

姜黄素与 5-FU 联用对胃癌 MGC-803 细胞的生长抑制与凋亡诱导作用的研究^{*}

刘 骥,徐云丹,赵 刚^{**}

(湖北中医药大学基础医学院 / 中药复方与中药资源省部共建教育部重点实验室 武汉 430065)

摘 要:目的:探索姜黄素与中低剂量化疗药 5- 氟尿嘧啶(5-FU)联用对胃癌 MGC-803 细胞生长、细胞凋亡和细胞周期的影响,为临床上应用姜黄素作为胃癌化疗药 5-FU 的增效剂,以减少 5-FU 使用剂量、降低其毒副作用提供实验依据。方法:应用 MTT 检测法检测药物作用对 MGC-803 细胞的抑制作用;应用基于 AO/EB 双染的荧光显微观察法和 FITC/PI 双染的流式细胞技术检测药物作用对 MGC-803 细胞凋亡的影响;应用基于 PI 单染的流式细胞技术检测药物作用对 MGC-803 细胞周期的影响。结果:姜黄素($25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)分别与低剂量($2.4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)和中剂量($4.8 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的 5-FU 联合作用能有效地抑制 MGC-803 细胞的生长,诱导细胞凋亡并将细胞周期阻滞在 S 期,并呈剂量-时间的依赖关系。姜黄素与低剂量 5-FU 联用组的效果显著优于中剂量($4.8 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)5-FU 单用组($P < 0.01$),而姜黄素与中剂量 5-FU 联用组的效果显著优于高剂量($9.6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)5-FU 单用组($P < 0.01$),提示姜黄素能显著增强 5-FU 抗胃癌 MGC-803 细胞的作用,并呈剂量-时间的依赖关系。结论:本研究为临床上应用姜黄素作为 5-FU 治疗胃癌的辅助用药,以减少 5-FU 的使用剂量,从而降低其毒副作用提供了初步的实验依据。

关键词:姜黄素 5-FU MGC-803 细胞 生长抑制 细胞凋亡 细胞周期

doi:10.11842/wst.2015.06.015 中图分类号:R285 文献标示码:A

中国是世界上胃癌发病率最高的国家之一,每年新发胃癌 40 万例,发病率占全世界的 42% 左右。胃癌患者约占全球胃癌患者总数的 40%;其死亡率占我国消化道恶性肿瘤死亡病例的 50% 左右^[1]。在临床上常用的胃癌化疗药物中,氟尿嘧啶(Fluorouracil, 5-FU)具有疗效显著,价格低廉等特点,但存在骨髓抑制、胃肠道剧烈反应、染色体畸变和 DNA 损伤等较严重的毒副作用^[2-4],有些患者甚至会因无法耐受 5-FU 较强烈的毒副作用而放弃化疗。研究表明^[5],化疗药物对机体的毒副作用与使用剂量成正比,如果有 5-FU 的增效剂与 5-FU 联合作

用于胃癌细胞,便可在保持疗效不变的前提下,减少 5-FU 的使用剂量从而降低该药的毒副作用。

姜黄素(Curcumin, Cur)是从中国传统中药姜黄(Curcuma)的根茎中分离提取的一种多酚类化合物,具有抗氧化、抗衰老、抗诱变和抗肿瘤等多方面的药理作用^[6-9]。近年来,姜黄素的抗肿瘤作用和对化疗药物增敏作用的研究受到了普遍关注。本研究将 5-FU 姜黄素联合作用于人胃癌 MGC-803 细胞株,观察姜黄素对 5-FU 抗胃癌作用的影响;了解姜黄素是否可以增强 5-FU 对 MGC-803 细胞的生长抑制和诱导凋亡的作用;较低剂量的 5-FU 能否在姜黄素的协助下达到较高剂量 5-FU 单用效果,为临床上应用姜黄素作为 5-FU 治疗胃癌时的辅助用药提供实验依据。

收稿日期 2015-02-09

修回日期 2015-02-11

^{*} 湖北省科技厅自然科学基金面上项目(2013CFB067)姜黄素联合氟尿嘧啶诱导胃癌细胞凋亡的效应与机理研究,负责人:赵刚。

^{**} 通讯作者:赵刚,博士,教授,硕士生导师,主要研究方向:中药抗肿瘤及抗诱变作用的实验研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药物与试剂

氟尿嘧啶(5-FU)(天津金耀氨基酸有限公司,批号:121209);姜黄素(Cur)(上海国药试剂有限公司,批号:F20100506);FITC-Annexin V/PI 细胞凋亡检测试剂盒(上海贝博生物技术公司,批号:BB140032);RPMI-1640 细胞培养液(美国 Hyclone 公司,批号:NYH0953);新生牛血清(武汉三利生物技术公司,批号:20130101);胰蛋白酶消化液(碧云天生物技术有限公司,批号:J130002);噻唑蓝(MTT)(美国 Sigma 公司,批号:3203C262);聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)、二甲基亚砜(DMSO)、吖啶橙(AO)、溴乙锭(EB)(美国 Amresco 公司,批号分别为:2530C132、T20091225、20121116、20121114)。

1.1.2 主要仪器

680 型全自动酶标仪(美国 BIO-RAD 公司),Accuri C6 型流式细胞仪(美国 BD 公司),80i 型荧光显微镜(日本 Nikon 公司),CX-31 型倒置显微镜(日本奥林巴斯公司),YJ-875 型超净工作台(苏州净化设备厂),MCO-15A 型二氧化碳培养箱(日本三洋公司),TDL-5 型台式离心机(上海安亭科学仪器厂),T25 型培养瓶、96 孔培养板(日本 IWAKI 公司)。

1.1.3 细胞株

人胃癌 MGC-803 细胞株,由武汉大学生命科学院中国典型培养物保藏中心(China Center for Type Culture Collection, CCTCC)提供。

1.2 方法

1.2.1 药液

5-FU 溶液:将 5-FU 注射液用生理盐水稀释成浓度为 $192 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 5-FU 贮存液,4℃避光保存;姜黄素溶液:称取 18.4 mg 的姜黄素粉剂,溶解于 1 mL DMSO,用生理盐水稀释 100 倍,配制成浓度为 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的贮存液,4℃避光保存;PI/Triton X-100 混合液:称取 2.5 mg 的 PI 粉剂,溶解于 100 mL PBS 溶液,再加入 0.2 mL 的 Triton X-100 原液,混匀后常温避光保存;AO 溶液:称取 1 mg AO 粉剂,溶解于 10 mL PBS (pH 7.0) 中,配成 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 AO 染液,置 4℃避光保存;EB 溶液:称取 1 mg EB 粉剂溶解于 10 mL PBS (pH 7.0) 中,配成 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$

的 EB 染液,置 4℃避光保存。

1.2.2 细胞培养与实验分组

将人胃癌细胞 MGC-803 接种于含 10% 新生牛血清的 RPMI-1640 培养基中,于 37℃、5%CO₂、饱和湿度的培养箱中静置培养,当细胞处于对数生长期时进行实验。实验设为 6 组,姜黄素与中剂量 5-FU 联用组(Cur $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ + 5-FU $4.8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、姜黄素与低剂量 5-FU 联用组(Cur $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ + 5-FU $2.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、高剂量 5-FU 单用组(5-FU $9.6 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、中剂量 5-FU 单用组(5-FU $4.8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、姜黄素单用组(Cur $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)以及空白对照组,每组设 3 至 8 个复孔。

1.2.3 MTT 法检测 MGC-803 细胞的生长抑制

将对数生长期细胞悬液接种于 96 孔培养板,每组 8 孔,200 μL /孔,置于 37℃、5%CO₂、饱和湿度的培养箱中培养 24 h;按设计对不同实验组细胞进行加药,然后放回培养箱继续培养 24 h 和 48 h。药物处理结束后每孔加入 20 μL MTT 溶液($5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$),轻轻混匀后置 37℃再培养 4 h;去除上清,每孔加入 DMSO 150 μL 溶解 MTT 还原后形成的甲瓞结晶。置于全自动酶标仪中,设定参数(波长 490 nm、中等强度震荡 10 min),检测各孔的光密度值(OD 值),计算细胞的生长抑制率:抑制率(%) = $(1 - \text{实验组平均 OD 值} / \text{对照组平均 OD 值}) \times 100\%$ 。

1.2.4 AO/EB 双染法观察 MGC-803 细胞的形态改变

将无菌盖玻片放入 6 孔培养板的各孔中,然后往各孔中接种 MGC-803 细胞,每孔 2 mL 细胞悬液,置培养箱中培养细胞至对数生长期进行加药。所用药物浓度与 MTT 实验一致,每组设 3 个复孔,加药后分别继续培养 24 h 和 48 h。药物处理结束后,用镊子小心取出盖玻片(细胞爬片)进行染色。在洁净的载玻片中央滴加 AO/EB 混合染液 14 μL ,将盖玻片的细胞面朝下,小心盖到载玻片的荧光染液上制备成细胞荧光染色标本片,立即置于荧光显微镜下观察细胞的形态。每张标本片在 200 倍条件下随机选取 10 个视野进行拍照,每个样本计数 1 000 个细胞凋亡细胞,计算凋亡细胞的比例,凋亡率 = $(\text{早期凋亡细胞} + \text{晚期凋亡细胞} / \text{观察的所有细胞数}) \times 1000\%$ 。

1.2.5 FITC-Annexin V/PI 双染法检测 MGC-803 细胞凋亡

将细胞接种于 6 孔培养板,2 mL/孔,置培养箱

中静置培养至对数生长期进行加药。所用药物浓度与 MTT 实验的药物浓度一致, 每组设 3 个复孔, 加药后分别继续培养 24 h 和 48 h。药物处理结束后将 6 孔板中的细胞用胰酶分别消化下来, 按分组分别

收集至离心管中离心, 除去上清液, 用预冷的 PBS 液将细胞漂洗 2 次, 加入 AnnexinV-FITC 和 PI 染液, 置 4℃ 避光染色 30 min, 将细胞悬液上样至流式细胞仪进行检测, 采用 CELL Quest 软件分析结果, 计算细胞的凋亡率。细胞凋亡率(%) = 早期凋亡细胞% + 晚期凋亡细胞%。

1.2.6 PI 单染法检测 MGC-803 细胞周期

将细胞接种于 6 孔培养板, 2 mL/孔, 置于培养箱中静置培养至对数生长期进行加药。所用药物浓度与 MTT 实验的药物浓度一致, 每组设 3 个复孔, 加药后分别继续培养 24 h 和 48 h。药物处理结束后用胰酶消化并收集所有细胞, 取细胞悬液离心, 吸去上清液, 用预冷的 PBS 液洗涤 2 次, 末次离心后弃去上清, 轻弹管底使沉淀离散; 离心管中加入 PI 和 Triton X-100 混合液 1 mL 并混匀, 4℃ 避光染色 30 min, 将细胞悬液上样至流式细胞仪进行检测, 获得各组细胞有关增殖周期时相的数据。

1.3 统计学分析

应用 SPSS 14.0 软件进行统计学处理分析, 实验数据以平均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 不同组间差异采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 组间两两比较用 LSD 检验法。P<0.05 为差异显著, P<0.01 为差异极显著。实验数据均重复 3 次。

2 结果

2.1 姜黄素与 5-FU 联用对 MGC-803 细胞的生长抑制的 MTT 检测结果

结果显示, 在药物分别作用 24 h 和 48 h 后, 各实验组 MGC-803 细胞的生长抑制率与对照组相比均有显著性差异 (P<0.01); 姜黄素与低剂量 5-FU 联用组的细胞生长抑制率显著高于中剂量 5-FU 单用组 (P<0.01); 姜黄素与中剂量 5-FU 联用组

表 1 姜黄素与 5-FU 联用对 MGC-803 细胞生长的抑制作用

分组	OD 值		抑制率 /%	
	24 h	48 h	24 h	48 h
姜黄素 + 中剂量 5-FU	0.155 ± 0.002 [*]	0.133 ± 0.001 [*]	67.378 ± 0.222 [*]	72.285 ± 0.320 [*]
姜黄素 + 低剂量 5-FU	0.221 ± 0.006 [*]	0.190 ± 0.006 [*]	53.340 ± 1.120 [*]	60.437 ± 0.990 [*]
高剂量 5-FU 单用组	0.286 ± 0.012 ^{*#}	0.221 ± 0.013 ^{*#}	39.617 ± 2.661 ^{*#}	53.948 ± 2.361 ^{*#}
中剂量 5-FU 单用组	0.321 ± 0.006 ^{*#}	0.259 ± 0.007 ^{*#}	32.233 ± 0.781 ^{*#}	46.060 ± 1.387 ^{*#}
姜黄素单用组	0.425 ± 0.006 ^{* #}	0.337 ± 0.005 ^{* #}	10.263 ± 1.170 ^{* #}	29.632 ± 1.618 ^{* #}
空白对照组	0.477 ± 0.005 [#]	0.479 ± 0.006 [#]	—	—

注: 与空白对照组比较, ^{*}P<0.01; 与各单用组比较, P<0.01; 与各联用组比较, [#]P<0.01。

的细胞生长抑制率显著高于高剂量 5-FU 单用组 (P<0.01), 并呈剂量 - 时间的依赖关系, 见表 1。

2.2 姜黄素与 5-FU 联用诱导 MGC-803 细胞凋亡的荧光显微观察结果

荧光显微镜下观察发现, 阴性对照组 MGC-803 细胞结构完整, 细胞质被 AO 染色后呈现绿色荧光; 细胞核呈圆形或椭圆形, 染色质分布均匀, 绿色荧光较浓。各实验组在药物作用 24 h、48 h 后, 早期凋亡细胞核浓缩, 被 AO 染色呈现绿色荧光增强或破碎成大小不一的颗粒; 部分细胞染成橙红色荧光, 其中晚期凋亡细胞核被 EB 染色呈橙红色碎片或颗粒状; 坏死细胞荧光减弱或异形, 见图 1、2。计数各样本中的凋亡细胞, 计算细胞凋亡率。结果显示, 在药物作用 24h、48h 时, 各实验组 MGC-803 细胞的细胞凋亡率与对照组相比均有显著性差异 (P<0.01); 姜黄素与低剂量 5-FU 联用组的细胞凋亡率显著高于中剂量 5-FU 单用组 (P<0.01); 姜黄素与中剂量 5-FU 联用组的细胞凋亡率显著高于高剂量 5-FU 单用组 (P<0.01), 并呈剂量 - 时间的依赖关系。

2.3 姜黄素与 5-FU 联用对 MGC-803 细胞凋亡影响的流式检测结果

流式细胞术检测细胞凋亡结果显示, 在药物作用 24 h、48 h 时, 各实验组 MGC-803 细胞的细胞凋亡率与对照组相比均有显著性差异 (P<0.05); 姜黄素与低剂量 5-FU 联用组的细胞凋亡率高于中剂量 5-FU 单用组 (P<0.05); 姜黄素与中剂量 5-FU 联用组的细胞凋亡率高于高剂量 5-FU 单用组 (P<0.05), 并呈剂量 - 时间的依赖关系, 见图 3。

2.4 姜黄素与 5-FU 联用对 MGC-803 细胞周期影响的流式检测结果

流式细胞术检测细胞周期结果显示, 与空白对

照组相比,姜黄素和 5-FU 单用均可引起 MGC-803 细胞在 S 期阻滞 ($P<0.05$); 药物作用 24 h 后,姜黄素与低剂量 5-FU 联用组和中剂量 5-FU 单用组相比,处于 S 期细胞的比例由 $33.743 \pm 1.149\%$ 增加到 $47.400 \pm 2.007\%$ 。姜黄素与中剂量 5-FU 联用

组和高剂量 5-FU 单用组相比,处于 S 期细胞比例由 $40.627 \pm 1.702\%$ 增加到 $61.607 \pm 1.144\%$,见图 4。药物作用 48 h 后,姜黄素与低剂量 5-FU 联用组和中剂量 5-FU 单用组相比,处于 S 期细胞的比例由 $45.513 \pm 1.131\%$ 增加到 $59.180 \pm 0.947\%$ 。姜

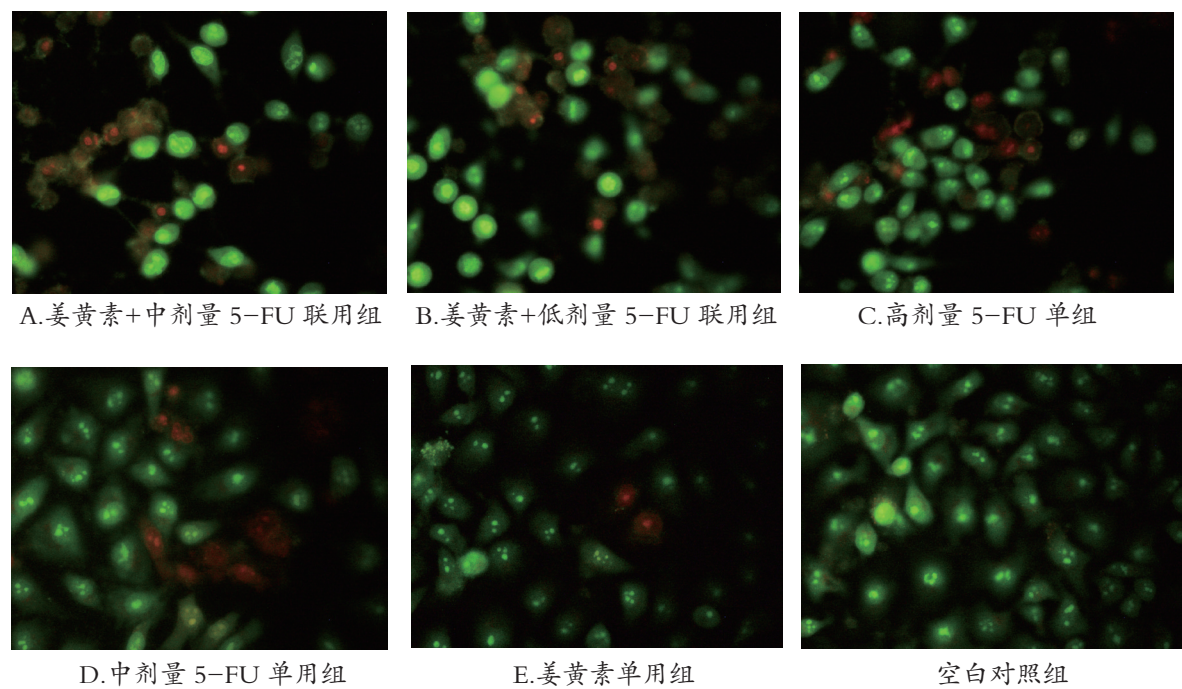


图 1 姜黄素与 5-FU 联用对 MGC-803 细胞凋亡形态的影响 (24 h)

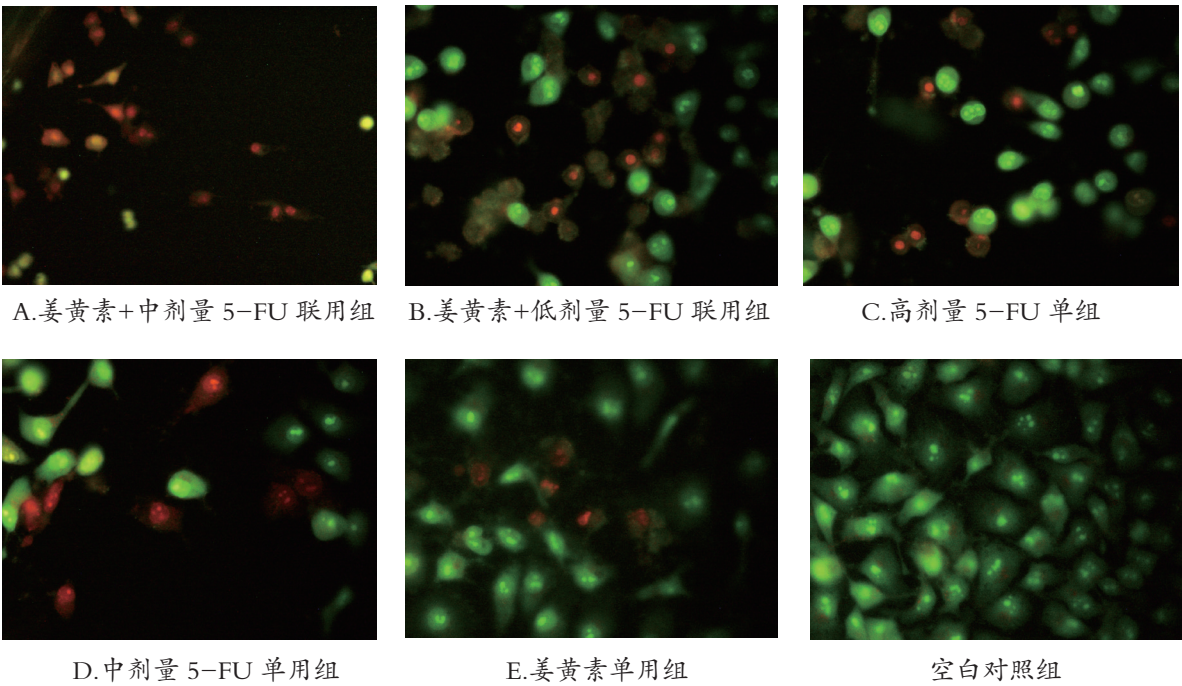


图 2 姜黄素与 5-FU 联用对 MGC-803 细胞凋亡形态的影响 (48 h)

黄素与中剂量 5-FU 联用组和高剂量 5-FU 单用组相比,处于 S 期细胞比例由 $51.123 \pm 2.178\%$ 增加到 $74.930 \pm 2.167\%$,见图 5。姜黄素与 5-FU 联用可使更多的 MGC-803 细胞阻滞于 S 期,两药联用抑制 MGC-803 细胞增殖的效果显著优于 5-FU 单用的效果,并呈剂量 - 时间的依赖关系,见图 6。

3 讨论

5-FU 是临床上治疗胃癌等消化道恶性肿瘤的经典化疗药物,也是胃癌的化疗方案中常用的基础药物。作为干扰癌细胞 DNA 合成的尿嘧啶抗代谢药,5-FU 具有疗效明显,作用机理清楚以及价格较低等优点,但该药的毒副作用较强,会导致使用者的生活质量下降。我们根据 5-FU 等化疗药物对机体毒副作用大小与使用剂量呈正比的特点,尝试将对化疗药物可能增效作用的中药成分姜黄素与不同剂量的 5-FU 联合作用于体外培养的胃癌细胞,旨在证明中小剂量 5-FU 在与一定剂量姜黄素的共同作用下,对胃癌细胞的抑制可以达到高剂量 5-FU 单独作用的效果。从而在胃癌临床上应用姜黄素作为 5-FU 的增效剂,在维持抗肿瘤作用不变的前提下减少 5-FU 的使用剂量,以降低该药对患者产生的毒副作用。

关于姜黄素对化疗药物减毒增效作用的研究,近年来已成为医药学的一个重要领域。Victor 等^[10]以体外培养的头颈鳞状细胞癌细胞系和该细胞接种裸鼠形成的移植瘤为对象,在体外和体内两个方面研究了姜黄素和顺铂联用对这种癌细胞及其移植瘤的抑制作用,结果显示,两药联用的效果显著优于两药分别单用的效果,而且两药的作用分别通过不同的生长信号通路进行,提示在临床上可以应用亚治疗剂量的顺铂与姜黄素联用,从而在有效抑制肿瘤生长的同时将顺铂的毒副作用减少到最低。Tian 等^[11]观察了姜黄素与 5-FU 联用对食道鳞状癌细胞系及其移植瘤的作用效果,结果表明,姜黄素能够在体内和体外显著增强 5-FU 对食道鳞状癌细胞及其移植瘤的抑制作用,其机理主要通过下调 NF- κ B 信号通路的活性来实现的。Mehdi 等^[12]探索了 5-FU 联合姜黄素抑制结肠癌 HCT116 细胞系的效应及其作用机理,结果发现,5-FU 在与姜黄素联用的条件下可以显著降低结肠癌 HCT116 细胞的存活率,阻滞细胞周期在 S 期并诱导细胞凋亡。姜

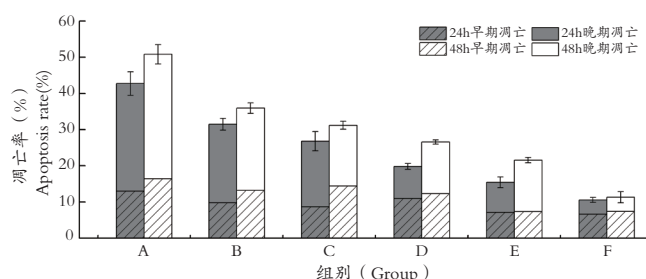


图3 姜黄素与 5-FU 联用对 MGC-803 细胞凋亡的影响 (24 h、48 h)

注:A.姜黄素+中剂量 5-FU 联用组,B.姜黄素+低剂量 5-FU 联用组,C.高剂量 5-FU 单用组,D.中剂量 5-FU 单用组,E.姜黄素单用组,F.空白对照组。

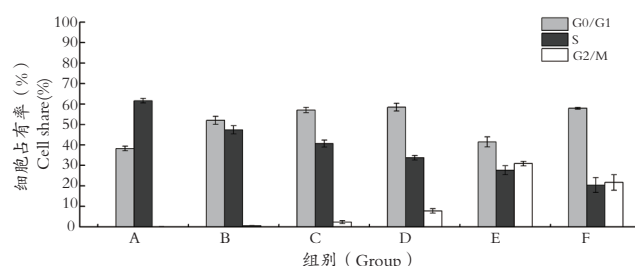


图4 姜黄素与 5-FU 联用对 MGC-803 细胞周期的影响(24 h)

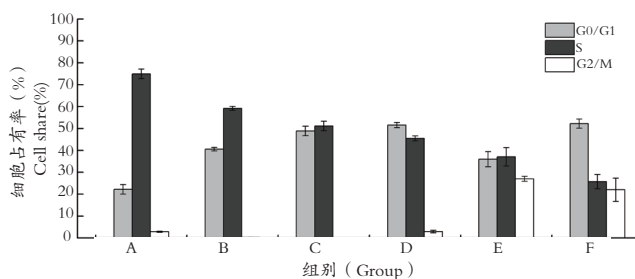


图5 姜黄素与 5-FU 联用对 MGC-803 细胞周期的影响(48 h)

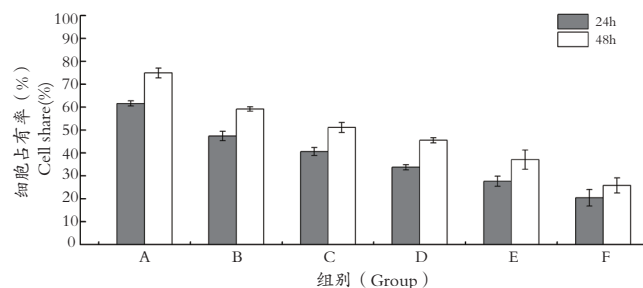


图6 姜黄素与 5-FU 联用对 MGC-803 细胞 S 期的影响

注:A.姜黄素+中剂量 5-FU 联用组,B.姜黄素+低剂量 5-FU 联用组,C.高剂量 5-FU 单用组,D.中剂量 5-FU 单用组,E.姜黄素单用组,F.空白对照组。

黄素增强 5-FU 抑制 HCT116 细胞的作用依赖 NF- κ B 信号通路和 Src 蛋白激酶信号通路的终止。

本研究,我们从细胞生长、细胞周期和细胞凋亡等几个方面对姜黄素与 5-FU 联用抑制胃癌 MGC-803 细胞的效应进行了观察,结果表明,姜黄素能显著增强 5-FU 对胃癌 MGC-803 细胞的抑制作用,并呈剂量和时间的依赖关系。其中,应用基于 MTT 的细胞活性全自动酶标仪检测结果显示,在药物作用时间分别为 24 h 和 48 h 的条件下,药物处理组胃癌细胞的生长抑制率与对照组相比均有显著性差异 ($P<0.01$)。对于 MGC-803 细胞的生长抑制率,低剂量 5-FU-姜黄素联用组与中剂量 5-FU-姜黄素联用组的分别显著高于中剂量 5-FU 单用组和高剂量 5-FU 单用组 ($P<0.01$),提示 5-FU 与姜黄素联用对 MGC-803 细胞的抑制有协同效应,姜黄素能明显增强 5-FU 杀伤 MGC-803 细胞的作用;在相同药物剂量下条件下,如果药物处理时间从 24 h 延长至 48 h,细胞生长抑制率显著升高 ($P<0.01$),呈现药物作用时间的依赖关系。

为全面了解姜黄素与 5-FU 联用诱导胃癌 MGC-803 细胞凋亡的效应,我们分别利用 AO/EB 双染色的荧光显微镜观察法和 FITC-Annexin V/PI 双染的流式细胞技术对胃癌细胞发生凋亡的情况进行了检测,发现低剂量 5-FU-姜黄素联用组

和中剂量 5-FU-姜黄素联用组的细胞凋亡率分别高于中剂量 5-FU 单用组与高剂量 5-FU 单用组 ($P<0.05$);而且在相同剂量条件下,随着药物作用时间延长,细胞凋亡率明显增加 ($P<0.01$),提示姜黄素与 5-FU 在诱导 MGC-803 细胞凋亡方面也存在协同作用,并呈现出剂量与时间的依赖关系。应用流式细胞术检测各实验组和对照组的 MGC-803 细胞的增殖周期运行状态,结果显示,5-FU 与姜黄素联用组与其它处理组相比,可使更多的胃癌细胞阻滞在 DNA 合成期(S 期)并呈现剂量和时间的依赖关系,从而影响 DNA 的复制,导致 MGC-803 细胞增殖受阻。

本研究的结果表明,5-FU 与姜黄素联用能显著抑制胃癌 MGC-803 细胞的生长并诱导其发生凋亡。在姜黄素的协助下,中低剂量 5-FU 抑制 MGC-803 细胞的作用能达到中高剂量 5-FU 单独作用的效果。从细胞水平看,5-FU 与姜黄素联用抑制胃癌细胞 MGC-803 的作用机理可能表现在两方面,一是通过 S 期阻滞抑制细胞增殖;二是诱导细胞凋亡。本研究为临床上应用姜黄素作为胃癌化疗药物 5-FU 的增效剂,以减少 5-FU 的使用剂量,降低其毒副作用提供了初步的实验依据,但还需要进一步的动物体内实验加以验证。

参考文献

- 1 邹文斌,李兆申.中国胃癌发病率及死亡率研究进展.中国实用内科杂志,2014,34(4):408-415.
- 2 梁文波,杨静娴,杨静玉.临床肿瘤药理学.北京:科学出版社,2014:1-420.
- 3 万德森.临床肿瘤学(第4版).北京:科学出版社,2015:1-363.
- 4 Schaffer M, Schaffer P M, Zidan J, *et al*. Curcuma as a functional food in the control of cancer and inflammation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2011, 14 (6) :588-597.
- 5 Zhou H, Beevers C S, Huang S. The targets of curcumin. *Curr Drug Targets*, 2011, 12(3):332-347.
- 6 Subash C G, Sridevi P, Bharat B A. Therapeutic roles of curcumin: lessons learned from clinical trials. *AAPS J*, 2013, 15(1):195-218.
- 7 Zorofchian M S, Abdul K H, Hassandarvish P, *et al*. A review on antibacterial, antiviral and antifungal activity of curcumin. *Biomed Res Int*, 2014:186864.
- 8 Muthu S, Grishma R, Madhu, *et al*. The multifaceted role of curcumin in cancer prevention and treatment. *Molecules*, 2015, 20(2):2728-2769.
- 9 杨崇山,雷杨,赵刚.姜黄素对 MMC 诱发小鼠多染性红细胞微核形成的抑制作用.亚太传统医药,2011,7(12):6-7.
- 10 Victor M D, Eugene H, Mysore S V, *et al*. Curcumin enhances the effect of cisplatin in suppression of head and neck squamous cell carcinoma via inhibition of IKK β protein of the nuclear factor κ B pathway. *Mol Cancer Ther*, 2010, 9(10):2665 - 2675.
- 11 Tian F, Fan T, Zhang Y, *et al*. Curcumin potentiates the antitumor effects of 5-FU in treatment of esophageal squamous carcinoma cells through downregulating the activation of NF- κ B signaling pathway *in vitro* and *in vivo*. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2012, 44(10):847-855.
- 12 Mehdi S, Ali M, Cora L, *et al*. Curcumin enhances the effect of chemotherapy against colorectal cancer cells by inhibition of NF- κ B and Src protein kinase signaling pathways. *PLoS One*, 2013, 8(2):e57218.

Effects of Curcumin Combined with 5-Fluorouracil on Growth Inhibition and Apoptosis Induction in Gastric Cancer Cell Line MGC-803

Liu Ji, Xu Yundan, Zhao Gang

(School of Basic Medical Sciences, Hubei University of Chinese Medicine / Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Resource And Compound Prescription, Ministry of Education, Wuhan 430065, China)

Abstract: This study was aimed to provide experimental evidence for clinical application of curcumin to strengthen the effect of 5-Fluorouracil (5-FU) in gastric cancer treatment, so as to reduce the dose of 5-FU and its side-effect in the future treatment. MTT assay was used to detect medication effect on MGC-803 cell growth inhibition; AO/EB double staining fluorescence microscopic observation and FITC/PI double staining flow cytometry were used to detect medication effect on cell apoptosis. Flow cytometry was based on PI staining used to detect medication effect on MGC-803 cell cycle. The results showed that curcumin ($25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) with low-dose ($2.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) and middle-dose ($4.8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 5-FU can effectively inhibit MGC-803 cell growth, induce cell apoptosis and block cell cycle in S phase. Which showed dose-time dependent manner. The combined use of curcumin with low-dose 5-FU was more effective than the middle-dose ($4.8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 5-FU alone ($P < 0.01$); similarly, the combined use of curcumin with middle-dose 5-FU was more effective than the use of high-dose ($9.6 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 5-FU alone ($P < 0.01$). It indicated that curcumin can enhance the antitumor effect of 5-FU against MGC-803 cells in a dose-time dependent manner. It was concluded that the study provided a preliminary experimental basis for using curcumin as an adjuvant to 5-FU with the benefit of reducing its dose and toxicity in the clinical treatment of gastric cancer.

Keywords: Curcumin, 5-FU, MGC-803 cell, growth inhibition, apoptosis, cell cycle

(责任编辑 :陶佳颐 张志华 ,责任译审 :王 晶)