

PD98059联合紫杉醇对人胃印戒细胞癌细胞增殖和凋亡的影响[△]

赛福丁·柯尤木*,布力布·吉力斯汉,马兰英,李娜,阿布拉江·塔依尔,刘翠云,舍玲,唐勇[#](新疆医科大学附属肿瘤医院消化内科,乌鲁木齐 830011)

中图分类号 R735.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)06-0703-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.06.13

摘要 目的:探讨丝裂原激活蛋白激酶/细胞外信号调节激酶(MEK/ERK)通路特异性抑制剂PD98059联合紫杉醇对人胃印戒细胞癌细胞增殖和凋亡的影响。方法:以人胃印戒细胞癌KATO III细胞为对象,采用CCK-8法检测紫杉醇、PD98059以及两药联合作用48 h后的细胞增殖情况,并计算增殖抑制率;采用流式细胞术、Western blotting、Transwell法分别检测紫杉醇、PD98059以及两药联合作用48 h或24 h后的细胞凋亡、凋亡相关蛋白[分裂型胱天蛋白酶3(Cleaved-caspase-3)]表达和细胞迁移情况。结果:经紫杉醇(1 μg/mL)、PD98059(5、20、40 μmol/L)以及两药(1 μg/mL+5、20、40 μmol/L)联合作用后,各给药组细胞的增殖抑制率均显著升高,且联用组显著高于紫杉醇、PD98059同剂量单用组($P<0.05$)。经紫杉醇(1 μg/mL)、PD98059(40 μmol/L)以及两药(1 μg/mL+40 μmol/L)联合作用后,紫杉醇组和两药联用组细胞的早期、晚期凋亡率以及Cleaved-caspase-3蛋白的表达量均显著升高,且联用组显著高于紫杉醇、PD98059单用组($P<0.05$);各给药组的细胞迁移数均显著减少,且联用组显著少于紫杉醇、PD98059单用组($P<0.05$)。结论:紫杉醇、PD98059均可抑制人胃印戒细胞癌KATO III细胞的增殖和迁移,且紫杉醇还可促进该细胞的凋亡及凋亡相关蛋白的表达,上述作用可能与抑制MEK/ERK通路有关。两药联用的效果优于紫杉醇或PD98059单用。

关键词 人胃印戒细胞癌;紫杉醇;PD98059;增殖;凋亡;凋亡相关蛋白;迁移;丝裂原激活蛋白激酶/细胞外信号调节激酶通路;KATO III细胞

Effects of PD98059 Combined with Paclitaxel on Cell Proliferation and Apoptosis of Human Gastric Signet Ring Cell Carcinoma Cells

Saifuding · Keyoumu, Bulibu · Jilishan, MA Lanying, LI Na, Abulajiang · Tayier, LIU Cuiyun, SHE Ling, TANG Yong (Dept. of Digestive System, the Affiliated Tumor Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the effects of MEK/ERK pathway specific inhibitor PD98059 combined with paclitaxel on the proliferation and apoptosis of human gastric signet ring cell carcinoma (SRCC) cells. METHODS: Using human SRCC KATO III cells as object, CCK-8 assay was used to detect cell proliferation after treated with paclitaxel, PD98059 and two drug combination for 48 h, and the proliferation rate was calculated. Flow cytometry, Western blotting and Transwell assay were used to detect the cell proliferation, the expression of apoptosis related protein (Cleaved-caspase-3) and cell migration after treated with paclitaxel, PD98059 and two drug combination for 48 or 24 h. RESULTS: After treated with paclitaxel (1 μg/mL), PD98059 (5, 20, 40 μmol/L) and two drug combination (1 μg/mL+5, 20, 40 μmol/L), the proliferation rate of cells was increased significantly in administration groups, and the combination groups were significantly higher than paclitaxel and PD98059 alone groups ($P<0.05$). After treated with paclitaxel (1 μg/mL), PD98059 (5, 20, 40 μmol/L) and two drug combination (1 μg/mL+40 μmol/L), early and late apoptosis rate, the protein expression of Cleaved-caspase-3 were significantly increased in paclitaxel group and combination group; combination group was significantly higher than paclitaxel and PD98059 alone group ($P<0.05$). The number of migrated cells in administration groups were reduced significantly, and the combination group was significantly lower than paclitaxel and PD98059 alone group ($P<0.05$). CONCLUSIONS: Paclitaxel and PD98059 can inhibit the proliferation and migration of human SRCC KATO III cells, paclitaxel can also promote the apoptosis and the expression of apoptosis related protein, which may be related to the inhibition of MEK/ERK pathway. The effect of the combination of the two drugs is better than paclitaxel or PD98059 alone.

KEYWORDS Human gastric signet ring cell carcinoma; Paclitaxel; PD98059; Proliferation; Apoptosis; Apoptosis related protein; Migration; MEK/ERK pathway; KATO III cells

[△] 基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目(No.2016-D01C362)

* 副主任医师,硕士。研究方向:消化系统肿瘤诊治。电话:0991-7819112。E-mail:592996737@qq.com

[#] 通信作者:主任医师,硕士生导师。研究方向:消化系统肿瘤诊治。电话:0991-7819116。E-mail:ae717ty@qq.com

胃印戒细胞癌是基于微观组织形态学分型的一种特殊病理类型的胃癌,其镜检可见肿瘤细胞胞质丰富、充满黏液,细胞核被挤压于胞质一侧呈“印戒”样^[1-2]。近年来,随着幽门螺旋杆菌根治术的应用,胃癌的发病率虽有所下降,但胃印戒细胞癌的发病率却有所上升,占

胃癌总发病率的8%~30%^[1-3];同时有报道指出,与非印戒细胞癌相比,胃印戒细胞癌多发于年轻女性^[4]。目前,胃印戒细胞癌的临床治疗主要以手术及化疗为主,但胃印戒细胞癌患者对化疗药物不敏感,且肿瘤细胞一旦突破黏膜下层,则极易发生转移,导致患者预后不佳^[5]。PD98059是一种丝裂原激活蛋白激酶激酶/细胞外信号调节激酶(MEK/ERK)通路的特异性抑制剂,能有效阻止MEK对ERK的磷酸化,阻滞细胞内相关通路信号的转导,从而影响肿瘤细胞增殖、分化、凋亡等一系列生物反应^[6]。紫杉醇作为一种天然植物来源的抗癌药物,广泛应用于包括胃癌在内的多种肿瘤的临床治疗,其单药有效率达20%~40%,但随着作用时间的延长,靶癌细胞产生的分子学抵抗限制了该药抗癌作用的发挥^[7-8]。有研究指出,PD98059与紫杉醇等其他抗肿瘤药物联用可增强后者的抗癌效果^[9];且本课题组前期研究也有类似发现。基于此,本研究拟通过分析PD98059联合紫杉醇对人胃印戒细胞癌细胞增殖和凋亡的影响,初步探讨联合用药的抗癌效果,旨在为胃印戒细胞癌的治疗提供新的靶点和思路。

1 材料

1.1 仪器

FORM 361型细胞培养箱、MK2型酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific公司);Accuri C6型流式细胞仪(美国BD公司);Mini-Protean型蛋白电泳系统(美国Bio-Rad公司);5200型全自动化学发光图像分析系统(上海天能科技有限公司);Ti-E型显微镜(日本Nikon公司);5702型常温离心机(德国Eppendorf公司)。

1.2 药品与试剂

紫杉醇对照品(北京索莱宝科技有限公司,批号:IP0020,纯度:>98%);PD98059对照品(美国MCE公司,批号:12764,纯度:99.33%);IMDM培养基、胎牛血清、胰酶(美国Gibco公司,批号分别为8228124、41G3332K、1730153);Transwell测试盒(美国Corning公司,批号:27113030);CCK-8试剂盒、含磷酸酶抑制剂的RIPA裂解液、BCA蛋白定量试剂盒、蛋白上样缓冲液、聚丙烯酰胺凝胶配胶试剂盒、结晶紫染色试剂(上海碧云天生物科技有限公司,批号分别为C0038、P0013B、P0010、P0015L、P0012AC、C0121);膜联蛋白V-硫氰酸荧光素/碘化丙啶(Annexin V-FITC/PI)凋亡检测试剂盒(美国Invitrogen公司,批号:1753025);山羊抗兔分裂型胱天蛋白酶3(Cleaved-caspase-3)抗体、山羊抗兔甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG二抗(美国CST公司,批号分别为12/2017、10/2017、06/2017);ECL发光试剂盒(美国Millipore公司,批号:1722003);其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

1.3 细胞

人胃印戒细胞癌细胞株KATO III由中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库提供。

2 方法

2.1 细胞培养

将胃印戒细胞癌KATO III细胞解冻、复苏并接种至含有10%胎牛血清的IMDM培养基(以下简称“完全培养基”)中,于5%CO₂、37℃条件(下同)下培养,约3d传代1次,取对数生长期的细胞进行后续试验。

2.2 细胞增殖情况

采用CCK-8法检测。取对数生长期的KATO III细胞,经胰酶消化后,将其用完全培养基调整至5×10⁴个/mL,按100μL/孔接种至96孔板中,培养24h,将细胞随机分为对照组、紫杉醇组(1μg/mL)、PD98059低、中、高剂量组(5、20、40μmol/L)以及紫杉醇+PD98059联用组(1μg/mL紫杉醇分别与5、20、40μmol/L PD98059联用),各给药组剂量参考本课题组前期预试验结果设置,每组设3个复孔。对照组加入完全培养基100μL,各给药组加入含相应药物的完全培养基100μL,继续培养48h。弃去培养基,每孔加入CCK-8试剂10μL,培养1h后,使用酶标仪于450nm波长处检测各孔光密度(OD)值,并计算细胞增殖抑制率:增殖抑制率=[(对照组细胞平均OD值-试验组细胞平均OD值)/对照组细胞平均OD值]×100%。上述试验重复3次(下同)。

2.3 细胞凋亡情况

采用流式细胞术检测。取对数生长期的KATO III细胞,经胰酶消化后,将其用完全培养基调整至5×10⁶个/mL,按100μL/孔接种至6孔板中,培养24h,将细胞随机分为对照组、紫杉醇组(1μg/mL)、PD98059组(40μmol/L)和紫杉醇+PD98059联用组(1μg/mL+40μmol/L),各给药组剂量参考“2.2”项下结果设置,每组设3个复孔。对照组加入完全培养基2mL,各给药组加入含相应药物的完全培养基2mL,继续培养48h。收集细胞,以800r/min离心5min,弃去上清液,用磷酸盐缓冲液(PBS,pH7.4)清洗3次。随后用PBS调整细胞密度至1×10⁶个/mL,取上述细胞悬液1L,以800r/min离心5min,弃去上清液,沉淀加入Annexin V-FITC结合液195μL,轻轻重悬,然后依次加入Annexin V-FITC染色液5μL和PI染色液10μL,轻轻混匀,于冰浴中染色20min后,采用流式细胞仪检测细胞凋亡情况,并使用Excel 2007软件计算各组细胞的早期、晚期凋亡率。

2.4 相关凋亡蛋白表达水平

采用Western blotting法检测。取对数生长期的KATO III细胞,经胰酶消化后,将其用完全培养基调整至5×10⁶个/mL,按100μL/孔接种至6孔板中,培养24h,按“2.3”项下方法分组,每组设3个复孔。对照组加入完全培养基2mL,各给药组加入含相应药物的完全培养基2mL,继续培养48h。弃去培养基,用常温PBS清洗3次,每孔加入含磷酸酶抑制剂的RIPA裂解液100μL,冰上裂解20min,收集细胞裂解液,于4℃下以12000r/min离

心 30 min, 收集上清液, 采用 BCA 法测定蛋白浓度。上清液经蛋白上样缓冲液稀释后, 于 100 °C 下变性 5 min。取变性后的蛋白适量, 进行 12% 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 随后转移至聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜上, 以 5% 脱脂奶粉于室温下封闭 1 h; 分别加入 Cleaved-caspase-3、GAPDH 一抗 (稀释度均为 1:1 000), 4 °C 孵育过夜, 用 TBST 溶液清洗 5 min×3 次; 随后加入相应二抗 (稀释度为 1:1 000), 室温孵育 1 h, 用 TBST 溶液清洗 5 min×3 次, 经 ECL 显色后, 置于化学发光图像分析系统上成像并采用 Image J v1.8.0 软件分析, 以相应蛋白与内参 GAPDH 的灰度值比值表示该蛋白的表达量。

2.5 细胞迁移能力

采用 Transwell 法检测。取对数生长期的 KATO III 细胞, 经胰酶消化后, 将其用完全培养基调整至 1×10^6 个/mL, 取上述细胞悬液 100 μ L 置于 Transwell 小室上层, 下层加入完全培养基 600 μ L, 培养 24 h。将细胞按“2.3”项下方法分组, 每组设 3 个复孔。弃去培养基, 对照组上、下层分别加入无血清的 IMDM 培养基 100 μ L 和完全培养基 600 μ L, 各给药组上、下层分别加入含相应药物的无血清 IMDM 培养基 100 μ L 和完全培养基 600 μ L, 继续培养 48 h。弃去上、下层培养基, 用棉签擦拭未穿过小室底层的细胞, 用 PBS 清洗 2 次, 以 4% 多聚甲醛溶液固定 20 min; 用 PBS 清洗 3 次, 以结晶紫染色 15 min, 用水清洗后, 使用显微镜观察, 每孔取 5 个视野, 拍照并记录染色细胞数 (染色后, 发生迁移的细胞呈紫色), 取平均值作为检测结果。

2.6 统计学方法

采用 SPSS 16.0 软件对数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 PD98059 联合紫杉醇对 KATO III 细胞增殖的影响

与对照组比较, 各给药组细胞的增殖抑制率均显著升高 ($P < 0.05$), 且该抑制率有随 PD98059 剂量增加而升高的趋势; 同时, 两药联用组的抑制率均显著高于紫杉醇、PD98059 同剂量单用组 ($P < 0.05$), 详见表 1。由于 40 μ mol/L PD98059 对细胞的抑制率接近 50%, 且紫杉醇与该剂量的 PD98059 联用作用更强, 故选取 40 μ mol/L 作为后续试验 PD98059 的剂量。

3.2 PD98059 联合紫杉醇对 KATO III 细胞凋亡的影响

与对照组比较, 紫杉醇组和紫杉醇+PD98059 联用组细胞的早期、晚期凋亡率均显著升高, 且联用组显著高于紫杉醇、PD98059 单用组 ($P < 0.05$), 详见图 1、表 2。

3.3 PD98059 联合紫杉醇对 KATO III 细胞凋亡蛋白表达的影响

与对照组比较, 紫杉醇组和紫杉醇+PD98059 联用组细胞 Cleaved-caspase-3 的表达量均显著升高, 且联用

表 1 PD98059 联合紫杉醇对 KATO III 细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effects of PD98059 combined with paclitaxel on the proliferation of KATO III cells ($\bar{x} \pm s$)

组别	抑制率, %	组别	抑制率, %
对照组	0	PD98059 40 μ mol/L 组	54.95 \pm 0.44 [*]
紫杉醇 1 μ g/mL 组	35.02 \pm 0.27 [*]	紫杉醇 1 μ g/mL+PD98059 5 μ mol/L 组	39.09 \pm 0.57 ^{**#}
PD98059 5 μ mol/L 组	21.54 \pm 1.10 [*]	紫杉醇 1 μ g/mL+PD98059 20 μ mol/L 组	46.06 \pm 0.54 ^{**#}
PD98059 20 μ mol/L 组	37.04 \pm 0.53 [*]	紫杉醇 1 μ g/mL+PD98059 40 μ mol/L 组	62.71 \pm 0.35 ^{**#}

注: 与对照组比较, $^*P < 0.05$; 与紫杉醇 1 μ g/mL 组比较, $^{\#}P < 0.05$; 与 PD98059 同剂量单用组比较, $^{\Delta}P < 0.05$

Note: vs. control group, $^*P < 0.05$; vs. paclitaxel 1 μ g/mL group, $^{\#}P < 0.05$; vs. the same dose of PD98059 alone group, $^{\Delta}P < 0.05$

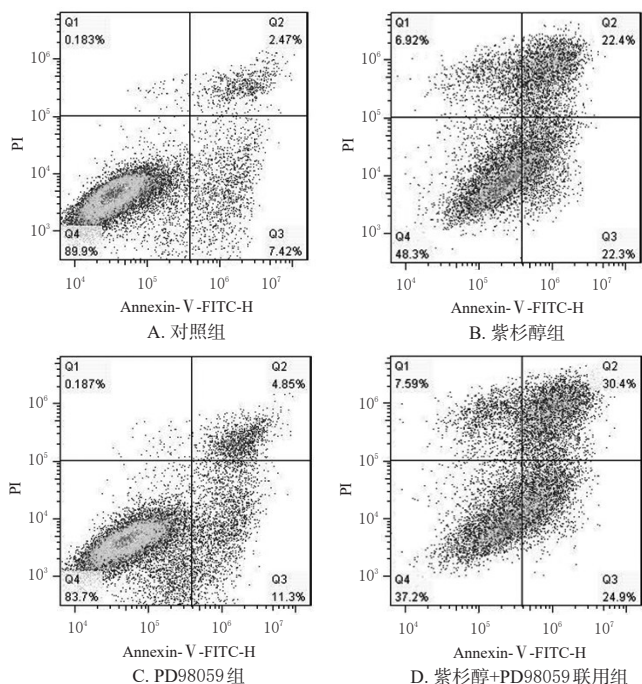


图 1 PD98059 联合紫杉醇对 KATO III 细胞凋亡影响的流式细胞图

Fig 1 Flow cytometries of PD98059 combined with paclitaxel on the apoptosis of KATO III cells

表 2 PD98059 联合紫杉醇对 KATO III 细胞凋亡率、凋亡蛋白表达以及迁移能力的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effects of PD98059 combined with paclitaxel on the apoptosis rate, the expression of apoptosis related protein and the migration ability of KATO III cells ($\bar{x} \pm s$)

组别	凋亡率, %		凋亡蛋白	迁移细胞, 个
	早期凋亡率	晚期凋亡率	Cleaved-caspase-3	
对照组	5.74 \pm 2.52	4.88 \pm 0.58	0.43 \pm 0.03	132.33 \pm 10.97
紫杉醇组	22.01 \pm 1.53 [*]	23.96 \pm 2.00 [*]	1.10 \pm 0.16 [*]	107.33 \pm 10.69 [*]
PD98059 组	9.56 \pm 1.53	5.95 \pm 1.00	0.45 \pm 0.03	86.67 \pm 9.61 [*]
紫杉醇+PD98059 联用组	25.93 \pm 1.00 ^{**#}	31.43 \pm 1.15 ^{**#}	1.49 \pm 0.10 ^{**#}	68.33 \pm 6.67 ^{**#}

注: 与对照组比较, $^*P < 0.05$; 与紫杉醇单用组比较, $^{\#}P < 0.05$; 与 PD98059 单用组比较, $^{\Delta}P < 0.05$

Note: vs. control group, $^*P < 0.05$; vs. paclitaxel alone group, $^{\#}P < 0.05$; vs. PD98059 alone group, $^{\Delta}P < 0.05$

组显著高于紫杉醇、PD98059 单用组 ($P < 0.05$), 详见图 2、表 2。

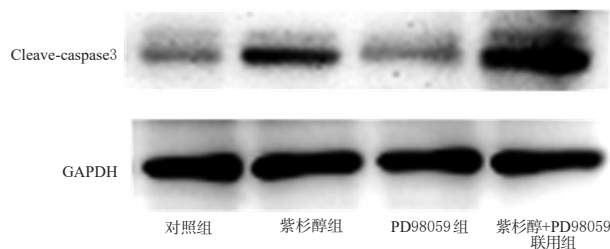


图 2 PD98059 联合紫杉醇对 KATO III 细胞凋亡蛋白表达影响的电泳图

Fig 2 Electrophoretograms of the effects of PD98059 combined with paclitaxel on the expression of apoptosis related protein of KATO III cells

3.4 PD98059 联合紫杉醇对 KATO III 细胞迁移能力的影响

与对照组比较, 各给药组的迁移细胞数均显著减少, 且联用组显著少于紫杉醇、PD98059 单用组 ($P < 0.05$), 详见图 3、表 2。

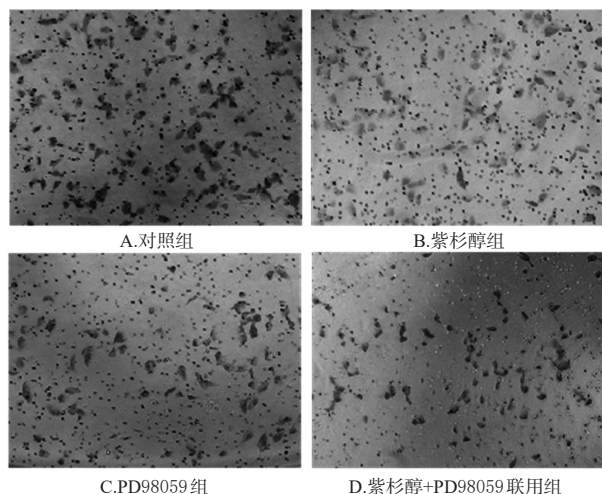


图 3 PD98059 联合紫杉醇对 KATO III 细胞迁移能力影响的显微图 ($\times 200$)

Fig 3 Micrographs of the effects of PD98059 combined with paclitaxel on the migration ability of KATO III cells ($\times 200$)

4 讨论

紫杉醇是最常见的作为配伍使用的化疗药物, 其可通过结合微管蛋白来诱导有功能障碍的有丝分裂纺锤体的形成, 从而使细胞周期阻滞在 G₂/M 期, 最终导致肿瘤细胞凋亡^[10-11]。本研究结果显示, 紫杉醇组细胞的增殖抑制率、早期及晚期凋亡率均较对照组显著升高, 迁移细胞数均较对照组显著减少, 提示紫杉醇对人胃印戒细胞癌 KATO III 细胞的增殖和迁移均有明显的抑制效果, 同时亦可促进肿瘤细胞的凋亡。但相关研究指出, 紫杉醇虽然可在临床上有效抑制肿瘤细胞的增殖并促进其凋亡, 但在胃印戒细胞癌等胃癌的治疗上疗效欠

佳, 可能与胃癌细胞对紫杉醇的敏感性较差和频发的耐药有关^[8, 11-12]。

丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 参与了细胞内多条信号通路的调节, 在多种肿瘤的发生、发展过程中发挥着重要的作用。ERK 是 MAPK 家族中的重要成员, 含有 Tyr、Thr 两个磷酸化位点, 当上游分子 MEK 将其磷酸化后, ERK 被激活, 活化的 ERK 可进一步调节细胞的增殖、分化、凋亡和衰老等多种生物学过程^[13-14]。PD98059 是一种非底物依赖性的 MEK/ERK 通路竞争抑制剂。相关研究表明, 该药可通过阻止 MEK 对 ERK 的磷酸化, 从而发挥对卵巢癌^[15]、肝癌^[16]等多种肿瘤的治疗作用, 且具有一定的剂量依赖性, 但该药在胃印戒细胞癌治疗中的应用尚鲜有报道。Li Y 等^[9]研究发现, 紫杉醇与 PD98059 联用能明显增强紫杉醇对结肠癌细胞的抑制、杀伤能力。同时本课题组前期预试验结果显示, 不同剂量 (1、5、20、40、80、160 $\mu\text{mol/L}$) 的 PD98059 对胃印戒细胞癌细胞的增殖均有抑制作用, 且药物剂量越大, 抑制作用亦越强; 当 PD98059 与紫杉醇联用时, 这种抑制作用更强。基于此, 本研究考察了 PD98059 联合紫杉醇对人胃印戒细胞癌 KATO III 细胞增殖、凋亡、迁移的影响。

CCK-8 试验结果显示, 各给药组细胞的增殖抑制率均较对照组显著升高, 且两药联用组的抑制率显著高于紫杉醇、PD98059 同剂量单用组; 同时, 20 $\mu\text{mol/L}$ PD98059 的抑制作用与 1 $\mu\text{g/mL}$ 紫杉醇相当, 且抑制率有随 PD98059 剂量增加而升高的趋势。由此可见, 两药联用对细胞增殖的抑制作用明显优于紫杉醇、PD98059 单独使用, 这可能与 PD98059 对细胞增殖的抑制主要是作用于 G₁ 期, 将细胞周期阻滞在 G₀/G₁ 期^[17], 而紫杉醇则主要是将细胞周期阻滞在 G₂/M 期^[10-11] 有关。

有研究指出, 减少细胞凋亡信号通路中 ERK 的磷酸化能有效抑制胱天蛋白酶 9 (Caspase-9) 的表达, 从而发挥减少细胞凋亡的作用, 因此抑制 MEK/ERK 通路常作为诱导肿瘤凋亡的靶点^[18]。Caspase-9 作为凋亡通路的启动者, 在收到上游信号后, 可通过自剪接而激活, 随后引发 Caspase 的级联反应。Caspase-3 作为 Caspase-9 的响应分子之一, 在被 Caspase-9 激活后, 其可通过剪切产生活性 Cleaved-caspase-3, 后者可直接降解细胞内的结构蛋白和功能蛋白, 从而诱导细胞凋亡^[18-19]。本研究通过流式细胞术和 Western blotting 法分别检测了 KATO III 细胞的凋亡情况和凋亡蛋白 Cleaved-caspase-3 的表达水平。结果显示, 与对照组比较, 紫杉醇组和紫杉醇 + PD98059 联用组细胞的早期、晚期凋亡率和 Cleaved-caspase-3 的相对表达量均显著升高, 且联用组显著高于紫杉醇、PD98059 单用组; 而虽 PD98059 有增加细胞凋亡和凋亡蛋白表达的趋势, 但组间比较差异均无统计学意义。这提示 PD98059 单独使用时, 对胃印戒细胞癌细胞

的促凋亡作用并不明显;而当该药与紫杉醇联用时,则可明显促进细胞的凋亡,提高相关凋亡蛋白的表达水平,并可同时增强紫杉醇对KATO III细胞的促凋亡作用,其机制可能与PD98059通过抑制MEK/ERK通路从而增强细胞对紫杉醇的敏感性有关^[20]。

本研究进一步通过Transwell法检测了PD98059联合紫杉醇对KATO III细胞迁移能力的影响。结果显示,各给药组的迁移细胞数均较对照组显著减少,且联用组显著少于紫杉醇、PD98059单用组。这提示两种药物均可抑制KATO III细胞的迁移,其中紫杉醇可通过降低相关细胞机能、PD98059可通过抑制ERK磷酸化来减少基质金属蛋白酶2等的表达,从而发挥迁移抑制作用^[21]。与此同时,两药联用的抑制作用强于任一药物单用,笔者推测这可能与两药效果叠加有关。

综上所述,紫杉醇和PD98059均可抑制人胃印戒细胞癌KATO III细胞的增殖和迁移,且紫杉醇还可促进该细胞的凋亡及凋亡相关蛋白的表达,上述作用可能与抑制MEK/ERK通路有关;两药联用的效果明显优于紫杉醇或PD98059单用。本研究可为胃印戒细胞癌的临床治疗提供新策略,但PD98059协同紫杉醇对人胃印戒细胞癌细胞发挥抑制作用的分子机制仍未明确,且相关研究结论并未通过体内研究予以证实,故有待进一步探索。

参考文献

[1] PERNOT S, VORON T, PERKINS G, et al. Signet-ring cell carcinoma of the stomach: impact on prognosis and specific therapeutic challenge[J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(40): 11428-11438.

[2] 聂爱英, 梁丽娟, 雷超, 等. 胃印戒细胞癌临床病理特点的分析[J]. *现代肿瘤医学*, 2017, 25(6): 914-917.

[3] AKABAH PS, MOCAN S, MOLNAR C, et al. Importance of optical diagnosis in early gastric cancer: a case report of early gastric signet ring cell carcinoma[J]. *Niger J Clin Pract*, 2017, 20(10): 1342-1345.

[4] 徐仲航, 金殷植, 房学东. 胃印戒细胞癌的研究进展[J]. *中华胃肠外科杂志*, 2018, 21(10): 1196-1200.

[5] 崔景利, 梁寒, 邓靖宇, 等. 胃印戒细胞癌的临床病理特点和预后分析[J]. *中华肿瘤杂志*, 2015, 37(5): 367-370.

[6] LEE KC, TSAI JJ, TSENG CW, et al. Amentoflavone inhibits erk-modulated tumor progression in hepatocellular carcinoma in vitro[J]. *In Vivo*, 2018, 32(3): 549-554.

[7] 陈伟, 季明华, 唐金海. 乳腺癌紫杉醇耐药的机制[J/CD]. *中华乳腺病杂志: 电子版*, 2015, 9(4): 275-279.

[8] 田甜甜, 李艳艳, 沈琳, 等. 胃癌细胞中miR-135a表达对紫杉醇敏感性的影响[J]. *基础医学与临床*, 2016, 36(5): 672-677.

[9] LI Y, YANG Q. Effect of PD98059 on chemotherapy in patients with colorectal cancer through ERK1/2 path-

way[J]. *J BUON*, 2019, 24(5): 1837-1844.

- [10] JIANG X, ZHANG B, ZHOU Z, et al. Enhancement of radiotherapy efficacy by pleiotropic liposomes encapsulated paclitaxel and perfluorotributylamine[J]. *Drug Deliv*, 2017, 24(1): 1419-1428.
- [11] FISI V, KÁTAI E, BOGNER P, et al. Timed, sequential administration of paclitaxel improves its cytotoxic effectiveness in a cell culture model[J]. *Cell Cycle*, 2016, 15(9): 1227-1233.
- [12] 李云, 陈博, 王凡. 甲氟喹增强紫杉醇诱导胃癌细胞BGC-823细胞凋亡的机制[J]. *安徽医科大学学报*, 2019, 54(8): 1243-1247.
- [13] BUROTTO M, CHIOU VL, LEE JM, et al. The MAPK pathway across different malignancies: a new perspective[J]. *Cancer*, 2014, 120(22): 3446-3456.
- [14] 刘梦琪, 张文文, 陈晓伟, 等. PD98059抑制MAPK/ERK信号通路对胃癌细胞生物学功能的影响[J]. *癌变·畸变·突变*, 2019, 31(1): 15-21.
- [15] HOU L, HOU X, WANG L, et al. PD98059 impairs the cisplatin-resistance of ovarian cancer cells by suppressing ERK pathway and epithelial mesenchymal transition process[J]. *Cancer Biomark*, 2017, 21(1): 187-194.
- [16] 毛成毅, 岳松涛, 马瑜, 等. ERK1/2抑制剂PD98059对肝癌HepG2细胞增殖和凋亡的影响[J]. *山东医药*, 2010, 50(1): 30-31.
- [17] WANG T, CAI Y, SONG W, et al. Ethyl acetate extracts of semen impatientis inhibit proliferation and induce apoptosis of human prostate cancer cell lines through Akt/ERK pathways[J]. *Biomed Res Int*, 2017. DOI: 10.1155/2017/1243515.
- [18] LIU Y, LEI H, MA J, et al. α -hederin increases the apoptosis of cisplatin-resistant gastric cancer cells by activating mitochondrial pathway in vivo and vitro[J]. *Onco Targets Ther*, 2019. DOI: 10.2147/OTT.S221005.
- [19] CHE ST, BIE L, LI X, et al. Parthenolide inhibits the proliferation and induces the apoptosis of human uveal melanoma cells[J]. *Int J Ophthalmol*, 2019, 12(10): 1531-1538.
- [20] HSU FS, WU JT, LIN JY, et al. Histone deacetylase inhibitor, trichostatin a, synergistically enhances paclitaxel-induced cytotoxicity in urothelial carcinoma cells by suppressing the ERK pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2019. DOI: 10.3390/ijms20051162.
- [21] SHI Y, AN D, LIU Y, et al. Propoxur enhances MMP-2 expression and the corresponding invasion of human breast cancer cells via the ERK/Nrf2 signaling pathway[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(50): 87107-87123.

(收稿日期:2019-07-15 修回日期:2019-12-19)

(编辑:张元媛)