

## 卡培他滨联合阿司匹林对 SGC-7901 细胞增殖的体外抑制作用

闫泽强<sup>1</sup>, 魏 微<sup>2\*</sup>

1. 襄阳市中心医院(湖北文理学院附属医院) 消化科, 湖北 襄阳 441021

2. 襄阳市中心医院(湖北文理学院附属医院) 肿瘤科, 湖北 襄阳 441021

**摘要:** **目的** 探讨卡培他滨联合阿司匹林对 SGC-7901 细胞增殖和凋亡的体外抑制作用及其作用机制。**方法** 体外培养 SGC-7901 细胞, MTT 法检测卡培他滨 1.0  $\mu\text{mol/L}$  与阿司匹林 0.5、1.0、3.0 mmol/L 单用和联用对 SGC-7901 细胞体外增殖的抑制作用; 倒置相差显微镜观察卡培他滨 1.0  $\mu\text{mol/L}$  与阿司匹林 3.0 mmol/L 单独及联合用药对 SGC-7901 细胞形态的影响; PI/Annexin V-FITC 双染色流式细胞术分析卡培他滨 1.0  $\mu\text{mol/L}$  与阿司匹林 3.0 mmol/L 单独及联合用药诱导 SGC-7901 的细胞凋亡率; Western blotting 分析卡培他滨 1.0 mmol/L 与阿司匹林 3.0 mmol/L 单独及联合用药对 COX-2、VEGF 表达的影响。**结果** 卡培他滨与阿司匹林对 SGC-7901 细胞均有生长抑制作用, 且联合组的抑制率高于卡培他滨组和阿司匹林组, 两组间比较差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。用药处理 24 h 后, 在显微镜下可观察到 SGC-7901 细胞发生细胞凋亡的形态学改变, 联合组相对于卡培他滨、阿司匹林单独用药组的变化更明显。PI/Annexin V 双染分析表明, 卡培他滨 1.0  $\mu\text{mol/L}$  + 阿司匹林 3.0 mmol/L 联合组的细胞凋亡率明显高于阿司匹林 3.0 mmol/L 组或卡培他滨 1.0  $\mu\text{mol/L}$  组。阿司匹林 3.0 mmol/L、卡培他滨 1  $\mu\text{mol/L}$  以及卡培他滨 1.0  $\mu\text{mol/L}$  + 阿司匹林 3.0 mmol/L 联合组电泳可以检测出环氧合酶-2 (COX-2)、血管内皮生长因子 (VEGF) 的特异蛋白条带。阿司匹林单用时, COX-2 表达量受到抑制 ( $P < 0.01$ ), 蛋白表达下调, 而 VEGF 表达无明显抑制; 卡培他滨单用时, VEGF 表达量受到抑制 ( $P < 0.01$ ), 蛋白表达下调, 而 COX-2 表达无明显抑制; 卡培他滨联合阿司匹林处理时, SGC-7901 细胞的 COX-2、VEGF 表达量均受到抑制 ( $P < 0.01$ ), 同时下调 COX-2 及 VEGF 蛋白表达。**结论** 卡培他滨联合阿司匹林能够明显抑制胃癌 SGC-7901 细胞的增殖, 并促进其凋亡, 其作用机制与 COX-2、VEGF 蛋白表达的调控有关。

**关键词:** 卡培他滨; 阿司匹林; SGC7-901 细胞; 增殖; 凋亡; 环氧合酶-2; 血管内皮生长因子

**中图分类号:** R966 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 5515(2017)03 - 0376 - 06

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2017.03.004

## Inhibition of capecitabine combine with aspirin on proliferation of SGC-7901 cell *in vitro*

YAN Ze-qiang<sup>1</sup>, WEI Wei<sup>2</sup>

1. Department of Gastroenterology, Xiangyang Central Hospital, Xiangyang 441021, China

2. Department of Oncology, Xiangyang Central Hospital, Xiangyang 441021, China

**Abstract: Objective** To investigate inhibitory effect of capecitabine combine with aspirin on proliferation of SGC 7901 cell *in vitro* and its mechanisms. **Methods** SGC-7901 cells were cultured *in vitro*. Inhibitory rates of capecitabine (1.0  $\mu\text{mol/L}$ ) or/and aspirin (0.5, 1.0, and 3.0 mmol/L) on SGC 7901 cell were detected by MTT method. The morphological changes of SGC-7901 cells treated by capecitabine (1.0  $\mu\text{mol/L}$ ) and aspirin (3.0 mmol/L) alone or in combination were observed by fluorescence microscopy. Apoptosis rates of SGC-7901 cells treated by capecitabine (1.0  $\mu\text{mol/L}$ ) and aspirin (3.0 mmol/L) alone or in combination were determined by Annexin VFIT C/PI kit and flow cytometry. The expressions of COX-2 and VEGF treated by capecitabine (1.0  $\mu\text{mol/L}$ ) and aspirin (3.0 mmol/L) alone or in combination were determined by Western blotting method. **Results** Capecitabine and aspirin all had inhibitory effects on growth of SGC-7901 cells, and the inhibition rates of combined group were higher than those in capecitabine group and aspirin group, with significant difference between two groups ( $P < 0.05$ ). Morphological changes of SGC-7901 cells were observed under microscope after treatment for 24 h, and changes in the combined group were more obvious than those in capecitabine

收稿日期: 2016-10-25

作者简介: 闫泽强 (1979—), 男, 主治医师, 硕士, 研究方向为消化道疾病、胃肠道内窥镜。Tel: 13597505970 E-mail: yzqiang5@sina.com

\*通信作者 魏 微 (1982—), 湖北襄阳人, 主治医师, 硕士, 研究方向为肿瘤放疗化疗。Tel: 13774177010 E-mail: ww2doctor@163.com

group and aspirin group. Flow cytometry showed that apoptosis rates in the capecitabine (1.0  $\mu\text{mol/L}$ ) + aspirin (3.0 mmol/L) group was significantly higher than that of capecitabine (1.0  $\mu\text{mol/L}$ ) group or aspirin (3.0 mmol/L) group. The specific protein bands of cyclooxygenase-2 (COX-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in capecitabine (1.0  $\mu\text{mol/L}$ ) and aspirin (3.0 mmol/L) alone or in combination group could be detected by electrophoresis. When SGC-7901 cells were treated by aspirin alone, the expression of COX-2 was inhibited ( $P < 0.01$ ), and protein expression was down-regulated, but the expression of VEGF was not inhibited. While SGC-7901 cells were treated by capecitabine alone, the expression of VEGF was inhibited ( $P < 0.01$ ), and protein expression was down-regulated, but the expression of COX-2 was not inhibited. COX-2 and VEGF expression were inhibited when treated by capecitabine combined with aspirin ( $P < 0.01$ ), and the expression of COX-2 and VEGF protein were down-regulated.

**Conclusion** Capecitabine combined with aspirin can significantly inhibit proliferation of SGC-7901 cell, and induce apoptosis, and its mechanism may be related to the regulation of COX-2 and VEGF protein expression.

**Key words:** capecitabine; aspirin; SGC-7901 cell; proliferation; apoptosis; COX-2; VEGF

胃癌是全球第 4 大常见肿瘤, 严重威胁人类健康, 也是我国常见的恶性肿瘤之一, 其死亡率在所有恶性肿瘤中列居第 3 位, 在消化道恶性肿瘤中居第 1 位<sup>[1]</sup>。其中晚期胃癌治疗尤为困难, 死亡率更高, 其中一个原因就是肿瘤发生了腹膜、淋巴转移。由于胃癌细胞对化疗药物相对敏感, 目前临床治疗仍以化疗为主。对经过紫杉醇或蒽环类药物耐药的晚期胃癌患者, 采用卡培他滨联用其他化疗药治疗方案可取得良好的效果<sup>[2-3]</sup>; 另外近年来的研究表明以阿司匹林为代表的一系列非甾体抗炎药对胃肠道癌症具有防治作用, 其具体作用机制尚不明确, 有推测认为可能是通过抑制环氧合酶-2 (COX-2) 的活性促进细胞凋亡, 抑制肿瘤的生长<sup>[4]</sup>。本研究观察卡培他滨、阿司匹林单用及联合用药对 SGC-7901 细胞凋亡的影响, 并考察其对 COX-2、血管内皮生长因子 (VEGF) 蛋白表达的影响, 了解联合用药抗肿瘤的作用机制, 探讨卡培他滨与阿司匹林联合防治肿瘤的可行性, 寻找防治胃癌的有效方案。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

卡培他滨购自麦克林试剂, 质量分数 98%; 阿司匹林购自 Sigma-Aldrich 公司, 质量分数 98%; 人胃癌 SCG7901 细胞购自中国科学院细胞库, 胰蛋白酶 (规格 100  $\mu\text{g}$ )、细胞培养用青链霉-链霉素 (规格 5 000 U/mL) 购于美国 Gibco 公司; 新生牛血清 (NBS)、胎牛血清 (FBS)、核糖核酸酶 A (RNase A) 购于南京森贝伽生物科技有限公司, 二甲基亚砜 (DMSO)、四甲基偶氮唑蓝 (MTT) 购于百灵威科技有限公司, 兔抗人 VEGF 单克隆抗体, 人前列腺素 COX-2 抗体购于上海酶联生物科技有限公司。

美国 Beckman 公司低温离心机, 美国 Biotek

酶标仪, 美国 Beckman 公司 EpicsXL 流式细胞仪; 美国 Bio-Rad 电泳仪及垂直凝胶电泳仪。

### 1.2 细胞培养

SGC-7901 细胞置于 RPMI-1640 培养液 (含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100  $\mu\text{g/mL}$  链霉素) 中, 在 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  的细胞培养箱中培养。当细胞贴壁并融合 80%, 用胰蛋白酶消化, 然后加 0.02% EDTA 离心, 进行传代。

### 1.3 细胞体外增殖的抑制试验

取对数生长期 SGC-7901 细胞, 接种于 96 孔培养板, 并调整细胞浓度为  $5 \times 10^4/\text{mL}$ , 每孔 100  $\mu\text{L}$ , 设对照组 (完全培养基中加入 SGC-7901 细胞, 不加药物) 和不同浓度的药物组, 均设置 6 个复孔。培养箱设置 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  条件下培养 24 h 后, 分别加入药物并使含阿司匹林 0.5、1.0、3.0 mmol/L, 卡培他滨 1.0  $\mu\text{mol/L}$ , 卡培他滨 1.0  $\mu\text{mol/L}$  + 阿司匹林 1.0、3.0 mmol/L。继续培养 24 h。每组终止培养前加 30  $\mu\text{L}$  MTT (5 g/L), 继续培养 3~4 h 后弃上清液, 加 100  $\mu\text{L}$  DMSO 溶解, 避光震荡 15 min, 使用酶标仪测定 490 nm 波长处各孔的吸光度 ( $A$ ) 值, 重复 3 次, 计算细胞的抑制率。

$$\text{抑制率} = 1 - A_{\text{实验}} / A_{\text{阳性对照}}$$

### 1.4 SGC-7901 细胞凋亡形态的观察

经药物处理 24 h 后, 于倒置显微镜中观察对照组、阿司匹林 3.0 mmol/L 组、卡培他滨 1.0  $\mu\text{mol/L}$  组以及卡培他滨 1.0  $\mu\text{mol/L}$  + 阿司匹林 3.0 mmol/L 联合组中 SGC-7901 细胞的形态变化。

### 1.5 细胞凋亡的检测

取对数生长期 SGC 7901 细胞, 调整细胞密度至  $1 \times 10^6$ , 接种于 6 孔板中。设立对照组 (仅为 SGC-7901 细胞), 待细胞贴壁后, 分别加入阿司匹林 3.0 mmol/L、卡培他滨 1.0  $\mu\text{mol/L}$ 、卡培他滨 1.0

$\mu\text{mol/L}$  + 阿司匹林  $3.0 \text{ mmol/L}$ , 作用 48 h 后, 移去培养基, 收集细胞, PBS 离心洗涤细胞, 重悬于  $500 \text{ mL}$  缓冲液中。调整细胞数为  $0.5 \times 10^9 \sim 1 \times 10^9/\text{L}$ 。加入  $5 \mu\text{L}$  Annexin V-FITC 和  $5 \mu\text{L}$  PI, 混匀, 避光、室温下孵育 30 min, 采用流式细胞仪检测荧光强度, 观察细胞凋亡情况, 并分析细胞凋亡率。

### 1.6 蛋白表达的测定

取对数生长期 SGC-7901 细胞, 接种于  $100 \text{ mm}$  培养皿, 调整细胞密度为  $1 \times 10^7/\text{L}$ , 设立对照组 (完全培养基中加入 SGC-7901 细胞), 其余各组分别加入阿司匹林  $3.0 \text{ mmol/L}$ 、卡培他滨  $1.0 \mu\text{mol/L}$ 、卡培他滨  $1.0 \mu\text{mol/L}$  + 阿司匹林  $3.0 \text{ mmol/L}$ , 作用 24 h 后, 加入细胞裂解液、酶蛋白抑制混合液, 提取细胞总蛋白; 用 10% SDS-PAGE 凝胶电泳, 转膜, 封闭, 加入稀释 1 000 倍的一抗液, 封口,  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  孵育过夜, 后用 PBS 洗膜 3 次; 再加辣根标记的二抗, 封

口, PBS 洗膜 3 次, 压片, 显影, 检测蛋白表达, 分析各条带灰度值, 计算单标表达量。

### 1.7 统计学处理

采用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析, 实验结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间两两比较采用独立样本  $t$  检验。

## 2 结果

### 2.1 卡培他滨联合阿司匹林对 SGC-7901 细胞增殖的影响

卡培他滨  $1.0 \mu\text{mol/L}$  处理对 SGC-7901 细胞的抑制率为 31.31%; 阿司匹林 0.5、1.0、 $3.0 \text{ mmol/L}$  处理对 SGC-7901 细胞的抑制率分别为 9.57%、13.08%、18.03%, 卡培他滨  $1.0 \mu\text{mol/L}$  + 阿司匹林 0.5、1.0、 $3.0 \text{ mmol/L}$  组对 SGC-7901 的抑制率分别为 46.38%、51.12%、61.17%。联合组的抑制率高于卡培他滨组和阿司匹林组, 两组间比较差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 1。

表 1 卡培他滨联合阿司匹林对 SGC-7901 细胞抑制率的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 1 Effects of capecitabine combined with aspirin on inhibition rates of SGC 7901 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	浓度	A 值	抑制率/%
对照	—	$0.452 \pm 0.017$	—
阿司匹林	$0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$0.410 \pm 0.027^*$	9.57
	$1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$0.391 \pm 0.030^*$	13.08
	$3.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$0.369 \pm 0.034^*$	18.03
卡培他滨	$1.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$0.283 \pm 0.074^*$	31.31
卡培他滨联合阿司匹林	$1.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} + 0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$0.234 \pm 0.025^{*\Delta}$	46.38
	$1.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} + 1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$0.218 \pm 0.032^{*\Delta}$	51.12
	$1.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} + 3.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	$0.201 \pm 0.017^{*\Delta}$	61.17

与对照组比较:  $*P < 0.05$ ; 与卡培他滨组比较:  $^{\#}P < 0.05$ ; 与相应浓度阿司匹林组比较:  $^{\Delta}P < 0.05$

$^*P < 0.05$  vs control group;  $^{\#}P < 0.05$  vs capecitabine group;  $^{\Delta}P < 0.05$  vs aspirin group with the same concentrations

### 2.2 卡培他滨联合阿司匹林对 SGC-7901 细胞形态变化的影响

对照组胃癌细胞呈多边形或梭形, 贴壁生长。经药物刺激后 SGC-7901 细胞生长受到抑制, 可见细胞缩小、边缘变钝、部分细胞发生融合、细胞数量减少。其中联合组的变化更明显, 见图 1。

### 2.3 卡培他滨联合阿司匹林对 SGC-7901 细胞凋亡的影响

对照组、阿司匹林  $3.0 \text{ mmol/L}$  组、卡培他滨  $1.0 \mu\text{mol/L}$  组、卡培他滨  $1.0 \mu\text{mol/L}$  + 阿司匹林  $3.0 \text{ mmol/L}$  联合组的凋亡率分别为 6.48%、16.74%、24.93%、30.65%, 可见联合组的细胞凋亡率明显高于阿司匹林组或卡培他滨组, 见图 2。

### 2.4 卡培他滨联合阿司匹林对 COX-2、VEGF 蛋白表达的影响

根据细胞增殖抑制、凋亡实验结果, 选择阿司匹林  $3.0 \text{ mmol/L}$ 、卡培他滨  $1 \mu\text{mol/L}$  以及卡培他滨  $1.0 \mu\text{mol/L}$  + 阿司匹林  $3.0 \text{ mmol/L}$  联合组进行电泳检测。阿司匹林单用时, COX-2 表达量受到抑制 ( $P < 0.01$ ), 蛋白表达下调, 而 VEGF 表达无明显抑制; 卡培他滨单用时, VEGF 表达量受到抑制 ( $P < 0.01$ ), 蛋白表达下调, 而 COX-2 表达无明显抑制; 卡培他滨联合阿司匹林处理时, SGC-7901 细胞的 COX-2、VEGF 表达量均受到抑制 ( $P < 0.01$ ), 同时下调 COX-2 及 VEGF 蛋白表达, 见表 2。可以检测出 COX-2、VEGF 的特异蛋白条带, 见图 3。

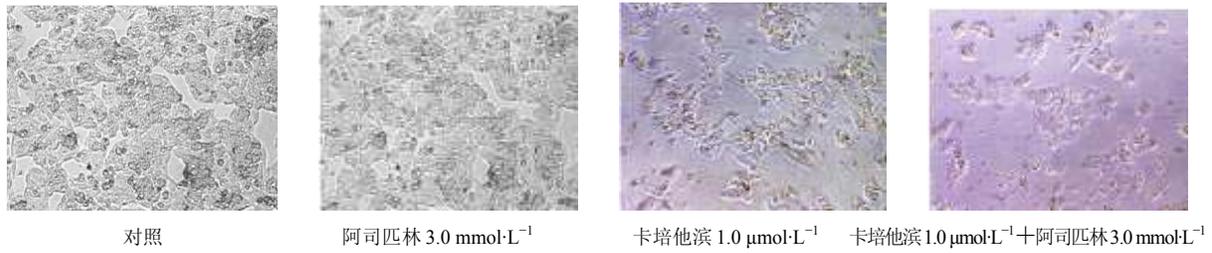


图 1 卡培他滨联合阿司匹林作用的 SGC-7901 细胞形态

Fig. 1 SGC-7901 cell morphology treated by capecitabine combined with aspirin

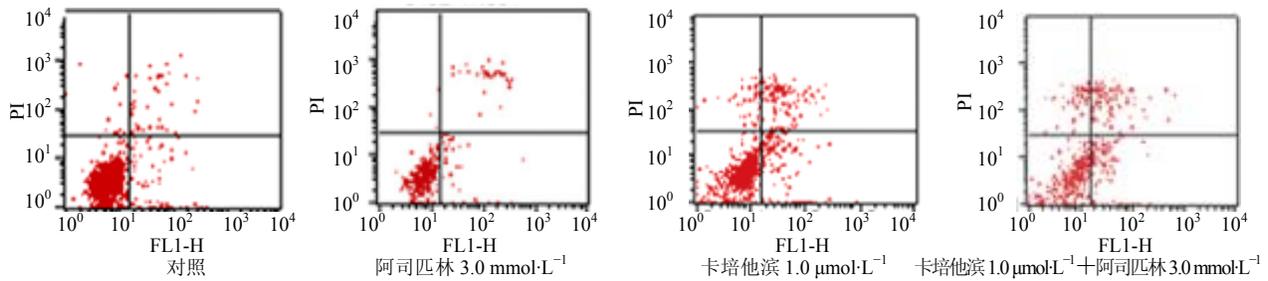


图 2 流式细胞术检测卡培他滨联合阿司匹林作用的 SGC-7901 细胞凋亡情况

Fig. 2 Apoptosis of SGC-7901 cells treated by capecitabine combined with aspirin detected by flow cytometry

表 2 卡培他滨联合阿司匹林作用的 COX-2、VEGF 蛋白表达量的比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 2 Comparison of COX-2 and VEGF protein expression treated by capecitabine combined with aspirin ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	浓度	COX-2	VEGF
对照	—	0.721 ± 0.027	0.831 ± 0.032
阿司匹林	0.5 mmol·L <sup>-1</sup>	0.518 ± 0.040**	0.791 ± 0.041
卡培他滨	1.0 μmol·L <sup>-1</sup>	0.682 ± 0.071	0.397 ± 0.050**
卡培他滨联合阿司匹林	1.0 μmol·L <sup>-1</sup> + 0.5 mmol·L <sup>-1</sup>	0.292 ± 0.024**	0.257 ± 0.035**

与对照组比较: \*\*P < 0.01  
\*\*P < 0.01 vs control group

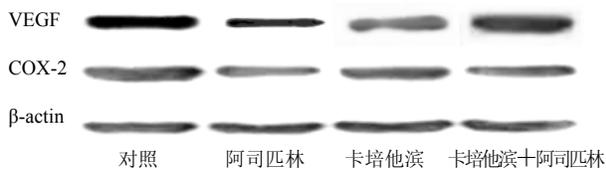


图 3 Western blotting 法检测卡培他滨联合阿司匹林作用的 Cox-2 和 VEGF 蛋白表达

Fig. 3 Expression of Cox-2 and VEGF treated by capecitabine combined with aspirin by Western blotting

### 3 讨论

血管生成是恶性肿瘤生长、迁移的必要条件。肿瘤的生长和转移依赖于新生血管的支持，需要新生血管供给氧和营养。一旦肿瘤组织新生血管生成，

肿瘤细胞自身增殖速度加快，并且会逐步侵入邻近血管，导致转移<sup>[4]</sup>。另一方面新生血管又为肿瘤细胞的转移提供了通道，是肿瘤转移的重要途径之一。与正常组织比较，肿瘤的大部分血管发育不完全，具有不成熟和高渗透性特点，其基底膜结构不完整且内皮之间接头数目减少，有利于肿瘤细胞入血，导致转移瘤的形成。对人类大部分恶性肿瘤而言，血管形成对肿瘤的发展、转移至关重要。卡培他滨是由罗氏公司研制的新型口服 5-氟尿嘧啶前体药物，其在胃肠道中以原型吸收，经过二步酶促反应，最后经由胸腺嘧啶磷酸化酶（TP酶）转化为 5-氟尿嘧啶，由于 TP 酶在肿瘤组织中含量高于正常组织，所以卡培他滨对肿瘤细胞有较高的选择性，主要通过诱导肿瘤凋亡发挥抗肿瘤作用。现已逐渐取代 5-

氟尿嘧啶，主要用于晚期原发性或转移性乳腺癌、直肠癌、结肠癌和胃癌的治疗。尽管卡培他滨对肿瘤细胞具有较高特异性，但由于其用药量较大，部分晚期胃癌患者仍然会出现强烈的毒副作用或对发生肿瘤多药耐药性，所以近年来卡培他滨联合其他化疗药物在胃癌治疗中的已显示了较为明显的优势。有研究表明低剂量的卡培他滨可通过下调 VEGF 基因的表达抑制肿瘤新生血管的生长。

非甾体抗炎药对胃肠道的作用最初是由于其对胃肠黏膜的损伤引起关注的，后在一系列的流行病学研究中发现许多非甾体抗炎药都有降低如胃癌、结直肠癌等消化道肿瘤的发病危险，长期服用可降低肿瘤的发生发展或复发的几率，提高生存率<sup>[5]</sup>。非甾体抗炎药对肿瘤的防治作用引起了科学家的广泛关注，近年来逐渐成为研究热点之一。

非甾体抗炎药主要是通过抑制前列腺素E<sub>2</sub>的合成发挥其作用的，而COX是前列腺合成过程中的限速酶。COX-2通过催化分泌前列腺素从而诱导肿瘤细胞的发生发展，还可进一步增强肿瘤的侵袭和转移、促进血管生成、诱发免疫机制等。COX-2在肿瘤发生、发展中的作用机制主要包括促进肿瘤细胞增殖、抑制肿瘤细胞凋亡、促进肿瘤血管生成、促进肿瘤侵袭转移、肿瘤免疫抑制、促进肿瘤细胞淋巴转移等等。肿瘤生成后需要生成新生血管以供给氧和营养物质，COX-2与前列腺素E<sub>2</sub>的过度表达均可促进血管生成，COX-2在肿瘤组织新生血管内皮细胞中高度表达，微血管密度(MVD)明显高于COX-2低表达者，这种现象在大肠癌、肺癌、胃癌、乳腺癌中均可发现。Uefuji<sup>[6]</sup>等采用免疫印迹法证明了原发性胃癌患者COX-2表达与MVD的关系。而值得注意的是肿瘤MVD是与COX-2、VEGF密切相关的，Tsuji<sup>[7]</sup>等发现在过度表达COX-2的结肠癌细胞株的同时，VEGF、TGF-β1、内皮素-1、iNOS等血管生成有关的细胞因子均显著上调，而当使用COX-2特异性抑制剂时，可抑制这些促血管生成因子的表达。Leung<sup>[8]</sup>等在人胃癌细胞中发现，随着COX-2表达增加，前列腺素产生增多，VEGF随之上调。在塞来昔布治疗头颈癌的研究中也发现了两者的相关性<sup>[9]</sup>。

在作用于血管内皮细胞的生长因子中，VEGF的作用能力是最强的，能增强静脉、微静脉的血管通透性，调控血管内皮细胞生长，诱导血管形成。肿瘤相关因子的调控使得VEGF除了刺激微血管生

成以支持肿瘤营养，还被发现其分泌可直接刺激肿瘤生长<sup>[10]</sup>。肿瘤细胞可释放VEGF，而且可在肿瘤患者血清中被检测，现已成为检测肿瘤的重要血清标记物。

本研究目的在于观察卡培他滨联合阿司匹林抑制肿瘤的作用。阿司匹林本身抑制肿瘤作用弱，采用高浓度卡培他滨会使肿瘤细胞抑制率升高，难以观察到阿司匹林的协同作用以及其对COX-2蛋白表达的影响。所以本研究参照相关文献报道<sup>[11]</sup>，采用低浓度卡培他滨(1 μmol/L)联合阿司匹林作用于肿瘤细胞，采用MTT法对阿司匹林和卡培他滨抗SGC7901细胞增殖作用进行了单独和联合的检测。结果阿司匹林0.5、1.0、3.0 mmol/L单独处理对SGC-7901细胞的抑制率分别为9.57%、13.08%、18.03%，与卡培他滨(1 μmol/L)联合阿司匹林(0.5、1.0、3.0 mmol/L)组对SGC-7901的增殖抑制率46.38%、51.12%、61.17%比较，联合组用药抑制率高于阿司匹林单独处理组(P<0.05)，两组间差异有统计学意义。研究结果都表明，阿司匹林和卡培他滨联合使用强于卡培他滨的抗增殖作用，并且两种药物具有协同抗增殖作用。

卡培他滨与阿司匹林单独和联合使用时对SGC7901细胞凋亡的作用的研究时，对照组和卡培他滨1 μmol/L+阿司匹林3.0 mmol/L联合组的细胞经Annexin V-FITC/PI双染后，对照组、阿司匹林3.0 mmol/L组、卡培他滨1.0 μmol/L组、卡培他滨1.0 μmol/L+阿司匹林3.0 mmol/L组凋亡率分别为6.48%、16.74%、24.93%、30.65%，可见联合用药组的细胞凋亡率明显高于阿司匹林组或卡培他滨组。研究发现卡培他滨和阿司匹林联用相对于单用卡培他滨的癌细胞凋亡率显著增加。卡培他滨可以抑制胃癌SGC-7901细胞的增殖，并诱导其凋亡，细胞的凋亡率随着用药的浓度增加而升高，具有一定的剂量相关性。最后在Western blotting实验中，从结果可以看出卡培他滨联合阿司匹林处理SGC-7901细胞的COX-2、VEGF表达均受到抑制，而阿司匹林单用仅COX-2表达受到抑制，而VEGF表达无明显抑制；卡培他滨单用时VEGF表达受到抑制，COX-2表达无明显抑制，表明卡培他滨与阿司匹林联用可共同通过抑制COX-2、VEGF表达而达到抗肿瘤的作用。

总之，本研究发现卡培他滨与阿司匹林联用明显体外抑制胃癌SGC-7901细胞的增殖，并促进其

凋亡,进而发挥抗肿瘤作用,其作用机制与 COX-2、VEGF 蛋白表达的调控有关。

#### 参考文献

- [1] 刘文婷,张瑞雪,闫涵,等.中国进展期胃癌患者治疗中替吉奥与卡培他滨的疗效和安全性的 Meta 分析 [J].实用医学杂志,2014,(13):2138-2142.
- [2] Yuan F, Shi H, Ji J, *et al.* Capecitabine metronomic chemotherapy inhibits the proliferation of gastric cancer cells through anti-angiogenesis [J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(4): 1753-1762.
- [3] 刘传亮,张天鹏,刘明见.卡培他滨联合顺铂治疗老年胆囊癌的临床疗效观察 [J].现代药物与临床,2015,30(4):421-424.
- [4] Kang J H, Hong Y S, Lee K S, *et al.* Evaluation of COX-2 expression in human gastric tumors and COX-2 suppression by aspirin and SC-236 in human gastric cancer cells *in vitro* [C]. Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting, 2001: 42.
- [5] 刘贵秋,张传山,张勤. COX-2 及 E-cadherin 在胃癌发生发展中的作用研究进展 [J].山东医药,2014,54(3):98-100.
- [6] Ristimäki A, Honkanen N, Jänkälä H, *et al.* Expression of cyclooxygenase-2 in human gastric carcinoma [J]. *Cancer Res*, 1997, 57(7): 1276-1280.
- [7] Uefuji K, Ichikura T, Mochizuki H. Increased expression of interleukin-1alpha and cyclooxygenase-2 in human gastric cancer: a possible role in tumor progression [J]. *Anticancer Res*, 2005, 25(5): 3225-3230.
- [8] Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, *et al.* Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells [J]. *Cell*, 1998, 93(5): 705-716.
- [9] Leung W K, To K F, Go M Y, *et al.* Cyclooxygenase-2 upregulates vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis in human gastric carcinoma [J]. *Int J Oncol*, 2003, 23(5): 1317-1322.
- [10] Ozoline O N, Fujita N, Ishihama A. The cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib induces apoptosis by blocking Akt activation in human prostate cancer cells independently of Bcl-2 [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(275): 11397-11403.
- [11] Batalla I B, Cubascordova M, Udonta F, *et al.* Abstract 1161: COX-2 blockade improves efficacy of VEGF-targeting drugs [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(19 Suppl): 1161.