

奥曲肽对胃癌细胞株 SGC7901 细胞生长抑制作用及其机制的探讨

高山, 余保平, 董卫国, 罗和生

Effect and Mechanism of Octreotide on the Viability of Gastric Cancer Cell Line SGC 7901 Cells

GAOSHAN, YUBAO -ping, DONGWEI -guo, LUOHE -sheng

Department of Gastroenterology, Renmin Hospital, Wuhan University, Wuhan 430060, China

Abstract: Objective To study the effect of octreotide on cell viability, protein kinase B and telomerase activity in human gastric cancer cell line SGC7901. **Methods** After incubation for 0, 12, 24, 48 hours in different concentration of octreotide, MTT assay was used to determine the cell viability. Akt/PKB and telomerase activities were respectively detected. **Results** SGC7901 cells exhibited a dose-dependent inhibition of growth. The Akt/PKB and telomerase activity of SGC7901 cells was significantly inhibited by octreotide for 12, 24 and 48 h ($P < 0.01$). **Conclusion** The anti-proliferative effect of octreotide on SGC7901 cells might be mediated by the inhibition of Akt/PKB and telomerase.

Keywords: Cell line; Protein kinase B; Telomerase

摘要:目的 研究生长抑素类似物奥曲肽对胃癌细胞株 SGC7901 细胞的增殖、蛋白激酶 B 及端粒酶活性的影响。方法 应用奥曲肽作用于胃癌细胞株 SGC7901 细胞不同时间后, 检测其对体外培养胃癌细胞的抑制率, 胃癌细胞蛋白激酶 B (Akt/PKB) 及端粒酶的活性。结果 奥曲肽对胃癌细胞增殖有明显抑制作用, 呈剂量依赖性。同时能显著抑制胃癌细胞 Akt/PKB 的活性和端粒酶的活性 (12, 24, 48h 均 $P < 0.01$)。结论 生长抑素对胃癌细胞株 SGC7901 细胞增殖有抑制作用, 其机制与抑制 Akt/PKB 及端粒酶活性有关。

关键词: 细胞株; 蛋白激酶 B; 端粒酶

中图分类号: R573; R735.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2004)12-0756-03

0 引言

生长抑素类似物奥曲肽一直是临床上用于止血的有效药物, 近年来研究发现奥曲肽还有抗肿瘤作用。目前奥曲肽抗肿瘤的机制尚未完全阐明, 可能的机制主要有抑制营养性激素及生长因子的分泌、诱导凋亡、调节免疫应答抑制肿瘤血管形成等^[1-3]。本研究利用体外培养的人胃癌细胞, 探讨其对胃癌细胞的增殖、蛋白激酶 B (Akt/PKB) 和端粒酶活性的影响, 为临床治疗胃癌提供新的方法和理论依据。

1 方法

1.1 细胞增殖试验

用 MTT 法测定。空白组: 不含细胞; 对照组: 培养液不加药物; 实验组: 加入含不同浓度 (0.008、0.04、0.2、1、5、25 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 奥曲肽的无血清培养液。分别培养 0、12、24、48h, 每孔中加 20 μM MTT, 继续培养 4h, 小心吸弃上清, 每孔中加入 150 μl DMSO, 振荡 10min, 以 490nm 波长进行 A 值的测定, 计算

抑制率。抑制率 (IR) = (对照组 A - 空白组 A) - (实验组 A - 空白组 A) / (对照组 A - 空白组 A) $\times 100\%$ 。

1.2 Akt/PKB 活性测定

先用不含血清的 RPMI1640 培养液处理细胞 12h, 再加入含 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 奥曲肽的无血清 RPMI1640 培养液。培养 0、12、24、48h 后, 收集细胞, 按 Akt/PKB 活性检测试剂盒说明书进行操作。

1.3 端粒酶活性测定

用不含血清的 RPMI1640 培养液处理细胞 24h, 使细胞同步化后分组。A 组: 用不含血清的 RPMI1640 培养液作为对照; B 组: 加入含 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 奥曲肽的无血清 RPMI1640。0、12、24、48h 后, 按 Telomerase 试剂盒说明书标准程序进行检测, 在 450/690nm 波长下检测吸光度 (A) 值, 并计算端粒酶的相对活性: 端粒酶的相对活性 (%) = (实验组 A 值 - 空白组 A 值) / (实验组中最大 A 值 - 空白组 A 值) $\times 100\%$ 。

1.4 统计学处理

数值用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 实验数据采用 SPSS11.0 中

收稿日期: 2003-09-16; 修回日期: 2003-12-10

作者单位: 430060 武汉大学人民医院消化内科

的 *t* 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 对细胞增殖的影响

不同浓度奥曲肽呈剂量依赖性抑制无血清培养的胃癌 SGC7901 细胞的增殖, 见表 1。

表 1 奥曲肽对胃癌细胞生长的抑制作用

Ocreotide ($\mu\text{g/ml}$)	OD ₄₉₀	IR (%)
Control	0.528 \pm 0.032	/
25	0.345 \pm 0.041	34.66 ^b
5	0.436 \pm 0.022	21.21 ^b
1	0.465 \pm 0.019	11.93 ^a
0.2	0.493 \pm 0.008	6.63
0.04	0.510 \pm 0.031	3.41
0.008	0.504 \pm 0.065	0.76

与对照组相比: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$

2.2 对 Akt/PKB 活性的影响

采用无血清培养后, 胃癌细胞内 Akt/PKB 活性增高, 12h 时已明显增高, 24h 后达到高峰, 见图 1A。1 $\mu\text{g/ml}$ 奥曲肽对 Akt/PKB 活性在 12、24、48 h 均有抑制作用, 且呈时间依赖性, 图 1B。

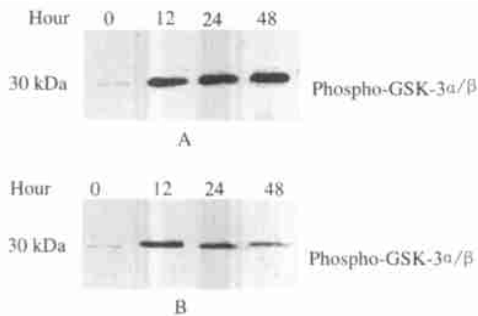


图 1 奥曲肽对胃癌细胞 Akt/PKB 活性的抑制作用

2.3 对端粒酶活性影响

胃癌细胞经无血清培养基培养后, 端粒酶活性逐渐升高, 24h 后达到峰值, 48h 后稍有下降。用 1 $\mu\text{g/ml}$ 浓度的奥曲肽作用 SGC7901 细胞 0、12、24、48h 后, 发现随时间的延长, 端粒酶的活性也逐渐降低, 见图 2, 与无血清培养组相比, 差异有显著性 (12、24、48h 均 $P < 0.01$)。

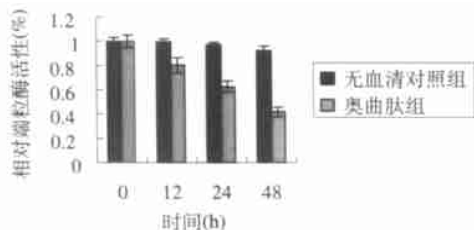


图 2 奥曲肽对胃癌细胞端粒酶活性的抑制作用

3 讨论

本实验中, 我们用奥曲肽作用于无血清培养的胃癌细胞株 SGC7901 后发现, 胃癌细胞的增殖受到明显抑制, 且药物浓度越高, 抑制作用越强, 呈明显的剂量依赖关系。Akt/PKB 是细胞凋亡信号通路的一个重要调控点, Akt/PKB 活性增强可促进肿瘤细胞增殖及侵袭^[4]。Charland 等^[5]认为, 生长抑素对小鼠胰腺肿瘤细胞的抑制作用是通过抑制 Akt/PKB 磷酸化及其细胞周期起始阶段实现的。另有研究认为 Akt/PKB 磷酸化可抑制大肠癌细胞凋亡, 促进肿瘤发展^[9]。本实验中我们用 1 $\mu\text{g/ml}$ 的奥曲肽作用于 SGC7901 细胞, 发现胃癌细胞 Akt/PKB 活性受到明显抑制, 呈时间依赖关系, 提示奥曲肽抑制胃癌细胞增殖与 Akt/PKB 活性受抑制有关。

端粒酶是一种核蛋白酶, 研究表明^[7], 85% ~ 95% 的恶性肿瘤 (包括胃癌) 中端粒酶呈阳性表达, 而正常组织中则否, 端粒酶的激活可能是细胞癌变的一条共同通路。在早期胃癌组织中, 端粒酶活性已明显增高, 表明端粒酶活性对胃癌细胞增殖起着重要调控作用。本实验用生长抑素作用于胃癌细胞株 SGC7901 细胞后, 发现生长抑素呈时间依赖性抑制胃癌细胞端粒酶的活性, 提示 SS 抑制胃癌细胞增殖与端粒酶活性受抑制有关。

Counter 等^[8]研究表明, 端粒酶的活性受端粒酶催化亚单位 (hTERT) 调节, hTERT 磷酸化是端粒酶活性的必要条件。Kang 等^[9]报道, hTERT 是 Akt/PKB 激酶的底物蛋白, 体外实验发现经 Akt/PKB 预处理, 可以增强肿瘤细胞端粒酶活性。这些发现表明 Akt/PKB 通过加强 hTERT 亚单位的磷酸化, 从而增强人端粒酶活性。因此抑制 Akt/PKB 磷酸化, 可以降低端粒酶的活性。以上研究显示, 生长抑素可能是通过抑制胃癌细胞蛋白激酶 B 磷酸化, 进而降低端粒酶活性, 从而发挥抗肿瘤作用的。本研究将为临床上防治胃癌提供新的方法和理论依据。

参考文献:

- [1] PollakMN, Schall yAV. Mechanisms of antineoplastic action of somatostatin analogs [J]. Proc Soc Exp Biol Med, 1998, 217 (2): 143-152.
- [2] Chen X, Liu Z, Ai Z. Antineoplastic mechanism of Octreotide in human hepatoma [J]. Chin Med J, 2001, 114 (11): 1167-1170.
- [3] Lee JU, Hosotani R, Wada M, et al. Anti-proliferative activity induced by the somatostatin analog, TT-232, in human pancreatic cancer cells [J]. Eur J Cancer, 2002, 38 (11): 1526-1534.
- [4] Hill M, Hemmings B. Inhibition of protein kinase B/Akt, implications for cancer therapy [J]. Pharmacol Ther, 2002, 93 (2-3):

- 243-251.
- [5] Charland S, Boucher M, Houde M, et al. Somatostatin Inhibits Akt Phosphorylation and Cell Cycle Entry, But Not p42/p44 Mitogen-Activated Protein (MAP) Kinase Activation in Normal and Tumoral Pancreatic Acinar Cells [J]. *Endocrinology*, 2001, 142 (1): 121-128.
- [6] Itoh N, Semba S, Ito M, et al. Phosphorylation of Akt/PKB is required for suppression of cancer cell apoptosis and tumor progression in human colorectal carcinoma [J]. *Cancer*, 2002, 94 (12): 3127-3134.
- [7] Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer [J]. *Science*, 1994, 23 (266): 2011-2015.
- [8] Counter CM, Meyerson M, Eaton EN, et al. Telomerase activity is restored in human cells by ectopic expression of hTERT (hEST2), the catalytic subunit of telomerase [J]. *Oncogene*, 1998, 16 (9): 1217-1222.
- [9] Kang SS, Kwon T, Kwon DY, et al. Akt Protein Kinase Enhances Human Telomerase Activity through Phosphorylation of Telomerase Reverse Transcriptase Subunit [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274 (19): 13085-13090.

[编辑:周永红;校对:杨卉]

欢迎订阅 2005 年《循证医学》杂志

《循证医学》是经国家新闻出版署批准,广东省卫生厅主管,由广东省循证医学研究中心、广东省人民医院和中山大学附属第三医院主办的医学学术期刊。2003 年被评为“《CNKI 中国期刊全文数据库》(CJFD)”、“万方数据—数字化期刊群”全文收录期刊,“中国学术期刊综合评价数据库”统计源期刊(CAJCED)、《中国科学引文数据库》(CSCD)、《中国生物医学文献数据库》(CBMdisc)、《中国核心期刊(遴选)数据库》、《中文生物医学期刊文献数据库》(CMCC)、《中文科技期刊数据库》来源期刊,2004 年 3 月被中国科学技术信息研究所评定为“中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)”。

主编吴一龙(广东省人民医院副院长、广东省人民医院肿瘤中心主任、广东省肺癌研究所所长、广东省循证医学研究中心主任,中山大学肿瘤学教授,博士生导师)。本刊以广大医药卫生技术人员和医疗、教学、科研管理工作者为读者对象,立足临床医学,介绍循证医学(evidence-based medicine, EBM)的理念、方法及相关知识,探讨符合中国国情的循证医学实践,促进国内外医学学术交流和医学科学发展。

本刊以临床实践指导性为特色,设置的主要栏目有:快讯、述评、论著(包括诊断性研究、疗效研究、病因学研究、疾病的预后研究等)、循证评价、Cochrane 研究方案、证据的寻求与评价、循证医学中的医学统计学问题、循证医学理论方法研究、综述与讲座、教育与争鸣、循证医学在线、临床指引与共识等。

本刊暂为自办发行,国际连续出版物标准刊号 ISSN1671-5144,国内统一刊号 CN44-1548/R。《循证医学》杂志从 2005 年起刊期更改为双月刊、大 16 开本、64 页。国内定价每期 10 元,全年 60 元,欲订阅者请直接向本刊编辑部订购,注明详细通讯地址及邮政编码,并在备注栏处写明订阅年和份数。欢迎新老朋友订阅本刊。

地址:广州市中山二路 106 号广东省人民医院内《循证医学》编辑部 收(510080)。

电话:020-83844620,020-83827812-42168 传真:020-83844620

网址:www.jebm.cn E-mail: xzyxzz@163.net