

纯放疗或同步放化疗^[14,15]。NP 方案诱导化疗联合同期放化疗的 3 年总生存率、无瘤生存率、无局部、区域复发生存率及无远处转移率结果均高于 FP 方案,其差异无统计学意义,可能与入组病例数较少有关。NP 方案诱导化疗联合同期放化疗的不良反较 FP 方案轻,较氟尿嘧啶类、紫杉类药物的腹泻、口腔炎和黏膜炎等毒不良反应轻,患者耐受性及临床依从性较好。

综上所述,NP 方案诱导化疗联合同步放化疗治疗局部晚期鼻咽癌的临床疗效及生存率与 PF 方案相似,毒不良反应较低,患者临床依从性好,是值得进步扩大病例数,进行多中心的随机研究来探索和证实。

参考文献

- 1 Komatsu M, Tsukuda M, Matsuda H, *et al.* Comparison of concurrent chemoradiotherapy versus induction chemotherapy followed by radiation in patients with nasopharyngeal carcinoma [J]. *Anticancer Res*, 2012, 32: 681 – 686
- 2 Chua AT, Ma J, Sham JS, *et al.* Long – time survival after cisplatin – based induction chemotherapy and radiotherapy for advanced nasopharyngeal carcinoma: a pooled data analysis of two phase III trials[J]. *J Clin Oncol*,2005,23:1118 – 1124
- 3 陈海霞,金凤,吴伟莉,等. 时间调节诱导化疗联合放疗治疗鼻咽癌的单中心 II 期随机临床研究[J]. *中国肿瘤临床*,2012,39(6): 336 – 339
- 4 Langendijk JA, Leemans CR, Burer J, *et al.* The additional value of chemotherapy to radiotherapy in locally advanced nasopharyngeal carcinoma: a meta – analysis of the published literature [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(22):4604 – 4612
- 5 杨安奎,刘天润,郭翔,等. 同步放化疗与单纯放疗在晚期鼻咽癌中疗效比较的 Meta 分析[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2008,43(3):218 – 223
- 6 Wong ASC, Soo RA, Lu JJ, *et al.* Paclitaxel, 5 – fluorouracil and

hydroxyurea concurrent with radiation in locally advanced nasopharyngeal carcinoma[J]. *Ann Oncol*,2006, 17: 1152 – 1157

- 7 Hareyama M, Sakasa K, Shirato H, *et al.* A prospective, randomized trial comparing neoadjuvant chemotherapy with radiotherapy alone in patients with advanced nasopharyngeal carcinoma[J]. *Cancer*,2002, 94:2217 – 2223
- 8 Hui EP, Ma BB, Leung SF, *et al.* Randomized phase II trial of concurrent cisplatin – radiotherapy with or without neoadjuvant docetaxel and cisplatin in advanced nasopharyngeal carcinoma[J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(2): 242 – 249
- 9 谢方云,邹国荣,胡伟汉,等. TP 方案诱导化疗后同期 TP 与 DDP 治疗局部晚期鼻咽癌的对照研究[J]. *癌症*,2009,28(3):279 – 285
- 10 Chua DT, Sham JS, Au GK. A phase II study of docetaxel and cisplatin as first – line chemotherapy in patients with metastatic nasopharyngeal carcinoma [J]. *Oral Oncol*,2005,41(6):589 – 595
- 11 何鸿鸣,黄雪珍. 长春瑞滨联合顺铂方案治疗晚期鼻咽癌的临床观察[J]. *临床肿瘤学杂志*,2010,10(3):298 – 299
- 12 O’Meara WP, Lee N. Advances in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Current Opinion in Oncology*,2005,17:225 – 230
- 13 汪晓洁,寿涛,刁宪民,等. 长春瑞滨诱导化疗联合同期放化疗治疗局部晚期鼻咽癌[J]. *实用医学杂志*,2011,27(24):4451 – 4453
- 14 Zhang L,Zhao C,Ghimire B,*et al.* The role of concurrent chemoradiotherapy in the treatment of locoregionally advanced nasopharyngeal carcinoma among endemic population: a meta – analysis of the phase III randomized trials[J]. *BMC Cancer*,2010, 10:558
- 15 Bertrand B, Helene A, Jean B, *et al.* Chemotherapy in locally advanced nasopharyngeal carcinoma: an individual patient data meta – analysis of eight randomized trials and 1753 patients [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2006, 64(1): 47 – 56

(收稿日期:2013 – 07 – 22)

(修回日期:2013 – 08 – 27)

地塞米松对体外培养足细胞 nephrin 磷酸化的影响

聂国明 邹敏书 余 健 罗莉漫 徐洪涛 毛娇娇

摘要 目的 nephrin 磷酸化在维持正常足细胞结构和功能上起重要作用。糖皮质激素是治疗原发性肾小球疾病蛋白尿的最常见药物。本研究观察地塞米松(dexamethasone,Dex)对体外培养足细胞 nephrin 磷酸化的影响。**方法** 体外培养的足细胞给予不同浓度 Dex(0、1、10、100nmol/L)处理 24h,100nmol/L Dex 处理足细胞不同时间(0、12、24、36h),Dex (100nmol/L)与足细胞一起培养,分别加入糖皮质激素受体拮抗剂及盐皮质激素受体拮抗剂,小干扰 RNA(siRNA)沉默 Nck 或 Fyn 的表达,采用抗 pY1228 nephrin 抗体应用免疫印迹分别测定 nephrin 磷酸化水平的表达变化。**结果** 10、100nmol/L Dex 处理足细胞明显增加 nephrin 的磷酸化,100nmol/L Dex 与足细胞孵育 24、36h 明显增加 nephrin 的磷酸化,100nmol/L Dex 与足细胞孵育 24h 导致 nephrin 磷酸化明显增加,这种增加可被糖皮质激素受体拮抗剂所抑制,但不被盐皮质激素受体拮抗剂所抑制。100nmol/L Dex 与足

细胞孵育 24h 导致 nephrin 磷酸化明显增加,加 siRNA 沉默 Nck 或 Fyn,前者可部分抑制 nephrin 磷酸化增加,后者完全抑制 nephrin 磷酸化。**结论** 糖皮质激素可增加 nephrin 的磷酸化,糖皮质激素治疗人类肾小球疾病可能通过调节 Nck 和 Fyn 复合物促进 nephrin 磷酸化实现,这种作用可能阐明了糖皮质激素治疗肾病新的机制。

关键词 Nephrin 磷酸化 糖皮质激素 足细胞

[中图分类号] R393 [文献标识码] A

Effect of Dexamethasone on the Phosphorylation of Nephrin in Cultured Podocytes. Nie Guoming, Zou Minshu, Yu Jian, Luo Liman, Xu Hongtao, Mao Jiaojiao. Department of Pediatrics, Wuhan General Hospital of GuangZhou Command of PLA, Hubei 430070, China

Abstract Objective The phosphorylation of nephrin plays an important role in maintaining the normal structure and function in podocytes. Glucocorticoid is a most common drug used to treat primary glomerular diseases with proteinuria. In this paper, we observed the dexamethasone (Dex) on the level of nephrin phosphorylation in cultured podocytes in vitro. **Methods** In vitro cultured podocytes were treated with various concentrations of Dex (0nmol/L, 1nmol/L, 10nmol/L, 100nmol/L) for 24h, and Dex at concentration of 100nmol/L at different time points (0, 12, 24, 36h). Dex (100nmol/L) were cultured with podocytes, adding glucocorticoid receptor antagonist and mineralocorticoid receptor antagonist, respectively. Nck or Fyn were silenced by small interfering RNA (siRNA), and the phosphorylation of nephrin was determined by immunoblot with the anti-pY1228 nephrin antibody. **Results** Dex at concentration of 10nmol/L, 100nmol/L treatment podocytes was significantly increased the phosphorylation of nephrin. The incubation of Dex at concentration of 100nmol/L and podocytes for 24h, 36h significantly increased the phosphorylation of nephrin. 100nmol/L Dex and podocytes incubation for 24h resulted in phosphorylation of nephrin obviously. This increased phosphorylation was inhibited by glucocorticoid receptor antagonist, but not by mineralocorticoid. 100nM Dex and podocytes incubation for 24h increased significantly phosphorylation of nephrin, and siRNA silencing of Nck or Fyn. The former can be partially inhibited, and the latter completely inhibited nephrin phosphorylation. **Conclusion** Glucocorticoid increases the phosphorylation of nephrin. Glucocorticoid treatment for human glomerulonephritis may exert its function by regulating Nck and Fyn complex to promote phosphorylation of nephrin. These results elucidate a novel mechanism of glucocorticoid treatment for glomerulonephritis.

Key words Nephrin; Phosphorylation; Glucocorticoid; Podocyte

在肾小球选择性滤过过程中,肾小球滤过屏障阻止蛋白尿的滤出。滤过屏障由 3 层组成:内皮细胞、基膜(GBM)和足细胞,后者是阻止蛋白漏出最主要的细胞,足细胞合成 nephrin,其位于足突裂孔隔膜区,是防止白蛋白滤出的关键及中心结构。Nephrin 是肾小球裂孔隔膜上发现的第 1 个跨膜蛋白,是 NPHS1 的基因产物,此基因突变出现芬兰型肾病综合征,在维持足细胞正常功能过程中起至关重要的作用。Nephrin 不仅是黏附分子,而且是信号转导分子,参与足细胞的信号转导^[1]。Nephrin 磷酸化被认为是维持正常足细胞形态和功能的起始事件,主要是指酪氨酸磷酸化,其胞内段含有 9 个酪氨酸残基,是潜在的磷酸化位点^[2]。研究发现,nephrin 的胞内段磷酸化与 Src 家庭激酶 Fyn 和适配蛋白 Nck 相关,Fyn 是 Src 激酶,在 Y1204 位点磷酸化 nephrin。Nck 含有 3 个 SH3 区和 1 个 SH2 区,可结合到 nephrin 磷酸化位点 Y1204,募集信号转导分子,诱导肌动蛋白聚合^[3]。在 Fyn 和 Nck 敲除鼠,足细胞出现足突融合及蛋白尿,证实体内足细胞信号瀑布的重要性^[4]。

糖皮质激素是治疗肾小球蛋白尿的主要药物。

然而其对足细胞的精确作用机制尚不十分明确。阿霉素动物模型表现为足细胞足突融合、肌动蛋白重排、大量蛋白尿,而 Dex 可直接保护阿霉素诱导足细胞损伤,稳定 α -辅肌动蛋白 4 的表达^[5]。既往研究显示,Dex 可维持肾小球 nephrin 的表达,减轻尿白蛋白的排泄,抑制肾小球上皮间制动转化^[6]。本实验观察 Dex 对 nephrin 磷酸化的影响,探讨 Fyn 和 Nck 在 nephrin 磷酸化中的作用及 Dex 可能作用机制。

材料与方法

1. 足细胞的培养:小鼠永生化足细胞株(MPC5)由美国 Peter Mundel 教授惠赠,细胞于含 20U/ml γ -干扰素的 1640 培养液中,33℃、5% CO₂ 培养。细胞传代后转入不含 γ -干扰素培养液中,37℃ 培养使足细胞分化 10~14 天后使用。

2. 地塞米松处理:实验分组方法如下:体外培养的足细胞给予不同浓度 Dex 处理(0、1、10、100nmol/L) 24h,100nmol/L Dex 处理足细胞不同时间(0、12、24、36h),Dex(100nmol/L)与足细胞一起培养,分别加入糖皮质激素受体拮抗剂 RU-486 及盐皮质激素受体拮抗剂 RU-26572。对照组加缓冲液培养。磷酸化 nephrin 用兔抗 pY1228 nephrin 抗体测定。兔抗 pY1228 nephrin 抗体、RU-486 及 RU-26572 购自 Sigma 公司。

3. 足细胞转染:将足细胞接种于 25cm² 的培养瓶中,当细胞融合度达到 50%~60% 时进行转染。足细胞分成以下 3

组:(1)未转染组:未经任何处理的足细胞;(2)转染 Nck - siRNA 组:100nmol/L Dex 与足细胞孵育 24h,加 Nck - siRNA 表达质粒 pGenesil/siRNA - Nck 培养 24h;(3)转染 Fyn - siRNA 组:100nmol/L Dex 与足细胞孵育 24h,加 Fyn - siRNA 表达质粒 pGenesil/siRNA - Fyn 培养 24h。利用 JetPRIME™ 进行转染,转染方法参照 JetPRIME™ 转染试剂的说明书。简述如下:将细胞种在 3 孔板上,每孔约 40×10^4 ,待分化成熟后,将质粒按 3 微克/孔,转染试剂 JetPRIME™ 按 9.6 微克/孔稀释,并等体积混合,室温反应 30min 后加入含培养基的 3 孔板中,培养 24h 荧光显微镜观测其转染率。分别采用 Western blot 法检测 nephrin 磷酸化的表达率。JetPRIME™ 为法国 Polyplus 公司产品。Nck - siRNA、Fyn - siRNA 由广州锐博生物科技构建。

4. Western blot 测定 nephrin 的磷酸化:RIPA 裂解液裂解细胞,提取细胞总蛋白,BCA 试剂盒测定蛋白浓度,每组取 50 μ g 蛋白上样,电泳、转膜、封闭,分别加入一抗(兔抗 pY1228 nephrin 抗体),4 $^{\circ}$ C 过夜。辣根过氧化物酶标记的二抗 37 $^{\circ}$ C 孵育 1h。利用 UVP 化学荧光成像系统 (ChemiDoc - ItTM600 Imaging System) 进行化学发光显影,以 β - actin 作为内参校正。

5. 统计学方法:采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学处理,计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组比较用 one - way ANOVA 方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. Dex 改变 nephrin 的磷酸化:与对照组相比,10、100nmol/L Dex 处理足细胞明显增加 nephrin 的磷酸化水平,差异具有统计学意义 (P 均 < 0.05 ,图 1)。100nmol/L Dex 与足细胞孵育 0、12、24、36h。与对照组相比,12h 没有明显增加 nephrin 的磷酸化水平 ($P > 0.05$),而 24、36h 明显增加 nephrin 的磷酸化 (P 均 < 0.05 ,图 2)。

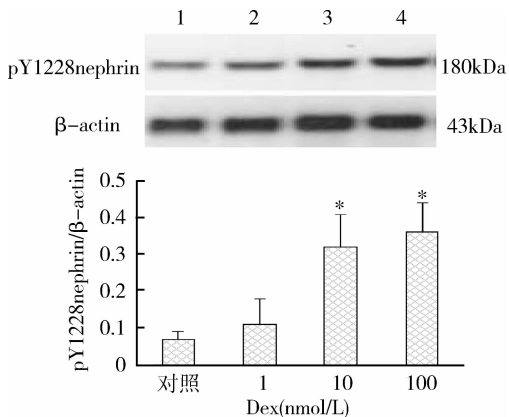


图 1 不同 Dex 浓度与足细胞培养 24h 的 pY1228nephrin 的表达

1. 对照组;2. 1nmol/L 组;3. 10nmol/L 组;4. 100nmol/L 组;与对照组相比, * $P < 0.05, n = 5$

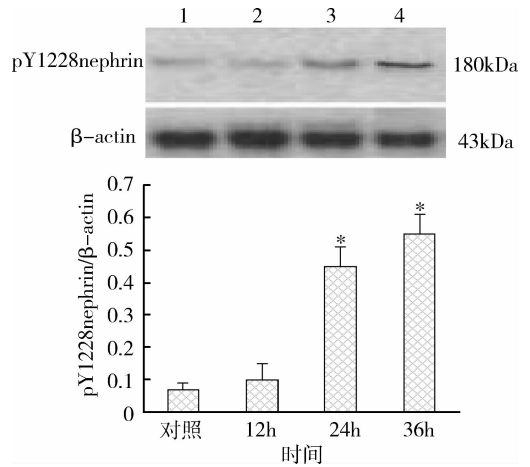


图 2 100nmol/L Dex 浓度与足细胞培养不同时间 pY1228 nephrin 的表达

1. 对照组;2. 12h 组;3. 24h 组;4. 36h 组;与对照组相比, * $P < 0.05, n = 5$

2. 糖皮质激素受体拮抗剂 (RU - 486) 对 Dex 诱导 nephrin 磷酸化水平的影响:Dex (100nmol/L) 与足细胞培养 24h 明显诱导 nephrin 磷酸化,这种效应可被糖皮质激素受体拮抗剂 RU - 486 (1 μ mol/L) 所抑制,而不被 1 μ mol/L 盐皮质激素受体拮抗剂 RU - 26752 所抑制(图 3)。与对照组相比,Dex 明显增加 nephrin 的磷酸化水平 ($P < 0.05$),而 RU - 486 明显抑制 Dex 诱导 nephrin 磷酸化效应 ($P > 0.05$),RU - 486 组较 Dex 组 nephrin 的磷酸化水平明显降低,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 Dex 及 RU - 26752 组相比,RU - 26752 组 nephrin 磷酸化水平明显升高 ($P < 0.05$),但与 Dex 组相比,不影响 Dex 诱导 nephrin 磷酸化效应 ($P > 0.05$,图 3)。

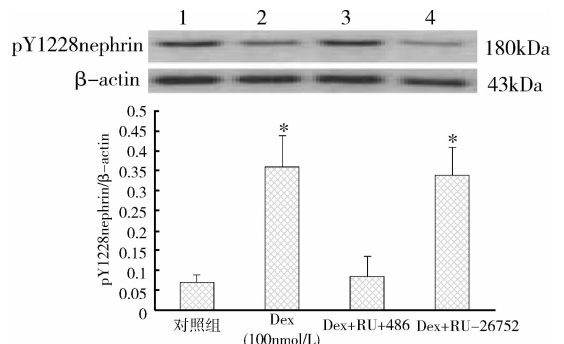


图 3 糖皮质激素受体拮抗剂 (RU - 486) 和盐皮质激素受体拮抗剂 (RU - 26752) 对 Dex 诱导 nephrin 磷酸化水平的影响

1. 对照组;2. Dex 组;3. Dex + RU - 486 组;4. RU - 26752 组;与对照组及 Dex + RU - 486 组相比, * $P < 0.05, n = 5$ 。以上 Dex 浓度均为 100nmol/L,RU - 486、RU - 26752 浓度均为 1 μ mol/L,均与足细胞培养 24h

3. siRNA 沉默 Nck 或 Fyn 对 Dex 诱导 nephrin 磷酸化的影响: 100nmol/L Dex 与足细胞一起培养, 分别加特异性 siRNA 沉默 Nck 或 Fyn, 培养 24h。Dex 明显诱导 nephrin 磷酸化, 特异性 siRNA 沉默 Nck, 可部分抑制 Dex 诱导 nephrin 磷酸化增加, 与 Dex 组相比, Dex + Nck - siRNA 组 nephrin 磷酸化水平下降 22.2% ($P < 0.05$)。特异性 siRNA 沉默 Fyn 则完全抑制 Dex 诱导 nephrin 磷酸化, 特异性 siRNA 沉默 Nck 及 Fyn, 亦完全抑制 Dex 诱导 nephrin 磷酸化(图 4)。

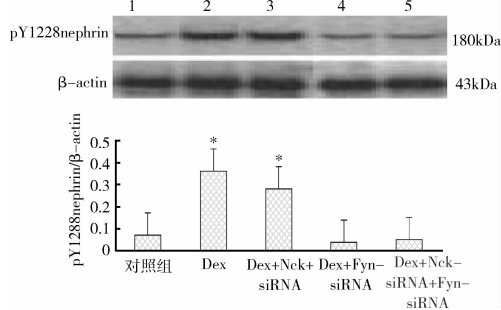


图 4 siRNA 沉默 Nck 及 Fyn 降低 Dex 诱导 nephrin 磷酸化

1. 对照组; 2. Dex 组; 3. Dex + Nck - siRNA 组; 4. Dex + Fyn - siRNA 组; 5. Dex + Nck - siRNA + Fyn - siRNA 组; 与对照组、Dex + Fyn - siRNA 组及 Dex + Nck - siRNA + Fyn - siRNA 组相比, * $P < 0.05$, $n = 5$ 。以上 Dex 浓度均为 100nmol/L, siRNA 沉默 Nck 和 (或) Fyn 均与足细胞培养 24h

讨 论

nephrin 是裂孔隔膜上的重要分子, 相邻足细胞足突之间通过 nephrin 相互连接, 形成拉链样结构, 阻止白蛋白滤出, 其不仅是一种黏附分子, 而且具有信号转导功能。最近研究发现, nephrin 磷酸化在维持其足细胞的生理功能上起重要作用^[7]。nephrin 胞内段可被 Src 家族激酶 Fyn 磷酸化, 磷酸化后的 nephrin 能招募含 SH2 结构的蛋白分子(如 Nck 等), 并与其结合, 进一步调节足细胞凋亡信号或骨架肌动蛋白重组等^[8]。因此, 足细胞 nephrin 磷酸化是维持正常肾小球滤过屏障的重要开关。

地塞米松是治疗原发性肾小球疾病的常见药物, 但其减轻蛋白尿的机制尚不十分明确, 其对 nephrin 磷酸化的调节作用知之甚少。有研究显示, 在正常情况下体内 nephrin 在 Y1204 和 Y1228 位点磷酸化均表明, 在嘌呤霉素肾病(PAN)和人类微小病变肾病时这两位点磷酸化相类似减少, 在 PAN 肾病模型中, 这种减少在大量蛋白尿之前出现^[9]。因检测 Y1228 位点磷酸化较 Y1204 位点更敏感, 故本研究应用抗

Y1228 抗体检测 nephrin 的磷酸化水平。本研究结果显示, Dex 作用的 12h 未能使 nephrin 磷酸化明显增加, 而在 24、36h nephrin 磷酸化增加。低浓度(0、1nmol/L) nephrin 磷酸化不明显, 而 10、100nmol/L Dex 使 nephrin 磷酸化明显增加, 提示糖皮质激素增加 nephrin 的磷酸化与其浓度及作用时间有关。本研究进一步表明, Dex 诱导 nephrin 磷酸化增加可被糖皮质激素受体阻断剂 RU - 486 所阻断, 而不被盐皮质激素受体阻断剂 RU - 26752 所阻断, 表明 Dex 诱导 nephrin 磷酸化是通过与糖皮质激素受体结合的基因组作用方式实现, 而不是通过非受体的非基因组作用方式来实现, 与 Ohashi 等^[10]报道相一致。

在对足细胞 Nck 或 Fyn 特异性敲除小鼠模型的研究中发现, 足细胞失去正常的足突间连接结构, 并出现大量蛋白尿^[11,12]。磷酸化 nephrin 能与适配蛋白 Nck 结合, 调节肌动蛋白微丝重组。本研究结果显示, siRNA 抑制 Nck 或 Fyn, 前者可部分抑制 Dex 诱导 nephrin 磷酸化增加, 后者完全抑制 Dex 诱导 nephrin 磷酸化, 提示 Fyn 在 nephrin 磷酸化过程中的核心地位, 而 Nck 可能参与调节 nephrin 磷酸化。与既往报道的在足细胞脂筏结构中, Nck 的 SH3 区与 Fyn 结合激活 Fyn, 形成正反馈, Fyn 活性增加导致毗邻的 nephrin 分子多个酪氨酸残基磷酸化相一致^[13]。

综上所述, 本研究结果提示 Dex 与其受体结合促进 nephrin 的磷酸化, 对激素治疗肾小球性蛋白尿机制有了进一步理解, 但控制 nephrin 磷酸化的最佳水平及药物对 nephrin 磷酸化的影响, 将是未来需要进一步阐明的问题。

参 考 文 献

- 1 Fan X, Li Q, Pisarek - Horowitz A, *et al.* Inhibitory effects of Robo2 on nephrin: a crosstalk between positive and negative signals regulating podocyte structure[J]. Cell Rep, 2012, 2(1):52 - 61
- 2 Zhang Y, Yoshida Y, Nameta M, *et al.* Glomerular proteins related to slit diaphragm and matrix adhesion in the foot processes are highly tyrosine phosphorylated in the normal rat kidney[J]. Nephrol Dial Transplant, 2010, 25(6):1785 - 1795
- 3 Bertuccio C, Veron D, Aggarwal PK, *et al.* Vascular endothelial growth factor receptor 2 direct interaction with nephrin links VEGF - A signals to actin in kidney podocytes[J]. J Biol Chem, 2011, 286(46):39933 - 39944
- 4 Jones N, Blasutig IM, Eremina V, *et al.* Nck adaptor proteins link nephrin to the actin cytoskeleton of kidney podocytes[J]. Nature, 2006, 440(7085):818 - 823
- 5 Liu H, Gao X, Xu H, *et al.* α - Actinin - 4 is involved in the

process by which dexamethasone protects actin cytoskeleton stabilization from adriamycin - induced podocyte injury[J]. *Nephrology:Carlton*, 2012, 17(8):669 - 675

6 邹敏书, 余健, 聂国明, 等. 地塞米松抑制肾小球上皮间质转化[J]. *医学研究杂志*, 2011, 40(12):77 - 80

7 任志龙, 梁伟, 丁国华, 等. 血管紧张素 II 对足细胞 nephrin 磷酸化水平的影响[J]. *中华肾脏病杂志*, 2012, 28(8):622 - 627

8 Welsh GI, Saleem MA. Nephrin - signature molecule of the glomerular podocyte? [J]. *J Pathol*, 2010, 220(3):328 - 337

9 Uchida K, Suzuki K, Iwamoto M, *et al.* Decreased tyrosine phosphorylation of nephrin in rat and human nephrosis [J]. *Kidney Int*, 2008, 73(8):926 - 932

10 Ohashi T, Uchida K, Uchida S, *et al.* Dexamethasone increases the

phosphorylation of nephrin in cultured podocytes[J]. *Clin Exp Nephrol*, 2011, 15(5):688 - 693

11 Jones N, New LA, Fortino MA, *et al.* Nck proteins maintain the adult glomerular filtration barrier[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20(7):1533 - 1543

12 Azhibekov TA, Wu Z, Padiyar A, *et al.* TM4SF10 and ADAP interaction in podocytes; role in Fyn activity and nephrin phosphorylation [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2011, 301(6):C1351 - 1359

13 New LA, Keyvani Chahi A, Jones N, *et al.* Direct regulation of nephrin tyrosine phosphorylation by Nck adaptor proteins [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(3):1500 - 1510

(收稿日期:2013 - 07 - 28)

(修回日期:2013 - 08 - 26)

1,25 - 二羟维生素 D₃ 联合塞来昔布对胃癌细胞株 SGC - 7901 凋亡的影响

彭昌能 李国庆 谷 苗

摘要 目的 本研究探讨 1,25 - 二羟维生素 D₃ (1 alpha,25 - dihydroxy vitamin D₃, VitD₃)联合塞来昔布 (CELE)对胃癌细胞株 SGC - 7901 凋亡诱导作用及 Bcl - 2、Bax 蛋白表达的影响,探讨其联合应用是否具有协同抗胃癌作用,并初步探讨 VitD₃ 与 CELE 联合应用抗胃癌的可能作用机制,为临床制定合理的联合化疗方案,寻求最佳治疗效果提供理论依据。**方法** 体外培养胃癌细胞 SGC - 7901 至指数生长期,加入一定浓度的 CELE、VitD₃ 及 CELE 和 VitD₃,作用 48h 后,采用吖啶橙染色观察细胞凋亡,Western blot 法检测 Bcl - 2、Bax 蛋白的表达变化,分析两种药物对胃癌细胞 SGC - 7901 的增殖、凋亡及相关基因表达的影响。**结果** 吖啶橙染色观察细胞凋亡从形态学上证实了 VitD₃ 和 CELE 对胃癌细胞的诱导凋亡作用,且两药联合增强诱导凋亡作用;VitD₃、CELE 及二者联合应用均显著抑制 SGC - 7901 细胞 Bcl - 2 蛋白的表达、促进 Bax 蛋白的表达 ($P < 0.05$),联合用药组与单一用药组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** VitD₃ 和 CELE 可诱导胃癌 SGC - 7901 细胞凋亡,其凋亡机制之一可能为通过抑制 Bcl - 2、并促进 Bax 的表达,从而改善 Bcl - 2/Bax 的平衡实现的。两者联合应用对胃癌细胞 SGC - 7901 诱导凋亡具有协同作用。

关键词 VitD₃ CELE 胃癌 凋亡

[中图分类号] R735 [文献标识码] A

Effects of 1,25 - dihydroxyvitamin D₃ and Celebrex on Aapoptosis of Gastric Cancer Cell Line SGC - 7901. Peng Changneng, Li Guoqing, Gu Miao. *Chenzhou No. 1 People's Hospital, Hunan 423000, China*

Abstract Objective This study explores the 1,25 - dihydroxyvitamin D₃ combined with celecoxib (CELE) on apoptosis and expression of Bcl - 2, Bax protein in gastric cancer cell line SGC - 7901 and to explore whether the combination of synergistic anti - cancer effect and to explore the possible mechanism of the combined application of VitD₃ and CELE against gastric cancer. It is seeking to provide a theoretical basis for optimal therapeutic effect for the clinical development of rational combination chemotherapy. **Methods** To culture gastric cancer cells SGC - 7901 in vitro to the exponential growth phase, adding a certain concentration CELE, VitD₃ and CELE and VitD₃. 48 h after, acridine orange staining was used to observe the cell apoptosis and Western blot was used to detect the expression of Bcl - 2, Bax protein. The effects of two drugs on gastric cancer SGC - 7901 cells apoptosis and related gene expression were analyzed. **Results** Apoptotic cells were observed in morphology confirmed the effect of apoptosis induced by VitD₃ and CELE in gastric carcinoma cells

作者单位:423000 湖南省郴州市第一人民医院消化内科(彭昌能);南华大学附属第二医院消化内科(谷苗)

通讯作者:李国庆,电子邮箱:ligq1970@yahoo.com