1179-1203.

[2] ZENG L S,LIAO Q X,ZENG X H,et al. Noncoding RNAs and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in advanced gastric cancer[J]. Bioengineered,2022,13(2):2623-2638.

[3] FIRTH A,PRATHAPAN P. Azithromycin: the first broad-spectrum therapeutic[J]. Eur J Med Chem,2020,207:112739.

[4] TORIYAMA K,TAKANO N H U,KOKUBA H,et al. Azithromycin enhances the cytotoxicity of DNA-damaging drugs via lysosomal membrane permeabilization in lung cancer cells [J]. Cancer Sci, 2021, 112 (8): 3324-3337.

[5] 李冯洋. 外泌体介导 miR-3473b 靶向 NF- κ B 对肺癌细胞肺内转移及 B 细胞数量的影响[J]. 实用癌症杂志,2023,38(6):871-875.

[6] 杨自豪,周亨露. 党参多糖调控 miR-361-5p/TLR4/NF- κ B 通路对胃癌细胞 AGS 增殖、凋亡和炎症因子表达的影响[J]. 免疫学杂志,2022,38(4):347-353.

[7] KUO C H,LEE M S,KUO H F,et al. Azithromycin suppresses Th1- and Th2-related chemokines IP-10/MDC in human monocytic cell line[J]. J Microbiol Immunol Infect,2019,52(6):872-879.

[8] HE X X,HUANG C K,XIE B S. Autophagy inhibition enhanced 5-FU-induced cell death in human gastric carcinoma BGC-823 cells[J]. Mol Med Rep,2018,17(5):6768-6776.

[9] 张丽瑞,李旭,王月玲,等. TNF- α 激活 NF- κ B 促进宫颈癌细胞的侵袭[J]. 西安交通大学学报(医学版),2013,34(5):568-571.

[10] TSAI J Y,RÉDEI D,HOHMANN J,et al. 12-Deoxy-

phorbol esters induce growth arrest and apoptosis in human lung cancer a549 cells via activation of PKC- δ /PKD/ERK signaling pathway[J]. Int J Mol Sci,2020,21(20):7579.

[11] WANG H,CHEN X L,LIU K,et al. Associations between gastric cancer risk and virus infection other than Epstein-Barr virus;a systematic review and meta-analysis based on epidemiological studies[J]. Clin Transl Gastroenterol,2020,11(7):e00201.

[12] DENG Y L,DING X W,SONG Q Y,et al. Alterations in mucosa-associated microbiota in the stomach of patients with gastric cancer[J]. Cell Oncol (Dordr),2021,44(3):701-714.

[13] SCHEIBENPFLUG R,OBERMÜLLER M,REZNICEK G,et al. Azithromycin concentrations during long-term regimen,a pilot study in patients with MALT lymphoma [J]. Sci Rep,2021,11(1):18460.

[14] QIAO X R,WANG X F,SHANG Y,et al. Azithromycin enhances anticancer activity of TRAIL by inhibiting autophagy and up-regulating the protein levels of Dr4/5 in colon cancer cells in vitro and in vivo[J]. Cancer Commun (Lond),2018,38(1):43.

[15] 戴毅华,叶明勇. 阿奇霉素与诺氟沙星治疗小儿急性肠胃炎的临床效果对比分析[J]. 中国医药科学,2018,8(20):48-50.

[16] XIE W D,HUANG W,CAI S M,et al. NF- κ B/I κ B α signaling pathways are essential for resistance to heat stress-induced ROS production in pulmonary microvascular endothelial cells[J]. Mol Med Rep,2021,24(5):814.

[17] 杨倩. RIPK2 在胃癌发生发展中作用机制及其泛癌症研究[D]. 武汉:武汉大学,2021.

[18] 彭鸿,陈国忠,方丽娇,等. NF- κ B 基因沉默对人胃癌 SGC7901 细胞增殖影响及机制探讨[J]. 辽宁中医药大学学报,2018,20(10):92-95.

[19] 赵朝华,廖和和,王甲林,等. 阿奇霉素对慢阻肺大鼠肺脏病理损伤,氧化应激及 TLR4/NF- κ B 信号通路的调节作用[J]. 西部医学,2019,31(12):1831-1836.

[20] 孟婷婷. 阿奇霉素调节细胞凋亡和自噬促进炎症状态下牙周膜干细胞成骨分化及机制研究[D]. 天津:天津医科大学,2019.