

网络出版时间: 2019-7-15 18:06 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20190715.0922.015.html>

甲氟喹增强紫杉醇诱导胃癌细胞 BGC-823 细胞凋亡的机制

李 云¹ 陈 博² 王 凡¹

摘要 目的 探讨甲氟喹作用于人胃癌细胞 BGC-823 后对紫杉醇敏感性的影响及作用机制。方法 甲氟喹联合紫杉醇作用于胃癌细胞 BGC-823 后, 流式细胞仪 PI 单染法检测细胞凋亡率, MTS 测定细胞活性, Western blot 检测 PI3K/Akt/mTOR 信号通路蛋白表达水平。结果 与 SGC-7901 细胞相比, BGC-823 细胞对紫杉醇更加不敏感; 甲氟喹联合紫杉醇较单药紫杉醇能更明显地诱导 BGC-823 细胞的凋亡 [$(33.00 \pm 2.83)\% vs (15.75 \pm 0.64)\%$], 抑制细胞增殖 [$(44.00 \pm 0.07)\% vs (72.00 \pm 0.09)\%$], 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$) ; Western blot 法显示在紫杉醇中加入甲氟喹作用后, PI3K/Akt/mTOR 信号通路磷酸化蛋白的表达明显降低。结论 甲氟喹能够有效抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路磷酸化蛋白的表达水平, 从而诱导 BGC-823 细胞凋亡, 明显增加 BGC-823 细胞对紫杉醇的敏感性。

关键词 甲氟喹; 胃癌; 紫杉醇; PI3K/Akt/mTOR

中图分类号 R 735.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2019)08-1243-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.08.015

胃癌是最常见的消化道恶性肿瘤, 在全球呈多发趋势, 且病死率较高, 胃癌的发病率、死亡率分别位于恶性肿瘤的第 5 位及第 3 位, 严重威胁着人类健康^[1]。其治疗主要以手术切除联合周围淋巴结清扫为主, 除此之外, 化疗在胃癌的治疗上也起到重要的辅助作用^[2]。紫杉醇是一种新型的紫杉类药物, 临幊上常用于晚期胃癌的治疗^[3-4], 但对紫杉醇不敏感的胃癌细胞株能否通过其他药物的协同作用增强其对化疗药物的敏感性, 值得进一步探讨。甲氟喹是 FDA 批准的治疗和预防疟疾的药物, 在过去的几年里, 甲氟喹被尝试用于治疗其他疾病, 且取得明显的效果。研究表明, 甲氟喹可以作为一种新型抗癌药物用于恶性肿瘤的治疗, Sukhai et al^[5] 采用甲氟喹作用于急性髓细胞白血病(acute myeloid leu-

kemia, AML) 细胞, 发现其可通过渗透入白血病细胞的溶酶体中, 破坏溶酶体膜蛋白, 进而有选择性的杀死白血病细胞及干细胞, 为通过破坏细胞溶酶体治疗 AML 提供了理论依据。Li et al^[6] 研究表明甲氟喹可通过抑制肿瘤细胞线粒体增殖及哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号通路诱导宫颈癌细胞的凋亡, 且与紫杉醇联合应用起到协同作用。然而, 甲氟喹对紫杉醇不敏感型胃癌的作用及其分子机制鲜有报道。磷脂肌醇 3-激酶(phosphoinositide-3 kinase, PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号通路是人体细胞中的一条重要信号传导通路, 在细胞中起着促进增殖、抑制凋亡的作用, 与包括胃癌在内的多种肿瘤的发生及发展紧密相关^[7-8]。能够识别并抑制 PI3K/Akt/mTOR 通路的药物可能提高胃癌治疗的疗效。该研究将甲氟喹和紫杉醇联合作用于对紫杉醇不敏感的胃癌细胞株 BGC-823, 研究两药联合对紫杉醇不敏感胃癌细胞的作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 SGC-7901 及 BGC-823 细胞购自中科院上海细胞库。DMEM 高糖培养基、胰酶购自 Gibco 公司; 小牛血清购自杭州四季青公司; 甲氟喹和紫杉醇购自美国 Sigma-Aldrich 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人胃腺癌细胞系 SGC-7901 及 BGC-823 细胞采用含 10% 小牛血清、1% 双抗的高糖 DMEM 培养液于 37 °C、5% CO₂ 培养箱内培养, 细胞呈贴壁性生长。

1.2.2 PI 染色流式细胞术检测细胞凋亡率 收集对数期细胞, 以每孔板 2×10^3 个细胞密度接种于 96 孔板(200 μl/孔, 37 °C, 5% CO₂, 饱和湿度, 边缘孔用无菌 PBS 填充)。细胞贴壁后即加入药物, 实验组分别加入 0.5 μmol/L 甲氟喹, 0.3 μmol/L 紫杉醇, 0.5 μmol/L 甲氟喹联合 0.3 μmol/L 紫杉醇, 同时设对照组(只加细胞和培养液, 不加药物)。收集药物作用后的细胞上清液, 用预冷 PBS 洗涤 2 次,

2019-03-28 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81602425)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院¹ 肿瘤放疗科,² 普外科, 合肥 230022

作者简介: 李 云, 女, 硕士研究生;

王 凡, 男, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: wangfan1965@126.com

低速离心弃上清液,每孔加入 750 μl 荧光染料碘化丙啶(PI) 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光作用 20 min 后收集细胞,4 $^{\circ}\text{C}$ 避光过夜。次日使用流式细胞仪(FASCalibur)检测。每组实验重复 3 次。结果用 WinMDI 2.9 软件分析,亚二倍体峰(subG1)所占的比例即细胞凋亡率。

1.2.3 MTS 测定细胞活性 细胞贴壁后实验组分别加入 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 甲氟喹 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 紫杉醇 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 甲氟喹联合 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 紫杉醇,同时设对照组(只加细胞和培养液,不加药物)。5% CO₂、37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 24 h 后每孔加 20 μl MTS/PMS 混合液,继续培养 4 h。检测前摇晃培养板 10 s,混匀颜色。在酶联检测仪上,波长 570 nm 处检测各孔的吸光度值。

1.2.4 Western blot 法 将 BGC-823 细胞接种到 6 孔板中,对照组加入培养液,实验组分别加入 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 甲氟喹 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 紫杉醇 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 甲氟喹联合 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 紫杉醇,培养 24 h 后收集细胞,在冰上加入 RIPA 细胞裂解液裂解细胞,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 、14 000 r/min 离心 30 min,吸取上清液。BCA 蛋白定量法测总蛋白的浓度。在 15% SDS-PAGE 胶中每孔加入蛋白总量 30 μg ,电泳条件为 70 V/40 min,110 V/90 min,220 mA,60 min 转膜至 PVDF 膜上,用含 5% 的脱脂奶粉/TBST 室温封闭 2 h,LC3 抗体 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,次日 TBST 洗涤 3 次,每次 10 min; 辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗(1:10 000)室温孵育 1 h,TBST 洗涤 3 次,每次 10 min;于全自动数码凝胶图像分析系统中进行曝光,检测 p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt、p-mTOR、mTOR 表达水平并保存图像。

1.3 统计学处理 用 SPSS 19.0 软件对数据进行分析。实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 紫杉醇诱导胃腺癌细胞凋亡 选用 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 紫杉醇在不同时间点分别处理 SGC-7901 和 BGC-823 细胞,检测其凋亡率,结果显示紫杉醇诱导 SGC-7901 细胞 48 h 凋亡率为 (55.33 \pm 2.08)% ,BGC-823 的凋亡率为 (23.33 \pm 1.53)% ,说明紫杉醇对 SGC-7901 和 BGC-823 细胞都有诱导凋亡作用,但相比较而言,BGC-823 细胞对紫杉醇诱导的凋亡更加不敏感,差异有统计学意义($F = 19.05$, $P < 0.05$),见图 1。

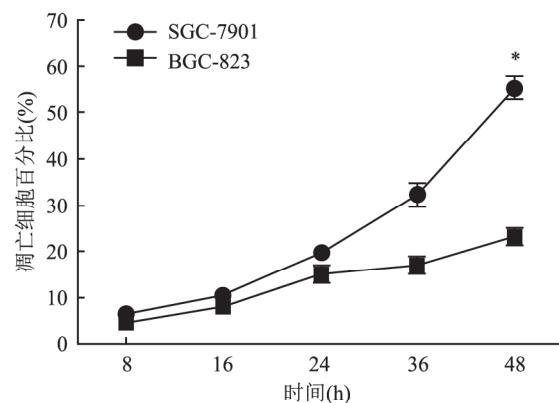


图 1 48 h 内紫杉醇诱导胃腺癌细胞 BGC-823 和 SGC-7901 凋亡率的变化
与 BGC-823 组比较: * $P < 0.05$

2.2 甲氟喹能够抑制细胞活性且增加 BGC-823 细胞对紫杉醇的敏感性 在对紫杉醇不敏感的细胞株 BGC-823 中分别加入 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 甲氟喹、0.3 $\mu\text{mol/L}$ 紫杉醇、0.5 $\mu\text{mol/L}$ 甲氟喹联合 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 紫杉醇,同时设对照组(只加细胞和培养液,不加药物)。通过染色流式细胞术检测细胞凋亡率,MTS 检测细胞活性,结果显示,甲氟喹联合紫杉醇较单用紫杉醇能更明显地诱导 BGC-823 细胞凋亡 [$(33.00 \pm 2.83)\%$ vs $(15.75 \pm 0.64)\%$],抑制细胞增殖 [$(44.00 \pm 0.07)\%$ vs $(72.00 \pm 0.09)\%$],差异均有统计学意义($F = 13.18$, $P < 0.05$; $F = 22.58$, $P < 0.05$)(图 2A、2B)。

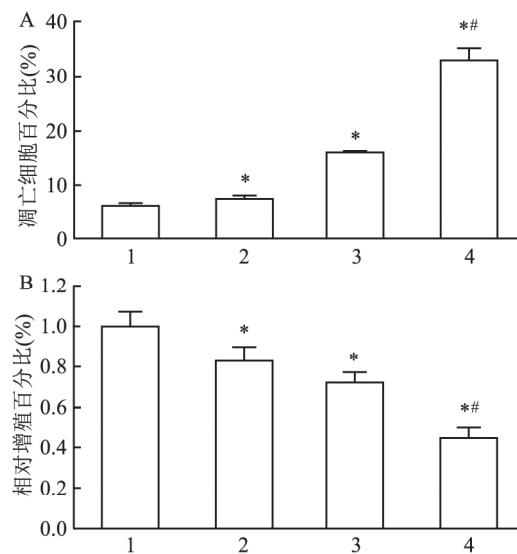


图 2 各组处理 24 h 后胃癌细胞 BGC-823 凋亡率、增殖率比较
A: 凋亡率比较; B: 增殖率比较; 1: 对照组; 2: 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 甲氟喹; 3: 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 紫杉醇; 4: 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 甲氟喹 + 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 紫杉醇; 与对照组比较: * $P < 0.05$; 与单药紫杉醇组比较: # $P < 0.05$

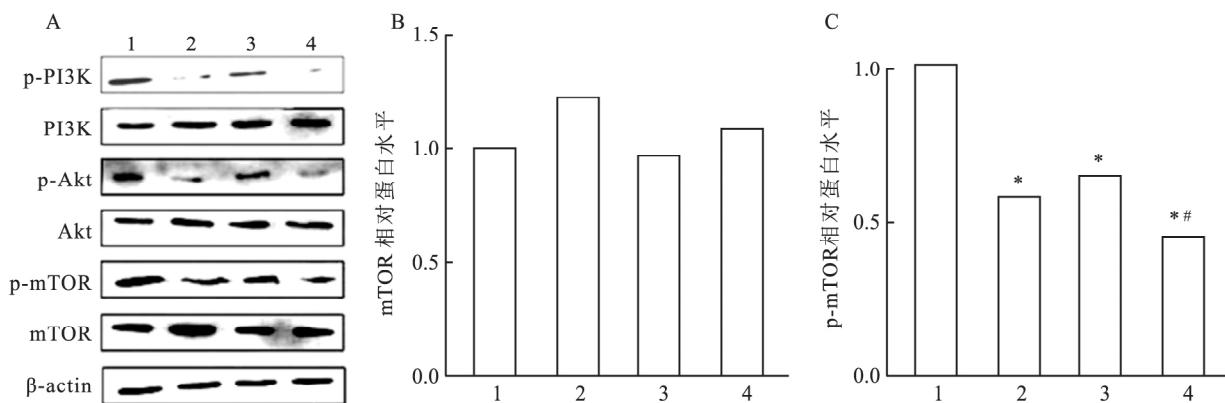


图3 甲氟喹、紫杉醇对胃癌细胞 BGC-823 中 PI3K/Akt/mTOR 信号通路总蛋白及磷酸化蛋白表达水平的影响

A: Western blot 图像; B: mTOR 蛋白相对灰度值; C: p-mTOR 蛋白相对灰度值; 1: 对照组; 2: 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 甲氟喹; 3: 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 紫杉醇; 4: 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 甲氟喹 + 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 紫杉醇; 与对照组比较: * $P < 0.05$; 与单药紫杉醇组比较: # $P < 0.05$

2.3 甲氟喹通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路增强胃癌细胞 BGC-823 对紫杉醇的敏感性 在对紫杉醇不敏感的细胞株 BGC-823 中分别加入 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 甲氟喹、0.3 $\mu\text{mol/L}$ 紫杉醇、0.5 $\mu\text{mol/L}$ 甲氟喹联合 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 紫杉醇, Western blot 法检测 PI3K/Akt/mTOR 通路的总蛋白及磷酸化蛋白的表达水平。结果显示, 无药物处理组中 PI3K/Akt/mTOR 通路的总蛋白及磷酸化蛋白相关基因表达水平较高, 而甲氟喹联合紫杉醇作用后, PI3K/Akt/mTOR 通路的总蛋白相关基因表达水平无变化, 但磷酸化蛋白较单用甲氟喹, 紫杉醇处理的实验组及无药物处理组明显降低, 说明甲氟喹可以协同紫杉醇抑制 PI3K/Akt/mTOR 通路磷酸化蛋白的表达水平, 差异有统计学意义 ($F = 13.05, P < 0.05$), 见图 3A、3B、3C。

3 讨论

胃癌在我国发病率较高, 是一种常见的消化道恶性肿瘤, 因早期胃癌诊断率较低, 多数患者发现时已处于中晚期。近年来, 胃癌发病率不断上升, 与饮食结构、环境改变等多种因素有关^[9]。胃癌的发生及进展是一个多因素、多步骤的复杂过程, 多种信号通路与胃癌的发生有关。其中, PI3K/Akt/mTOR 信号通路在癌细胞的生长、增殖、凋亡等方面起到重要的调控作用, 其可传递细胞有丝分裂信号, 上调细胞周期素、细胞周期依赖性蛋白激酶等的翻译, 使细胞周期的运行速度加快, 促进肿瘤细胞的增殖与分化^[6,10]。胃癌细胞通常会表现出明显的基因组改变, 如基因异质性的缺失、非整倍体基因、基因不稳定, 导致基因无法正常表达, 这是胃癌细胞的自我处

理所导致的^[8]。当一个细胞处于癌变状态时, 其细胞内的 PI3K-Akt 信号会增加, mTOR 会被激活、细胞的反馈活动会减少。所有这些变化会使细胞代谢增快, 血管生成增加、核糖体生成增多, 从而改变蛋白质的生物结构, 进而引起肿瘤的形成^[11]。胃癌死亡率较高, 即使行胃癌根治性术后, 术后存活期仍较短, 其预后主要与癌细胞浸润胃壁的深度, 周围淋巴结转移情况有关。研究^[12] 显示胃癌淋巴转移与 Akt/mTOR 信号通路的活化有关, Akt/mTOR 信号蛋白在胃癌细胞中较正常细胞过度表达, 导致癌细胞通过淋巴管转移, 影响患者预后。紫杉醇是临幊上较常使用的一种化疗药物, 其可有效抑制肿瘤细胞增殖, 促进凋亡, 但在胃癌的治疗上疗效欠佳, 主要是胃癌细胞对紫杉醇敏感性较差导致。甲氟喹是人工合成的 4-喹啉 - 甲醇衍生物, 能够有效杀灭红细胞内裂殖体, 主要用于治疗疟疾的药物。研究^[13] 表明其良好的细胞毒性可以诱导多种癌细胞的凋亡, 在恶性肿瘤的治疗中越来越受到人们的重视。本研究将甲氟喹作为胃癌治疗的潜在药物, 发现甲氟喹可以作用于对紫杉醇不敏感的胃癌细胞株, 抑制癌细胞的增殖, 促进其凋亡, 与紫杉醇起到协同作用。且发现甲氟喹可以通过抑制 PI3K / Akt / mTOR 信号通路磷酸化蛋白的活性从而有效抑制肿瘤细胞的增殖。

Liu et al^[14] 分别建立小鼠体内、体外模型, 采用不同类型的胃癌细胞研究甲氟喹对胃癌细胞的影响及作用机制, 发现不同浓度的甲氟喹促进胃癌细胞凋亡程度不同, 在一定浓度下 (0.1 ~ 5 $\mu\text{mol/L}$) 随着浓度增加, 细胞凋亡越明显; 且甲氟喹联合紫杉醇较两者单药使用作用于细胞株, 促进凋亡效应更明

显,此外,发现甲氟喹可有效抑制胃癌细胞内的PI3K/Akt/mTOR信号通路磷酸化蛋白的活性,促进胃癌细胞的凋亡。本实验中,先用紫杉醇分别处理两种不同的胃癌细胞,得到对紫杉醇敏感性较低的细胞株BGC-823,再分别用一定浓度的甲氟喹、紫杉醇、紫杉醇联合甲氟喹处理该细胞株,与前两者比较,发现甲氟喹联合紫杉醇可明显降低细胞株BGC-823的增殖,促进其凋亡。为进一步明确甲氟喹协同紫杉醇促进胃癌细胞凋亡的机制,分别采用两者单药、两者联合作用胃腺癌BGC-823细胞株24 h,检测PI3K/Akt/mTOR信号通路中p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt、p-mTOR、mTOR蛋白表达水平。结果发现两者联合使用较两者单药能显著抑制上述磷酸化蛋白的活性,说明两者协同促进胃癌细胞凋亡是通过抑制PI3K/Akt/mTOR通路磷酸化蛋白的表达水平来实现的,该结果与Liu et al^[14]实验结果相一致。

综上所述,甲氟喹作为一种抗疟药,此实验将其作用于胃癌细胞,发现甲氟喹可以作用于对紫杉醇不敏感的胃癌细胞株,抑制癌细胞增殖,促进凋亡,与紫杉醇具有协同作用。进一步的实验表明甲氟喹协同紫杉醇通过抑制PI3K/Akt/mTOR通路磷酸化蛋白的表达水平抑制胃癌细胞增殖,为抗胃癌新药物的开发提供了一定的理论依据。本研究获得的所有实验数据均在体外以细胞培养方式获得,由于人体内环境中多种因素的影响,甲氟喹联合紫杉醇对胃癌细胞的抑制作用机制还需要在动物模型中进一步深入研究。

参考文献

- [1] 左婷婷,郑荣寿,曾红梅,等.中国胃癌流行病学现状[J].中国肿瘤临床,2017,44(1):52-8.
- [2] Noh S H , Park S R , Yang H K , et al. Adjuvant capecitabine plus oxaliplatin for gastric cancer after D2 gastrectomy (CLASSIC): 5-year follow-up of an open-label, randomised phase 3 trial [J]. Lancet Oncol , 2014 , 15(12) : 1389 - 96.
- [3] Ford H E , Marshall A , Bridgewater J A , et al. Docetaxel versus active symptom control for refractory oesophagogastric adenocarcinoma (COUGAR-02): an open-label, phase 3 randomised controlled trial [J]. Lancet Oncol , 2014 , 15(1) : 78 - 86.
- [4] 杜新超,张志勇,李勇.紫杉醇联合顺铂新辅助化疗治疗胃癌的疗效观察[J].中国肿瘤临床与康复,2017,24(4):450-2.
- [5] Sukhai M A , Prabha S , Hurren R , et al. Lysosomal disruption preferentially targets acute myeloid leukemia cells and progenitors [J]. J Clin Invest , 2013 , 123(1) : 315 - 28.
- [6] Li H , Jiao S , Li X , et al. Therapeutic effects of antibiotic drug mefloquine against cervical cancer through impairing mitochondrial function and inhibiting mTOR pathway [J]. Can J Physiol Pharmacol , 2017 , 95(1) : 43 - 50.
- [7] 杨健. COLPH3、PI3K/Akt/mTOR信号通路与胃癌发生、发展关系[J].中国医学创新,2017,14(8):138-40.
- [8] Riquelme I , Tapia O , Espinoza J A , et al. The gene expression status of the PI3K/AKT/mTOR pathway in gastric cancer tissues and cell lines[J]. Pathol Oncol Res , 2016 , 22(4) : 797 - 805.
- [9] Wang W , Zheng C , Fang C , et al. Time trends of clinicopathologic features and surgical treatment for gastric cancer: results from 2 high-volume institutions in southern China [J]. Surgery , 2015 , 158(6) : 1590 - 7.
- [10] Samarin J , Laketa V , Malz M , et al. PI3K/AKT/mTOR-dependent stabilization of oncogenic far-upstream element binding proteins in hepatocellular carcinoma cells[J]. Hepatology , 2016 , 63(3) : 813 - 26.
- [11] Chen H , Guan R , Lei Y , et al. Lymphangiogenesis in gastric cancer regulated through Akt/mTOR-VEGF-C/VEGF-D axis [J]. BMC Cancer , 2015 , 15: 103.
- [12] 潘理会,张平,李春辉.PI3K/AKT/mTOR信号传导通路在胃癌中的研究进展[J].承德医学院学报,2016,33(4):324-7.
- [13] Rodrigues F A , Bomfim I S , Cavalcanti B C , et al. Mefloquine-oxazolidine derivatives: a new class of anticancer agents [J]. Chem Biol Drug Des , 2014 , 83(1) : 126 - 31.
- [14] Liu Y , Chen S , Xue R , et al. Mefloquine effectively targets gastric cancer cells through phosphatase-dependent inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. Biochem Biophys Res Commun , 2016 , 470(2) : 350 - 5.

Mechanism of mefloquine-enhanced paclitaxel-induced apoptosis in gastric cancer cell line BGC-823

Li Yun¹, Chen Bo², Wang Fan¹

(¹Dept of Radiation Oncology, ²Dept of General Surgery,

The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the effect of mefloquine on the sensitivity of human gastric cancer cell line BGC-823 to paclitaxel and its mechanism. **Methods** Apoptotic rate was detected by flow cytometry, MTS assay was

网络出版时间: 2019-7-15 18:06 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20190715.0922.016.html>

乳酸脱氢酶抑制剂 Galloflavin 对肺腺癌 A549 细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响

朱 宁¹ 束 军¹ 张 梅¹ 沈继龙²

摘要 目的 探讨不同浓度乳酸脱氢酶抑制剂 Galloflavin (GF) 对肺腺癌 A549 细胞增殖、迁移、侵袭能力的影响。方法 体外培养肺腺癌 A549 细胞, 实验分为对照组(无 GF 处理组)和实验组(GF 处理组, 浓度分别为 12.5、25、50、100 μmol/L), 分别使用 CCK-8、划痕实验、Transwell 法检测不同浓度 GF 在不同作用时间条件下对 A549 细胞增殖、迁移、侵袭能力的影响; 分别使用乳酸脱氢酶活性检测试剂盒、乳酸定量试剂盒检测不同浓度 GF 对乳酸脱氢酶活性、乳酸生成量的影响。结果 CCK-8 结果表明, GF 对 A549 细胞具有增殖抑制作用, 并且在一定浓度和时间范围内呈现出依赖性($P < 0.05$)。划痕实验结果表明, 实验组细胞迁移率小于对照组($P < 0.05$), 随着 GF 浓度的增加, 迁移率逐渐降低($P < 0.05$)。Transwell 结果表明, 实验组细胞侵袭细胞数小于对照组($P < 0.05$), 随着 GF 浓度的增加, 侵袭细胞数逐渐减少($P < 0.05$)。乳酸脱氢酶活性检测结果表明, 实验组乳酸脱氢酶活性较对照组显著降低($P < 0.05$), 随着 GF 浓度的增加, 乳酸脱氢酶活性逐渐降低($P < 0.05$)。乳酸检测结果表明, 实验组乳酸生成量较对照组显著减少($P < 0.05$), 随着 GF 浓度的增加, 乳酸生成量逐渐减少($P < 0.05$)。结论 GF 在体外能够抑制 A549 细胞的增殖、迁移及侵袭, 其机

制可能是通过抑制乳酸脱氢酶活性从而抑制肺癌细胞糖酵解。

关键词 Galloflavin; 肺腺癌; 增殖; 迁移; 侵袭

中图分类号 R 734.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2019)08-1247-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.08.016

能量代谢失衡是恶性肿瘤细胞的重要特征之一,许多肿瘤细胞在氧供应充足条件下,仍然优先选择糖酵解而不是氧化磷酸化,即有氧糖酵解^[1],这就是著名的瓦博格效应(Warburg effect)。肿瘤的发生、发展及转移与肿瘤的糖酵解关系密切,研究^[2-4]表明,抑制异常糖酵解可以抑制多种肿瘤细胞的生长、迁移、侵袭。乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)是糖酵解途径中最后一个酶,其同工酶乳酸脱氢酶 A(lactic dehydrogenase A, LDHA)在包括非小细胞癌在内的多种肿瘤组织中高表达^[4-5]。Galloflavin(GF)是特异性 LDH 抑制剂。近年来一些研究^[6-7]表明,GF 可抑制多种肿瘤细胞的增殖,然而 GF 与肺腺癌细胞的研究鲜有报道,该研究旨在观察不同浓度 GF 对肺腺癌 A549 细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器 人肺腺癌 A549 细胞由安徽医科大学公共卫生学院惠赠; GF、二甲基亚砜(DMSO)购自美国 Sigma 公司; CCK-8 试剂盒、胰酶、胎牛血清购自上海碧云天生物技术有限公司;

2019-04-04 收稿

基金项目: 安徽高校自然科学研究项目(编号: KJ2018A0204); 安徽省自然科学基金(编号: 130805MH141)

作者单位: ¹安徽医科大学第四附属医院呼吸内科, 合肥 230022

²安徽病原生物学省级实验室和人兽共患病安徽重点实验室(安徽医科大学基础医学院病原生物学教研室), 合肥 230022

作者简介: 朱 宁, 男, 硕士研究生;
束 军, 男, 副教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: J. Shu @ 126. com

used to detect the cell viability of gastric cancer cells BGC-823. The PI3K/Akt/mTOR signaling pathway protein expression was detected by Western blot. **Results** Compared with SGC-7901 cells, BGC-823 was not sensitive to paclitaxel. After treatment with 0.3 μmol/L paclitaxel combined with 0.5 μmol/L mefloquine for 24 hours, the apoptotic rate was [(33.00 ± 2.83)% vs (15.75 ± 0.64)%] and the proliferation rate was [(44.00 ± 0.07)% vs (72.00 ± 0.09)%] ($P < 0.05$). Western blot analysis showed that the expression of phosphorylated protein of PI3K/Akt/mTOR pathway was decreased markedly after treatments of paclitaxel combined with mefloquine. **Conclusion** Mefloquine can inhibit the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway phosphorylated protein expression and induce BGC-823 cells apoptosis, significantly increased the sensitivity of BGC-823 cells to paclitaxel.

Key words mefloquine; gastric cancer; paclitaxel; PI3K/Akt/mTOR