

网络出版时间: 2017-5-20 11:13 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20170520.1113.001.html>

◇基础医学研究◇

乳铁蛋白抗菌肽抑制胃癌细胞增殖诱导其凋亡的体外研究

杨雪¹, 石皖荣^{2*}, 杨伟杰³, 何 韬³, 胡阳生³, 王珊珊³, 韦文美^{1,4}, 秦宜德¹

摘要 目的 探讨乳铁蛋白抗菌肽(LfcinB)对人胃癌细胞株 MGC803 细胞增殖和细胞凋亡的影响。方法 用 CCK-8 法测定不同浓度 LfcinB 对胃癌细胞株 MGC803 24、48 和 72 h 细胞增殖影响。用流式细胞术检测胃癌 MGC803 细胞凋亡的变化。用 RT-PCR 检测凋亡相关基因 *bcl-2*、*bax* 和 *caspase-3* mRNA 的变化情况。用 Western blot 检测 MGC803 细胞中的 Bcl-2、Bax 和 Caspase-3 蛋白表达。结果 LfcinB 对胃癌细胞株 MGC803 的增殖具有抑制作用,促进胃癌细胞株 MGC803 细胞凋亡,并且具有时间和剂量依赖性 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); LfcinB 能显著抑制胃癌细胞株 MGC803 *bcl-2* mRNA 表达,同时促进 *bax* 和 *caspase-3* mRNA 表达,并且随着 LfcinB 浓度的增高相关基因下降或上升越明显 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); Western blot 结果也显示, LfcinB 能抑制 Bcl-2 蛋白表达,促进 Caspase-3 和 Bax 蛋白表达,其变化规律与 mRNA 相同 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论 LfcinB 通过调控相关基因,抑制胃癌细胞 MGC803 增殖,并诱导其细胞凋亡。

关键词 LfcinB; MGC803; 增殖; 凋亡

中图分类号 R 735.2; R 341.1; R 349.5

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)06-0781-06

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.06.001

胃癌是导致人类死亡最常见的原因之一,特别是在亚洲地区。目前,胃癌主要的治疗方法是手术和化疗,早期确诊后患者 5 年生存率约为 30%^[1]。因此需要一种能改善患者预后的治疗方法。

2017-01-13 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81472448);国家级大学生创新训练项目(编号:201510366035);安徽医科大学校基金项目(编号:2015xkj048)

作者单位:¹安徽医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室,合肥 230032

²安徽医科大学第四附属医院急诊科,合肥 230022

³安徽医科大学药学院,合肥 230032

⁴安徽医科大学基础医学院化学教研室,合肥 230032

作者简介:杨雪,女,硕士研究生;

韦文美,女,博士,教授,硕士生导师,责任作者, E-mail: cherrywwm@ustc.edu;

秦宜德,男,博士,教授,硕士生导师,责任作者, E-mail: yideqin@ahmu.edu.cn

* 对本文具有同等贡献

抗菌肽不仅对革兰阳性菌、革兰阴性菌等病原体具有杀伤作用,还在增加免疫细胞数量、增强机体先天免疫、加快伤口愈合以及抗肿瘤等许多方面发挥着重要作用^[2]。牛乳铁蛋白抗菌肽(bovine lactoferricin, LfcinB)是由牛乳铁蛋白降解分离得到的生物活性肽,含有 25 个氨基酸残基(f17-41),分子量为 3 126^[3]。LfcinB 具有广泛的生物学活性,其中包括广谱抗菌作用^[4]、抗病毒^[5]、抑制肿瘤细胞生长及调节机体免疫反应等^[6]。实验室前期研究^[7]显示 LfcinB 能显著抑制人肺癌 A549 细胞增殖和诱导其凋亡。该研究观察 LfcinB 对人胃癌细胞株 MGC803 的影响,探讨其抗胃癌细胞的作用及机制,为开发胃癌治疗的新辅助药物和辅助治疗手段提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 人胃癌细胞株 MGC803 由安徽医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室保存。LfcinB 由上海楚肽生物科技有限公司合成(纯度 > 98%);引物由上海生工生物工程有限公司合成;顺铂注射液 [cis-Dichlorodiamineplatinum (II), DDP] 购于江苏豪森药业公司;DMEM 培养基购于美国 Gibco 公司;胎牛血清购于杭州四季青公司;胰酶、CCK-8 试剂和细胞周期试剂盒购于杭州碧云天公司;细胞凋亡试剂盒购于上海贝博公司;TRIzol 购于美国 Life 公司;RT-PCR 试剂盒购于美国 Thermo 公司;Taq 酶及 DNA Marker 购于日本 Takara 公司;Bax、Bcl-2 兔单克隆抗体购于美国 Abcam 公司;Caspase-3 购于武汉博士德公司; β -actin 鼠单克隆抗体以及辣根酶标记山羊抗兔 IgG、辣根酶标记山羊抗鼠 IgG2a 二抗购于北京中杉金桥生物技术有限公司;4 × 蛋白上样缓冲液购于北京 Solarbio 公司。

1.2 主要仪器 CO₂ 培养箱、酶标仪、ST 16R 台式超速冷冻离心机(美国 Thermo 公司);XDS-1B 倒置显微镜(重庆 COIC 公司);TDL-40B 离心机(上海安亭科学仪器厂);Gel DocTM gel documentation system

(美国 Bio-Rad 公司); EPICSR XL-MCL TMADC 流式细胞仪(美国 Beckman 公司)。

1.3 方法

1.3.1 药物配置 LfcinB 分装每支 1 mg, 使用前 1 000 r/min 离心 5 min 后无菌条件下溶于 1 ml PBS 配置成 1 mg/ml 储存液, 用 0.22 μm 小滤器过滤后 -20°C 保存备用, 实验时用培养基稀释成相应浓度。DDP 原浓度为 5 mg/ml, 用 1 ml 无菌注射器抽取分装到 5 ml EP 管中, 用微量移液器从 EP 管中吸取 10 μl DDP 加入 9.9 ml 不含血清的培养基中稀释成浓度为 5×10^{-3} mg/ml, 随后配成 1×10^{-3} mg/ml。剩余部分置 -20°C 备用。

1.3.2 细胞培养 将人胃癌 MGC803 细胞株复苏后培养在含 10% 胎牛血清、100 U/L 青霉素、100 mg/L 链霉素的 DMEM 低糖培养液中, 在 37°C 、5% CO_2 细胞培养箱中进行培养。当细胞密度为 80%~90% 时用 0.4% 胰酶(含 0.2 g EDTA)消化传代, 取对数生长期细胞进行实验。设阴性对照组: 加不含药物的等量 DMEM 培养液; LfcinB 处理组: 根据实验要求给予 10^{-6} ~ 10^{-2} mg/ml LfcinB; DDP 组: 加 10^{-3} mg/ml 的 DDP。

1.3.3 CCK-8 法检测 LfcinB 对胃癌 MGC803 细胞增殖的影响 取对数生长期细胞, 用 4% 胰蛋白酶消化后制成细胞悬液, 显微镜下计数后调整细胞浓度至 4 000 个/ml 接种至 96 孔板, 每孔 100 μl , 37°C 、5% CO_2 条件下培养过夜, 待细胞大部分贴壁后弃去培养液, 每孔加入不同浓度的 LfcinB, 以 DDP 做阳性对照, 阴性对照组加入等体积培养液, 每组设置 5 个复孔, 继续培养 24、48、72 h。吸弃旧液, 每孔加入 10 μl CCK-8 溶液和 90 μl 未加药物培养液继续在培养箱内孵育 1~4 h。用酶联免疫检测仪在 450 nm 处测定各孔吸光度(optical density, OD) 值。实验重复 3 次。根据各组中各孔 OD 平均值, 按以下公式计算细胞增殖抑制率: 抑制率(%) = $(1 - \text{OD}_{\text{实验组}} / \text{OD}_{\text{阴性对照组}}) \times 100\%$ 。

1.3.4 Annexin V/PI 双染检测 MGC803 细胞凋亡 取对数生长期细胞, 胰酶消化, 重悬后显微镜下计数, 按每孔 1×10^6 个/ml 接种于 6 孔板中, 37°C 、5% CO_2 培养过夜, 待细胞贴壁后分别加入 10^{-2} 、 10^{-4} 、 10^{-6} mg/ml LfcinB, 每孔 2 ml, 阴性对照组加入等体积培养液, DDP 组加入 10^{-3} mg/ml DDP。继续孵育 24、48、72 h 后, 用不含 EDTA 的胰酶消化细胞后用预冷的 PBS 洗涤 2 次, 尽可能吸尽 PBS。每管加入 300 μl Binding Buffer 和 4 μl Annexin V-FITC

悬浮细胞 4°C 避光孵育 15 min 后加入 7.5 μl PI $2 \sim 8^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 5 min 后立即在流式细胞仪上进行检测, 结果用 FlowJo7.6.1 软件进行分析。

1.3.5 RT-PCR 检测 bax、bcl-2 以及 caspase-3 mRNA 水平变化 培养胃癌 MGC803 细胞长至约 80% 时, 用不同浓度 LfcinB 处理细胞, 并设置阴性对照。用药 48 h 后收集细胞, 先用 TRIzol 法提取总 RNA, 然后逆转录合成 cDNA, 最后再进行 PCR 扩增。实验所需的 PCR 目的基因引物及内参均由上海生工生物技术工程有限公司合成。PCR 反应条件: 94°C 5 min 94°C 30 s 55°C 退火 30 s 72°C 30 s。72 $^{\circ}\text{C}$ 再延伸 10 min 4°C 正无穷。目的基因与内参均扩增 32 个循环。PCR 产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分离, 结果用 Gel Documentation System 拍照分析。

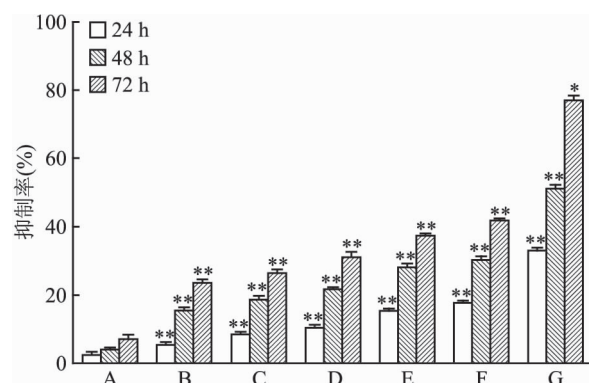


图1 LfcinB 不同时间段对 MGC803 细胞增殖的影响

A: 阴性对照组; B~F: 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} 、 10^{-3} 、 10^{-2} mg/ml LfcinB; G: DDP 组; 与阴性对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

1.3.6 Western blot 法检测胃癌 MGC803 细胞的 Bax、Bcl-2 以及 Caspase-3 蛋白表达的变化 培养 MGC803 细胞于 25 cm^2 培养瓶中, 加入不同浓度的 LfcinB 处理 48 h, 收集 1×10^6 个细胞。用预冷 PBS 洗涤细胞 2 次, 加入 200 μl 预冷(RIPA + PMSF)蛋白裂解液, 冰上裂解 30 min, 每 10 min 剧烈震荡 1 次, 使细胞充分裂解, 收集裂解液于离心管中 4°C 、12 000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 采用 BCA 法测定蛋白浓度。首先取 40 μg 总蛋白的裂解上清液进行 12% SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳。电泳结束后 180 mA 电流电转 2 h 至 PVDF 膜上, 用 5% 脱脂奶粉摇床上室温封闭 2 h, TBST 洗 3 次, TBS 洗 1 次, 每次 10 min。然后分别与 β -actin、Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 一抗(1:1 000) 4°C 孵育过夜。次日 TBS/T 洗膜充分后加入辣根酶标记的山羊抗兔 IgG 二抗(1:10 000)和山羊抗鼠 IgG2a 二抗(1:7 000),

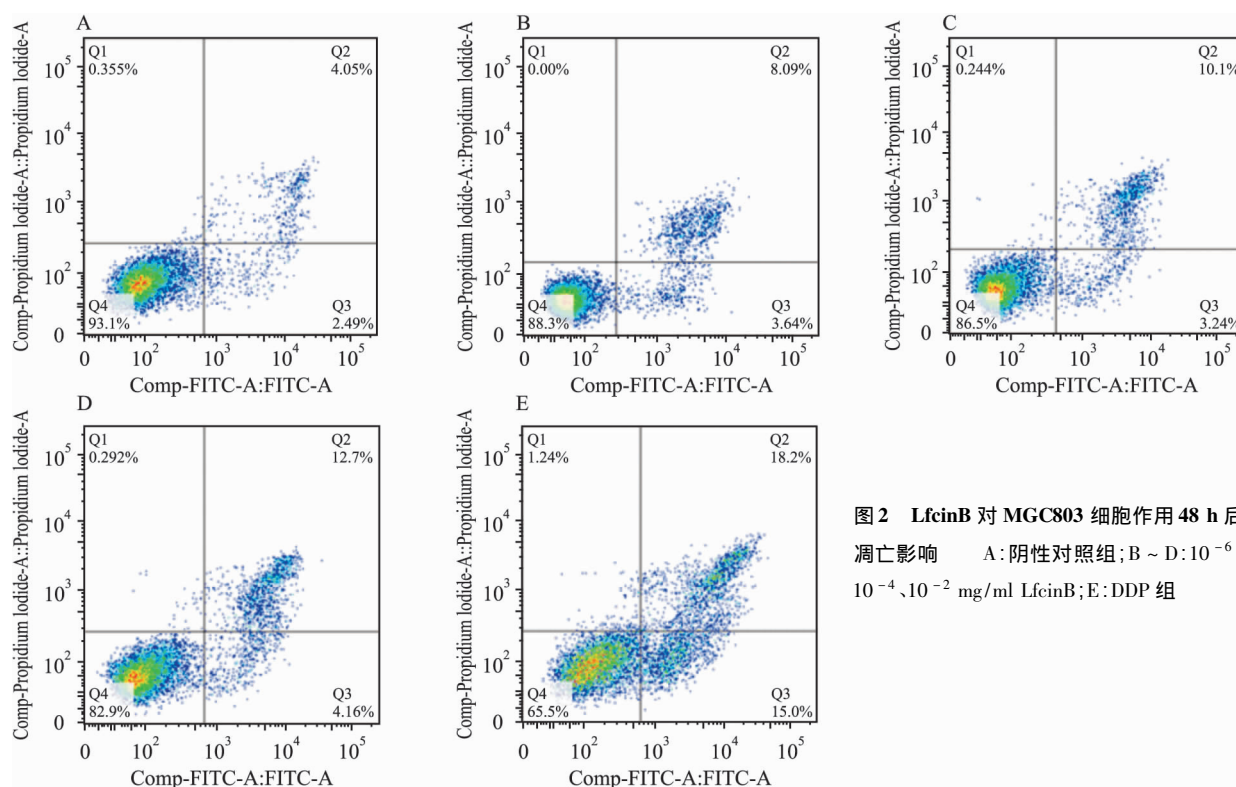


图2 LfcinB对MGC803细胞作用48 h后凋亡影响 A: 阴性对照组; B~D: 10^{-6} 、 10^{-4} 、 10^{-2} mg/ml LfcinB; E: DDP组

室温摇床振荡2 h。样品在 Gel DocTM gel documentation system 凝胶成像仪上用超敏 ECL 化学发光试剂盒曝光 2~4 min 后显影,并拍摄图片。结果用 Quantity One 软件检测条带灰度值,进行定量分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 16.0 统计软件进行分析,计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,并用 GraphPad Prism 5 软件绘图。各组间比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA),所有实验均重复 3 次。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 LfcinB 抑制 MGC803 细胞的增殖 $10^{-6} \sim 10^{-2}$ mg/ml 的 LfcinB 作用于胃癌 MGC803 细胞 24 h 时对细胞增殖影响不明显,最高抑制率为 $(17.993 \pm 0.486)\%$ 。但 48 h 后,与阴性对照组比较,对其增殖有明显的抑制作用,最高抑制率为 $(30.617 \pm 0.717)\%$,在 72 h 时,抑制率同浓度下能达到 $(42.060 \pm 0.724)\%$,同条件下 DDP 组抑制率则达到 $(76.987 \pm 1.540)\%$,表明作用时间越长,浓度越大,抑制作用越强,呈现时间、剂量依赖效应关系 ($F = 881.736, 854.976, 1074.011, P < 0.01$)。见图 1。

2.2 LfcinB 促进 MGC803 细胞凋亡 由图 2、3 可知 10^{-6} 、 10^{-4} 、 10^{-2} mg/ml LfcinB 与阴性对照组比较,在 24 h 已能促进细胞凋亡,但效果不明显,其

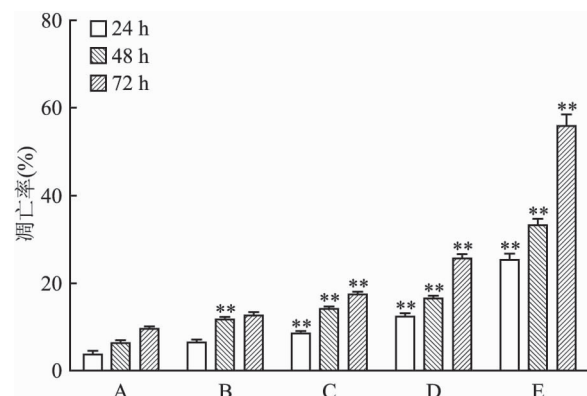


图3 24、48、72 h 3 个时间段凋亡率变化

A: 阴性对照组; B~D: 10^{-6} 、 10^{-4} 、 10^{-2} mg/ml LfcinB; E: DDP 组 10^{-3} mg/ml DDP; 与阴性对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

中 24 h 以早期凋亡为主,48 h 后开始出现晚期凋亡,72 h 总凋亡率最高可达到 $(25.777 \pm 1.743)\%$,DDP 组则主要作用于凋亡早期。这些都进一步表明 Lfcin-B 各处理组与阴性对照组比较差异有显著性 ($F = 98.161, 162.820, 187.595, P < 0.05$),并对胃癌 MGC803 作用有明显的时间浓度依赖性趋向。

2.3 LfcinB 对 MGC803 细胞相应 mRNA 的水平影响 由图 4 显示,药物刺激 48 h 后, caspase-3 和 bax mRNA 表达量随药物浓度升高而升高, bcl-2 随浓度升高 mRNA 表达量下降,其中 10^{-3} 、 10^{-2} mg/ml LfcinB 组表达最为明显,但 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} mg/ml

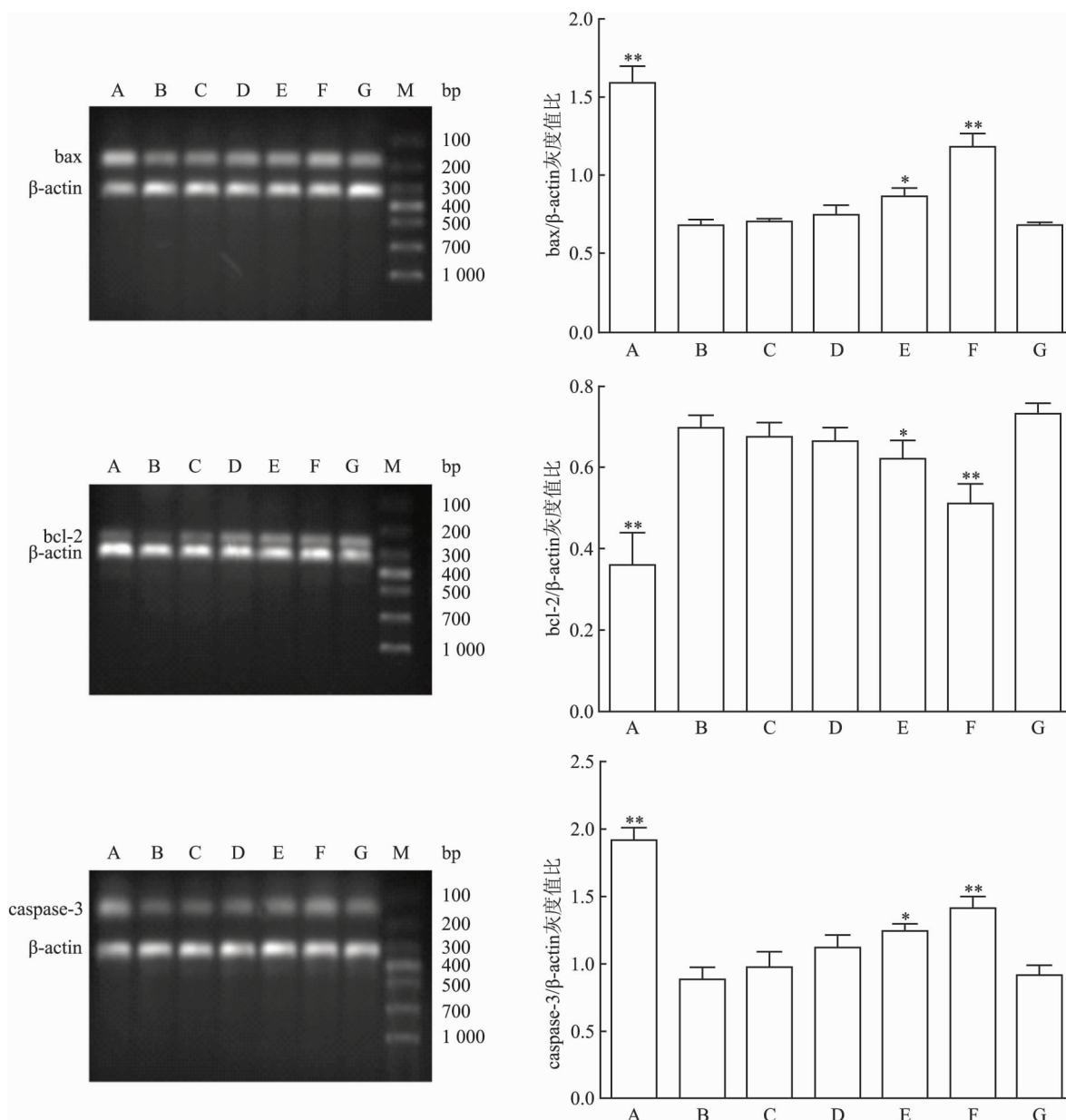


图4 LfcinB作用MGC803细胞48 h后 bax、bcl-2 和 caspase-3 mRNA 表达结果

A: DDP 组; B ~ F: 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} 、 10^{-3} 、 10^{-2} mg/ml LfcinB; G: 阴性对照组; M: Marker; 与阴性对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

LfcinB 与阴性对照组比较差异无统计学意义,说明 LfcinB 在一定范围内浓度越高,表达量越高,且与阴性对照组比较差异有统计学意义 ($F = 17.392$ 、 30.959 、 23.645 , $P < 0.05$, $P < 0.01$)。

2.4 LfcinB 对 MGC803 细胞相应蛋白表达的影响

图5显示,药物刺激48 h后,Caspase-3 和 Bax 蛋白表达量随浓度升高而升高,Bcl-2 蛋白则随浓度升高表达量下降, 10^{-3} 、 10^{-2} mg/ml LfcinB 组表达最为明显,与阴性对照组比较呈浓度依赖性趋向 ($F = 85.376$ 、 36.356 、 24.694 , $P < 0.05$, $P < 0.01$)。由此可见 LfcinB 通过上调 Caspase、Bax,下调 Bcl-2 蛋白

的表达而抑制癌细胞生长。

3 讨论

牛乳铁蛋白是许多潜在生物活性物质的前体,通过酶解牛乳铁蛋白可生成许多具有生物学功能的小肽,即 LfcinB。研究^[8]显示 LfcinB 在牛乳铁蛋白分子中的空间构象呈 α -螺旋结构,当解离下来后 α -螺旋结构消失,转变为扭曲的反向平行的以 β -折叠为主的两亲性空间构象。其中几乎所有的亲水性基团均排在 LfcinB β -折叠的一侧,而另一侧则聚集了大部分的疏水性基团。这种结构上的改变是其发挥

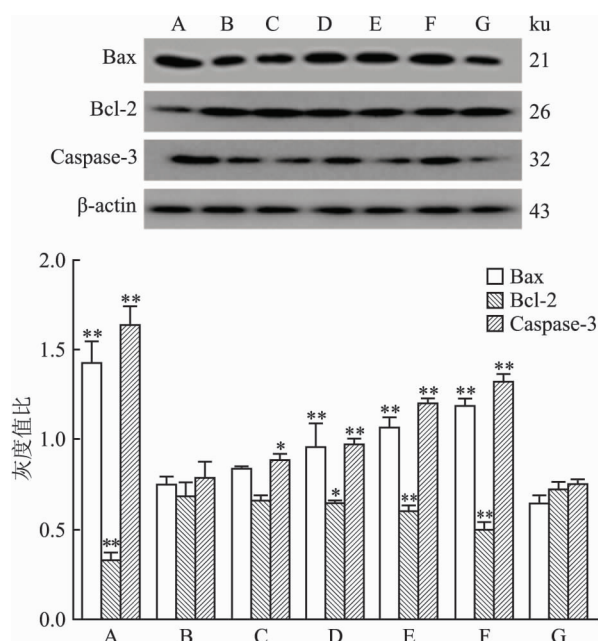


图5 LfcinB作用MGC803细胞48 h后Bax、Bcl-2和Caspase-3蛋白表达结果

A: DDP组; B~F: 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} 、 10^{-3} 、 10^{-2} mg/ml LfcinB;

G: 阴性对照组; 与阴性对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

生物学活性所必需的分子基础,含有 β -折叠结构的肽要比含有 α -螺旋结构的肽的生物学活性强,更容易穿透细胞膜,最后细胞溶解,导致细胞死亡。近年来,对LfcinB的关注越发热烈,不仅因为它的广泛生物学效应,更是因为它与临床化疗药物比较,毒副作用小,容易获得及大量生产。本实验室前期实验证明,LfcinB-PGPIP_N乳源融合肽ACFP能抑制人卵巢癌原代细胞与SKOV3细胞株的生长,调控凋亡基因来促进细胞凋亡达到抗癌效果,并且与临床化疗药物DDP比较毒副作用明显降低^[9]。国内有报道LfcinB25通过抑制后期细胞自噬作用来诱导人胃癌细胞株AGS的细胞凋亡^[1]。国外研究者发现LfcinB衍生肽能通过阻断血管紧张素受体AT1来选择性地抑制血管紧张素II诱导的血管收缩作用,从而产生抗高血压作用^[10]。LfcinB20-25作为乳蛋白衍生肽,具有多功能的特性,既能发挥抗微生物作用也具有降压功能。这与体内水解衍生的二肽F1结构有关^[11]。牛乳铁蛋白的良好生物学活性、作用广泛性及其积极的临床意义,逐渐成为一个新的研究热点。

Bcl-2是细胞死亡的负调控因子,在细胞凋亡过程中能起到重要的调节功能。它主要定位在核膜的胞质面、线粒体及内质网外膜上,包括促凋亡(如Bax)和抗凋亡(如Bcl-2)两大类家族。Bax和Bcl-2

通常成比例存在,Bax表达上调的同时,能够拮抗Bcl-2的抑凋亡效应。细胞中当Bax/Bcl-2比例上升时,伴随着线粒体膜电位也发生变化,从而能够增加线粒体膜通透性,使操纵细胞凋亡的启动因子(如细胞色素C)从线粒体内释放出来激活Caspase-3,最终诱导细胞发生凋亡^[12]。本研究结果表明LfcinB在一定浓度范围内能够抑制细胞增殖,浓度过小时($10^{-6} \sim 10^{-4}$ mg/ml) mRNA和蛋白表达量很低,与阴性对照组比较差异无统计学意义。其抗癌活性可能与诱导细胞凋亡有关,凋亡机制可能是药物处理后导致MGC803细胞内活性氧的含量升高,Bax/Bcl-2比例随即上升,从而使线粒体膜电位下降,增加线粒体膜的通透性,促进细胞色素C从线粒体释放并激活Caspase-3,进而诱导了细胞凋亡。

综上所述,LfcinB可能通过线粒体内途径的某种机制或细胞转导通路来诱导MGC803细胞凋亡,具体机制尚不明确,有待后续研究。这也为体外实验提供可行性依据,为进一步开发LfcinB成为新型抗肿瘤药物奠定了理论基础。

参考文献

- [1] Pan W R, Chen P W, Chen Y L, et al. Bovine lactoferricin B induces apoptosis of human gastric cancer cell line AGS by inhibition of autophagy at a late stage [J]. J Dairy Sci, 2013, 96(12): 7511-20.
- [2] 方超, 张晓巩, 周颖, 等. 抗菌肽开发与应用的研究进展 [J]. 中国抗生素杂志, 2010, 35(11): 809-14.
- [3] Bellamy W, Takase M, Yamauchi K, et al. Identification of the bactericidal domain of lactoferrin [J]. Biochim Biophys Acta, 1992, 1121(1-2): 130-6.
- [4] 唐传核, 曹劲松, 彭志英. 乳铁蛋白最新研究进展—活性多肽以及生理功能(II) [J]. 中国乳品工业, 2000, 28(5): 44-7.
- [5] Anderson J H, Jenssen H, Gutteberg T J, et al. Lactoferrin and lactoferricin inhibit Herpes simplex 1 and 2 infection and exhibit synergy when combined with acyclovir [J]. Antiviral Res, 2003, 58(3): 209-15.
- [6] Yoo Y C, Watanabe R, Koike Y, et al. Apoptosis in human leukemic cells induced by lactoferricin, a bovine milk protein-derived peptide: involvement of reactive oxygen species [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1997, 237(3): 624-8.
- [7] 石皖荣, 邓松华, 秦宜德, 等. 牛乳铁蛋白抗菌肽抗肺癌细胞增殖及其作用机制研究 [J]. 安徽医科大学学报, 2013, 48(8): 877-81.
- [8] Strom M B, Haug B E, Rekdal O, et al. Important structural features of 15-residue lactoferricin derivatives and methods for improvements of antimicrobial activity [J]. Biochem, 2002, 80(1): 65-74.

(下转第790页)

10, 30, 100, 300, 1 000, 3 000 mmol/L could relax the cerebral basilar artery in SHR and WKY rats; ② Compared with 14- and 40-weeks old WKY, after applying 1 000–3 000 mmol/L NaHS, the effect of NaHS-induced vasodilator was greater in age-matched SHR ($P < 0.05$); ③ Compared with 14 weeks of SHR, NaHS-induced vasodilator effect in cerebral basilar artery of 40-weeks old SHR was less obvious ($P < 0.05$). **Conclusion** Cerebral basilar artery of SHR exhibits enhanced sensitivity to H_2S induced vasodilatation during early stage of hypertension, however, pathological development of hypertension and serious injury in vascular function may lead to reduce H_2S sensitivity in cerebral basilar artery of SHR.

Key words spontaneously hypertensive rats; cerebral basilar artery; hydrogen sulfide; pressure myograph system

(上接第 785 页)

- [9] Zhou J, Zhao M, Tang Y, et al. The milk-derived fusion peptide, ACFP, suppresses the growth of primary human ovarian cancer cells by regulating apoptotic gene expression and signaling pathways[J]. *BMC Cancer* 2016, 16:246.
- [10] Fernández-Musoles R, Castelló-Ruiz M, Arce C, et al. Antihypertensive mechanism of lactoferrin-derived peptides: angiotensin receptor blocking effect[J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(1):173–81.
- [11] Ruiz-Giménez P, Ibáñez A, Salom J B, et al. Antihypertensive properties of lactoferricin B-derived peptides[J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(11):6721–7.
- [12] Du L, Mei H F, Yin X, et al. Delayed growth of glioma by a polysaccharide from *Aster tataricus* involve upregulation of Bax/Bcl-2 ratio, activation of caspase-3/8/9, and downregulation of the Akt[J]. *Tumour Biol* 2014, 35(3):1819–25.

Lactoferrin peptides inhibit the proliferation of gastric cancer cells and induce apoptosis *in vitro*

Yang Xue¹, Shi Wanrong², Yang Weijie³, et al

(¹Dept of Biochemistry and Molecular Biology, Anhui Medical University, Hefei 230032;

²Dept of Emergency, The Fourth Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022;

³School of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To explore the effect of the lactoferrin peptides (LfcinB) on human gastric cancer MGC803 cells proliferation and apoptosis. **Methods** The proliferation of MGC803 cells at different concentrations of LfcinB were evaluated by CCK-8 assay for 24, 48 and 72 h, respectively. Flow cytometry (FCM) was performed to detect the effect of LfcinB on MGC803 cells apoptosis. The expression of apoptotic-specific genes such as bcl-2, bax and caspase-3 was assessed by RT-PCR and Western blot analysis. **Results** LfcinB obviously inhibited the proliferation and promoted apoptosis of gastric cancer MGC803 cells ($P < 0.05$, $P < 0.01$) with a time- and dose-dependent manner. LfcinB could markedly inhibit MGC803 cells bcl-2 gene mRNA expression, while promoting bax and caspase-3 mRNA expression, and with the increase of concentration LfcinB that related genes decreased or increased more significantly ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Western blot also showed that LfcinB inhibited Bcl-2 protein expression and promoted Caspase-3, Bax protein expression, in line with mRNA results ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** LfcinB can efficiently inhibit proliferation and induce apoptosis of human gastric cancer MGC803 cells through altering the expression of bcl-2, bax and caspase-3 genes.

Key words LfcinB; MGC803; proliferation; apoptosis