

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2009.01.008

## 大蒜素联合长春瑞滨促进胃癌细胞株 p21 和 p27 的表达

马锐<sup>1\*</sup>,董武<sup>2</sup>,何红梅<sup>3</sup>,柳星<sup>1</sup>,袁媛<sup>3</sup>(1. 辽宁省肿瘤医院内科,沈阳 110042; 2. 辽宁省人民医院妇科沈阳 110033; 3. 中国医科大学附属第一医院肿瘤研究所第三研究室,沈阳 110001)

[摘要] 目的:通过检测大蒜素与细胞周期特异性化疗药联合应用对胃癌细胞周期抑制蛋白(cyclin-dependent kinase inhibitors, CKI) p21、p27 表达的影响,探讨大蒜素对肿瘤细胞周期阻滞及与化疗药协同抗肿瘤作用的可能机制。方法:MTT 法测定化疗药长春瑞滨(vinorelbine, NVB)、氟尿嘧啶(flourouracil, 5-Fu)、丝裂霉素(mitomycin, MMC)对两种胃癌细胞株 BGC-823 和 SGC-7901 的增殖抑制率,并计算这些药物的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>),以此作为检测 p21、p27 蛋白表达时的给药剂量;流式细胞仪检测单独或联合用药时细胞周期的改变;S-P 免疫组化法检测胃癌细胞 p21、p27 蛋白的表达。结果:大蒜素作用 24、48 h 后两种细胞均出现 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞减少、G<sub>2</sub>/M 期细胞增多。大蒜素作用于两种细胞后 p21 和 p27 蛋白的阳性表达率随大蒜素质量浓度(5、10、15、20 μg/ml)的增加而依次升高。大蒜素与细胞周期特异化疗药 NVB 联合作用后,与单一作用相比,两种细胞的 p21、p27 蛋白的表达均显著增加(P<0.01);大蒜素分别与 5-FU 或 MMC 联合作用后,两种细胞中 p21、p27 蛋白的表达并没有进一步增加。结论:大蒜素与细胞周期特异化疗药 NVB 联合应用后通过上调 p21、p27 蛋白的表达使胃癌细胞阻滞于 G<sub>2</sub>/M 期。

[关键词] 大蒜素;长春瑞滨;胃癌细胞;p21;p27;细胞周期

[中图分类号] R730.54; R735.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2009)01-034-06

## Allicin combined with vinorelbine increases both p21 and p27 expression in human gastric cancer cell lines BGC-823 and SGC-7901

MA Rui<sup>1\*</sup>, DONG Wu<sup>2</sup>, HE Hong-mei<sup>3</sup>, LIU Xing<sup>1</sup>, YUAN Yuan<sup>3</sup>(1. Department of Internal Medicine, Provincial Tumor Hospital of Liaoning, Shenyang 110042, China; 2. Department of Obstetrics, Provincial People's Hospital of Liaoning, Shenyang 110033, China; 3. The third Research Division of Tumor Research Institute, the first Affiliated Hospital of Chinese Medical University, Shenyang 110001, China)

[Abstract] **Objective:** To study whether allicin combined with cell cycle specific chemotherapeutic drugs can influence p21, p27 expression in human gastric cancer cell line, so as to discuss the synergistic effect between allicin and cell cycle specific chemotherapeutic drugs and the possible mechanism. **Methods:** MTT was used to observe the inhibition of gastric cancer cell lines BGC-823 and SGC-7901 after treatment with vinorelbine (NVB), fluorouracil (5-FU) and mitomycin (MMC), and the IC<sub>50</sub> was calculated. The change of cell cycle was examined by flow cytometry; S-P immunohistochemistry was used to detect the expression of p21 and p27 in BGC-823 and SGC-7901 cells. **Results:** Allicin decreased cells in G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> phase and increased cells in G<sub>2</sub>/M phase in both BGC-823 and SGC-7901 cells after 24 h. Allicin dose dependently increased expression of p21 and p27 at a serial concentration of 5, 10, 15 and 20 μg/ml. Combination of allicin with NVB increased the expression of both p21 and p27 in both cell lines compared with either allicin or NVB alone (P<0.01). Combination of allicin with 5-FU or MMC did not further increase the expression of p21 and p27. **Conclusion:** Combination of allicin with NVB greatly increases expression of p21 and p27 in gastric BGC-823 and SGC-7901 cells, and subsequently induces cell cycle arrest in G<sub>2</sub>/M phase.

[Key words] Allicin; vinorelbine; gastric neoplasms; p21; p27; cell cycle

[Chin J Cancer Biother, 2009, 16(1): 34-39]

p21、p27 蛋白是细胞周期的重要调控因子,均属于细胞周期素依赖性激酶抑制蛋白(cyclin-dependent kinase inhibitors, CKIs)家族,可以抑制细胞周期素-D(cyclin-D)与细胞周期素依赖性激酶(cyclin dependent kinase, CDK)复合物的形成,使细胞生长抑制,从而发挥对细胞周期的负调控作用<sup>[1-3]</sup>。抑癌基因

p21<sup>WAF1/CIP1</sup>、p27<sup>KIP1</sup>被认为是细胞周期调控的重要负性调控因子,与肿瘤的发生、发展机制有关<sup>[4]</sup>。有研

[作者简介] 马锐(1966-),女,辽宁省沈阳市人,主任医师,主要从事肿瘤临床治疗方面的研究

\* 通讯作者( Corresponding author). E-mail: marui0000@yahoo.com.cn

究已明确大蒜素( allicin )不但有直接杀伤肿瘤细胞的作用,而且还能抑制肿瘤细胞的增殖并将其阻滞于 G<sub>2</sub>/M 期;大蒜素与细胞周期特异性化疗药联合应用时具有协同抗肿瘤作用,但其作用机制尚不明确<sup>[5]</sup>。为进一步探讨大蒜素对肿瘤细胞的周期阻滞及与化疗药协同抗肿瘤的作用机制,本研究应用 S-P 免疫组化技术,检测大蒜素及细胞周期特异化疗药联合作用前后 p21、p27 表达的变化。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料

人胃癌细胞株 BGC-823(人胃低分化腺癌细胞)、SGC-7901(人淋巴结转移性胃癌细胞)由中国医科大学细胞生物学教研室提供。大蒜素注射液购自上海禾丰制药有限公司。长春瑞滨(vinorelbine, NVB;特异作用于 G<sub>2</sub>/M 期)购自法国皮尔法伯制药公司。氟尿嘧啶(Fluorouracil, 5-FU;特异作用于 S 期)购自上海旭东海普药业有限公司。丝裂霉素(mitomycin, MMC;特异作用于 G<sub>1</sub> 期)购自浙江海正药业股份有限公司。第一抗体 p21、p27 以及第二抗体辣根过氧化物酶标记的抗兔 IgG 购自福州迈新技术开发公司。

### 1.2 细胞培养

两种细胞用含有 10% 小牛血清的 RPMI 1640 培养液,于 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养。实验细胞为接种 24 h 后的对数生长期细胞。

### 1.3 MTT 法测定药物对细胞增殖的抑制并测定药物半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)

收集对数生长期 BGC-823 和 SGC-7901 细胞,以 4 × 10<sup>4</sup>/ml 的密度加入 96 孔板,每孔 100 μl。将不同质量浓度(0.09、0.19、0.38、0.75、1.5、3.125、6.25、25、50、100、200 μg/ml)的药物(NVB、5-FU、MMC 及大蒜素)各 100 μl 加入实验孔,另设立不加药的阴性对照。每一浓度设 4 个复孔,培养 72 h。每孔加入(1 mg/ml) MTT 溶液 100 μl,继续培养 4 h,离心 10 min,1 500 × g,去上清,每孔加入 100 μl DMSO,震荡溶解 10 min,室温 20 min,在酶标仪 570 nm 处测光密度(D)值,计算细胞抑制率、绘制细胞增殖抑制曲线并测定药物半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)。计算细胞抑制率的公式:细胞抑制率(%) = (1 - 实验组 D 值/对照组 D 值) × 100%。

### 1.4 流式细胞术检测细胞周期

取生长状态良好的细胞,接种在大方瓶中,培养至密度达 60% ~ 70% 时,加入大蒜素及各化疗药,培养 24、48 h 后,收集细胞。PBS 洗 3 次后,70% 乙醇

4 ℃ 固定过夜,800 × g 离心 5 min,弃去乙醇,PBS 洗 3 次,加入 10 μg/ml 的 RNase 于 37 ℃ 消化 30 min,加入 50 μg/ml 的 PI 于 4 ℃ 染色 1 h,流式细胞仪检测。应用 FSC、SSC 选取细胞,FL2-H 测定 DNA 含量,采用 CELLQuest 软件进行细胞周期及亚二倍体的百分比分析。每组实验重复 3 次。

### 1.5 免疫组化检测肿瘤细胞 p21、p27 蛋白的表达

培养细胞 BGC-823、SGC-7901 分别单独加入 5、10、15、20 μg/ml 的大蒜素及化疗药 NVB、5-FU、MMC,同时设立不加处理的对照组。采用细胞涂片,常规 SP 免疫组化染色法:滴加 0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 阻断溶液,室温孵育 10 min,PBS 冲洗 3 次,3 min/次,滴加非免疫血清,室温孵育 20 min,滴加第一抗体,4 ℃ 过夜,PBS 冲洗 3 次,3 min/次;滴加辣根过氧化物酶标记二抗,室温孵育 10 min,PBS 冲洗 3 次,3 min/次;滴加 DAB 显色,苏木精复染,中性树胶封固,显微镜观察。判断标准:以细胞核、细胞质呈清晰棕黄色为阳性细胞。高倍视野下数 200 个细胞,计算阳性细胞百分比。

### 1.6 统计学处理

两样本的均数间的比较采用 t 检验,采用 SPSS13.0 软件进行统计分析。

## 2 结果

### 2.1 3 种化疗药对两种胃癌细胞增殖的抑制

对照组细胞呈正常的对数生长,而 3 种细胞周期性化疗药 NVB、5-FU、MMC 对两种胃癌细胞均有明显的抑制,且呈浓度依赖性(图 1,2)。NVB、5-FU、MMC 作用 72 h 抑制 BGC-823 细胞增殖 50% 的药物浓度(IC<sub>50</sub>)分别为 9、6.25、12 μg/ml;抑制 SGC-7901 细胞的 IC<sub>50</sub> 分别为 43、1.5、0.38 μg/ml。

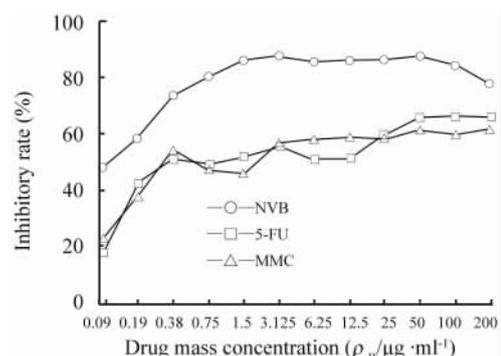


图 1 NVB、5-FU 及 MMC 对 BGC-823 细胞增殖的抑制作用

Fig. 1 NVB, 5-FU and MMC inhibited proliferation of BGC-823 cells

### 2.2 大蒜素对两种胃癌细胞增殖及细胞周期的影响

实验结果显示,对照组细胞呈正常的对数生长,而大蒜素对 BGC-823 和 SGC-7901 两种细胞的生长均有明显的抑制作用,且呈浓度依赖性(图 3)。大蒜素作用 72 h 抑制 BGC-823 细胞的 IC<sub>50</sub> 为 30 μg/ml;抑制 SGC-7901 细胞的 IC<sub>50</sub> 为 20 μg/ml。收集大蒜素作用 24、48 h 后的 BGC-823 细胞和 SGC-7901 细胞以流式细胞仪检测,结果显示,两种细胞的细胞周期均发生了明显的变化,主要表现为 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞减少,G<sub>2</sub>/M 期细胞增多,提示两种胃癌细胞经大蒜素处理后细胞周期阻滞于 G<sub>2</sub>/M 期(图 4,表 1)。

性表达率随大蒜素浓度(5、10、15、20 μg/ml)的增加而依次增强(图 5,表 1)。

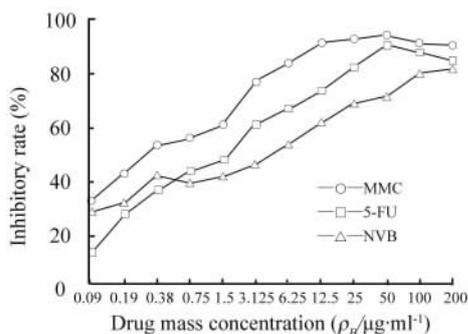


图 2 NVB,5-FU 及 MMC 对 SGC-7901 细胞增殖的抑制作用

Fig. 2 NVB,5-FU and MMC inhibited proliferation of SGC-7901 cells

### 2.3 大蒜素促进胃癌细胞株 p21、p27 蛋白的表达

以免疫组化检测大蒜素作用对 BGC-823 和 SGC-7901 细胞 p21 和 p27 蛋白表达的影响,结果(图 5)显示,未经大蒜素处理的两种细胞,p21、p27 蛋白均为阴性;而大蒜素分别作用 BGC-823 和 SGC-7901 细胞后,p21 和 p27 蛋白均为阳性表达,且其阳

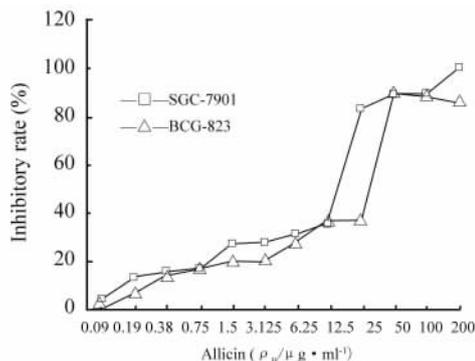


图 3 大蒜素对 SGC-7901 和 BGC-823 细胞增殖的抑制作用  
Fig. 3 Allicin inhibited proliferation of SGC-7901 and BGC-823 cells

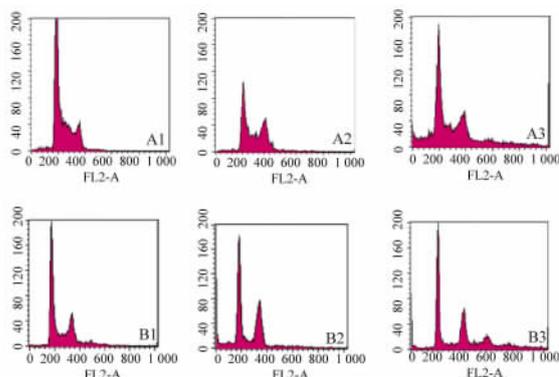


图 4 大蒜素对 SGC-7901 和 BGC-823 细胞周期的影响  
Fig. 4 Effect of Allicin on the cell cycles of SGC-7901 and BGC-823 cells

A1: Untreated SGC-7901 cells; A2: SGC-7901 cells treated for 24 h; A3: SGC-7901 cells treated for 48 h; B1: Untreated BGC-823 cells; B2: BGC-823 cells treated for 24 h; B3: BGC-823 cells treated for 48 h

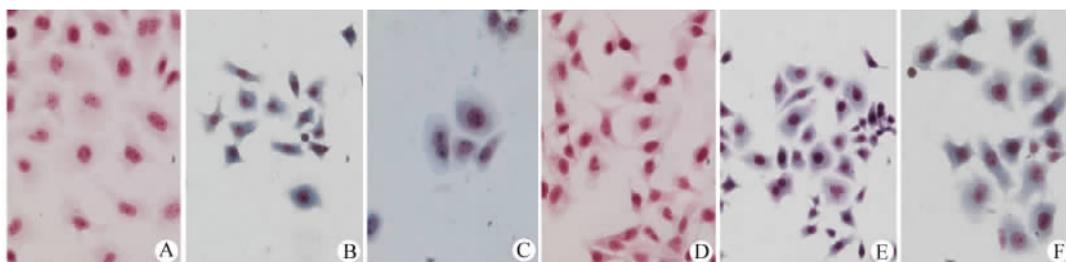


图 5 大蒜素促进 BGC-823 和 SGC-7901 细胞 p21、p27 蛋白的表达(SP, ×400)

Fig. 5 Allicin increased p21 and p27 expression in BGC-823 and SGC-7901 cells as detected by immunohistochemistry (SP, ×400)

A: Untreated BGC-823 cells; B: Expression of p21 in BGC-823 cells treated with allicin;

C: Expression of p27 in BGC-823 cells treated with allicin; D: Untreated SGC-7901 cells;

E: Expression of p21 in SGC-7901 cells treated with allicin; F: Expression of p27 in SGC-7901 cells treated with allicin

表 1 大蒜素促进胃癌细胞株 BGC-823 和 SGC-7901 p21 及 p27 蛋白的表达

Tab.1 Allicin increased p21 and p27 expression in BGC-823 and SGC-7901 cells

Allicin ( $\rho_{\text{H}}/\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	p21 expression( % )		p27 expression( % )	
	SGC-7901	BGC-823	SGC-7901	BGC-823
0	0	0	0	0
5	34.3	31.1	29.3	25.9
10	41.9	36.6	35.4	35.7
15	57.7	42.1	41.5	35.7
20	62.6	49.8	49.2	40.9

#### 2.4 3 种化疗药对两种胃癌细胞 p21、p27 蛋白表达的影响

经化疗药 5-FU( 6.25、1.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  )、MMC( 12、

0.38  $\mu\text{g}/\text{ml}$  )处理的两种细胞,均不表达 p21 和 p27 蛋白;而经 NVB( 9.43  $\mu\text{g}/\text{ml}$  )处理的两种细胞 p21 和 p27 蛋白的表达均为阳性,BGC-823 细胞 p21、p27 阳性表达率分别为 48.2% 和 41.4%,SGC-7901 细胞 p21、p27 阳性表达率分别为 53.2% 和 49.7% (图 6,表 2、3)。

#### 2.5 化疗药和大蒜素联合处理对两种胃癌细胞 p21、p27 蛋白表达的影响

大蒜素( 15  $\mu\text{g}/\text{ml}$  )联合 3 种化疗药处理后,两种细胞 p21 和 p27 蛋白的表达均为阳性。两种细胞的 NVB + 大蒜素组,p21 和 p27 阳性表达率均显著高于单一药物作用(均为  $P < 0.01$ )。而两种细胞的 5-FU + 大蒜素处理和 MMC + 大蒜素处理,p21 和 p27 阳性表达率分别与大蒜素单一药物作用相类似(  $P > 0.05$  ) (图 6,表 2、3)。

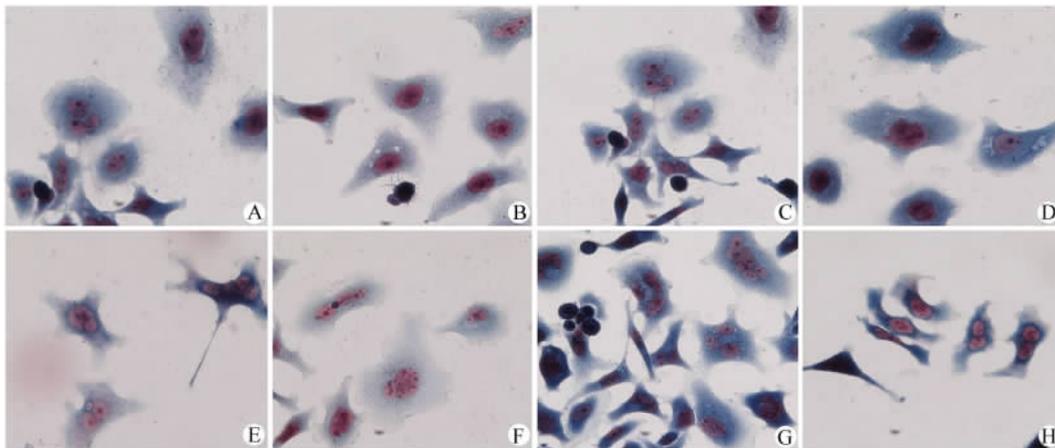


图 6 大蒜素联合 NVB 促进 BGC-823 细胞和 SGC-7901 细胞 p21、p27 蛋白的表达( SP,  $\times 400$  )

Fig.6 Combination of allicin with NVB increased both p21 and p27 expression in BGC-823 and SGC-7901 cells ( SP,  $\times 400$  )

A: p21 expression in BGC-823 cells treated with NVB; B: p27 expression in BGC-823 cells treated with NVB; C: p21 expression in BGC-823 cells treated with both NVB and allicin; D: p27 expression in BGC-823 cells treated with both NVB and allicin; E: p21 expression in SGC-7901 cells treated with NVB; F: p27 expression in SGC-7901 cells treated with NVB; G: p21 expression in SGC-7901 cells treated with both NVB and allicin; H: p27 expression in SGC-7901 cells treated with both NVB and allicin

### 3 讨 论

大蒜素( Allicin )为大蒜中的活性成分,用色谱-质谱分离得到 5 种成分,其中一种具有较强的抗真菌和细菌能力,而且性质稳定,称为二烯丙基三硫( diallyl trisulfide ),又名大蒜新素。其不仅限于抗菌消炎防治感染性疾病,而且广泛用于抗衰老、降血脂、降血压、抗凝血、抗病毒等<sup>[6-11]</sup>。除上述功能外,近年研究发现大蒜素能阻断致癌物的合成、抑制致

癌物的活化和抗突变、抗畸变作用<sup>[12-14]</sup>;大蒜素对肿瘤细胞有直接杀伤作用,具有抑制癌细胞生长、调节细胞周期、促进癌细胞凋亡等作用<sup>[15-16]</sup>。

细胞周期调节失控是肿瘤发生、发展中重要的分子事件。细胞周期同时受到正向和负向因素的调控,其中最重要的是细胞周期素( cyclin )、细胞周期蛋白依赖性激酶( CDK )、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂组成的立体网络调控系统。cyclin 和 CDK 作为细胞周期循环的引擎分子,促进细胞周期的进程,

CKIs 则通过抑制 cyclin-CDK 复合物的形成或活性,发挥负性调控作用。近年来细胞周期调控研究确定了细胞周期的核心机制:CDK 的活性表达与调控,揭示了细胞周期调控模式,即不同时相间的转换取决于能否顺利通过若干关卡( check point ),其中以 G<sub>1</sub>→S 期和 G<sub>2</sub>→M 期转变的关卡调节最为重要<sup>[17-20]</sup>。这依赖于一系列正/负调节因子的相互作用。CKIs 在肿瘤抑制和细胞周期网络调控中起着重要作用,根据其结构特征和作用方式将 CKIs 分为两个家族:ink4 包括 p15、p16、p18、p19; kip 包括 p21、p27、p57<sup>[20-21]</sup>。

表 2 3 种化疗药分别和大蒜素联合作用后两种胃癌细胞 p21 蛋白的表达

Tab.2 Combination of allicin with three different chemotherapy drugs increased p21 expression in BGC-823 and SGC-7901 cells

Drug	p21 expression ( % )	
	SGC-7901	BGC-823
Allicin	57.7	42.1
5-FU	0	0
MMC	0	0
NVB	53.2	48.2
5-FU + Allicin	50.1	38.2
MMC + Allicin	51.6	40.1
NVB + Allicin	83.6**	79.7**

\*\* P < 0.01 vs allicin or NVB

表 3 3 种化疗药联合大蒜素联合作用后两种胃癌细胞 p27 蛋白的表达

Tab.3 Combination of allicin with three different chemotherapy drugs increased p27 expression in BGC-823 and SGC-7901 cells

Drug	p27 expression ( % )	
	SGC-7901	BGC-823
Allicin	41.5	35.7
5-FU	0	0
MMC	0	0
NVB	49.7	41.4
5-FU + Allicin	30.3	34.4
MMC + Allicin	36.1	36.5
NVB + Allicin	70.8**	66.9**

\*\* P < 0.01 vs allicin or NVB

p21 蛋白是目前已知的具有广泛激酶抑制活性的细胞周期抑制蛋白,是细胞周期内具有双重特征的通用抑制物,它能结合和抑制 G<sub>1</sub> 期周期素/cdk 复合物和增殖细胞核抗原 PCNA。p21 蛋白在肿瘤演进过程中的作用主要有以下几个方面:(1)p21 蛋白与 cyclin、CDK 结合,从而使 cyclin-CDK 复合物的激酶活性丧失,使细胞周期停滞于 G<sub>1</sub> 期;(2)p21 蛋白 C 端可覆盖 PCNA 上的某些功能区,阻碍 PCNA 与 DNA 聚合酶形成复合物,使 DNA 全酶复合物不能在 DNA 单链上滑动,影响 DNA 复制;(3)在细胞应激时, p21 可阻断 MAPK 活性,致 c-jun 不能磷酸化,导致信号转导通路受阻,也可引起细胞生长分化功能抑制;(4)低浓度 p21 可刺激肿瘤细胞从 G<sub>1</sub> 期向 S 期转化,而高浓度 p21 则抑制四聚体的激酶反应,使细胞周期停滞;(5)p21 促进未分化细胞的分化,促进正常分化细胞的衰老和死亡<sup>[22]</sup>。现已证明,p21 可以抑制 CDK 的活性阻止细胞进入 S 期;与 PCNA 结合,使其失活并抑制 DNA 的复制合成,从而抑制细胞的生长<sup>[23]</sup>。但也有学者认为 p21 还可以通过影响 CDC2 与 CyclinB1 的结合引起 G<sub>2</sub>/M 期阻滞从而影响细胞的生长<sup>[24]</sup>。

p27 蛋白是近年来发现的 CKI 家族中的重要一员,由于其在细胞周期调控中的枢纽作用,很快成为细胞分子生物学、肿瘤分子生物学等学科的研究热点。p27 蛋白是一种分子量为 27 000 的 CDK 抑制蛋白,有限制性调节细胞周期进程的作用,这一作用主要通过抑制 CDK 复合物,特别是细胞周期蛋白 E-CDK2 和细胞周期蛋白 D-CDK4 等激酶复合物,使细胞不能通过细胞周期的转化,从而抑制细胞增殖<sup>[24]</sup>。P27KIP2 与 cyclinE 竞争性结合 cdk2,并与 cyclinD 竞争性结合 cdk4,从而起抑癌作用。静止期细胞的 p27 蛋白水平很高,而增生期细胞的 p27 蛋白水平较低,但整个细胞周期中的 p27 mRNA 水平无变化,p27 蛋白缺乏导致细胞增生,从而认为 p27 蛋白增高可以抑制细胞增生<sup>[25-26]</sup>。

本研究应用 S-P 免疫组化技术,检测大蒜素及大蒜素联合细胞周期特异化疗药作用后细胞周期抑制蛋白 p21、p27 蛋白表达的变化,结果显示,大蒜素作用后胃癌细胞 BGC-823、SGC-7901 p21、p27 蛋白均为阳性表达,且表达随大蒜素浓度增加而增强。大蒜素分别与周期特异性化疗药 NVB、5-FU、MMC 联合作用 BGC-823、SGC-7901 细胞后,p21、p27 蛋白均为阳性表达,且大蒜素与细胞周期特异化疗药 NVB 联合作用胃癌细胞后,与单一药物作用相比 p21、p27 蛋白的表

达明显增强,说明 p21、p27 参与了大蒜素与细胞周期特异性化疗药 NVB 产生细胞周期阻滞作用。目前有研究认为,p21 可以引起 G<sub>2</sub>/M 期阻滞从而影响细胞的生长<sup>[24]</sup>,p27 蛋白增高可以抑制细胞增生<sup>[25-26]</sup>。本研究的流式细胞仪结果还发现,大蒜素作用后 BGC-823、SGC-7901 细胞的细胞周期均发生了明显的变化,主要表现为 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞减少,G<sub>2</sub>/M 细胞增多,提示两种胃癌细胞经大蒜素处理后细胞周期阻滞于 G<sub>2</sub>/M 期。因此,本研究结果提示:大蒜素引起的 G<sub>2</sub>/M 期阻滞作用可能与其上调 p21、p27 蛋白的表达有关;大蒜素与细胞周期特异性化疗药 NVB 联合应用时,p21、p27 蛋白的表达增强。这亦可能是特异性作用于 G<sub>2</sub>/M 期的化疗药 NVB 及大蒜素对 G<sub>2</sub>/M 期的阻滞机制之一。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] Okabe M, Inagaki H, Mursae T, *et al.* Prognostic significance of p27 and Ki-67 expression in mucoepidermoid carcinoma of the intraoral minor salivary gland [ J ]. *Mod pathol*, 2001, 14( 10 ): 1008-1014.
- [ 2 ] Hayashi H, Ogawa N, Ishiwa N, *et al.* High cyclin E and low p27/Kip1 expressions are potentially poor prognostic factors in lung adenocarcinoma patients [ J ]. *Lung cancer*, 2001, 34( 1 ):59-65.
- [ 3 ] Li WW, Fan JG, Hochhauser D, *et al.* Overexpression of p21 ( waf1 ) leads to increased inhibition of E2F-1 phosphorylation and sensitivity to anticancer drugs in retinoblastoma-negative human sarcoma cell [ J ]. *Cancer Res*, 1997, 57( 11 ): 2193-2199.
- [ 4 ] Davidson B, Risberg B, Berner A, *et al.* Expression of cell proteins in ovarian carcinoma cells inserous effusions-biological and prognostic implication [ J ]. *Gynecol Oncol*, 2001, 83( 2 ): 249-256.
- [ 5 ] 邵红莲,辛 华,翟玉梅,等. 大蒜素诱导人肝癌 BEL-7402 细胞凋亡 [ J ]. *解剖学报*, 2001, 32( 3 ):290-292.
- [ 6 ] Cutler RR, Odent M, Hajj-Ahmad H, *et al.* *In vitro* activity of an aqueous allicin extract and a novel allicin topical gel formulation against lancefield group B streptococci [ J ]. *J Antimicrob Chemother*, 2009, 63( 1 ):151-154.
- [ 7 ] Zhang Y, Yao HP, Huang FF, *et al.* Allicin, a major component of garlic, inhibits apoptosis in vital organs in rats with trauma/hemorrhagic shock [ J ]. *Crit Care Med*, 2008, 36( 12 ): 3226-3232.
- [ 8 ] Sela U, Brill A, Kalchenko V, *et al.* Allicin inhibits blood vessel growth and downregulates Akt phosphorylation and actin polymerization [ J ]. *Nutr Cancer*, 2008, 60( 3 ): 412-420.
- [ 9 ] Cai Y, Wang R, Pei F, *et al.* Antibacterial activity of allicin alone and in combination with beta-lactams against *Staphylococcus spp.* and *Pseudomonas aeruginosa* [ J ]. *J Antibiot ( Tokyo )*, 2007, 60( 5 ): 335-338.
- [ 10 ] Chung LY. The antioxidant properties of garlic compounds: allyl cysteine, alliin, allicin, and allyl disulfide [ J ]. *J Med Food*, 2006, 9( 2 ): 205-213.
- [ 11 ] Gonen A, Harats D, Rabinkov A, *et al.* The antiatherogenic effect of allicin: possible mode of action [ J ]. *Pathobiology*, 2005, 72( 6 ): 325-334.
- [ 12 ] Dorey K, Barila D, Gavin AC, *et al.* Regulation of human C-Abl tyrosine kinase activity in *Xenopus* oocytes and acceleration of progesterone-induced G<sub>2</sub>/M transition by oncogenic forms [ J ]. *Biol Chem*, 1999, 380( 2 ):223-230.
- [ 13 ] Velmurugan B, Bhuvanewari V, Nagini S. Effect of S-allylcysteine on oxidant-antioxidant status during N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine and saturated sodium chloride-induced gastric carcinogenesis in Wistar rats [ J ]. *Asia Pac J Clin Nutr*, 2003, 12( 4 ): 488-494.
- [ 14 ] Leist M, Raab B, Maurer S, *et al.* Conventional cell culture media do not adequately supply cells with antioxidants and thus facilitate peroxide induced genotoxicity [ J ]. *Free Radic Biol Med*, 1996, 21( 3 ):297-306.
- [ 15 ] Miron T, Wilchek M, Sharp A, *et al.* Allicin inhibits cell growth and induces apoptosis through the mitochondrial pathway in HL60 and U937 cells [ J ]. *J Nutr Biochem*, 2008, 19( 8 ):524-535.
- [ 16 ] 哈敏文,董 明,王 兰,等. 大蒜素协同抗癌药对肿瘤细胞杀伤作用的研究 [ J ]. *中国肿瘤临床*, 2004, 31( 4 ):193-196.
- [ 17 ] 王海燕,许才俊,王庆莉. 大蒜素对胃癌细胞株及裸鼠移植瘤的抑制作用 [ J ]. *肿瘤防治研究*, 2001, 28( 1 ):94-97.
- [ 18 ] 陈淑华,尹钟洙,马彬彬,等. 硫代蒜素的钙拮抗作用 [ J ]. *中国药理学报*, 1988, 9( 6 ): 533-535.
- [ 19 ] Sadhana AS, Rao AR, Kucheria K, *et al.* Inhibitory action of garlic oil on the initiation of benzo [ a ] pyrene-induced skin carcinogenesis in mice [ J ]. *Cancer Lett*, 1988, 40( 2 ): 193-197.
- [ 20 ] Koljonen V, Tukiainen E, Haglund C, *et al.* Cell cycle control by p21, p27 and p53 in Merkel cell carcinoma [ J ]. *Anticancer Res*, 2006, 26( 3B ): 2209-2213.
- [ 21 ] Helmina S. Onion and garlic oils inhibit tumor promotion [ J ]. *Carcinogenesis*, 1983, 4( 8 ):1063-1065.
- [ 22 ] Hayes MA, Rushmore TH, Goldberg MT, *et al.* Inhibition of hepato-carcinogenic responses to 1, 2-dimethylhydrazine by diallyl sulfide, a component of garlic oil [ J ]. *Carcinogenesis*, 1997, 8( 8 ): 1155-1157.
- [ 23 ] 李晓光,谢锦玉,吕有勇. 大蒜油抑制人胃癌 BGC-823 细胞的生长和诱导分化的作用 [ J ]. *世界华人消化杂志*, 1998, 6( 1 ): 10-12.
- [ 24 ] 谢锦玉,高玉民,沈联慈,等. 流式细胞术分析大蒜油对癌细胞 DNA 合成及细胞周期的影响 [ J ]. *中国中西医结合杂志*, 1992, 12( 2 ): 92-94.
- [ 25 ] 张诗式,刘亚敏. p27<sup>Kip1</sup>、p21<sup>WAF1</sup> 在肿瘤细胞周期调控过程的作用 [ J ]. *武警医学院学报*, 2004, 13( 3 ): 162-165.
- [ 26 ] Khoo ML, Freeman JL, Witterick IJ, *et al.* Underexpression of p27/kip in thyroid papillary microcarinoma with gross metastasis disease [ J ]. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 2002, 128( 3 ): 253-257.

[ 收稿日期 ] 2008 - 11 - 14

[ 修回日期 ] 2008 - 12 - 26

[ 本文编辑 ] 韩 丹