

网络出版时间: 2018-9-25 14:31 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20180921.1451.012.html>

ANXA2-siRNA 转染对胃癌耐药细胞药物敏感性的影响及机制

余南荣, 曾祥, 徐厚巍, 蓝俊松

摘要 目的 研究 ANXA2-siRNA 转染对胃癌耐药细胞药物敏感性及其信号通路激活的影响。方法 采用 ANXA2-siRNA 转染 SGC-7901/DDP 胃癌耐药细胞, 通过 RT-PCR 和 Western blot 检测胃癌耐药细胞中耐药相关基因 GST 以及 Bax 的表达变化, 应用 MTT 药敏实验检测胃癌耐药细胞对化疗药物敏感性的变化。采用 Western blot 检测 ANXA2-siRNA 转染 SGC-7901/DDP 胃癌耐药细胞后, MAPK 及 PI3K/Akt 信号通路激活中 P38、P38 磷酸化水平、AKT 以及 AKT 磷酸化水平的变化情况。结果 ANXA2-siRNA 转染 SGC7901/DDP 细胞后, 无论在 RNA 水平还是蛋白水平上, 耐药相关基因 GST 的表达水平显著降低, 而 Bax 的表达水平明显上调。与空白对照组和空白-siRNA 组细胞相比, ANXA2-siRNA 转染 SGC7901/DDP 细胞对化疗药物 DDP 和 5-FU 的 IC_{50} 值显著降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与空白对照组和空白-siRNA 组细胞相比, ANXA2-siRNA 转染 SGC7901/DDP 细胞后, MAPK 信号通路中, P38 表达无明显变化, 但 P38 磷酸化水平下降明显。在 PI3K/Akt 信号通路中, AKT 表达无明显变化, 但 AKT 磷酸化水平下降明显。结论 ANXA2-siRNA 转染胃癌耐药细胞能够下调耐药相关基因的表达, 降低胃癌细胞的耐药性, 可能是通过影响 MAPK 及 PI3K/Akt 信号通路中 P38 和 AKT 磷酸化过程实现的。

关键词 ANXA2; 转染; 胃癌; 耐药细胞; 药物敏感性; 信号通路

中图分类号 R 54

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2018)11-1711-05
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.11.012

胃癌是消化系统中最常见的恶性肿瘤之一, 随着社会的发展, 胃癌的发病率呈现逐年升高的趋势, 甚至有年轻化的倾向^[1]。目前在临床上, 针对胃癌主要的治疗手段是手术治疗为主的综合治疗, 化疗能够在一定程度上缩小肿瘤体积、减慢胃癌的发展速度, 为患者争取更多的手术机会。但胃癌是各类恶性肿瘤中化疗敏感性较差的种类之一, 对化疗药物的多药耐药是引起化疗效果差的主要原因^[2]。

近年来针对胃癌耐药性的研究^[3]显示, 膜联蛋白 A2 基因(Annexin A2, ANXA2)在胃癌细胞中显现出异常表达, 推测其有可能与胃癌的耐药有关。该研究对胃癌细胞进行 ANXA2-siRNA 转染, 观察胃癌耐药细胞的药物敏感性变化以及细胞中信号通路激活状态的变化情况。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料 顺铂(DDP)购自山东德州制药厂; MTT 试剂盒购自美国 Solarbio 公司; Bcl2 多克隆抗体、AKT 多克隆抗体、p-AKT(磷酸化-AKT)多克隆抗体、P38 多克隆抗体以及 p-P38 多克隆抗体、羊抗兔二抗、羊抗鼠二抗均购自 Santa Cruz 公司; ANXA2-siRNA 及 PCR 引物合成自上海生物工程有限公司; SGC-7901/DDP 耐药细胞购自南京凯基生物技术有限公司; RNApure 超纯总 RNA 快速提取试剂盒购自北京 Biomed 公司; EasyScript First-Strand cDNA Synthesis SuperMix 试剂盒购自北京 TransGen Biotech 公司。3131 型 CO₂ 细胞培养箱购自美国 Thermo 公司; 凝胶成像仪 UV-254 购自美国基因公司; 紫外分光光度计购自美国 Bio-Rad Headquarters; 电泳仪、垂直电泳槽等购自北京六一仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 SGC-7901/DDP 耐药细胞接种于含有培养基的培养皿中, 培养基配比为 RPMI1640 培养液中加入 10% 的胎牛血清、100 U/ml 的青霉素和链霉素。当细胞生长至 90% ~ 100% 融合时, 吸去培养液后用 PBS 清洗 3 遍后加入 0.25% 的胰蛋白酶充分消化, 使细胞脱离培养皿, 丢弃消化液后加入培养基终止消化, 反复吹打形成细胞悬液后进行传代。选择无污染处于对数生长期的细胞用于实验。根据处理方法, 将细胞分为三组: 空白对照组、空白-siRNA 组、ANXA2-siRNA 组。

1.2.2 细胞转染 转染前将细胞培养基替换成不含胎牛血清和抗生素的 RPMI1640 培养液。将 siRNA 加入至 250 μ l 不含胎牛血清和抗生素的 RPMI1640 培养液中, 将 10 μ l 阳离子脂质体 Lipofectamine 2000TM 加入另一 250 μ l 不含胎牛血清和

2018-06-20 接收

基金项目: 广东省自筹经费类科技计划项目(编号: 2017ZC0265)

作者单位: 广州医科大学附属肿瘤医院胃肠肿瘤外科, 广州 510095

作者简介: 余南荣, 男, 副主任医师, 博士, 责任作者, E-mail: 78612717@qq.com

抗生素的 RPMI1640 培养液中静置 5 min 后将两者混合,室温下放置 20 min 后加入至各组细胞的培养基中 6 h 后再次更换培养液。

1.2.3 细胞总 RNA 提取及 RT-PCR 采用 TRIzol 一步法提取细胞总 RNA,按 1 ml/10 cm² 培养皿贴壁细胞加入 TRIzol 裂解液经氯仿抽提(每 1 ml TRIzol 加 0.2 ml)后,用 RNApure 超纯总 RNA 快速提取试剂盒提取细胞总 RNA。利用 EasyScript First-Strand cDNA Synthesis SuperMix 试剂盒,将总 RNA 逆转录为 cDNA。过程如下:取 5.0 μg 总 RNA,加入 1 μl Oligo(dT),2 × ES reaction mix 10 μl,EasyScript RT/RI enzyme mix 1 μl,补无核糖核酸酶游离水至 20 μl 42 °C 孵育 30 min,然后 85 °C 5 min 失活 EasyScript RT。分装后 -20 °C 保存。β-actin、GST、Bax 反应体系如下: Mix 10 μl,上游引物 0.5 μl,下游引物 0.5 μl, cDNA 1 μl,补 ddH₂O 至 20 μl。然后 95 °C 预变性 5 min,95 °C 变性 30 s,60 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,40 个循环,最后 72 °C 延伸 10 min。PCR 产物进行 1.5% 琼脂糖凝胶鉴定。引物序列参见表 1。重复 10 次,然后采用 Image J 软件进行灰度分析。

表 1 引物序列

基因	引物序列(5'-3')
β-actin	F: TTAGTTGCGTTACACCCCTTTC
	R: ACCTTCACCGTTCAGTT
GST	F: TGTGTGGAGAGCGTCAACC
	R: TGGATCCAGGTGTGCAGGT
Bax	F: TTTCTGACGCAACTTCAAC
	R: AGTCCAATGTCCAGCCCAT

1.2.4 细胞蛋白提取及 Western blot 分析 在每组直径 100 mm 平皿中,在生长良好的贴壁培养细胞中加入 200 ~ 300 μl 85 °C 的 1 × SDS 凝胶加样缓冲液(50 mmol/L Tris-Cl, pH 6.8; 100 mmol/L DTT; 2% SDS; 10% 甘油; 0.1% 溴酚蓝)裂解细胞,裂解样品经煮沸、超声、离心后,取上清液,紫外光谱检测定量, -20 °C 分装保存。将 50 μg 样品加入 1 × SDS 凝胶加样缓冲液,100 °C 变性 10 min,顺序加样,行 12% 的 SDS-PAGE 电泳。电泳结束后,经湿式电转

仪(Bio-Rad)恒流冰浴转膜,5% 脱脂牛奶 4 °C 封闭 1 h; 分别孵育一抗后,在 4 °C 过夜。加入羊抗鼠或羊抗兔二抗孵育 1 h,化学发光、显影、定影。观察杂交信号。重复 10 次,采用 Image J 软件进行灰度分析。

1.2.5 MTT 分析 将各组对数生长期的细胞消化制作成细胞悬液计数后,按照 1 × 10⁴ 个/孔的数量将 200 μl 细胞接种于 96 孔板内,每组设 6 个平行孔,培养 24 h 后,将培养孔内的培养基更换为含有不同浓度 DDP(0、2、4、8、10 μg/L)、5-氟尿嘧啶(5-FU)(0、2、4、8、10 μg/L)的培养基,再培养 48 h 后,每个培养孔内加入 20 μl MTT 继续培养 4 h 后弃上清液,每孔加入 150 μl DMSO 后室温下水平震荡 10 min 后采用酶标仪测定 490 nm 处每孔的吸光度,取平均值,测定每组细胞的半数抑制浓度(IC₅₀)值。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 22.0 软件进行分析处理,正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,三组间比较采用 One-way ANOVA 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 胃癌耐药细胞耐药相关基因表达 ANXA2-siRNA 转染 SGC7901/DDP 细胞后,无论在 RNA 水平还是蛋白水平上,耐药相关基因 GST 的表达水平显著降低,而 Bax 的表达水平明显上调,见图 1、2 和表 2、3。

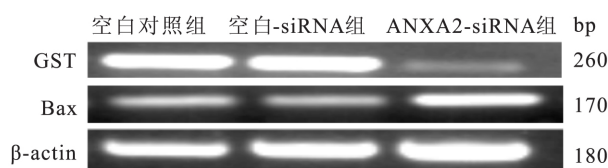


图 1 GST、Bax 在 RNA 水平的表达变化

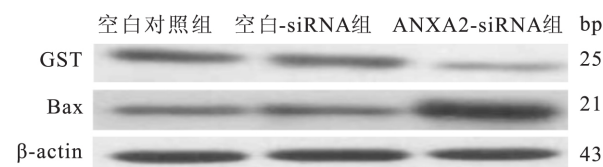


图 2 GST、Bax 在蛋白水平的表达变化

表 2 GST、Bax 在 RNA 水平的表达变化的灰度分析

项目	空白对照	空白-siRNA	ANXA2-siRNA	F 值	P 值
GST 灰度	201.16 ± 8.98	202.98 ± 7.47	91.98 ± 7.24	7.56	0.000
Bax 灰度	133.63 ± 6.16	132.03 ± 5.74	153.98 ± 9.67	14.82	0.001

表3 GST、Bax在蛋白水平的表达变化的灰度分析

项目	空白对照组	空白-siRNA组	ANXA2-siRNA组	F值	P值
GST 灰度	105.53 ± 7.44	103.99 ± 6.29	53.47 ± 7.06	7.16	0.000
Bax 灰度	110.13 ± 7.11	113.50 ± 6.73	135.64 ± 8.76	18.76	0.000

表4 MTT 药敏实验结果

项目	空白对照组	空白-siRNA组	ANXA2-siRNA组	F值	P值
DDP(μg/L)	5.96 ± 0.51	5.84 ± 0.49	1.11 ± 0.18	9.48	0.000
5-FU(μg/L)	4.12 ± 0.63	4.21 ± 0.57	0.93 ± 0.07	8.14	0.000

表5 MAPK 及 PI3K/Akt 信号通路激活变化的灰度分析

项目	空白对照组	空白-siRNA组	ANXA2-siRNA组	F值	P值
P38	65.25 ± 8.78	61.78 ± 7.62	69.11 ± 6.20	1.61	0.240
p-P38	170.41 ± 9.21	164.97 ± 7.54	83.77 ± 8.39	8.55	0.000
AKT	139.35 ± 9.62	136.07 ± 7.83	137.57 ± 8.66	0.18	0.837
p-AKT	148.22 ± 5.94	146.19 ± 8.68	120.06 ± 7.73	26.52	0.000

2.2 MTT 药敏实验 与空白对照组和空白-siRNA组细胞相比,ANXA2-siRNA 转染 SGC7901/DDP 细胞对化疗药物 DDP 和 5-FU 的 IC_{50} 值显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

2.3 ANXA2-siRNA 转染对 MAPK 及 PI3K/Akt 信号通路激活的影响 与空白对照组和空白-siRNA组细胞相比,ANXA2-siRNA 转染 SGC7901/DDP 细胞后,MAPK 信号通路中,P38 表达无明显变化,但 P38 磷酸化水平下降明显。在 PI3K/Akt 信号通路中,AKT 表达无明显变化,但 AKT 磷酸化水平下降明显。见图3、表5。

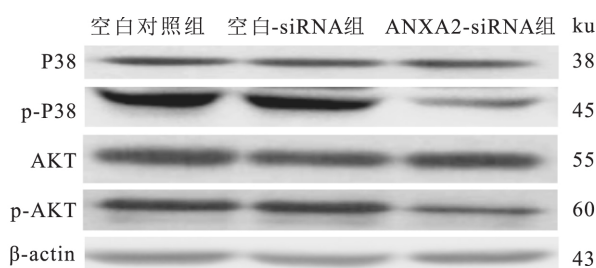


图3 MAPK 及 PI3K/Akt 信号通路激活变化

3 讨论

3.1 ANXA2-siRNA 转染对胃癌耐药细胞药物敏感性的影响 胃癌的发病率高,但早期诊断率低,患者就诊时往往已处于进展期胃癌,失去了手术机会,化疗成为主要的治疗手段。但胃癌细胞在化疗过程中对化疗药物的敏感性不同,甚至会产生耐药性,导致化疗的效果不佳^[4]。胃癌耐药细胞的出现是胃癌化疗中棘手的问题之一。促进胃癌耐药细胞对化疗药物的敏感性,降低耐药性,是目前研究的热点。

胃癌的耐药机制目前仍不明确,可能涉及多种耐药基因如 P-糖蛋白(P-gp)、谷胱甘肽转移酶

(GST)、拓扑异构酶 II (Topo-II) 等^[5-7]。GST 在生理状态下能够通过催化药物与谷胱甘肽的结合,参与药物的代谢,主要有碱性、中性、酸性三种类型。其中酸性 GST 在多种耐药肿瘤细胞中表达异常^[8]。目前认为 GST 能够使结合到谷胱甘肽上的化疗药物增加,从而使药物外流减少而降低了细胞毒性,在铂类、蒽环类药物的耐药性产生中发挥重要作用^[9]。Bax 是 Bcl-2 家族中主要的促细胞凋亡蛋白。细胞凋亡信号激活 Bax 后,Bax 从细胞质转移到线粒体膜上,使线粒体渗透性变化,影响细胞氧化还原作用,从而促进细胞的凋亡^[10]。本研究 ANXA2-siRNA 转染胃癌耐药细胞后显示,耐药基因 GST 的表达量明显下降,而促细胞凋亡基因 Bax 表达量升高,这说明胃癌细胞的耐药性发生改变。进一步采用 MTT 药敏实验法分析胃癌耐药细胞对一线化疗药物 DDP 和 5-FU 的敏感性,结果显示 ANXA2-siRNA 转染后,半数致死量药物浓度明显下降,细胞对 DDP 和 5-FU 的敏感性显著升高。有可能 ANXA2-siRNA 转染后,更多的化疗药物进入胃癌细胞内,从而提高了药物的杀伤能力。

本研究结果结合其他相关研究,推测 ANXA2 与胃癌的耐药性具有密切的关系,降低胃癌耐药细胞中 ANXA2 的表达,能够改善胃癌耐药的现状。ANXA2 与胃癌的关系密切,多项研究^[11-12]已经证实 ANXA2 在胃癌组织中异常高表达,甚至在胃癌的肿瘤分化、转移浸润中也起到重要作用。也许将 ANXA2 作为解决胃癌耐药性问题的切入点能够取得突破性进展。

3.2 ANXA2-siRNA 转染对胃癌耐药细胞信号通路激活的影响 细胞内存在多种信号通路,参与细胞的增殖、分化、凋亡等多种生理病理过程。

ANXA2 是一种膜联蛋白,能够与多种不同的磷脂蛋白结合,参与多个信号通路的激活或抑制,从而调节细胞的生长和凋亡。在鼻咽癌的研究中显示 ANXA2 能够调控上皮间充质细胞的转化,如果靶向下调 ANXA2 的表达能够降低鼻咽癌的发生和对化疗药物的耐药性^[13]。如前所述,在本研究中转染 ANXA2-siRNA,下调胃癌耐药细胞的 ANXA2 表达后,胃癌耐药细胞中的耐药相关基因表达量明显下降,促凋亡基因表达量明显升高,胃癌耐药细胞对化疗药物的敏感性大大提高。

本研究将 MAPK 及 PI3K/Akt 信号通路作为研究点,以探讨 ANXA2 影响胃癌细胞耐药的机制。MAPK 信号通路是丝裂原活化蛋白激酶通路,主要起到将细胞外信号转移至细胞核的作用,在信号通路中,多种蛋白激酶发生磷酸化而发挥信号传导的作用,其中 P38 及其磷酸化是非常关键的步骤^[14]。PI3K/Akt 信号通路在胃癌的发生、治疗中起着桥梁的连接作用,PI3K 在一系列上游信号的作用下,通过 AKT 等多种下游信号分子调节细胞的凋亡、对药物的敏感性等^[15]。将胃癌耐药细胞 SGC7901/DDP 进行 ANXA2-siRNA 转染后,MAPK 信号通路中虽然 P38 表达量无变化,但磷酸化的 P38 水平明显下降。同样在 PI3K/Akt 信号通路中,虽然 AKT 表达量无明显变化,但磷酸化的 AKT 表达明显下调,这说明 ANXA2-siRNA 转染后对 MAPK 及 PI3K/Akt 信号通路的激活具有一定的影响。因此,ANXA2 可能通过 MAPK 及 PI3K/Akt 信号通路改变胃癌耐药细胞的化疗药物敏感性。

综上,ANXA2-siRNA 转染胃癌耐药细胞能够下调胃癌耐药相关基因的表达,降低胃癌细胞的耐药性,其机制可能是通过影响 MAPK 及 PI3K/Akt 信号通路中 P38 和 AKT 磷酸化过程实现的。

参考文献

- [1] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2017[J]. *CA Cancer J Clin* 2017, 67(3): 177-93.
- [2] 吴长安,赵三鹏. 胃癌治疗新进展[J]. *中国中西医结合外科杂志* 2013, 19(6): 720-2.
- [3] 谢蕊,刘娇,吴日娜等. 慢病毒介导的 Annexin A2 基因沉默对胃癌 AGS 细胞基因表达谱的影响[J]. *现代肿瘤医学*, 2017, 25(3): 362-7.
- [4] Hamashima C. Current issues and future perspectives of gastric cancer screening [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(38): 13767-74.
- [5] 薛红霞. 谷胱甘肽 S-转移酶 P1 基因多态性与胃癌发展的相关性研究[J]. *中国医药导报*, 2013, 17(12): 46-51.
- [6] 陈丽燕,陈旭东. 胃癌组织中谷胱甘肽-S-转移酶 II 及拓扑异构酶 II 的表达及意义[J]. *实用临床医药杂志*, 2013, 3(3): 19-21.
- [7] Sauna Z E, Kim I W, Ambudkar S V, et al. Genomics and the mechanism of P-glycoprotein (ABCBI) [J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2007, 39(5-6): 481-7.
- [8] Wang W, Liu G, Zheng J, et al. Human renal UOK130 tumor cells: a drug resistant cell line with highly selective over-expression of glutathione transferase piisozyme [J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 568(1-3): 61-7.
- [9] Zhang D, Fan D. Multidrug resistance in gastric cancer: recent research advances and ongoing therapeutic challenges [J]. *Expert Rev Anticancer Ther* 2007, 7(10): 1369-78.
- [10] 顾文文,施韬,顾一骅. Bcl-2 与 IP3R 相互作用调控肿瘤细胞程序性死亡的研究进展[J]. *肿瘤* 2013, 08(3): 743-7.
- [11] 马洪喜,许颖,魏振彤等. 膜联蛋白-2 在胃癌患者胃黏膜组织中的表达及意义[J]. *中国老年学杂志* 2012, 32(18): 4010-1.
- [12] Leal M F, Calcagno D Q, Chung J. Deregulated expression of annexin-A2 and galectin-3 is associated with metastasis in gastric cancer patients[J]. *Clinical and experimental medicine*, 2015, 15(3): 415-20.
- [13] Chen C Y, Lin Y S, Chen C L. Targeting annexin A2 reduces tumorigenesis and therapeutic resistance of nasopharyngeal carcinoma[J]. *Oncotarget* 2015, 6(29): 26946-59.
- [14] 张志栋,李勇,赵群. 胃癌组织膜联蛋白 A2 表达与肿瘤转移及预后的关系[J]. *中华实验外科杂志* 2015, 32(10): 2542-5.
- [15] Sartelet H, Oligny L L, Vassal G. AKT pathway in neuroblastoma and its therapeutic implication [J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2008, 8(5): 757-69.

Effect and mechanism of ANXA2 - siRNA transfection on drug sensitivity of gastric cancer resistant cells

Yu Nanrong Zeng Xiang Xu Houwei et al

(Dept of Gastrointestinal Neoplasms, Cancer Center of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510095)

Abstract Objective To explore the effect of ANXA2-siRNA transfection on drug sensitivity and signaling pathway activation in gastric cancer resistant cells. **Methods** ANXA2-siRNA was used to transfect SGC-7901/DDP

网络出版时间: 2018-9-25 14:31 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20180921.1451.013.html>

中药消水方对 Lewis 肺癌小鼠恶性胸腔积液生成及水通道蛋白 1 表达的影响

王 兵¹, 颜琳琳², 关江锋¹, 胡作为¹, 王 珊¹, 侯 炜³

摘要 目的 探讨中药消水方对肺癌小鼠恶性胸腔积液及水通道蛋白 1(AQP1) 表达的影响。方法 将 45 只 C57BL/6 小鼠随机分为中药组、模型组、空白组。除空白组小鼠胸腔内注射 PBS 缓冲液外, 其余两组小鼠均采用带荧光标记的 Lewis 肺癌细胞胸腔注射建立动物模型。连续给药 10 d, 并在第 3、8、13 天时进行活体成像观察, 第 14 天处死取材, 抽取胸腔积液测量体积, 采用 Real-Time PCR、Western blot 法检测各组小鼠壁层胸膜 AQP1 mRNA 及蛋白表达水平。结果

中药组小鼠胸腔荧光强度明显低于模型组($P < 0.05$), 胸腔积液体积也明显小于模型组($P < 0.01$); 模型组小鼠壁层胸膜 AQP1 mRNA 及蛋白表达相比于空白组均显著升高($P < 0.01$); 而中药组相比于模型组能显著降低壁层胸膜 AQP1 mRNA 及蛋白表达水平($P < 0.01$)。结论 肺癌恶性胸腔积液小鼠胸膜存在 AQP1 表达的上调, 中药消水方可能通过下调壁层胸膜间皮细胞 AQP1 mRNA 及蛋白表达, 从而促进

恶性胸腔积液的转运, 减少恶性胸腔积液的生成。

关键词 肺癌; 恶性胸腔积液; 消水方; 水通道蛋白 1; 活体成像

中图分类号 R 259; R 561.3

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2018)11-1715-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.11.013

恶性胸腔积液(malignant pleural effusion, MPE)是肺癌常见的并发症之一^[1]。可导致患者胸闷、气促、咳嗽、胸痛、呼吸困难, 影响心肺功能, 加快肿瘤扩散, 严重时危及生命。据统计肺腺癌 MPE 患者的中位总生存期仅为 14.3~21.4 个月^[2]。临床上恶性肿瘤一旦合并胸腔积液, 就意味着病变已局部或全身扩散, 预后极差, 是手术不能治愈的晚期疾病标志, 此时治疗的主要目的是有效地控制胸腔积液, 缓解临床症状, 提高生活质量, 延长生存期。中医药以其独特的优势, 在 MPE 的治疗中逐渐发挥了重要作用。近年来许多学者进行了大量中医药治疗 MPE 的临床研究^[3-4], 表明中医药在治疗 MPE 方面确实具有一定优势, 但是有关作用机制研究却较少开展。

中药消水方是中国中医科学院广安门医院肿瘤科沿用多年的经验方, 前期临床研究显示中药消水方口服联合顺铂胸腔灌注治疗 MPE 65 例, 有效率

2018-06-15 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81241119)

作者单位: ¹ 华中科技大学同济医学院附属中西医结合医院(武汉市第一医院) 肿瘤科, 武汉 430022

² 武汉科技大学附属汉阳医院肿瘤科, 武汉 430050

³ 中国中医科学院广安门医院肿瘤科, 北京 100053

作者简介: 王 兵, 男, 硕士, 医师;

侯 炜, 男, 教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: houwei1964@sohu.com

gastric cancer drug-resistant cells. RT-PCR and Western blot were used to detect the expression of GST and Bax in drug-resistant gastric cancer cells. The chemotherapeutic drug sensitivity was detected in gastric cancer cells by MTT susceptibility test. Western blot was used to detect the changes of P38, P38 phosphorylation, AKT and AKT phosphorylation level after ANXA2-siRNA transfection in SGC-7901/DDP gastric cancer drug-resistant cells. **Results** After transfection of SGC7901/DDP cells with ANXA2-siRNA, the expression level of GST was significantly decreased at both RNA level and protein level, while the expression level of Bax was upregulated. Compared with blank control group and blank-siRNA group, ANXA2-siRNA transfected SGC7901/DDP cells significantly decreased the IC_{50} value of chemotherapeutic drugs DDP and 5-FU, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Compared with blank control group and blank-siRNA group, ANXA2-siRNA transfected SGC7901/DDP cells did not change significantly in MAPK signaling pathway, but P38 phosphorylation level decreased significantly. **Conclusion** ANXA2-siRNA transfected gastric cancer drug-resistant cells can down regulate the expression of drug resistance related genes, and reduce the drug resistance of gastric cancer cells. It may be achieved by influencing the phosphorylation of P38 and AKT in MAPK and PI3K/Akt signaling pathways.

Key words ANXA2; transfection; gastric cancer; drug-resistant cells; drug sensitivity; signal pathway