

## • 药理与临床 •

## 姜黄素联合奥沙利铂对人结肠癌 LoVo 细胞裸鼠移植瘤的抗癌作用研究

郭立达<sup>1,2</sup>, 薛佳伟<sup>1</sup>, 渠开跃<sup>1</sup>, 赵秀军<sup>3</sup>, 滕文华<sup>2</sup>, 刘敬泽<sup>2\*</sup>

1. 河北工业职业技术学院 环境与化学工程系, 河北 石家庄 050091

2. 河北师范大学生命科学院, 河北 石家庄 050024

3. 河北医科大学 组胚教研室, 河北 石家庄 050017

**摘要:** 目的 探讨姜黄素与奥沙利铂联用对人结肠癌 LoVo 细胞株裸鼠移植瘤生长的影响及其作用机制。方法 将 LoVo 细胞接种于裸鼠皮下, 制备裸鼠移植瘤模型。将造模成功的裸鼠随机分为对照组、姜黄素 50 mg/kg 组、奥沙利铂 25 mg/kg 组、姜黄素 50 mg/kg+奥沙利铂 25 mg/kg 联合给药组, 给药组裸鼠隔天 ip 给药 1 次, 连续给药 11 次。末次给药后剥离瘤块称质量, 计算移植瘤体积、抑瘤率; 摘除眼球取血, 检测血常规及肝、肾功能; 流式细胞仪检测肿瘤细胞周期和凋亡率; HE 染色分析肿瘤组织病理形态学; RT-PCR 检测细胞凋亡相关基因的表达。结果 姜黄素组、奥沙利铂组、联合用药组的抑瘤率分别为 59.47%、55.49%、70.56%, 联合给药组抑制肿瘤生长的作用显著且对荷瘤裸鼠血液及肝肾无明显毒性; 联合给药组可显著阻滞肿瘤细胞于 S 期和 G<sub>2</sub>/M 期, 显著上调 bax 基因的表达。结论 姜黄素联合奥沙利铂可显著抑制 LoVo 细胞裸鼠移植瘤的生长。

**关键词:** 姜黄素; 奥沙利铂; 联合给药; 结肠癌; LoVo 裸鼠移植瘤; 细胞凋亡

中图分类号: R979.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)16-2261-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.16.013

## Antitumor effects of curcumin and oxaliplatin combination on xenografts of human colon cancer LoVo cells in nude mice

GUO Li-da<sup>1,2</sup>, XUE Jia-wei<sup>1</sup>, QU Kai-yue<sup>1</sup>, ZHAO Xiu-jun<sup>3</sup>, TENG Wen-hua<sup>2</sup>, LIU Jing-ze<sup>2</sup>

1. Department of Environment and Chemical Engineering, Hebei College of Industry and Technology, Shijiazhuang 050091, China

2. College of Life Sciences, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050024, China

3. Department of Histology and Embryology, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China

**Abstract: Objective** To investigate the effects of curcumin combined with oxaliplatin on the human colon cancer cells LoVo xenografted tumor in nude mice and to explore the mechanism. **Methods** Nude mice were implanted with human colon cancer LoVo cells. All tumor-bearing mice were randomly divided into four groups and treated with vehicle, 50 mg/kg curcumin, 25 mg/kg oxaliplatin, and their combination (50 mg/kg curcumin + 25 mg/kg oxaliplatin) by ip injection once every other day individually. After continuous administration of drug treatment for 11 times, the weights of nude mice were recorded, the stripping tumor weight was monitored, and the tumor volume and tumor inhibitory rates were calculated. The enucleation of eyeball for taking blood and blood routine examination were carried out and the function of liver and kidney was detected. Tumor cell cycle and apoptosis rate were assayed by flow cytometry. The pathological morphology of tumor was analyzed by HE staining. The apoptosis related gene expression was detected by RT-PCR. **Results** Tumor inhibitory rates of curcumin, oxaliplatin, and curcumin + oxaliplatin groups were 59.47%, 55.49%, and 70.56%, respectively. Curcumin combination with oxaliplatin did not influence the blood system, liver, and kidneys in nude mice. Combination of curcumin and oxaliplatin could effectively inhibit the tumor growth ( $P < 0.05$ ), interfere with cell cycle arresting at S and G<sub>2</sub>/M phases ( $P < 0.05, 0.01$ ), and promote the expression of bax ( $P < 0.01$ ) in tumor-bearing nude mice. **Conclusion**

收稿日期: 2012-12-26

基金项目: 河北省科技计划项目 (JB00 09276160); 河北省教育厅自然科学基金资助项目 (Q2012055); 河北工业职业技术学院引进人才科研启动基金资助项目 (BZ1201)

作者简介: 郭立达 (1980—), 女, 讲师, 博士研究生, 主要从事天然药物活性成分的抗肿瘤作用研究。

Tel: (0311)85239006 E-mail: lidaguo815@foxmail.com

\*通信作者 刘敬泽 Tel: (0311)80789731 E-mail: jzliu21@heinfo.net

Combination of curcumin and oxaliplatin could synergistically inhibit the growth of LoVo colonic xenografts in nude mice.

**Key words:** curcumin; oxaliplatin; combined administration; colon cancer; xenografted tumor in LoVo-bearing nude mice; apoptosis

姜黄素是从姜科植物姜黄 *Curcuma longa* L. 的根茎中提取出来的一种酚类色素, 具有抗炎、抗菌、抗肿瘤、抗氧化、抗动脉粥样硬化、抗病毒、保肝护肝、抑制肿瘤血管新生、治疗风湿等多种药理作用<sup>[1-5]</sup>。奥沙利铂(oxaliplatin)是继顺铂和卡铂后的第三代铂类化合物, 又称草酸铂, 临床上常用于治疗消化系统肿瘤, 具有高效、低毒的特点。但由于奥沙利铂对血液、神经系统的毒性, 限制了其在癌症治疗中的长期应用。本实验探讨姜黄素联合奥沙利铂对人结肠癌 LoVo 细胞株裸鼠移植瘤的抑制作用, 旨在为肿瘤的综合治疗提供新思路。

## 1 材料

### 1.1 药物与试剂

姜黄素(质量分数≥70%), 10 g/瓶, Sigma 公司, 批号 C1386; 奥沙利铂, 50 mg/支, 南京制药厂, 批号 20100401; RPMI 1640 培养基, Gibco 公司; 胎牛血清(FBS), 杭州四季青生物技术有限公司; 胰蛋白酶、二甲基亚砜(DMSO), 索来宝生物技术有限公司; 碘化丙啶(PI), Sigma 公司; AxyPrep™ Multisource 总 RNA 小量制备试剂盒, 美国 Axygen Biosciences 公司; 逆转录试剂盒, 北京 BioTeke 公司。

### 1.2 动物及细胞

BALB/c-nu 裸鼠, 雄性, 6~8 周龄, 体质量 16~18 g, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司, 许可证号: SCXK(京)2009-0004。人结肠癌细胞株 LoVo, 广州军区广州总医院医学实验科惠赠。

### 1.3 仪器

Epics—XLII 流式细胞仪, 美国 Beckman Coulter 公司; Milli—Q 超纯水系统, 美国 Millipore 公司; IX51 倒置相差显微镜, 日本 Olympus 公司; CO<sub>2</sub> 培养箱、ND—2000 超微量核酸蛋白检测仪, 美国 Thermo 公司; 5331 梯度 PCR 仪, 德国 Eppendorf 公司; MIKRO22R 1110 型高速冷冻离心机, 德国 Zentrifugen 公司; CM1100 型组织切片机, 德国莱卡公司; AlphaImager HP 荧光/可见光凝胶成像分析系统, 上海培清科技有限公司; DYY—6C 电泳仪, 北京市六一仪器厂。

## 2 方法

### 2.1 模型制备

人结肠癌细胞株 LoVo 置于含 10% FBS 的

RPMI 1640 培养液中, 37℃、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度条件下培养, 每 2~3 天更换 1 次培养液, 待细胞融合率达到约 85% 时, 无菌条件下收集对数生长期细胞, 调整细胞密度为  $5 \times 10^6/\text{mL}$ 。裸鼠皮肤消毒后, 用 1 mL 注射器于每只裸鼠右腋皮下接种 0.1 mL 的细胞悬液。接种后继续在 SPF 级条件下的层流架中饲养。每 2~3 天用游标卡尺测量皮下肿瘤直径, 待肿瘤平均直径为 5~6 mm 时, 选择无出血、无坏死、无感染的裸鼠进行实验。

### 2.2 分组与给药

模型制备成功后, 将荷瘤裸鼠随机分为 4 组, 每组 10 只, 模型组每次给予生理盐水 0.1 mL, 姜黄素组每次 ip 姜黄素 50 mg/kg (0.1 mL), 奥沙利铂组每次 ip 奥沙利铂 25 mg/kg (0.1 mL) (参照文献报道剂量<sup>[6-8]</sup>和预实验, 以姜黄素产生抑瘤作用的最小剂量 50 mg/kg 和奥沙利铂产生抑瘤作用的中剂量 25 mg/kg 为实验剂量), 联合给药组每次 ip 姜黄素 50 mg/kg (0.1 mL) + 奥沙利铂 25 mg/kg (0.1 mL), 每隔 1 天给药 1 次, 连续给药 11 次。实验期间所有裸鼠均自由采食、饮水。

### 2.3 体质量与肿瘤体积测量

每次给药前称裸鼠体质量, 每 2 天用游标卡尺测量 1 次瘤块的长径(*a*)和短径(*b*), 计算肿瘤体积(*V*)。

$$V = 1/2 \times a \times b^2$$

### 2.4 血常规与肝功能检测

末次给药后 24 h, 各组裸鼠在乙醚麻醉状态下摘除眼球采血, 肝素抗凝后, 全血标本用 Coulter 血细胞分析仪检测白细胞(WBC)计数、红细胞(RBC)计数、血小板(PLT)计数。分离血浆, 用 Synchron CX—9 全自动生化分析仪检测丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、尿素氮(BUN)和肌酐(Cr)水平。

### 2.5 抑瘤率计算

采血后, 颈椎脱臼处死裸鼠, 无菌条件下立即完整剥离瘤块, 称瘤质量, 计算各组平均瘤质量和抑瘤率。

$$\text{抑瘤率} = (\text{对照组平均瘤质量} - \text{给药组平均瘤质量}) / \text{对照组平均瘤质量}$$

### 2.6 流式细胞术检测肿瘤细胞周期

将肿瘤组织用剪刀剪碎, 500 目铜网滤过, 制

备肿瘤单细胞悬液。取密度为  $1 \times 10^6/\text{mL}$  的单细胞悬液 0.1 mL, 加入 PI 染液 1 mL, 在  $4^\circ\text{C}$  冰箱中染色 30 min, PBS 洗涤 2 次, 立即上流式细胞仪进行检测。

## 2.7 HE 染色观察肿瘤组织形态变化

无菌条件下迅速剥离出肿瘤组织, 肉眼观察后迅速将一部分肿瘤组织 ( $0.5\text{ cm}^3$ ) 置于中性缓冲福尔马林溶液中固定, 石蜡包埋, 切片, HE 染色, 光学显微镜下观察 ( $\times 400$ ) 组织病理学改变。

## 2.8 RT-PCR 检测肿瘤相关基因的表达

肿瘤组织分离后, 取部分用预冷生理盐水清洗, 迅速转移至灭菌的预冷研钵中, 加液氮快速研磨为粉状, 按 AxyPrep<sup>TM</sup> Multisource 总 RNA 小量制备试剂盒说明书提取总 RNA, 总 RNA 经 1% 琼脂糖凝胶电泳, 超微量核酸蛋白检测仪检测纯度和质量。RNA 逆转录为 cDNA, 进行 RT-PCR, 检测 bax、bcl-2 基因的表达, 以  $\beta$ -actin 为内参。PCR 引物序列: bax (169 bp) 正向引物 5'-TGCTTCAGG-GTTTCATCCAG-3', 反向引物 5'-GGCGCAATC-ATCCTCTG-3'; bcl-2 (746 bp) 正向引物 5'-GCTCT-GAACAGATCATGAAGACAG-3', 反向引物 5'-CA-ATCCAAAGTGGACCTGAGG-3';  $\beta$ -actin (450 bp) 正向引物 5'-CTACAATGAGCTGCGTGTGG-3'; 反向引物 5'-TAGCTCTTCTCCAGGGAGGA3'。反应

体系 ( $30\text{ }\mu\text{L}$ ):  $15\text{ }\mu\text{L}$  Premix Taq,  $0.6\text{ }\mu\text{L}$  cDNA,  $0.6\text{ }\mu\text{L}$  正向引物,  $0.6\text{ }\mu\text{L}$  反向引物,  $13.2\text{ }\mu\text{L}$  双蒸水。将上述所加的样品混匀, 离心, 利用 PCR 仪进行扩增。反应条件:  $94^\circ\text{C}$ 、预变性 4 min;  $94^\circ\text{C}$ 、变性 30 s;  $52^\circ\text{C}$ 、退火 30 s;  $72^\circ\text{C}$ 、延伸 1 min; 循环 30 次;  $72^\circ\text{C}$ 、终末延伸 10 min;  $4^\circ\text{C}$  保温。取出 PCR 产物, 利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 扩增结果, 通过凝胶成像系统扫描各条带, 依据其光密度和面积对 PCR 扩增产物进行定量分析, 计算目的基因与内参扩增条带光强度比值, 得出目的基因相对表达量。

## 2.9 统计学分析

应用 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析, 数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 计量资料经方差齐性检验为方差齐性, 两组间差异采用  $t$  检验, 多组资料应用单因素方差分析。

## 3 结果

### 3.1 对荷瘤裸鼠肿瘤生长的影响

与模型组相比, 姜黄素、奥沙利铂单独给药组和联合给药组显示不同程度的肿瘤抑制作用。姜黄素和奥沙利铂单独给药组的抑瘤率分别为 59.47%、55.49%, 联合给药组的抑瘤率达到 70.56%。在整个实验过程中, 各给药组裸鼠无死亡及体质量明显下降、活动减少、腹泻等中毒症状出现。结果见表 1。

表 1 姜黄素与奥沙利铂单独或联合给药后对 LoVo 裸鼠移植瘤的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Effects of curcumin or oxaliplatin alone or combined treatment on xenografted tumor in LoVo-bearing nude mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

| 组别       | 剂量 / ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) | 肿瘤体积 / $\text{mm}^3$             | 肿瘤质量 / g                   | 抑瘤率 / % |
|----------|-------------------------------------------|----------------------------------|----------------------------|---------|
| 模型       | —                                         | $1\,921.85 \pm 66.53$            | $3.09 \pm 0.99$            | —       |
| 姜黄素      | 50                                        | $1\,735.28 \pm 508.83$           | $1.25 \pm 0.46^{**}$       | 59.47   |
| 奥沙利铂     | 25                                        | $1\,639.75 \pm 368.59$           | $1.37 \pm 0.48^{**}$       | 55.49   |
| 姜黄素+奥沙利铂 | 50+25                                     | $1\,279.86 \pm 201.54^{*\Delta}$ | $0.91 \pm 0.24^{**\Delta}$ | 70.56   |

与模型组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ ; 与奥沙利铂组比较:  $\Delta P < 0.05$

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs model group;  $\Delta P < 0.05$  vs oxaliplatin group

### 3.2 对荷瘤裸鼠血常规及肝肾功能的影

姜黄素与奥沙利铂单独给药组及联合给药组荷瘤裸鼠血常规及肾功能无显著差异, 表明姜黄素和奥沙利铂单独给药对荷瘤裸鼠血液系统、肝肾无明显毒性, 且两药合用也不增加对裸鼠的毒性。结果见表 2 和 3。

### 3.3 对荷瘤裸鼠肿瘤细胞周期的影响

与模型组相比, 姜黄素、奥沙利铂单独给药

组及联合给药组均可显著提高肿瘤细胞凋亡率 ( $P < 0.01$ ); 使 S 期细胞比例显著增加 ( $P < 0.05$ ); 而姜黄素和奥沙利铂单独给药组  $G_2/M$  期的细胞比例变化不明显, 联合给药组  $G_2/M$  期的细胞比例显著增加 ( $P < 0.01$ ), 提示姜黄素和奥沙利铂单用使肿瘤细胞周期阻滞于 S 期, 而两药联用使肿瘤细胞周期阻滞于 S 期和  $G_2/M$  期。结果见表 4。

### 3.4 对荷瘤裸鼠肿瘤组织显微结构的影响

HE染色并光镜下可见,模型组裸鼠肿瘤细胞排列无规则,异型明显,以圆形或椭圆形细胞为主,大小不一,细胞排列紧密,核染色质深,胞核较大,核分裂相多。姜黄素、奥沙利铂及联合

给药组裸鼠肿瘤细胞大小均匀,出现水变性,胞浆透亮状改变;核固缩、溶解,细胞崩解,部分肿瘤组织退变、坏死严重,核分裂相减少,可见一些散在的肿瘤细胞凋亡,形成凋亡小体。结果见图1。

表2 姜黄素与奥沙利铂单独或联合给药对LoVo荷瘤裸鼠血常规的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 2 Effects of curcumin or oxaliplatin alone or combined treatment on routine blood of LoVo-bearing nude mice ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

| 组别       | 剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> ) | WBC/( $\times 10^9 \cdot L^{-1}$ ) | RBC/( $\times 10^{12} \cdot L^{-1}$ ) | PLT/( $\times 10^9 \cdot L^{-1}$ ) |
|----------|---------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|
| 模型       | —                         | 3.83±0.71                          | 8.72±1.11                             | 104.33±10.07                       |
| 姜黄素      | 50                        | 3.06±0.32                          | 9.34±1.56                             | 108.33±14.50                       |
| 奥沙利铂     | 25                        | 4.10±1.68                          | 7.15±1.66                             | 115.67±13.65                       |
| 姜黄素+奥沙利铂 | 50+25                     | 3.20±0.44                          | 8.67±0.90                             | 114.33±16.50                       |

表3 姜黄素与奥沙利铂单独或联合给药对LoVo荷瘤裸鼠肝肾功能的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 3 Effects of curcumin or oxaliplatin alone or combined treatment on liver and kidney function of LoVo-bearing nude mice ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

| 组别       | 剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> ) | ALT/(U·L <sup>-1</sup> ) | AST/(U·L <sup>-1</sup> ) | BUN/(mmol·L <sup>-1</sup> ) | Cr/(μmol·L <sup>-1</sup> ) |
|----------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| 模型       | —                         | 58.33±2.29               | 260.00±63.21             | 14.77±1.60                  | 99.33±17.21                |
| 姜黄素      | 50                        | 64.33±2.16               | 260.33±64.53             | 18.80±1.35                  | 114.67±3.51                |
| 奥沙利铂     | 25                        | 71.00±1.00               | 301.00±61.21             | 20.93±0.92                  | 103.67±16.56               |
| 姜黄素+奥沙利铂 | 50+25                     | 61.67±1.16               | 257.00±45.13             | 17.10±2.52                  | 88.33±40.43                |

表4 姜黄素与奥沙利铂单独或联合给药对LoVo荷瘤裸鼠肿瘤细胞周期和凋亡的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 4 Effects of curcumin or oxaliplatin alone or combined treatment on cell cycle and apoptosis of LoVo-bearing nude mice ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

| 组别       | 剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> ) | G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> 期/% | S期/%         | G <sub>2</sub> /M期/% | 细胞凋亡率/%        |
|----------|---------------------------|------------------------------------|--------------|----------------------|----------------|
| 模型       | —                         | 75.51±0.28                         | 19.15±1.77   | 4.34±0.07            | 3.14±0.71      |
| 姜黄素      | 50                        | 63.52±18.24                        | 32.01±15.40* | 4.53±2.79            | 20.44±4.02**▲▲ |
| 奥沙利铂     | 25                        | 65.30±5.94                         | 30.55±8.56*  | 4.13±2.62            | 11.91±2.02**   |
| 姜黄素+奥沙利铂 | 50+25                     | 58.15±2.97*                        | 29.74±1.91*  | 12.15±1.06**▲▲       | 22.01±2.38**▲▲ |

与模型组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ ; 与奥沙利铂组比较: ▲▲ $P < 0.01$ , 下表同

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group; ▲▲ $P < 0.01$  vs oxaliplatin group, same as below

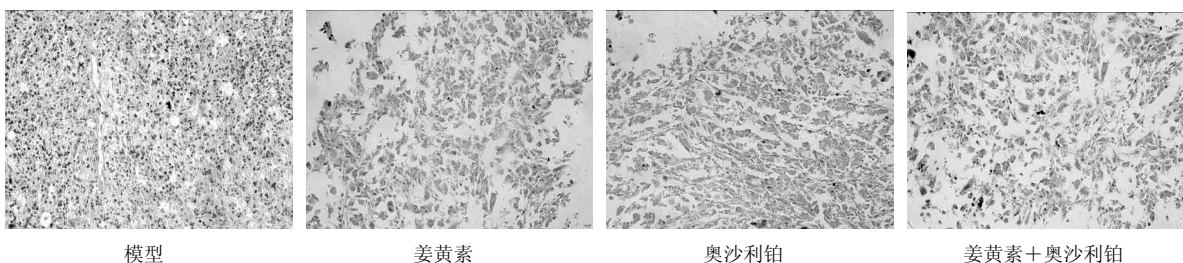


图1 各组LoVo荷瘤裸鼠肿瘤组织显微结构观察

Fig. 1 Microstructure observation of tumor tissue in LoVo-bearing nude mice of each group

### 3.5 对肿瘤相关基因表达的影响

促凋亡基因 *bax* 的表达量在模型组、姜黄素和奥沙利铂单独给药组裸鼠肿瘤组织中无明显变化，而在联合给药组裸鼠肿瘤组织中则显著增加；凋亡抑制基因 *bcl-2* 的表达量在奥沙利铂组裸鼠肿瘤组织中显著降低。结果见图 2。对 mRNA 扩增产物进

行定量分析，结果发现，与模型组相比，奥沙利铂组肿瘤组织中 *bcl-2* 值显著减小 ( $P<0.01$ )，也低于其他 2 个给药组；而联合给药组肿瘤组织中的 *bax* 值显著升高 ( $P<0.01$ )，且高于其他 2 个给药组。与模型组相比，奥沙利铂组和联合给药组 *bcl-2/bax* 的值下降明显 ( $P<0.01$ )。结果见表 5。



图 2 姜黄素与奥沙利铂单独或联合给药对 LoVo 荷瘤裸鼠肿瘤组织 *bax* 和 *bcl-2* 基因表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Fig. 2 Effects of curcumin or oxaliplatin alone or combined treatment on expression of *bax* and *bcl-2* genes in tumor tissue of LoVo-bearing nude mice ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

表 5 姜黄素与奥沙利铂单独或联合给药对 LoVo 荷瘤裸鼠肿瘤组织 *bax* 和 *bcl-2* 基因表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 5 Effects of curcumin or oxaliplatin alone or combined treatment on expression of *bax* and *bcl-2* genes in tumor tissue of LoVo-bearing nude mice ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

| 组 别      | <i>bcl-2</i> /β-actin | <i>bax</i> /β-actin | <i>bcl-2</i> / <i>bax</i> |
|----------|-----------------------|---------------------|---------------------------|
| 模型       | 0.89±0.12             | 0.51±0.03           | 1.75                      |
| 姜黄素      | 0.98±0.08             | 0.53±0.08           | 1.84                      |
| 奥沙利铂组    | 0.38±0.07**           | 0.55±0.03           | 0.69**                    |
| 姜黄素+奥沙利铂 | 0.90±0.05             | 0.93±0.02***▲       | 0.97**                    |

## 4 讨论

结肠癌是最常见的癌症之一，在我国的发病率和死亡率成逐年上升趋势，其发病机制涉及多种分子生物学和生物化学事件。因此，联合用药或具有多种途径作用的药物应具有良好的临床疗效。以奥沙利铂为基础的联合药物在结肠癌的联合化疗方案中表现出温和但有效的抗肿瘤作用<sup>[9-11]</sup>。但多药联用往往伴有其他不良反应，有的甚至很严重。姜黄素为无毒的膳食物质，在体内外均显示出明显的抗肿瘤作用<sup>[12-14]</sup>；能协同提高塞来昔布、异硫氰酸苯乙酯、吉西他滨、达沙替尼和 Folfex 等化疗药物的抗癌效果<sup>[12,15-18]</sup>。

本实验选择人结肠癌 LoVo 细胞株在裸鼠皮下接种，制备裸鼠移植瘤模型，建模成功率为 100%。给药后结果表明，姜黄素、奥沙利铂、两药联合给药组对裸鼠移植瘤的生长均有明显抑制作用，尤其是联合给药组的作用更为显著。细胞凋亡与细胞周期关系密切，因此使得细胞周期成为肿瘤治疗的新靶点<sup>[19-21]</sup>。本实验结果显示，姜黄素协同奥沙利铂

可使肿瘤细胞阻滞于 S 和 G<sub>2</sub>/M 期，增加肿瘤细胞的凋亡率。*bcl-2* 基因家族是细胞凋亡的调控中心，抗凋亡基因 *bcl-2* 与促凋亡基因 *bax* 可形成异源二聚体或二聚体，两者的比值与细胞凋亡调控相关，直接决定细胞凋亡与否<sup>[21-22]</sup>。本实验结果显示，姜黄素可协同奥沙利铂下调 *bcl-2/bax* 值，诱导细胞凋亡。光镜观察可见，姜黄素组、奥沙利铂组及联合给药组裸鼠肿瘤细胞水变性、核固缩、溶解及细胞崩解均较模型组显著，提示姜黄素与奥沙利铂可通过诱导细胞凋亡和坏死发挥体内抗肿瘤作用。

综上，姜黄素能协同奥沙利铂抑制 LoVo 细胞裸鼠移植瘤的生长，显著增强对肿瘤的抑制作用。此结果为探索中西药结合治疗结肠癌的新途径提供了实验依据和参考。

## 参考文献

- [1] Kiuchi F, Goto Y, Sugimoto N, *et al.* Nematocidal activity of turmeric: synergistic action of curcuminoids [J]. *Chem Pharm Bull*, 1993, 41(9): 1640-1643.
- [2] Shishodia S, Chaturvedi M M, Aggarwal B B. Role of

- curcumin in cancer therapy [J]. *Curr Probl Cancer*, 2007, 31(4): 243-305.
- [3] Goel A, Kunnumakkara A B, Aggarwal B B. Curcumin as “Curecumin”: from kitchen to clinic [J]. *Biochem Pharmacol*, 2008, 75(4): 787-809.
- [4] 罗廷顺, 李洪文, 刘正文, 等. 姜黄素的提取分离与药理作用进展 [J]. *现代药物与临床*, 2011, 26(2): 102-107.
- [5] 琚 辉, 郝存江, 尹 飞, 等. 姜黄素固体脂质纳米粒的制备及表征 [J]. *药物评价研究*, 2010, 33(6): 420-426.
- [6] Ruby A J, Kuttan G, Dinesh Babu K, *et al.* Anti-tumour and antioxidant activity of natural curcuminoids [J]. *Cancer Lett*, 1995, 94(1): 79-83.
- [7] Yoosungnoen P, Wirachwong P, Bhattarakosol P, *et al.* Effects of curcumin on tumor angiogenesis and biomarkers, COX-2 and VEGF, in hepatocellular carcinoma cell-implanted nude mice [J]. *Clin Hemorheol Micro*, 2006, 34(1): 109-115.
- [8] Pestieau S R, Belliveau J F, Griffin H, *et al.* Pharmacokinetics of intraperitoneal oxaliplatin: experimental studies [J]. *J Sur Oncol*, 2001, 76(2): 106-114.
- [9] Kuebler J P, Wieand H S, O’Connell M J, *et al.* Oxaliplatin combined with weekly bolus fluorouracil and leucovorin as surgical adjuvant chemotherapy for stage II and III colon cancer: Results from NSABP C-07 [J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(16): 2198-2204.
- [10] Fischel J L, Rostagno P, Formento P, *et al.* Ternary combination of irinotecan, fluorouracil-folinic acid and oxaliplatin: results on human colon cancer cell lines [J]. *Br J Cancer*, 2001, 84(4): 579-585.
- [11] Xu J M, Azzariti A, Colucci G, *et al.* The effect of gefitinib (Iressa, ZD1839) in combination with oxaliplatin is schedule-dependent in colon cancer cell lines [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2003, 52(6): 442-448.
- [12] Nautiyal J, Banerjee S, Kanwar S S, *et al.* Curcumin enhances dasatinib-induced inhibition of growth and transformation of colon cancer cells [J]. *Int J Cancer*, 2011, 128(4): 951-961.
- [13] Li L, Aggarwal B B, Shishodia S, *et al.* Nuclear factor-kappaB and IkappaB kinase are constitutively active in human pancreatic cells, and their down-regulation by curcumin (diferuloylmethane) is associated with the suppression of proliferation and the induction of apoptosis [J]. *Cancer*, 2004, 101(10): 2351-2362.
- [14] Odot J, Albert P, Carlier A, *et al.* *In vitro* and *in vivo* anti-tumoral effect of curcumin against melanoma cells [J]. *Int J Cancer*, 2004, 111(3): 381-387.
- [15] Lev-Ari S, Strier L, Kazanov D, *et al.* Celecoxib and curcumin synergistically inhibit the growth of colorectal cancer cells [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(18): 6738-6744.
- [16] Patel B B, Sengupta R, Qazi S, *et al.* Curcumin enhances the effects of 5-fluorouracil and oxaliplatin in mediating growth inhibition of colon cancer cells by modulating EGFR and IGF-1R [J]. *Int J Cancer*, 2008, 122(2): 267-273.
- [17] Khor T O, Keum Y S, Lin W, *et al.* Combined inhibitory effects of curcumin and phenethyl isothiocyanate on the growth of human PC-3 prostate xenografts in immunodeficient mice [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(2): 613-621.
- [18] Kunnumakkara A B, Guha S, Krishnan S, *et al.* Curcumin potentiates antitumor activity of gemcitabine in an orthotopic model of pancreatic cancer through suppression of proliferation, angiogenesis, and inhibition of nuclear factor-kappaB-regulated gene products [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(8): 3853-3861.
- [19] Erba E, Bassano L, Liberti G D, *et al.* Cell cycle phase perturbations and apoptosis in tumor cells induced by apilidine [J]. *Br J Cancer*, 2002, 86(9): 1510-1517.
- [20] Decker R H, Dai Y, Grant S. The cyclin-dependent kinase inhibitor flavopiridol induces apoptosis in human leukemia cells (U937) through the mitochondrial rather than the receptor-mediated pathway [J]. *Cell Death Differ*, 2001, 8(7): 715-724.
- [21] Sun L, Xie P, Wada J, *et al.* Rap1b GTPase ameliorates glucose-induced mitochondrial dysfunction [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19(12): 2293-2301.
- [22] Li J, Sun G Z, Lin H S, *et al.* The herb medicine formula “Yang Wei Kang Liu” improves the survival of late stage gastric cancer patients and induces the apoptosis of human gastric cancer line through Fas/Fas ligand and Bax/Bcl-2 pathways [J]. *Int Immuno Pharmacol*, 2008, 8(9): 1196-1206.