

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.05.008

· 基础研究 ·

人胎盘提取物抑制结肠癌细胞的增殖及迁移

李静^a, 周海燕^b, 周萍萍^a, 雷慧群^a, 颜海健^a, 余芳^{b,c} (贵州医科大学 a. 研究生院; b. 附属医院临床医学研究中心; c. 附属医院微生物免疫科, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] **目的:**探讨人胎盘提取物(human placenta extracts, HPE)对人结肠癌细胞株 Caco-2 及 SW480 增殖和迁移能力的影响。**方法:**用不同质量浓度 HPE 处理 Caco-2 和 SW480 细胞, CCK-8、Ki-67、CFSE 法检测细胞增殖活性的变化, Annexin-V/PI 及 DAPI 细胞核染色检测 HPE 对细胞周期及凋亡的影响, 实时荧光定量 PCR 法检测 HPE 对细胞中 *BAX*、*CDK2* 及 *CyclinA2* 基因表达的影响, 划痕实验检测对细胞迁移能力的影响。建立裸鼠结肠癌移植瘤模型, 随机分组分别单独或联合给予 HPE 和 5-氟尿嘧啶(5-Fu), 观察裸鼠移植瘤的生长状况。**结果:**HPE 处理组 Caco-2 及 SW480 细胞增殖能力低于对照组[(0.82 ± 0.01) vs (0.96 ± 0.02)], $P < 0.01$; (0.90 ± 0.03) vs (0.96 ± 0.02), $P < 0.05$], 细胞凋亡率高于对照组[(20.47 ± 1.32)% vs (11.01 ± 3.82)%], $P < 0.01$; (20.70 ± 5.19)% vs (8.00 ± 2.69)%], $P < 0.05$]; HPE 处理组细胞胞质减少、核固缩、*BAX* 基因表达增加[(3.23 ± 1.90) vs (1.00 ± 0.00)], (2.25 ± 0.55) vs (1.00 ± 0.00), 均 $P < 0.05$]; 细胞停留在细胞 DNA 复制 S 期, 出现凋亡峰; Caco-2 细胞 *CDK2* 及 *CyclinA2* 基因表达降低($P < 0.05$); 并且细胞的迁移能力低于对照组[(0.17 ± 0.29) vs (1.50 ± 0.50)mm], $P < 0.05$ 。HPE 处理组裸鼠移植瘤体积小于对照组、生存率高于单用 5-Fu 组($P < 0.05$)。**结论:** HPE 在体内外通过干预结肠癌细胞凋亡、阻滞细胞周期、抑制细胞增殖及迁移, 可能对抑制肿瘤细胞增殖有一定作用。

[关键词] 结肠癌; 人胎盘提取物; Caco-2 细胞; SW480 细胞; 细胞凋亡; 细胞周期

[中图分类号] R730.5; R735.3+5

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2017)05-0503-07

Human placenta extracts suppresses the proliferation and migration of human colon cancer cells

LI Jing^a, ZHOU Haiyan^b, ZHOU Pingping^a, LEI Huiqun^a, YAN Haijian^a, YU Fang^{b,c} (a. Graduate School, b. Clinical Research Center, c. Department of Microbiology and Immunology, Hospital Affiliated to Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of human placenta extracts (HPE) on the proliferation and migration of human colon cancer cell lines (Caco-2 and SW480). **Methods:** Human colon cancer Caco-2 and SW480 cell lines were treated with different concentrations of HPE. Cell proliferation was determined by CCK-8, Ki-67 and CFSE dilution. The effect of HPE on cell apoptosis and cell cycle were detected by Annexin-V/PI and DAPI staining. The expressions of apoptosis related gene *BAX*, *CDK2* and *CyclinA2* were determined by Real-time PCR. The migration efficiency of cell was measured by wound-healing assay. Human colon cancer cells were subcutaneously injected into the nude mice to establish xenograft model, and the mice were randomly divided into different groups and given different treatments of HPE and/or 5-fluorouracil (5-Fu). The tumor volume and body weight were recorded. **Results:** The cell proliferation ability of both Caco-2 and SW480 cells cultured with HPE was lower than that of control group (0.82 ± 0.01 vs 0.96 ± 0.02, $P < 0.01$; 0.90 ± 0.03 vs 0.96 ± 0.02, $P < 0.05$); and the apoptotic rates in HPE treatment group were significantly higher than control group ([20.47 ± 1.32]% vs [11.01 ± 3.82]%, $P < 0.01$; [20.70 ± 5.19]% vs [8.00 ± 2.69]%, $P < 0.05$), accompanied with cytoplasmic reduction, nuclear pyknosis and increased *BAX* gene expression (3.23 ± 1.90 vs

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81560266); 贵州医科大学附属医院博士启动基金资助项目。Project supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 81560266), and the Doctor Start-up Foundation of Hospital Affiliated to Guizhou Medical University

[作者简介] 李静(1989-), 女, 硕士生, 主要从事微生物学与免疫学研究, E-mail: 1140900448@qq.com

[通信作者] 余芳(YU Fang, corresponding author), 博士, 主任技师, 硕士生导师, 主要从事免疫学研究, E-mail: yu.fang@gmc.edu.cn

[优先发表] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20170509.1027.016.html>

1.00 ± 0.00; 2.25 ± 0.55 vs 1.00 ± 0.00, all $P < 0.05$). Furthermore, S-phase arrest with an apoptosis peak was observed in HPE treatment group, and decreased mRNA expressions of *CDK2* and *CyclinA2* (all $P < 0.05$) in Caco-2 cells were also observed. Moreover, an obvious lower wound-healing rate was identified in cells treated with HPE ($[0.17 \pm 0.29]$ vs $[1.50 \pm 0.50]$ mm, $P < 0.05$). The tumor volume of mice in HPE-treated group was smaller than that of control group, and higher survival rate was observed than that of 5-Fu alone group. **Conclusion:** This study indicated that HPE could inhibit the proliferation and migration ability of human colon cancer cells both *in vitro* and *in vivo*, partly through enhancing cell apoptosis and S-phase arrest, which may contribute to the inhibition on growth of certain tumor cells.

[**Key words**] colon cancer; human placenta extracts(HPE); Caco-2 cell; SW480 cell; apoptosis; cell cycle

[Chin J Cancer Biother, 2017, 24(5): 503-509. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.05.008]

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是世界范围内癌症死亡的主要原因之一^[1]。目前, CRC 患者的治疗以手术切除为主, 辅以相应化疗或放疗, 长期化疗引起多种不良反应, 如胃肠症状、周围神经毒性、肝毒性等^[2]。如何有效降低或缓解化疗的毒副作用, 一直是 CRC 治疗亟待解决的问题。人胎盘提取物(human placenta extracts, HPE)是从胎盘中提取的小分子活性肽, 含有多种免疫球蛋白、活性肽、激素等生物活性物质以及氨基酸、矿物质等, 是一种较为理想的免疫调节剂^[3-6]。有研究^[7]发现, 在 CRC 根治术后的患者化疗联合 HPE, 可以有效降低化疗的毒副作用、提高患者的生活质量。本课题观察 HPE 对人结肠癌 Caco-2 和 SW480 细胞增殖、迁移能力以及裸鼠结肠癌移植瘤模型的影响, 旨在探讨 HPE 作用于 CRC 细胞的可能机制, 为 HPE 在 CRC 的辅助治疗中应用提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 细胞株、主要试剂及动物

人结肠癌细胞株 Caco-2 及 SW480 由中国科学院典型培养物保藏委员会昆明细胞分库提供。胎牛血清、DMEM 培养基、胰蛋白酶(Gibco 公司), 羧基荧光素二醋酸盐琥珀酰亚胺酯(carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester, CFSE; Sigma 公司), DMSO(Hyclone 公司)。Ki-67、Annexin-V/PI 试剂盒、PI/RNase 染色缓冲液周期检测试剂盒(BD 公司), CCK-8 试剂盒(日本同仁化学研究所)。Rneasy Mini 试剂盒、Quantitect[®] Reverse Transcription 试剂盒(QIAGEN 公司), Thermo Scientific Maxima SYBR Green qPCR Master Mix(2X)(美国 Thermo Fisher SCIENTIFIC)。HPE(贵州泰邦制药有限公司, 国药准字: H20046260, 5 ml/支)。BALB/c 雌性裸鼠(2~3 周) 购于北京华阜康生物科技股份有限公司[动物合格证号: SCXK(京) 2014-0004]。

1.2 CCK-8、CFSE 和 Ki-67 法检测 HPE 对 Caco-2

和 SW480 细胞增殖的影响

常规方法培养人结肠癌 Caco-2 和 SW480 细胞。取对数期生长的细胞, 以密度 6×10^4 个/ml 铺于 96 孔板, 加入不同质量浓度的 HPE(0、32.67、41.43、49.00、55.13、73.50 ng/ml), 设 3 个复孔。培养 24 h 后向每孔加入 10 μ l CCK-8 溶液, 培养 1 h 后, 采用酶标仪检测 450 nm 波长处光密度(*D*)值, 细胞增殖能力以 *D* 值表示。实验重复 3 次。

CFSE 标记 Caco-2 细胞, 加入不同浓度的 HPE, 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 避光培养 48 h; SW480 细胞经不同浓度的 HPE 处理 24 h 后, 加入 Ki-67 荧光抗体染色。两种细胞分别上流式细胞仪检测。实验各重复 3 次。

1.3 Annexin-V/PI 及 DAPI 染色法检测 HPE 对 Caco-2 及 SW480 细胞凋亡的影响

Caco-2 及 SW480 细胞经 73.50、55.13 ng/ml HPE 处理 24 h 后, 用 1 \times 结合缓冲液重悬细胞, Annexin-V/PI 混匀, 避光室温放置 15 min, 1 \times 结合缓冲液清洗 2 次后, 流式细胞仪检测。实验重复 3 次。

取 1 ml 细胞密度 6×10^4 个/ml 悬液, 滴到爬片上, 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养。加入上述质量浓度的 HPE, 24 h 后从 6 孔板中取出爬片放在载玻片上。PBS 清洗, 用 0.1% Triton X-100 处理 5 min, DAPI 工作液室温染色 5 min, 流水冲洗和封片, 于激光共聚焦显微镜下观察细胞凋亡情况。

1.4 流式细胞术检测 HPE 对 Caco-2 细胞周期的影响

取 1 ml 含 6×10^4 个/ml Caco-2 细胞的悬液, 经 73.50、55.13 ng/ml HPE 处理 24 h 后, 加入预冷的 70%~80% 的乙醇、4 $^{\circ}$ C 固定过夜; 加入 PBS 清洗, 后用 PI/RNase 染色缓冲液重悬细胞, 室温放置 15 min 后, 流式细胞仪检测。实验重复 3 次。

1.5 实时荧光定量 PCR 检测 HPE 对细胞凋亡及周期相关分子表达的影响

取 1 ml 密度为 6×10^4 个/ml 的细胞, 经 73.50、55.13 ng/ml HPE 作用 24 h 后, 用 Rneasy Mini 试剂盒分别提取各组 RNA, 测定其浓度。取逆转录后的

cDNA 行实时荧光定量 PCR 检测,按照公式 $RQ = 2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算各目的基因表达的相对定量值(RQ 值)。BAX 引物序列:上游引物为 5'-CTGAGCGACTGT-CAAGCG-3',下游引物为 5'-CCCCAGTTGAAGTTGCCGTC-3';CDK2 引物序列:上游引物为 5'-CGGATCTT-TAGGACTCTGGG-3',下游引物为 5'-ACTGGCTTGGT-CACATCCG-3';CyclinA2 引物序列:上游引物为 5'-TTATTGCTGGAGCTGCCTT-3',下游引物为 5'-CTCT-GGTGGGTTGAGGAGAG-3'; β -actin 引物序列:上游引物为 5'-AGCCTTCCTTCTTGGGTATG-3',下游引物为 5'-GGTCTTTACGGATGTCAACG-3'。

1.6 划痕实验检测 HPE 对 Caco-2 细胞迁移的影响

在 12 孔板孔底部做 3 条平行线,待细胞覆盖孔底 70% ~ 80% 时,以 200 μ l 枪头沿直尺画 3 条平行线并垂直于孔底横线。加入 73.50、55.13 ng/ml HPE,分别于 0、12、24 h 后,以每孔的 9 个交点为参照物拍照,对比观察细胞迁移情况,采用 Image-Pro Plus 6.0 图像软件进行分析。

1.7 裸鼠结肠癌移植瘤模型的建立、HPE 处理及观察

取细胞密度 1×10^7 个/ml 的 Caco-2 细胞悬液接种于裸鼠颈部皮下。随后将裸鼠随机分为 6 组:对照组、HPE(提前 1 周注入)组、HPE 组、5 氟尿嘧啶(5-Fu)组、HPE 联合 5-Fu(HPE 提前 1 周注入)组、HPE 联合 5-Fu 组,4 只/组。HPE(200 μ l/只)每天

尾静脉注入;5-Fu(20 μ l/只)隔天腹腔注入。每 2 d 测量 1 次肿瘤体积及裸鼠体质量,观察裸鼠移植瘤的生长状况。

1.8 统计学处理

应用 SPSS 19.0 统计学软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HPE 抑制结肠癌 Caco-2 及 SW480 细胞的增殖

CCK-8 增殖实验结果(表 1,图 1A)显示,73.50、55.13 ng/ml 的 HPE 处理组 Caco-2 及 SW480 细胞的增殖活性均明显低于对照组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),而 49.00、41.00、32.67 ng/ml 的 HPE 处理组的细胞增殖活性未见明显变化。鉴于 73.50、55.13 ng/ml 的 HPE 显示出对结肠癌细胞增殖的抑制作用(图 1A),所以后续实验选用此两个质量浓度组细胞。

流式细胞术检测结果(图 1B)显示,对照组 Caco-2 细胞可见增殖活跃,CFSE 荧光强度减少,73.50 ng/ml HPE 组较 55.13 ng/ml 组细胞增殖活性更弱,表现为 CFSE 荧光强度更强些。HPE 处理组 SW480 细胞增殖标志蛋白 Ki-67 水平降低,并且在 73.50 ng/ml 作用组细胞下降更大,提示 HPE 对细胞增殖的抑制作用呈一定的剂量依赖趋势。

表 1 HPE 对结肠癌 Caco-2 及 SW480 细胞的增殖活性的影响[D_{450}]
Tab.1 Effects of HPE on the proliferation activity of the Caco-2 and SW480 cells[D_{450}]

Cell line	HPE[$\rho_b / (\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1})$]					
	73.50	55.13	49.00	41.43	32.67	0
Caco-2	0.82 \pm 0.01 **	0.90 \pm 0.03 *	0.93 \pm 0.03	0.95 \pm 0.05	0.96 \pm 0.03	0.96 \pm 0.02
SW480	0.54 \pm 0.02 *	0.62 \pm 0.01 *	0.63 \pm 0.01	0.65 \pm 0.01	0.66 \pm 0.01	0.66 \pm 0.01

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs 0 ng/ml HPE group

2.2 HPE 诱导结肠癌 Caco-2 及 SW480 细胞凋亡

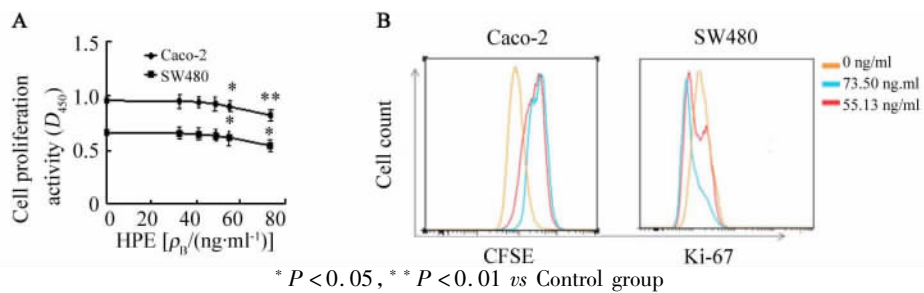
流式细胞术检测结果(图 2A、B)显示,55.13 ng/ml HPE 组 Caco-2 及 SW480 细胞的凋亡率明显高于对照组细胞($t = 2.68, P < 0.05$; $t = 4.15, P < 0.05$),73.50 ng/ml 组细胞凋亡率更高($t = 3.27, P < 0.05$; $t = 2.37, P < 0.01$),结果提示 HPE 促进结肠癌 Caco-2 及 SW480 细胞凋亡,且呈剂量依赖性。

实时荧光定量 PCR 检测结果(图 2C)显示,73.50、55.13 ng/ml HPE 处理组 Caco-2 及 SW480 细胞凋亡 BAX 基因表达水平明显高于对照组($t = 3.97, P < 0.05$; $t = 2.14, P < 0.05$)。

DAPI 细胞染色结果(图 2D)显示,对照组细胞形态完整,细胞核呈完整圆形;55.13 ng/ml HPE 处理组 Caco-2 及 SW480 细胞胞质减少,细胞核固缩;73.50 ng/ml HPE 组细胞的核固缩更加显著。

2.3 HPE 使结肠癌 Caco-2 细胞周期阻滞于 S 期

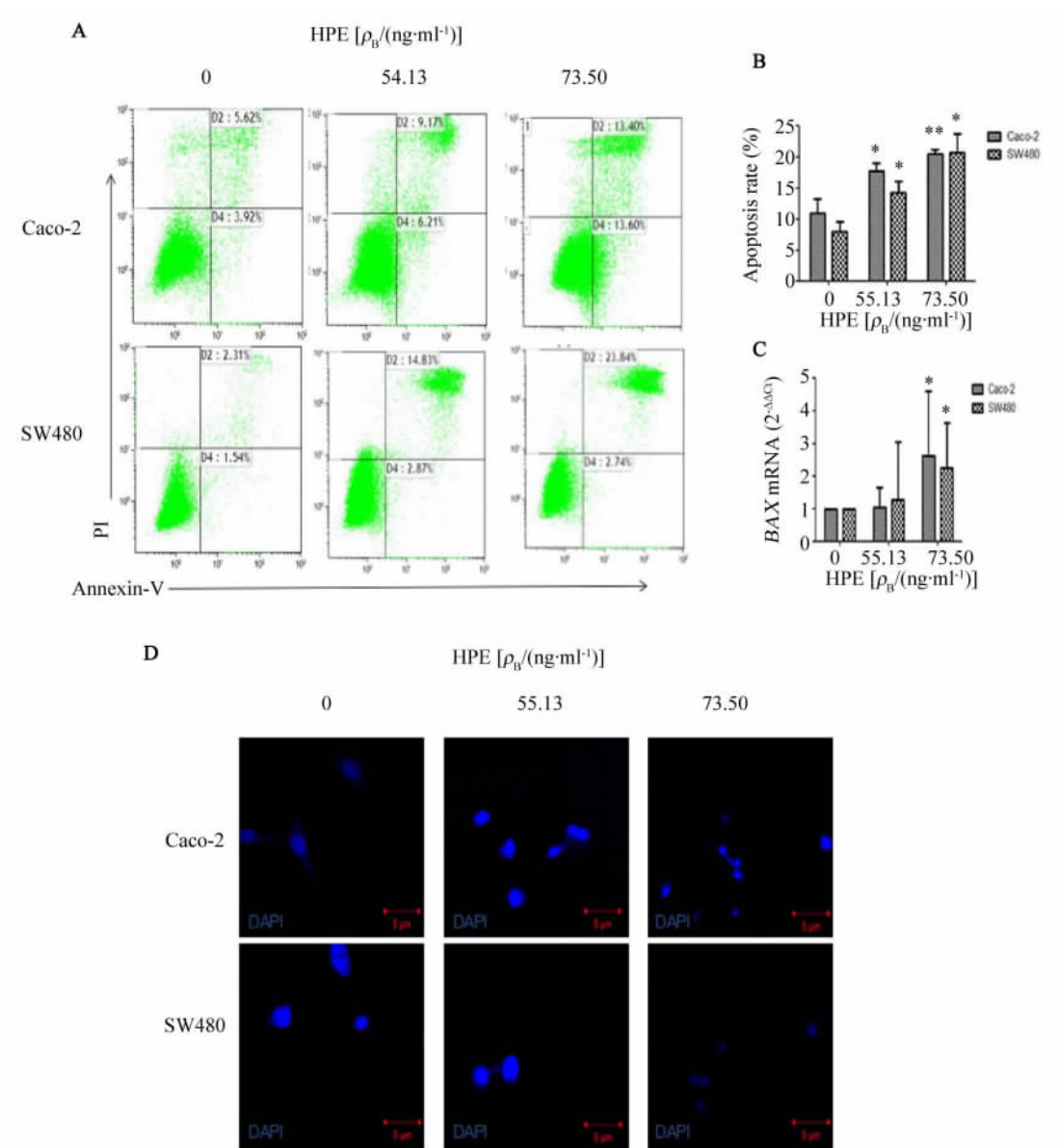
流式细胞术检测结果(表 2,图 3A、B)显示,与对照组细胞比较,HPE 处理的 Caco-2 细胞处在 S 期的比率明显增加,G1 和 G2 期的细胞显著减少($P < 0.05$)。实时荧光定量 PCR 检测结果(图 4)显示,HPE 处理后 Caco-2 细胞 CDK2 及 CyclinA2 mRNA 表达水平显著低于对照组细胞($P < 0.05$)。



A: CCK-8 detection data; B: Flow cytometry data

图1 HPE对Caco-2及SW480细胞增殖活性的影响

Fig. 1 Effects of HPE on the proliferation activity of the Caco-2 and SW480 cells



A: Representative Flow cytometry data; B: Statistical analysis of Flow cytometry data;

C: Statistical analysis of RT-qPCR; D: Confocal laser scanning data (×400)

图2 HPE诱导Caco-2及SW480细胞凋亡

Fig. 2 Apoptosis of Caco-2 and SW480 cells induced by HPE

表2 Caco-2 细胞各周期比例(%)

Tab.2 Proportion of Caco-2 cells in each cell cycle phase(%)

HPE [ρ_B /(ng·ml ⁻¹)]	G1	S	G2
0	57.63 ± 0.67	30.74 ± 5.52	11.63 ± 5.37
55.13	37.00 ± 1.97**	56.06 ± 1.43**	6.94 ± 1.26*
73.50	32.00 ± 1.85**	61.22 ± 6.22**	6.79 ± 1.40*

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs 0 ng/ml HPE group

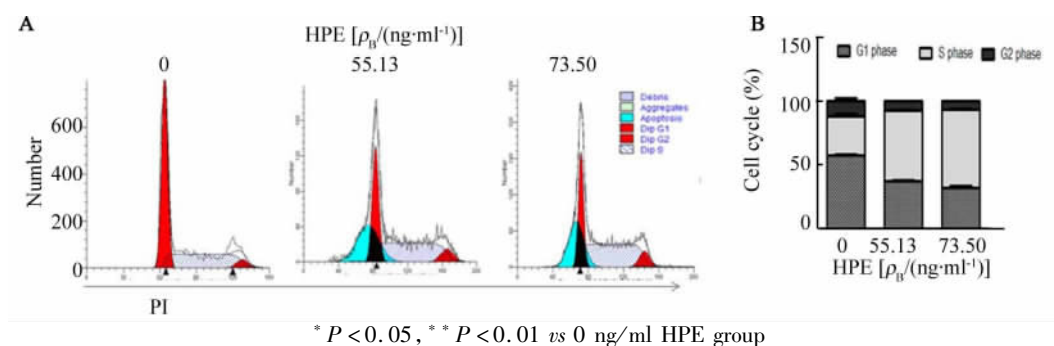
2.4 HPE 抑制结肠癌 Caco-2 细胞的迁移

细胞划痕实验结果(图5)显示,12 h后,对照组细胞表现为划痕区变窄,并且在24 h后,划痕区可见明显细胞生长,提示细胞呈现正常迁移生长活性。55.13 ng/ml HPE 处理24 h后,Caco-2 细胞有轻微迁移生长;73.50 ng/ml HPE 处理 Caco-2 细胞,未见明显的细胞生长(图4A),结果表明73.50 ng/ml 的 HPE 对 Caco-2 细胞的细胞迁移能力有抑制作

用[(0.17 ± 0.29) vs (1.50 ± 0.50) mm, $P < 0.05$]。

2.5 HPE 抑制或延缓裸鼠结肠癌移植瘤的生长

裸鼠结肠癌移植瘤观察结果显示,单用5-Fu及HPE联合5-Fu组荷瘤裸鼠肿瘤体积明显小于对照组($P < 0.01$),但单用5-Fu与联用HPE组间比较差异无统计学意义;HPE提前用药组比HPE后用药组小鼠肿瘤相对较小,并且HPE提前用药组裸鼠肿瘤较对照组减小($P < 0.05$;图6A、B)。相对于对照组及单HPE治疗组,给予5-Fu组(仅5-Fu及HPE联合5-Fu组)荷瘤小鼠质量出现下降,但联合HPE小鼠质量降低较单用5-Fu轻(图6C)。单用5-Fu组小鼠在种入肿瘤第11天已经出现死亡(50%),而联合使用HPE对荷瘤鼠有一定保护作用(图6D)。



A: Representative Flow cytometry data; B: Statistical analysis of Flow cytometry data

图3 HPE 对 Caco-2 细胞周期的影响

Fig.3 Effect of HPE on the cell cycle of Caco-2 cells

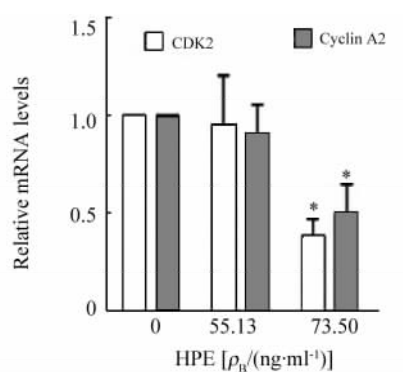
* $P < 0.05$ vs 0 ng/ml HPE

图4 HPE 对 Caco-2 细胞 CDK2、CyclinA2 mRNA 表达的影响

Fig.4 Effect of HPE on the expression of CDK2 and CyclinA2 mRNA in the Caco-2 cells

3 讨论

HPE 中含有大量的激素、蛋白酶及各种细胞因子(如 IL-2、TNF- α 、IFN- γ 、CSF-1)等^[8-10]。IL-2 具有刺激 T 细胞增殖和分化,增强 NK 细胞和单核细胞的毒性,诱生 LAK 细胞,促进 B 细胞增殖及分泌抗体等重要功能,这些细胞对肿瘤细胞都具有一定的杀伤作用。TNF- α 主要由活化的单核/巨噬细胞产生,在体内外均具有杀伤和抑制肿瘤细胞的功能。韩绍印等^[11]利用小鼠体内模型证明 HPE 具有明显的抑瘤作用。

肿瘤的发展以肿瘤细胞过度增殖为基础。本研究结果显示,HPE 降低结肠癌 Caco-2 及 SW480 细胞的增殖活性,可能与一定质量浓度的 HPE 促进了肿瘤细胞的凋亡有关。凋亡细胞

有其独特的细胞形态,如细胞体积缩小、胞间连接消失、胞质密度增加、核质浓缩、核膜核仁破碎等。细胞凋亡是细胞为维持内环境稳定,由多基因严格控制的一种自主的有序死亡,*Bcl-2* 家族、*Caspase* 家族、癌基因 *C-myc*、抑癌基因 *P53* 等均参与其中。其中,*BAX* 是与 *Bcl-2* 同源的水溶性相关蛋白,是 *Bcl-2* 基因家族中细胞凋亡促进基因,*BAX* 的过度表达可拮抗 *Bcl-2* 的保护效应而使细胞趋于死亡,是极重要的促细胞凋亡基因之一^[12-13]。本研究结果发现,细胞经 HPE 处理后,细胞质减少,细胞核固缩,*BAX* 基因表达水平增加。

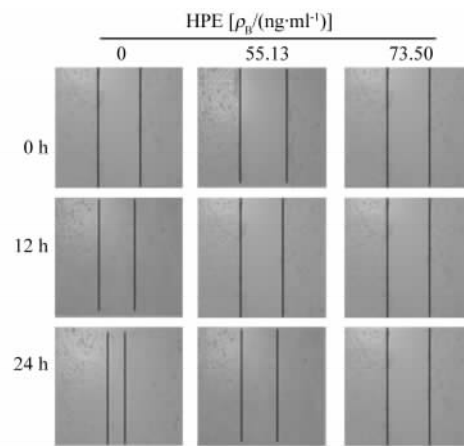
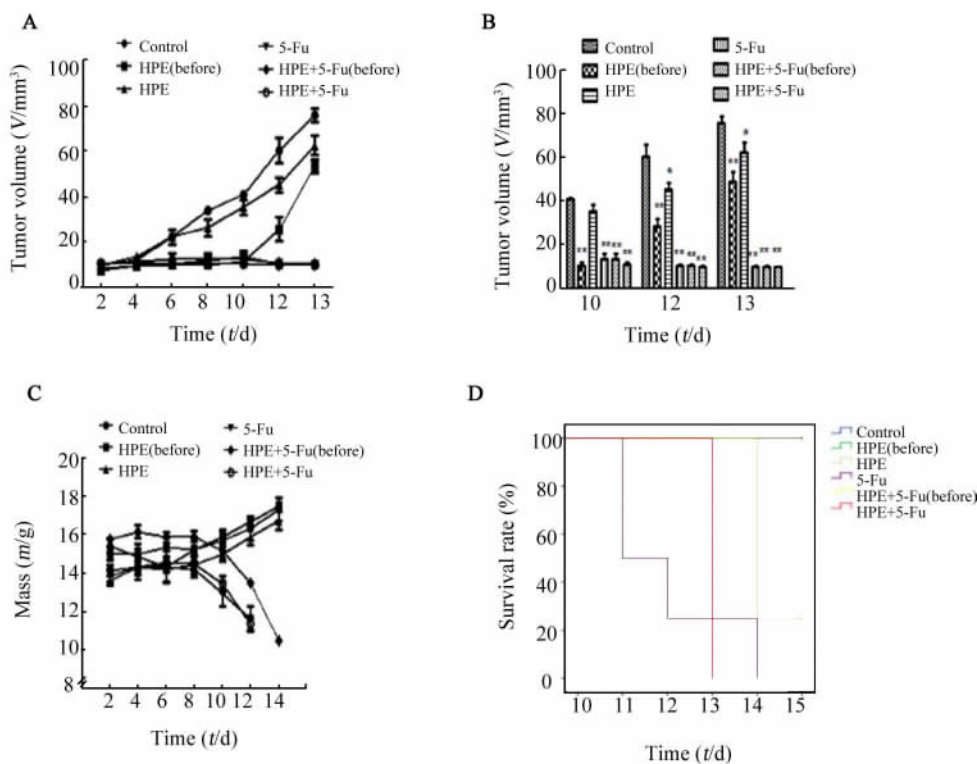


图5 HPE 抑制 Caco-2 细胞的迁移

Fig.5 HPE inhibited the migration of Caco-2 cells



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs 0 ng/ml HPE group

图6 HPE 抑制或延缓裸鼠结肠癌移植瘤体的生长

Fig.6 HPE inhibited or delayed the development of the tumor *in vivo*

恶性肿瘤最基本的生物学特征是肿瘤细胞失控性增殖,其生物学基础是细胞周期调控紊乱。在多种肿瘤中发现^[14]细胞周期素(Cyclin)和细胞周期依赖激酶(cell cyclin-dependent kinase, CDK)构成的细胞周期复合体的功能紊乱。有研究者等^[15]利用紫杉醇抑制 CyclinD1/CDK2 复合体活性,使细胞阻滞于 M 期,抑制肿瘤细胞增殖。本实验 HPE 处理

结肠癌 Caco-2 细胞后,细胞呈现出明显的细胞周期 S 期阻滞,且细胞周期相关蛋白基因 *CDK2* 及 *CyclinA2* 表达水平降低。可见 HPE 可能通过诱导 *CDK2*-*CyclinA2* 复合体表达水平的降低,使细胞阻滞在 S 期,无法继续完成细胞分裂和增殖,从而影响肿瘤细胞的增殖。

肿瘤细胞脱离转移的起始步骤基于肿瘤细胞间

或细胞基质间黏附分子,包括钙黏着素、整合素、选择素、免疫球蛋白超家族等,这些成分功能的丧失对于表皮肿瘤细胞脱离原发肿瘤并获得运动能力极为重要^[16]。本实验在 HPE 的作用下,结肠癌 Caco-2 细胞迁移能力明显降低,推测 HPE 中的免疫球蛋白、氨基酸或某些细胞因子,可能参与了细胞运动调节。

裸鼠结肠癌移植瘤观察结果显示,联合使用 HPE 处理的裸鼠死亡率明显低于单独用 5-Fu 治疗组,提示 HPE 的联用对化疗药物治疗小鼠可能有一定的保护作用。单用 HPE 对裸鼠体内移植瘤生长也有一定的抑制作用,结果提示 HPE 在肿瘤的临床治疗上可能有一定的应用价值。由于 HPE 组分含有多种活性物质,究竟是哪些具体的成分或成分组合的作用,还有待更进一步的研究。

致谢 衷心感谢贵州医科大学附属医院临床医学研究中心,以及王珺、周玲和杨丽萍各位老师对本实验提供的帮助!

[参 考 文 献]

- [1] PITA-FERNÁNDEZ S, GONZÁLEZ-SÁEZ L, LÓPEZ-CALVIÑO B, et al. Effect of diagnostic delay on survival in patients with colorectal cancer: a retrospective cohort study[J/OL]. BMC Cancer, 2016, 16: 664-675[2016-10-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27549406>. DOI:10.1186/s12885-016-2717-z.
- [2] 李文帅,杨姝,孙海梅,等. 白藜芦醇通过促进 miR-34c 表达抑制人结肠癌 SW480 细胞的生长[J/OL]. 中华临床医师杂志(电子版), 2015, 9(8): 1368-1371[2016-10-22]. <http://clinic-med.net/upload/pdf/201504/20150420044716271>. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2015.08.020.
- [3] 杨桂芹,邹兴淮. 胎盘及其提取物的化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. 沈阳农业大学学报, 2003, 34(2): 150-154. DOI:1000-1700(2003)02-0150-05.
- [4] PARK Y, HAN B K, CHOI H S, et al. Effect of porcine placenta extract from subcritical water extraction on photodamage in human keratinocytes[J]. Korean J Food Sci Anim Resour, 2015, 35(2): 164-170. DOI:10.3109/13697137.2011.590616.
- [5] 王国华,程往太,马红燕,等. 胎盘提取物促淋巴细胞增殖活性及稳定性实验初探[J]. 中国生化药物杂志, 2001, 22(3): 137-139. DOI:1005-1678(2001)03-0137-03.
- [6] PARK S B, KIM K N, SUNG E, et al. Human placental extract as a subcutaneous injection is effective in chronic fatigue syndrome: a multi-center, double-blind, randomized, placebo-controlled study[J]. Biol Pharm Bull, 2016, 39(5): 674-679. DOI:10.1248/bpb.b15-00623.
- [7] 赵利荣,李文亮,文政琦,等. 胎盘多肽注射液联合化疗对结肠直肠癌根治术后的临床疗效观察[J]. 实用癌症杂志, 2015, 2015(9): 1360-1362. DOI:1001-5930(2015)09-1360-03.
- [8] 刘玉昆. 胎盘的免疫学研究进展[J]. 现代妇产科进展, 2001, 10(4): 297-298. DOI:100-7379(2001)04-0297-3.
- [9] JASH A, KONH H K, SAHOO A, et al. Topical application of porcine placenta extract inhibits the progression of experimental contact hypersensitivity[J]. J Ethnopharmacol, 2011, 133(2): 654-662. DOI: 10.1016/j.jep.2010.10.054.
- [10] RUFINO A T, RIBEIRO M, SOUSA C, et al. Evaluation of the anti-inflammatory, anti-catabolic and pro-anabolic effects of E-caryophyllene, myrcene and limonene in a cell model of osteoarthritis[J/OL]. Eur J Pharmacol, 2015, 750: 141-150[2016-10-22]. <http://sciencedirect.com/science/journal/00142999>. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.01.018.
- [11] 韩绍印,杨胜利,丁兰萍,等. 胎盘多肽对肿瘤细胞生长抑制作用研究[J]. 河南肿瘤学杂志, 2000, 13(3): 166-167. DOI: 1003-1464(2000)03-0166-02.
- [12] PHILLIPPS H R, HURST P R. XIAP: a potential determinant of ovarian follicular fate[J]. Reproduction, 2012, 144(2): 165-176. DOI:10.1530/REP-12-0142.
- [13] GARCÍA-SÁEZ A J. The secrets of the Bcl-2 family[J]. Cell Death Differ, 2012, 19(11): 1733-1740. DOI: 10.1038/cdd.2012.105.
- [14] 詹启敏,陈杰. 细胞周期与肿瘤转化医学[J]. 中国肿瘤临床, 2014, 41(1): 1-7. DOI:10.3969/j.issn.1000-8179.20132205.
- [15] 魏向阳,涂悦,徐忠伟,等. 紫杉醇对 U373 细胞周期阻滞及增殖抑制的机制研究[J]. 中国药理学通报, 2011, 27(4): 543-547. DOI: 1001-1978(2011)04-0543-05.
- [16] YANG Y L, CHEN M W, XIAN L. Prognostic and clinicopathological significance of downregulated E-cadherin expression in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC): a meta-analysis[J/OL]. PLoS One, 2014, 9(6): e99763[2016-10-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4076188/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0099763.

[收稿日期] 2016 - 12 - 25 [修回日期] 2017 - 03 - 16

[本文编辑] 党瑞山

欢迎访问《中国肿瘤生物治疗杂志》网站 www.biother.org