

# PDSW 联合热疗对胃癌细胞和组织中 COX-2、Bcl-2 表达的影响

唐辉蓉<sup>1</sup> 崔进<sup>1</sup> 张家骅<sup>1</sup> 代佑果<sup>2</sup> 李为明<sup>1</sup> 廖陈<sup>1</sup>

(1. 昆明医科大学第二附属医院, 昆明 650101; 2. 昆明医科大学第三附属医院, 昆明 650101)

**摘要:** 旨在探讨生理性深层海水 (PDSW) 联合热疗对人胃癌 SGC-7901 细胞和组织中 COX-2 和 Bcl-2 表达的影响, 明确其在人胃癌 SGC-7901 体外和体内的抗癌作用。通过在体外培养人胃癌 SGC-7901 细胞株, 随机分为实验组、对照组和空白组, 实验组加 PDSW, 对照组加生理盐水, 空白组不做其他处理, 分别在 37℃、40℃ 和 43℃ 热疗温度下培养。同时, 将 SGC-7901 细胞注射至裸鼠皮下, 建立移植瘤模型, 随机分为 5 组, 至肿瘤长至直径为 1 cm 时, 分别进行 H<sub>2</sub>O+RT、H<sub>2</sub>O +40℃、H<sub>2</sub>O +43℃、PDSW+40℃、PDSW+43℃ 处理, 用实时荧光定量 PCR 检测细胞和组织中 COX-2 和 Bcl-2 基因表达情况, Western blot 检测 COX-2 和 Bcl-2 蛋白的表达情况。结果显示, 在 SGC-7901 细胞中和裸鼠皮下移植瘤的组织中, 热疗均能降低 COX-2、Bcl-2 基因及蛋白的表达, 同时, 与生理盐水组相比, PDSW 联合热疗处理下, 细胞和组织中 COX-2、Bcl-2 表达量显著下降。PDSW 联合热疗能抑制胃癌 SGC-7901 细胞中 COX-2、Bcl-2 基因和蛋白的表达, 从而有效抑制胃癌细胞的增殖。

**关键词:** PDSW; 热疗; SGC-7901; COX-2; Bcl-2; qRT-PCR; Western blot

DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2016-0691

## Effects of PDSW Combined with Hyperthermia on COX-2 and Bcl-2 Expressions in Gastric Cancer Cells and Tissues

TANG Hui-rong<sup>1</sup> CUI Jin<sup>1</sup> ZHANG Jia-hua<sup>1</sup> DAI You-guo<sup>2</sup> LI Wei-ming<sup>1</sup> LIAO Chen<sup>1</sup>

(1. Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101; 2. Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101)

**Abstract:** This work aims to explore the effect of PDSW combined with hyperthermia on COX-2 and Bcl-2 expressions in gastric cancer cells SGC-7901 and tissues, and to clarify its anti-cancer effects on gastric cancer cells SGC-7901 *in vitro* and *in vivo*. The SGC-7901 cells were cultured *in vitro* and then were randomly divided into experimental, control and blank groups; the experimental group was added with PDSW, control group was given with normal saline, blank group was in no other treatment, and each group were cultured under 37℃, 40℃ and 43℃ respectively. Concurrently, the SGC-7901 cells were injected into the nude mice subcutaneous to establish the transplantation tumor model. The injected mice were randomly divided into 5 groups, and then given the treatment with H<sub>2</sub>O+RT, H<sub>2</sub>O +40℃, H<sub>2</sub>O +43℃, PDSW+40℃, and PDSW+43℃ respectively when the tumor cells grew to 1 cm diameter. qRT-PCR and Western blot were used to detect the mRNA of gene COX-2 and Bcl-2 and the protein expression of COX-2 and Bcl-2 in the cells and tissues. As results, in SGC-7901 cells and nude mice subcutaneous transplantation tumor tissues, the expressions of gene COX-2 and Bcl-2 mRNA and their protein expressions decreased under the treatment of hyperthermia. Compared with the treatment of normal saline group, the expressions of gene COX-2 and Bcl-2 and their protein expression decreased remarkably under the treatment of PDSW combined with hyperthermia. Conclusively, PDSW combined with hyperthermia may inhibit the expressions of gene COX-2 and Bcl-2 and their protein expressions in gastric cancer SGC-7901 cells and tissues, so as to effectively inhibit the proliferation of gastric cancer cells.

**Key words:** PDSW; hyperthermia treats; SGC-7901; COX-2; Bcl-2; qRT-PCR; Western blot

收稿日期: 2016-07-21

基金项目: 云南省科学技术厅联合专项 (2010CD166)

作者简介: 唐辉蓉, 女, 博士, 研究方向: 消化外科; E-mail: tgyxjob@163.com

通讯作者: 崔进, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 干疗外科; E-mail: yncuijin@126.com

胃癌 (Gastric cancer) 是比较常见的一种恶性肿瘤, 其发病率和死亡率较高, 在我国每年死于胃癌的人数高达十几万<sup>[1]</sup>, 目前热疗在肿瘤治疗上应用较广, 但它在临床应用中存在一些缺点, 如体温明显升高会使心脏的负荷增加, 引起神经上、生理上的不良反应, 而温和的全身热疗由于温度上升范围小而延长治疗时间, 且在温和热疗的治疗条件下, 肿瘤细胞的活性可能仍维持较高水平。所以, 温度过高或治疗时间过长, 都会增加治疗的危险性, 甚至引起一系列副作用<sup>[2, 3]</sup>。因此, 寻找有效的治疗手段是医学界急待解决的问题。目前已有相关文献报道, 生理性深层海水 (PDSW) 是“平衡微量元素”不可替代的最佳资源<sup>[4]</sup>, 它具有低温、水质洁净稳定、富含营养成分和矿物成分、细菌和病原菌较少等特点, 将热疗与 PDSW 相结合, 能提高全身热疗的疗效, 减轻副作用。

胃癌的发生通常是因为癌基因的激活和抑癌基因的抑制或失活而引起的。环氧合酶-2 (COX-2) 是合成前列腺素 E2 (PGE2) 的一个关键酶<sup>[5, 6]</sup>。大量研究表明 COX-2 表达高低与胃癌的发生密切相关<sup>[7]</sup>。COX-2 在正常组织中表现出低表达或不表达, 但在肿瘤细胞中的表达量较高, 因而使肿瘤细胞中的 PGE2 大量合成, PGE2 除了能够使肿瘤细胞快速生长增殖, 还会激活 Bcl-2 的表达, Bcl-2 为凋亡抑制基因, Bcl-2 的表达则会抑制癌细胞的凋亡<sup>[8]</sup>。

近年来, 已有很多基于 COX-2 和 Bcl-2 基因在癌组织中的表达及其临床意义的研究<sup>[9]</sup>, 但关于 PDSW 联合热疗对胃癌细胞 COX-2 和 Bcl-2 基因表达的影响还未见报道, 因此, 本实验通过 PDSW 联合热疗, 对人胃癌 SGC-7901 细胞进行体外培养, 并将 SGC-7901 细胞注入裸鼠皮下, 应用实时荧光定量 PCR 和 Western blot 来检测胃癌细胞及裸鼠组织中 COX-2、Bcl-2 mRNA 和蛋白的表达情况, 旨在探讨 PDSW 联合热疗对 COX-2 和 Bcl-2 mRNA 及蛋白表达的影响, 为 PDSW 联合热疗治疗胃癌提供分子依据, 以期对胃癌的辅助治疗提供新的思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

人胃癌 SGC-7901 细胞, 由昆明医科大学第三

附属医院肿瘤研究所提供。PDSW 来源: 取我国南海海域的“深层海水”(海平面 200 m 以下), 闭光运送至昆明, 室温闭光储存, 在超微过滤后, 用铜锌合金去除海水中的重金属, 用反复冻融的方法浓缩海水, 并去除多余的盐份, 制备成 PDSW, 其主要元素含量测定由农业部产品质量监督检验测试中心(昆明)检测, 具体方法见本实验室前期的研究<sup>[10]</sup>。4-5 周龄 BALB/c-nu/nu 雄性裸鼠。

### 1.2 方法

1.2.1 细胞培养与处理 用含有 10% FBS 的 RPMI-1640 培养液培养 SGC-7901 细胞, 置于 5% CO<sub>2</sub>、37℃ 的恒温培养箱中, 隔天换液 1 次。当细胞汇合并铺满培养瓶底约 80%~90% 时进行传代。待稳定增长后, 取对数生长期、细胞活力达到 95% 的细胞, 制成单细胞悬液, 接种于 6 孔板中, 培养 24 h 后, 进行分组处理。对照组 (NC): 培养基 + SGC-7901 + 生理盐水; 实验组 (PDSW): 培养基 + SGC-7901 + PDSW (1:38 稀释, 50 mL 培养液加 1.3 mL PDSW); 空白组 (CON): 培养基 + SGC-7901。分别置于 37℃ (常规细胞培养)、40℃ (持续培养 6 h)、43℃ (持续培养 1 h) 热疗温度下培养, 复温 37℃ 后继续培养 48 h, 收集样品。

1.2.2 SGC-7901 人胃癌裸鼠皮下移植瘤模型建立 购买 4-5 周龄 BALB/c-nu/nu 雄性裸鼠, 明暗交替适应性饲养 1 周后开始实验。在左腋背部皮下注射 SGC-7901 细胞, 至肿瘤长至直径为 3 mm 大小时, 按温度、给药不同随机分为 5 组, 入组饲养至肿瘤长至直径 1 cm 大小时开始热疗, 隔日热疗一次, 至第 45 d 处死全部小鼠。具体分组处理如下: 荷瘤鼠 + H<sub>2</sub>O + RT; 荷瘤鼠 + H<sub>2</sub>O + 40℃; 荷瘤鼠 + H<sub>2</sub>O + 43℃ (H<sub>2</sub>O 为生理盐水); 荷瘤鼠 + PDSW + 40℃; 荷瘤鼠 + PDSW + 43℃。

1.2.3 基因表达分析 采用 TaKaRa 公司的 Trizol Reagent 提取 SGC-7901 细胞和裸鼠皮下移植瘤组织中的总 RNA, 提取得到的 RNA 用由超微量分光光度计 (Biomate3) 和琼脂糖凝胶电泳检测其质量。检测合格的 RNA 用 ABI High capacity cDNA reverse transcription 试剂盒进行反转录。将反转录后得到的 cDNA 作为模板, 按照 ABI 公司的荧光定量分析试

试剂盒 (SYBR Select Master Mix) 进行 RT-PCR, 荧光定量反应体系为: SYBR Premix Ex Taq™ II (2×) 10 μL, 上下游引物各 1 μL, cDNA 模板 2 μL, RNase-free water 6 μL, 总体积 20 μL。根据引物设计原则, 从 NCBI 上获得的目的基因 mRNA 全长序列, 并使用软件设计人的内参基因 GAPDH 和目的基因 COX-2、Bcl-2, 引物见表 1。反应在 ABI-7500 荧光定量 PCR 仪器中进行, 以 GAPDH 为内参, 运用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法进行分析,  $\Delta\Delta CT = (CT_{目的基因} - CT_{管家基因})_{实验组} - (CT_{目的基因} - CT_{管家基因})_{对照组}$ 。每个实验数据 3 次重复。

表 1 COX-2 Bcl-2 基因实时荧光定量 PCR 所用引物

基因名称	引物序列 (5'-3')	温度 /℃
COX-2	ATGCACTACTCACCAGACGC	60
	CCAATGTATGGGATGGCGGA	
Bcl-2	TGGCCTTCTTTGAGTTTCGGT	60
	GCAGAGTCTTCAGAGACAGCC	
GAPDH	GCAAATTTCCATGGCACCGT	60
	GCCCCACTTGATTTGGAG	

1.2.4 总蛋白的提取 使用 RIPA 裂解液 (购自北京索莱宝生物科技有限公司) 提取细胞和组织中的总蛋白, 用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (购自碧云天生物科技有限公司) 检测所得蛋白的浓度, 采用 Western blot 检测蛋白条带, 最后用图像分析软件 ImageJ 对目的蛋白及内参蛋白 (GAPDH) 条带进行灰度值测试, 以目的 / 内参灰度值比值表示蛋白表达情况。

1.2.5 数据处理 数据用统计软件 SPSS11.5 分析和 Duncan 多重比较, 统计结果用软件 Sigmaplot10.0 作图。

## 2 结果

### 2.1 SGC-7901 细胞中 COX-2 和 Bcl-2 基因表达情况

分别提取 SGC-7901 细胞 CON、NC 和 PDSW 组在 3 个温度条件处理下的总 RNA, 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 结果 (图 1) 显示, 电泳后均出现了 3 条清晰的 rRNA 条带, 表明提取的 RNA 质量较好。

总 RNA 经逆转录合成 cDNA 后, 进行 qRT-PCR 检测。对获得的 CT 值进行相对定量分析, 结果表明, 热疗后 3 个处理下的 COX-2 基因表达量均随温度的升高而不断下降, PDSW+43℃ 联合热疗组 COX-2 基

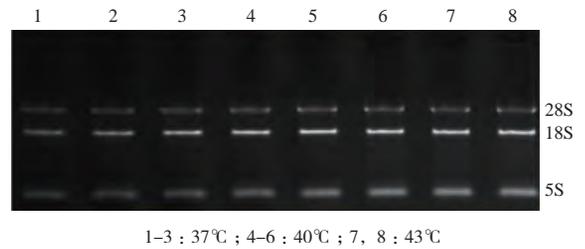
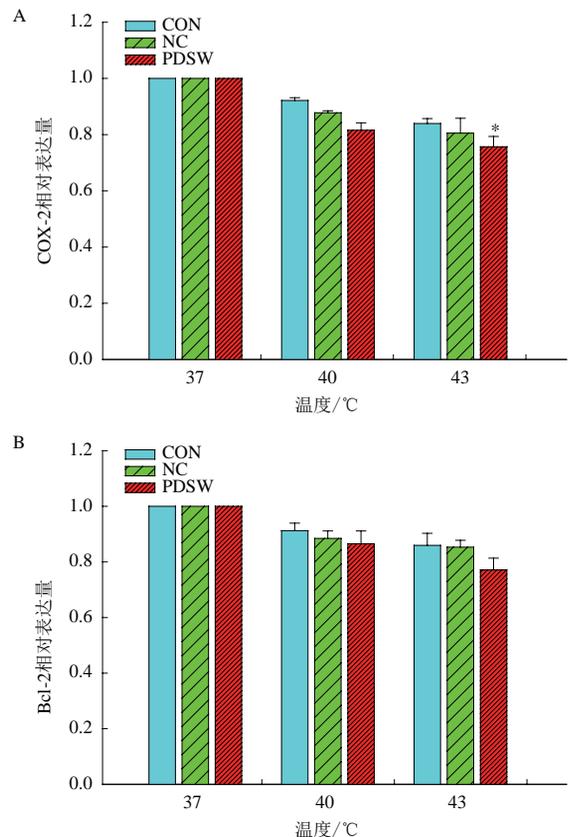


图 1 RNA 琼脂糖凝胶电泳检测

因 mRNA 水平有较大幅度的下调, 比 37℃ 处理下的表达量低 24.3%, 表现出显著差异 ( $P=0.015$ ), 但相同温度条件下空白组和生理盐水组下降差异不显著, 分别比 37℃ 处理下的表达量低 16.1% 和 19.5% (图 2-A); 热疗后 3 个处理下的 Bcl-2 基因表达量均下调, PDSW+43℃ 联合热疗组 Bcl-2 mRNA 水平下调量较大, 比 37℃ 处理下的表达量低 23.0% (图



\* 表示  $P < 0.05$  水平显著差异, \*\* 表示  $P < 0.01$  水平显著极差异, 下同

图 2 SGC-7901 细胞中 COX-2 (A) 和 Bcl-2 (B) 荧光定量检测结果

2-B), 表现出显著差异 ( $P=0.018$ )。说明热疗能有效抑制 *COX-2* 和 *Bcl-2* 基因的表达, PDSW 联合热疗组 *COX-2* 和 *Bcl-2* 表达量更低。

## 2.2 裸鼠组织中 *COX-2* 和 *Bcl-2* 基因表达情况

分别提取不同温度处理下裸鼠肿瘤组织中的总 RNA, 用紫外分光光度仪测定 RNA 的纯度和浓度,  $OD_{260/280}$  比值均在 1.8-2.0 之间, 表明提取的 RNA 纯度较高, 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 结果 (图 3) 表明, 电泳后均出现了 28S、18S 和 5S 三条清晰的 rRNA 条带, 表明提取 RNA 较好。

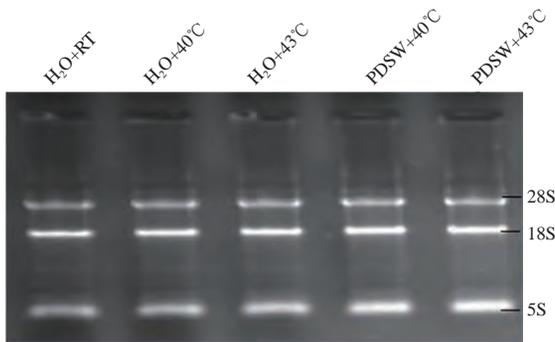


图 3 RNA 琼脂糖凝胶电泳图谱

总 RNA 经逆转录合成 cDNA 后, 进行 qRT-PCR 检测, 对获得的 CT 值进行相对定量分析, 结果 (图 4) 表明, 与常温处理条件相比, 在  $H_2O+40^\circ C$ 、 $H_2O+43^\circ C$ 、PDSW+ $40^\circ C$  和 PDSW+ $43^\circ C$  的处理条件下, *COX-2* 和 *Bcl-2* 的表达水平均下降, 且在相同温度下, PDSW 组的表达量低于  $H_2O$  组的表达量。对于 *COX-2*, PDSW+ $40^\circ C$  处理下表达量比正常组低 22.4%, 表现出显著差异 ( $P=0.015$ ), 同时比  $H_2O+40^\circ C$  处理下的表达量低 14.7%, PDSW+ $43^\circ C$  处理下表达量比正常组低 57.1%, 表现出极显著差异 ( $P=0.00$ ), 同时比  $H_2O+43^\circ C$  处理下的表达量低 31.9%; 对于 *Bcl-2*, PDSW+ $40^\circ C$  处理下表达量比正常组低 15.3%, 差异不显著 ( $P=0.061$ ), 同时比  $H_2O+40^\circ C$  处理下的表达量低 9.0%, PDSW+ $43^\circ C$  处理下表达量比正常组低 35.0%, 表现出极显著差异 ( $P=0.002$ ), 同时比  $H_2O+43^\circ C$  处理下的表达量低 20.4%。表明 PDSW 联合热疗后胃癌组织中 *COX-2* 和 *Bcl-2* 基因的表达水平下降, 并且随着温度的升高,

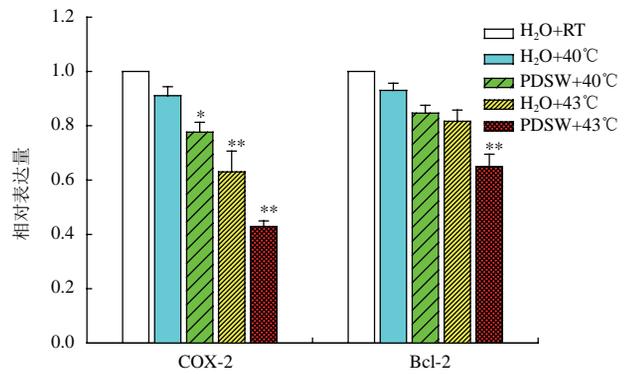


图 4 qRT-PCR 检测 *COX-2* 和 *Bcl-2* 基因在 mRNA 水平的表达

表达下降差异更明显。

## 2.3 SGC-7901 细胞中 *COX-2* 和 *Bcl-2* 蛋白表达情况

分别提取不同处理细胞的总蛋白, 经 BCA 法定量后, 每个胶孔中加入等量的蛋白, 以 GAPDH 为内参, 运用 Western blotting 检测细胞中 *COX-2* 和 *Bcl-2* 蛋白表达, 结果 (图 5) 表明, 在相对分子量 74 kD (*COX-2*) 和 26 kD (*Bcl-2*) 的位置出现了清晰的目的条带。

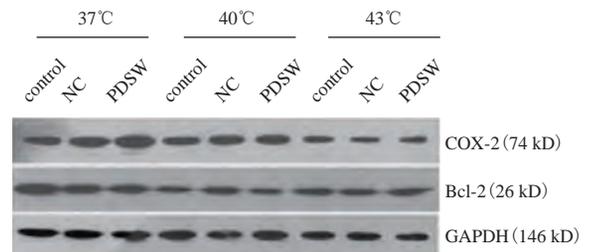


图 5 Western Blot 检测细胞中 *COX-2* 和 *Bcl-2* 的蛋白条带

用 Image J 图像分析软件分别对目的蛋白 *COX-2*、*Bcl-2* 和内参 GAPDH 蛋白条带分别进行分析, 计算其表达量。运用  $t$  检验进行显著性差异分析, 结果显示如图 6。在 PDSW 联合热疗下, *COX-2*/GAPDH 灰度比值明显下调, 且差异性显著, 在  $43^\circ C$  下 CON、NC 和 PDSW 组分别比在  $37^\circ C$  下低 30.5% ( $P=0.004$ )、44.5% ( $P=0.00$ ) 和 54.7% ( $P=0.00$ )。 *Bcl-2*/GAPDH 在 PDSW 联合热疗下的灰度比值也下降, 在  $43^\circ C$  下 CON、NC 和 PDSW 组分别比在  $37^\circ C$  下低 28.3% ( $P=0.001$ )、9.6% ( $P=0.16$ ) 和 10.1%

( $P=0.00$ )。表明不同温度不同条件处理后, COX-2 和 Bcl-2 蛋白表达量均降低, 在 PDSW 联合热疗处理下蛋白表达较低, 与基因表达情况一致。

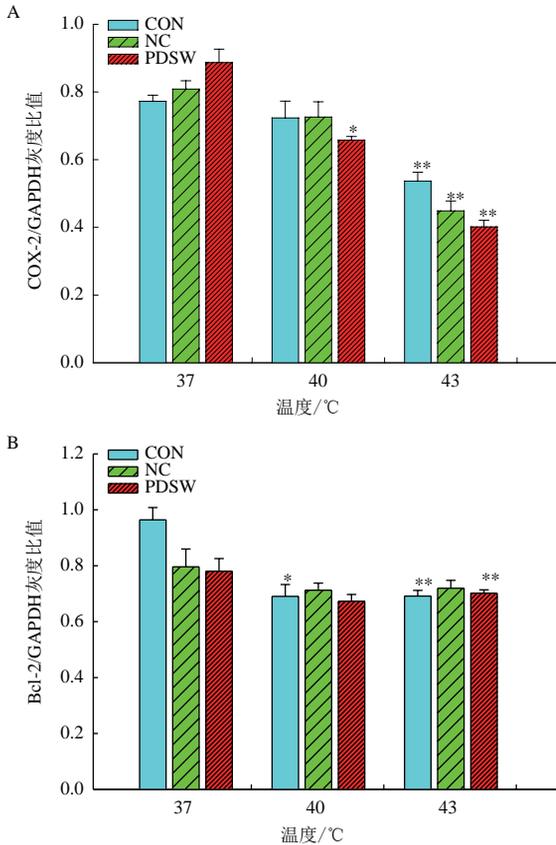


图 6 不同处理下细胞中 COX-2 (A) 和 Bcl-2 (B) 蛋白表达情况

### 2.4 裸鼠组织中 COX-2 和 Bcl-2 蛋白表达情况

分别提取不同处理裸鼠组织中的总蛋白, 以 GAPDH 为内参, 运用 Western blotting 检测细胞中 COX-2 和 Bcl-2 蛋白表达, 得到的目的蛋白条带如图 7。

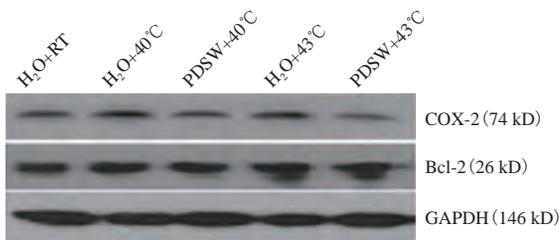


图 7 Western Blot 检测组织中 COX-2 和 Bcl-2 的蛋白条带

用 ImageJ 图像分析软件分别对目的蛋白 COX-2、Bcl-2 和内参 GAPDH 蛋白条带分别进行半定量分析, 计算其表达量。运用  $t$  检验进行显著性差异分析, 结果 (图 8) 显示, 在  $H_2O+RT$ 、 $H_2O+40^\circ C$ 、 $PDSW+40^\circ C$  和  $H_2O+43^\circ C$  处理组中, 胃癌组织中 COX-2 和 Bcl-2 蛋白表达变化不明显, 在  $PDSW+43^\circ C$  处理下表达急剧下降, 与正常组相比, COX-2 和 Bcl-2 蛋白表达量分别比正常组低 43.5% ( $P=0.004$ ) 和 16.9% ( $P=0.016$ )。说明 PDSW 联合热疗能有效降低 COX-2 和 Bcl-2 蛋白的表达量。

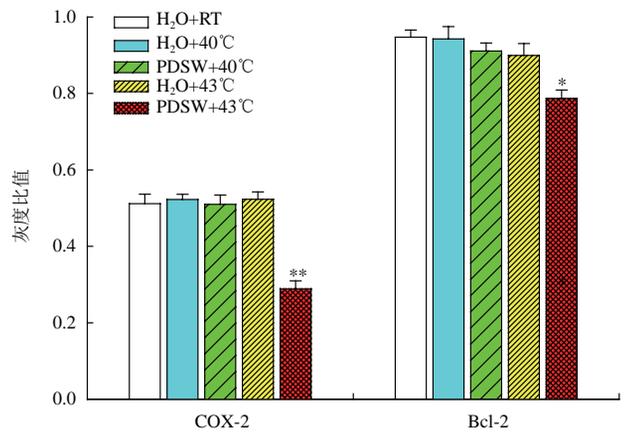


图 8 不同处理下组织中 COX-2 和 Bcl-2 蛋白表达情况

### 3 讨论

在肿瘤治疗中, 热疗既能诱导细胞凋亡, 又能使细胞直接死亡, 很多体外研究发现, 热疗一般存在一个阈温度, 主要机制为在阈值以下温度诱导细胞的凋亡, 而阈值以上温度则会引起细胞坏死。Tang 等<sup>[11]</sup>研究表明, 对于多数胃癌细胞而言, 43°C 只有短暂的抑制细胞增殖的作用, 并不存在细胞凋亡。PDSW 能为细胞生长提供平衡的微量元素, 本实验室前期的研究表明, 由于肿瘤细胞在功能和结构上存在缺陷, 因此在 PDSW 条件下, 正常细胞表达增强, 提高了热的阈温度值, 增强了耐热能力; 而肿瘤细胞代谢能力旺盛, 在 PDSW 条件下, 细胞内富集了某些元素, 可导致这些元素在瘤细胞中不断积累并超载, 从而使肿瘤细胞的阈温度降低, 耐热力降低<sup>[12]</sup>。本研究通过 PDSW 联合热疗对胃癌 SGC-7901 细胞进行体外和体内处理, 检测 COX-2 和

*Bcl-2* 基因及蛋白的表达, 试图从分子及蛋白层面上来解释 PDSW 联合热疗对胃癌细胞的抑制作用机制。

COX-2 蛋白是一种可诱导型限速酶, 一般在正常的组织中含量很低, 当发生炎症反应时能被迅速诱导, 从而导致发热、红肿或疼痛等症状的发生。有关研究表明, COX-2 蛋白在结肠癌<sup>[13]</sup>、乳腺癌<sup>[14]</sup>等癌组织中表达量较高, COX-2 可能有以下几方面的作用机制<sup>[15-17]</sup>: (1) 加快合成前列腺素, 抑制机体免疫反应; (2) 促进肿瘤血管形成并抑制肿瘤细胞的凋亡; (3) 使肿瘤细胞基质中金属蛋白表达上调; (4) 诱导活化致癌前体物质。由于 COX-2 高表达发生在癌前病变, 且显著高于正常组织, 所以一般认为 COX-2 的高表达出现在肿瘤发生早期, 因此很多研究把 COX-2 作为治疗胃癌的靶点。李士坤等<sup>[7]</sup>检测了不同类型的胃息肉组织, 发现其中都有 COX-2 蛋白的表达, 且不同类型间的表达率存在显著差异, 尤其是瘤样组织中的 COX-2 蛋白表达极为显著。有研究发现<sup>[18]</sup>, COX-2 蛋白在胃癌组织、不典型增生组织、萎缩化生性病变组织、浅表性胃炎组织和正常胃黏膜组织中的表达情况完全不同, 在胃癌组织中表达率最高, 正常胃黏膜组织中表达最低, 其中, 不典型增生组织中 COX-2 蛋白的表达率随着病变程度的加重而增高, 认为 COX-2 与胃癌发生前期有密切联系。由于 COX-2 的高表达会使肿瘤细胞中的 PGE2 大量合成, PGE2 除了能够使肿瘤细胞快速生长增殖, 还会激活凋亡抑制基因 *Bcl-2* 的表达, 最终会抑制癌细胞的凋亡, 加快癌变的发展。本研究通过 PDSW 联合热疗对胃癌细胞及组织进行处理, 结果表明, 无论在 SGC-7901 细胞中还是裸鼠皮下移植瘤的组织中, 热疗均能降低 COX-2 基因及蛋白的表达, 通过抑制 COX-2 的表达来抑制癌细胞的增殖, 同时, 与生理盐水组相比, PDSW 联合热疗处理下, 细胞和组织中 COX-2 表达量显著下降, 这说明 PDSW 与热疗相联合, 能有效抑制 COX-2 的表达, 从而抑制胃癌肿瘤细胞的增殖。

癌基因 *Bcl-2* 是一个凋亡抑制基因, 近年来已发现 *Bcl-2* 基因在结肠癌、淋巴瘤和乳腺癌等很多肿瘤组织中均过表达<sup>[9]</sup>。*Bcl-2* 的表达与胃癌关系密切, Forones 等<sup>[20]</sup>研究了胃癌中 *Bcl-2* 蛋白的表达情况,

发现在胃癌组织中, *Bcl-2* 蛋白的表达率为 68%, 显著高于其在肠化组织中的表达率, 而且早期胃癌组织中的表达率要比进展期胃癌组织的表达率高。因此, *Bcl-2* 同样在正常的胃黏膜组织中表达量较低。*Bcl-2* 蛋白的表达量在胃癌从良性向恶性过渡的过程中逐渐升高, 在胃癌组织和正常组织中表达存在显著性差异。田明等<sup>[21]</sup>研究发现, 胃癌组织和正常胃组织中的 *Bcl-2* 蛋白表达率分别为 62.5% 和 14.3%, 表明 *Bcl-2* 基因在胃癌发生过程中起重要作用, 其高表达同样是胃癌发生的早期事件。彭鹏等<sup>[22]</sup>研究推测, *Bcl-2* 与肿瘤的进展无显著相关, 而与癌变前期的过程有关。因此可将 *Bcl-2* 的表达情况作为监测胃黏膜早期癌变与否的指标。本研究结果表明, 没经过处理的 SGC-7901 细胞和裸鼠皮下移植瘤的组织中, *Bcl-2* 基因和蛋白的表达较高, 可反映出胃癌细胞较高的增殖活性, 经热疗处理后, *Bcl-2* 表达量降低, 且 PDSW 联合热疗处理后 *Bcl-2* 表达量更是显著降低, 间接反映出 PDSW 联合热疗能有效抑制胃癌细胞的增殖, 从而起到治疗肿瘤的效果。

本实验前期应用 PDSW 联合热疗对肝癌细胞进行了研究发现, 单用 PDSW 处理肝癌细胞时, 没有促进肝癌细胞的生长, 但 PDSW 联合热疗后, 能使带肝癌肿瘤的实验动物生存时间延长, 且能增强热疗的抗癌作用<sup>[12]</sup>。本研究结果也表明, PDSW 联合热疗可以通过控制癌基因和抑癌基因的表达, 进而抑制人胃癌 SGC-7901 细胞的增殖和移植瘤实验动物癌组织的生长, 提高抗癌作用。综上所述, PDSW 联合热疗能有效抑制 SGC-7901 细胞和裸鼠皮下移植瘤组织中 COX-2、*Bcl-2* 基因和蛋白的表达, 从而抑制胃癌细胞的增殖。其中更多的作用机制和抑制途径, 还需进行深入的研究, 关于 PDSW 联合热疗能抑制 SGC-7901 细胞的增殖, 其在临床上的应用, 以及可能产生的不良反应、并发症等还需大量的研究。

#### 4 结论

PDSW 联合热疗能有效抑制 SGC-7901 细胞和裸鼠皮下移植瘤组织中 COX-2、*Bcl-2* 基因和蛋白的表达, 从而抑制胃癌细胞的增殖, 最终达到治疗肿瘤的疗效。

## 参考文献

- [1] 季蒙蒙, 杨金伟, 杜斌, 等. 天麻素对胃癌细胞活力和凋亡的影响 [J]. 现代生物医学进展, 2015 (13): 2421-2424.
- [2] 张佳慧, 秦丽娟. 肿瘤热疗的研究进展 [J]. 前沿进展, 2012, 9: 1424-1426.
- [3] 闫向勇, 刘文超. 热疗在肿瘤治疗中的研究进展 [J]. 世界中西结合杂志, 2014, 9 (2): 213-216.
- [4] 崔进. “深层海水”在医学领域中的研究 [J]. 昆明医学院学报, 2011, 32 (8): 1-2.
- [5] Kozak KR, Rowlinson SW, Marnett LJ. Oxygenation of the endocannabinoid, 2-arachidonylglycerol, to glyceryl prostaglandins by cyclooxygenase-2 [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275: 33744-33749.
- [6] Radmark O, Shimizu T, Jornvall H, et al. Leukotriene A4 hydrolase in human leukocytes. Purification and properties [J]. *J Biol Chem*, 1984, 259: 12339-12345.
- [7] 李士坤, 任庆梅, 陈克河. 不同类型胃息肉组织中 COX-2 基因蛋白的表达及其意义 [J]. 中国实用医药, 2012, 7 (29): 51-52.
- [8] 田慧军, 邓涛, 沈志祥, 等. 大肠癌和大肠腺瘤 COX-2 和 Bel-2 的基因表达及其意义 [J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2003, 12 (6): 544-546.
- [9] 肖炜明, 施瑞华, 丁岩冰, 等. 胃癌组 EGFR 和 COX-2 表达的意义及其相关性 [J]. 世界华人消化杂志, 2007, 15 (2): 123.
- [10] 李为明, 崔进, 徐鹏远, 代佑果, 深层海水对小鼠创面愈合的促进作用 [J]. 重庆医学, 2014, 2 (43): 462-464.
- [11] Tang R, Zhu ZG, Qu Y, et al. The impact of hyperthermic chemotherapy on human gastric cancer cell lines: preliminary results [J]. *Oncol Rep* 2006, 16 (3): 549-559.
- [12] 代佑果. “深层海水”与热疗联合治疗肝细胞癌的实验性研究 [M]. 昆明医科大学, 2014, 5.
- [13] Miladi-Abdennadher I, Abdelmaksoud-Dammak R, Ayed-Guerfali DB, et al. Expression of COX-2 and E-cadherin in Tunisian patients with colorectal adenocarcinoma [J]. *Acta Histochemica*, 2012, 114 (6): 577-581.
- [14] Serra KP, Sarian LO, Rodrigues-Peres RM, et al. Expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) and p53 in neighboring invasive and in situ components of breast tumors [J]. *Acta Histochemica*, 2012, 114 (3): 226-231.
- [15] Leung WK, To RF, Ng YP, et al. Association between cyclooxygenase-2 overexpression and missense P53 mutations, in gastric cancer [J]. *Br J Cancer*, 2001, 84 (3): 335-339.
- [16] 李百文, 沈强. 胃癌不同临床病理分期中环氧化酶与 E 基质金属蛋白酶的表达及其相关性 [J]. 复旦学报: 医学版, 2007, 34 (1): 223.
- [17] 李杰, 杨红, 郝洪岭, 等. 环氧化酶 2 与肿瘤研究进展 [J]. 临床误诊误治, 2012, 25 (4): 73-75.
- [18] 陈美霓, 郭浩, 郭巍, 等. COX-2 蛋白和 VEGF-C 蛋白在胃癌和非胃癌黏膜病变组织中的表达及临床意义 [J]. 海南医学, 2015, 26 (18): 2671-2674.
- [19] Forones NM, Carvalho AP, Giannotti-Filho O, et al. Cell proliferation and apoptosis in gastric cancer and intestinal metaplasia [J]. *ArqGastroenterol*, 2005, 42 (1): 30-34.
- [20] Anagnostopoulos GK, Stefanou D, Arkoumani E, et al. Bax and Bel-2 protein expression in gastric precancerous lesions: immunohistochemical study [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2005, 20 (11): 1674-1678.
- [21] 田明, 张云锋, 杜宁, 等. PTEN 和 bcl-2 在胃癌组织中的表达及临床意义 [J]. 陕西医学杂志, 2011, 40 (2): 148-151.
- [22] 彭鹏, 邹文蓉. p53, VEGF, Bel-2 在进展期胃癌组织中的表达 [J]. 现代医药卫生, 2011, 27 (2): 184-186.

(责任编辑 李楠)