



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.09.023
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2015.09.023
Chinese Journal of General Surgery, 2015, 24(9):1323-1328.

· 简要论著 ·

鬼臼酰肼哌啶氮氧自由基脘 (GP1) 抑制胃癌细胞生长及血管生成因子表达的实验研究

赵苗苗¹, 陈晓^{2,3}, 许庆军¹, 周雪红¹, 马驰骋¹, 张利军¹

(1. 河南理工大学第一附属医院 / 焦作市第二人民医院 普通外科, 河南 焦作 454000; 2. 兰州大学第二医院 普外三科, 甘肃 兰州 730030; 3. 甘肃省消化系肿瘤重点实验室, 甘肃 兰州 730030)

摘要

目的: 研究稳定氮氧自由基自旋标记的鬼臼毒素衍生物-鬼臼酰肼哌啶氮氧自由基脘 (GP1) 在体外对胃癌细胞 BGC-823、MKN-45 的生长抑制作用及抗血管生成作用的机理。

方法: 采用 CCK-8 法测定 GP1 对胃癌细胞增殖的影响; 流式细胞术检测 GP1 诱导胃癌细胞凋亡的作用; Transwell 小室法检测 GP1 对胃癌细胞迁移能力的影响; RT-PCR 法测定血管生成因子 VEGF-A、VEGFR、Ang-1、Tie2 及 MMP-2 和 MMP-9 mRNA 的表达。

结果: CCK-8 法结果显示不同浓度的 GP1 对胃癌细胞增殖均有一定的抑制作用且在浓度为 100 μg/mL 抑制作用最明显, BGC-823 在 24、48、72 h 时的抑制率依次为 31.31%、36.69%、39.23%, MKN-45 在 24、48、72 h 时的抑制率依次为 64.38%、73.16%、80.32%; 流式细胞检测浓度为 100 μg/mL 的 GP1 作用于胃癌细胞 24、48 h 均出现诱导凋亡的作用。GP1 作用于 BGC-823 细胞 24、48 h 后的凋亡率分别为 8.00%、16.67%, 作用于 MKN-45 细胞 24、48 h 后的凋亡率分别为 7.33%、27.67%; Transwell 小室法检测浓度为 100 μg/mL 的 GP1 作用于胃癌细胞 24、48 h 均抑制细胞迁移。BGC-823 细胞 24、48 h 的抑制迁移率分别为 18.85%、25.15%; MKN-45 细胞 24、48 h 的抑制迁移率分别为 17.29%、24.28%; RT-PCR 测定浓度为 200、100、50 μg/mL 的 GP1 作用胃癌细胞 VEGF-A、VEGFR、Ang-1、Tie2、MMP-2、MMP-9 mRNA 的表达均较对照组降低。

结论: GP1 对在体外生长的胃癌细胞有明显的抑制作用, 且可能是通过诱导胃癌细胞凋亡而抑制其增殖的; GP1 可能是通过抑制胃癌细胞 MMP-2、MMP-9 mRNA 的表达来抑制其迁移; GP1 具有抑制 VEGF-A、VEGFR、Ang-1、Tie2 mRNA 表达的作用, 推测 GP1 可能具有抑制胃癌血管生成的作用。

关键词

胃肿瘤 / 病理学; 鬼臼酰肼哌啶氮氧自由基脘 血管生成因子
中图分类号: R735.2

鬼臼毒素由盾叶鬼臼八角莲等植物中得到^[1], 我们前期的实验已经证明鬼臼毒素及其衍生物具有抑制肿瘤的作用^[2-3]。血管生成多个环节均与活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 有复杂关系, 抗氧化剂有抑制肿瘤血管生成的潜能^[4-7]。稳定氮氧自由基具有独特的抗氧化作用^[8], 其自旋

标记的鬼臼毒衍生物-鬼臼酰肼哌啶氮氧自由基脘 (GP1), 能够促进其运载的药物优先穿过癌细胞到达细胞DNA, 不仅可以降低母体化合物的毒性, 同时使抗癌药物具有抑制血管生成的作用从而增强其抗癌作用^[9]。

1 材料与方法

1.1 材料

胃癌细胞 BGC-823、MKN-45 细胞株由甘肃省消化系统肿瘤重点实验室提供。GP1 由兰州大学化学化工学院合成。无血清培养基 DMEM、胎牛血清 (FBS) 购于 Hyclone。0.25% 胰蛋白酶购自美

基金项目: 甘肃省自然科学基金资助项目 (1208RJZA257)。

收稿日期: 2014-12-24; 修订日期: 2015-04-12。

作者简介: 赵苗苗, 河南理工大学第一附属医院 / 焦作市第二人民医院住院医师, 主要从事胃肠外科及乳腺外科方面的研究。

通信作者: 陈晓, Email: chenxiaomd@163.com

国Gibco公司。Cell Counting Kit-8 (cck-8) 试剂盒为碧云天生物技术研究产品。24孔Transwell小室购于Millipore公司。两步法RT-PCR 试剂盒、PCR序列特异引物、反转录试剂盒、凋亡试剂盒是日本TaKaRa公司产品。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 胃癌细胞株 BGC-823、MKN-45, 用含 10% 的胎牛血清、100 IU/mL 的青霉素和 100 mg/L 的链霉素的 DMEM 培养液中, 于 37 °C、饱和湿度、5%CO₂ 的培养箱中培养, 取对数生长期细胞用于实验。

1.2.2 CCK-8 法测定 GP1 对 BGC-823、MKN-45 细胞生长的影响 取 5×10^3 个 BGC-823、MKN-45 细胞种植于 96 孔培养板内, 设 6 个复孔, 培养 24 h 后加入不同浓度的 GP1, 使 GP1 终浓度分别为 0 (对照组) 及 6.25、12.5、25、50、100、200、300 μg/mL (用药组)。分别于 24、48、72 h 后, 用全自动酶联免疫检测仪测定各孔 490 nm 波长下的 OD 值, 取 6 孔的平均值, 并按以下公式计算细胞生长抑制率: 生长抑制率 (%) = (1 - 用药组 OD 均值 / 对照组 OD 均值) × 100%。实验重复 3 次。

1.2.3 流式细胞术检测细胞凋亡 取对数生长期细胞调整细胞浓度种于 6 孔板, 使细胞浓度达 1×10^7 /孔。用 100 μg/mL 浓度的 GP1 分别作用 24、48 h, 收集细胞。严格按照使用说明书操作, 上流式细胞仪检测细胞凋亡情况。实验重复 3 次。

1.2.4 Transwell 小室法测胃癌细胞迁移率 利用 Transwell 小室检测 100 μg/mL 的 GP1 作用 1×10^6 /孔的 BGC-823、MKN-45 细胞的迁移能力的影响, 设 2 个复孔, 分别培养 24、48 h。10% 甲醛固定、0.1% 结晶紫染色、置显微镜下观察, 随机取上、下、左、右、中心共 5 个视野计算穿膜细胞数, 按下式计算药物对肿瘤细胞迁移的抑制率。迁移抑制率 (IR%) = (1 - 给药组穿膜细胞数 / 对照组穿膜细胞数) × 100%。实验重复 3 次。

1.2.5 RT-PCR 测定胃癌细胞 VEGF-A、VEGFR、Ang-1、Tie2、MMP-2、MMP-9 mRNA 的表达 取对数生长期胃癌细胞培养于 25 mL 培养瓶中 24 h, 设 GP1 终浓度分别为 200、100、50 μg/mL 和空白对照组。分别共同培养 24、48 h, 细胞总 RNA 的提取参照 Trizol 试剂盒说明书进行。逆转录反应后, 加入引物 (表 1) 进行 PCR 扩增。每组设 3 个重复, 试验重复 2 次。

表 1 引物列表

引物	正义	反义
MMP-2	5'-GCTCCACCACCTACAACCTTTGAGAA-3'	5'-TGTCATAGGATGCCCTGGAA-3'
MMP-9	5'-GCTCTTCCCTGGAGACCTGA-3'	5'-CTGCCACCCGAGTAACCA-3'
Tie-2	5'-GAGACGCTTCACAACAGCTTCTATC-3'	5'-TGGAAATATTGGTTGCCAGGTC-3'
Ang-1	5'-CAACATCTGGAACATGTGATGGAA-3'	5'-TCTGCTGTATCTGGGCCATCTC-3'
VEGF-A	5'-CAAGCATCAGCATTGGCCATTAAG-3'	5'-GTGGCCAATGTGGGTCAAGA-3'
VEGFR	5'-AGCACTACACATGGAGCCTAAGAA-3'	5'-AATCCTCCTTTCCTCAACATCA-3'
GAPDH	5'-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3'	5'-TGGTGAAGACGCCAGTGA-3'

1.3 统计学分析

所有数据采用 SPSS 18.0 软件包进行统计学分析, 采用重复测量的方差分析和单因素方差分析方法, 以 $\alpha = 0.05$ 作为显著性水准。

2 结果

2.1 GP1 对人胃癌细胞增殖的影响

在多个浓度的 GP1 在各个时间段抑制胃癌 BGC-823 细胞的增殖, 随着时间的延长抑制作用逐渐增强, 在浓度为 100 μg/mL 时 GP1 抑制作用最强 (表 2) (图 1)。

各个浓度的 GP1 在各时间段均抑制胃癌 MKN-45 细胞的增殖, 随着时间的延长抑制作用逐渐

增强, 且在浓度为 100 μg/mL 时 GP1 抑制作用最强 (表 3) (图 2)。GP1 对 MKN-45 细胞的抑制作用较 BGC-823 细胞作用强, 由此可知 GP1 对不同分化的胃癌细胞作用强度不一样, 但总体趋势是相同的。

2.2 GP1 对胃癌细胞诱导凋亡的作用

应用流式细胞仪 Annexin V/PI 双染色法检测实验组和对照组的凋亡情况, 实验结果显示 100 μg/mL 的 GP1 作用 24、48 h 均能诱导 BGC-823 细胞的凋亡百分数对照组分别为: 0.0300 ± 0.1000 、 0.1200 ± 0.00577 ; 实验组分别为 0.0800 ± 0.1000 、 0.1667 ± 0.01528 , 与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。MKN-45 细胞 24、48 h 的凋亡百分数对照组分别为

表2 不同浓度的GP1作用BGC-823后的吸光度值(n=18, A, $\bar{x} \pm s$)

浓度组别 ($\mu\text{g/mL}$)	24 h	48 h	72 h
0	0.6230 \pm 0.02146	0.8211 \pm 0.02430	1.3167 \pm 0.05053
12.5	0.4976 \pm 0.03042	0.6279 \pm 0.02256	0.9579 \pm 0.02975
25	0.4704 \pm 0.01437 ¹⁾	0.5873 \pm 0.05464 ¹⁾	0.9208 \pm 0.02136 ¹⁾
50	0.4470 \pm 0.01437 ²⁾	0.5545 \pm 0.04922 ²⁾	0.8591 \pm 0.22836 ²⁾
100	0.4270 \pm 0.00611 ²⁾	0.5198 \pm 0.07842 ²⁾	0.8001 \pm 0.3115 ²⁾
200	0.4664 \pm 0.01424 ²⁾	0.5437 \pm 0.06281 ²⁾	0.8470 \pm 0.3937 ²⁾
300	0.4861 \pm 0.01904	0.5665 \pm 0.03296 ¹⁾	0.8937 \pm 0.05540

注: 1) 与对照组相比, $P < 0.05$; 2) 与对照组相比, $P < 0.01$

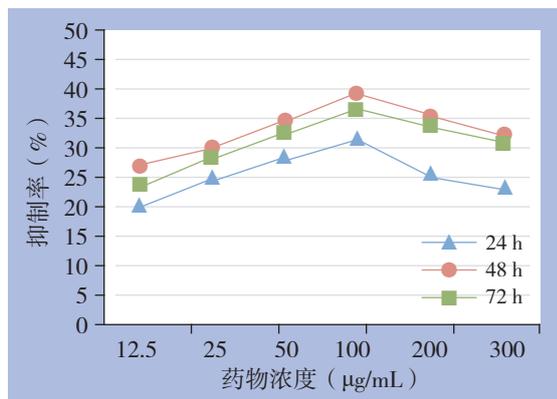


图1 不同浓度的GP1对胃癌BGC-823细胞生长抑制率比较

0.0233 \pm 0.01528、0.1133 \pm 0.01528; 实验组分别为: 0.0733 \pm 0.02082、0.2767 \pm 0.01202, 与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。随着时间的推移诱导胃癌细胞凋亡的作用逐渐增强 ($P < 0.05$)。GP1诱导胃癌MKN-45、BGC-823细胞凋亡的作用在24 h时两者无差异 ($P > 0.05$), 在48 h诱导MKN-45细胞凋亡的作用强于诱导BGC-823凋亡的作用 ($P < 0.05$) (图3-5)。

2.3 Transwell 小室法检测胃癌细胞的迁移能力

通过Transwell实验检测细胞迁移能力的改

表3 GP1作用MKN-45后的吸光度值(n=18, A, $\bar{x} \pm s$)

浓度组别 ($\mu\text{g/mL}$)	24 h	48 h	72 h
0	0.5377 \pm 0.00273	0.6650 \pm 0.07367	0.9713 \pm 0.2022
12.5	0.2222 \pm 0.00642 ¹⁾	0.3048 \pm 0.00811 ¹⁾	0.4802 \pm 0.02342 ¹⁾
25	0.1858 \pm 0.00750 ¹⁾	0.2667 \pm 0.00654 ¹⁾	0.4408 \pm 0.00254 ¹⁾
50	0.1603 \pm 0.00184 ²⁾	0.2336 \pm 0.0007 ²⁾	0.3794 \pm 0.00237 ²⁾
100	0.1058 \pm 0.00123 ²⁾	0.1785 \pm 0.00588 ¹⁾	0.3460 \pm 0.01106 ²⁾
200	0.1862 \pm 0.00183 ¹⁾	0.2781 \pm 0.01221 ¹⁾	0.4242 \pm 0.00937 ¹⁾
300	0.2285 \pm 0.02387 ¹⁾	0.3425 \pm 0.00750 ¹⁾	0.5570 \pm 0.01299 ¹⁾

注: 1) 与对照组相比, $P < 0.05$; 2) 与对照组相比, $P < 0.01$

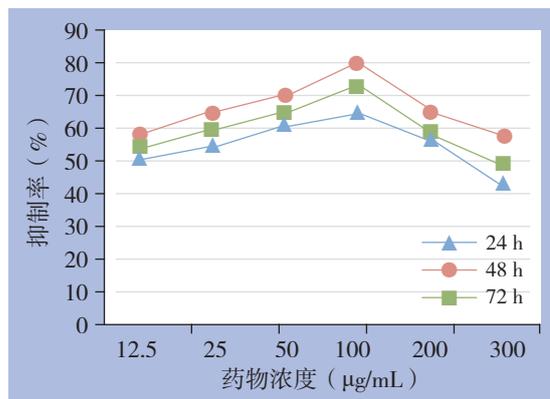


图2 不同浓度的GP1对胃癌MKN-45细胞生长抑制率比较

变。选取100 $\mu\text{g/mL}$ 的GP1作用BGC-823细胞24、48 h后, 400倍显微镜下观察、计数, BGC-823细胞对照组细胞穿膜数分别为90.2 \pm 6.09918、100.2 \pm 3.70135, 实验组分别为73.2 \pm 10.13410、75.0 \pm 13.49074, 与对照组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。胃癌MKN-45细胞24、48 h后对照组细胞穿膜数分别为75.2 \pm 5.54076、86.6 \pm 9.9899, 实验组分别为62.2 \pm 6.94262、72.6 \pm 6.42651, 与对照组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (图6-8) (表4)。

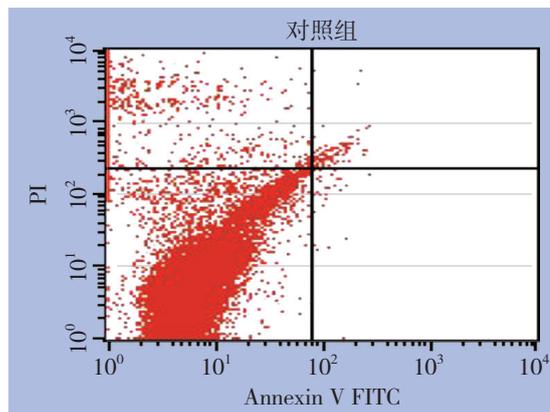
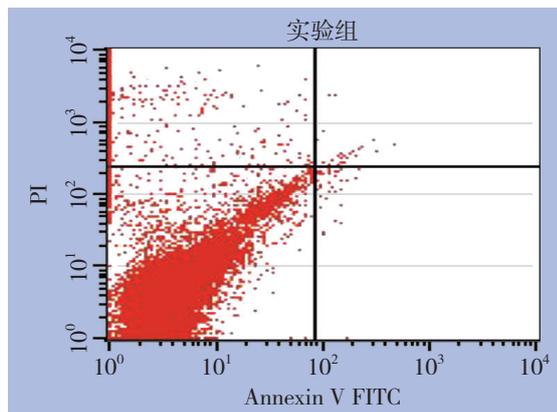


图3 GP1对胃癌BGC-823 48 h 凋亡的影响

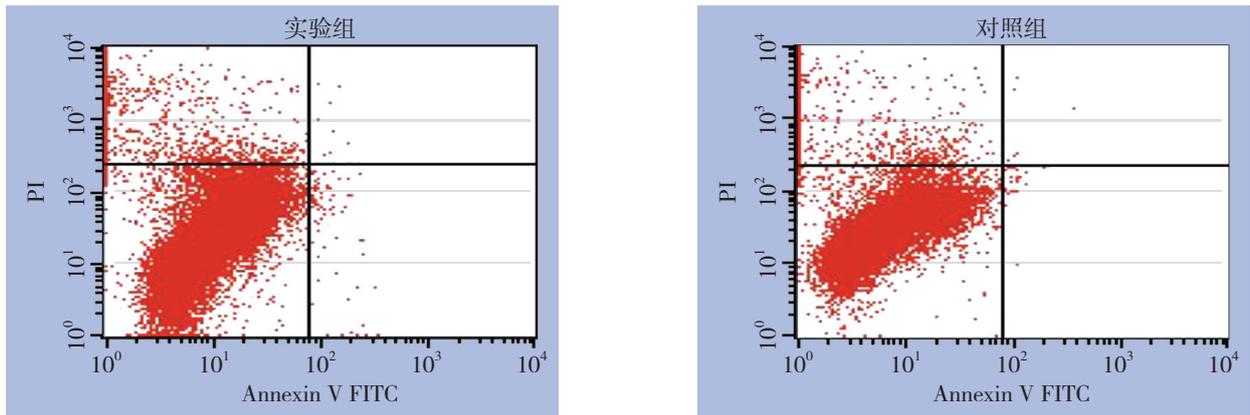


图 4 GP1 对胃癌 MKN-45 48 h 凋亡的影响

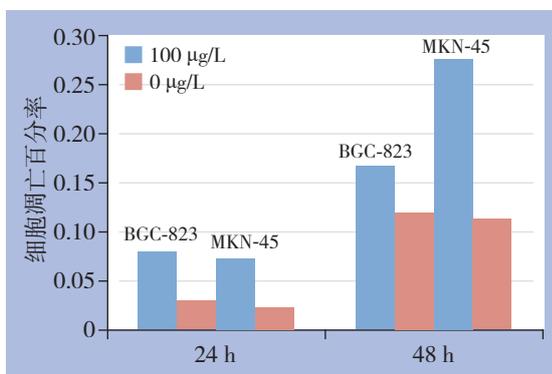


图 5 GP1 作用胃癌细胞后的凋亡百分率

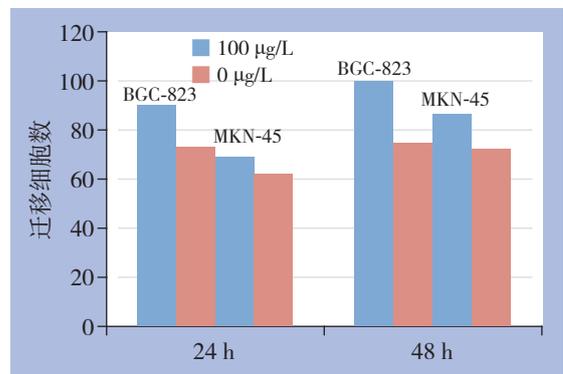


图 6 GP1 作用胃癌细胞后迁移的细胞数

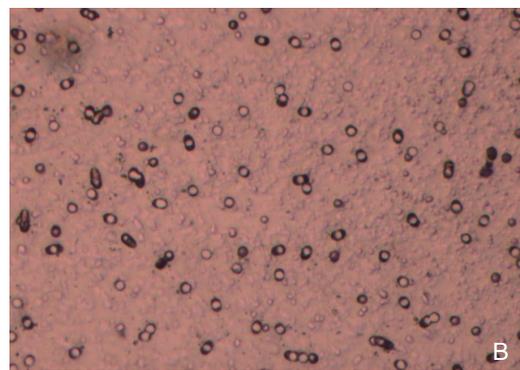
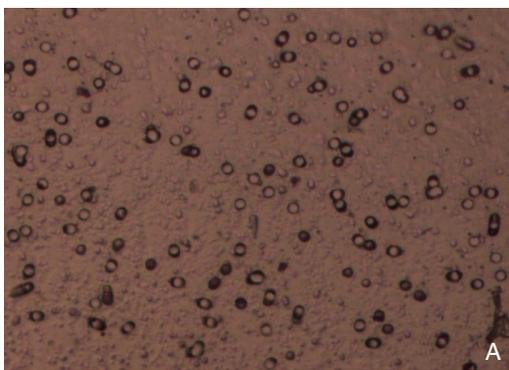


图 7 GP1 作用 24 h 对 BGC-823 细胞迁移能力的影响 (结晶紫染色 × 200) A: 对照组; B: 实验组

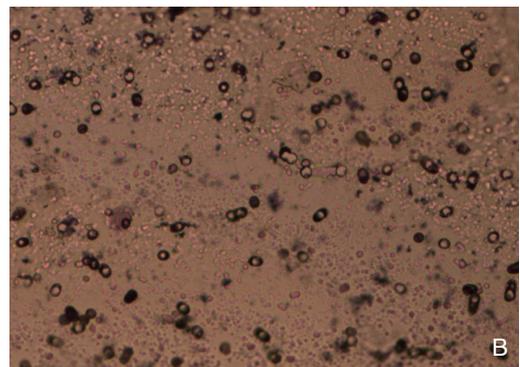
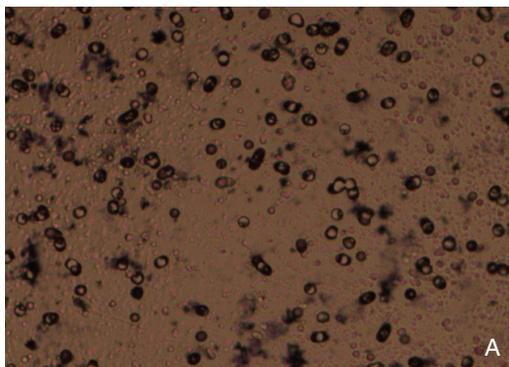


图 8 GP1 作用 24 h 对 MKN-45 细胞迁移能力的影响 (结晶紫染色 × 200) A: 对照组; B: 实验组

表4 GP1对BGC-823, MKN-45细胞侵袭抑制率(%)

细胞	24 h	48 h
BGC-823	18.85	25.15
MKN-45	17.29	24.28

2.4 GP1对VEGF、VEGFR、Ang-1、Tie-2、MMP-2、MMP-9在人胃癌细胞中的表达的影响

RT-PCR结果表明,目的基因的扩增效率

和管家基因GAPDH的扩增率一致,可应用 $\Delta\Delta Ct$ 方法进行相关定量。不同浓度、各个时间段的GP1均表现出抑制胃癌MKN-45细胞VEGF、VEGFR、Ang-1、Tie-2、MMP-2、MMP-9 mRNA的表达,且在100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度时抑制作用最强,而且随着时间的延迟VEGF、VEGFR、Ang-1、Tie-2、MMP-2、MMP-9 mRNA的表达逐渐降低(表5-6)。

表5 MKN-45细胞VEGF-A, VEGFR, Ang-1, Tie-2, MMP-2和MMP-9的mRNA表达

项目	不同浓度($\mu\text{g/mL}$)					
	24 h			48 h		
	50	100	200	50	100	200
VEGF-A	0.8396474 ¹⁾	0.8017610 ¹⁾	0.8480342 ¹⁾	0.8278405 ¹⁾	0.7876314 ¹⁾	0.8362332 ¹⁾
VEGFR	0.8494523 ¹⁾	0.8263605 ¹⁾	0.8556113 ¹⁾	0.8397853 ¹⁾	0.8195674 ¹⁾	0.8496783 ¹⁾
Ang-1	0.6693757 ²⁾	0.6423970 ²⁾	0.6780125 ²⁾	0.6521493 ²⁾	0.6323700 ²⁾	0.6580329 ²⁾
Tie-2	0.6992914 ²⁾	0.6642161 ²⁾	0.6832914 ²⁾	0.6882813 ²⁾	0.6451976 ²⁾	0.6772627 ²⁾
MMP-2	0.7396100 ¹⁾	0.7015098 ¹⁾	0.7436051 ¹⁾	0.7242131 ¹⁾	0.6893187 ²⁾	0.7378948 ¹⁾
MMP-9	0.7214195 ¹⁾	0.6988511 ²⁾	0.7391624 ¹⁾	0.7201877 ¹⁾	0.6820920 ²⁾	0.7290693 ¹⁾

注:1)与对照组比较, $P<0.05$; 2)与对照组比较, $P<0.01$

表6 BGC-823细胞VEGF-A, VEGFR, Ang-1, Tie-2, MMP-2和MMP-9的mRNA表达

项目	不同浓度($\mu\text{g/mL}$)					
	24 h			48 h		
	50	100	200	50	100	200
VEGF-A	0.6261656 ²⁾	0.576373 ²⁾	0.637857 ²⁾	0.857345 ¹⁾	0.768344 ¹⁾	0.878467
VEGFR	0.8411746 ¹⁾	0.790519 ²⁾	0.838794 ¹⁾	0.872536	0.801527 ²⁾	0.869455
Ang-1	0.5741988 ²⁾	0.533486 ²⁾	0.581713 ²⁾	0.581190 ²⁾	0.541079 ²⁾	0.609627 ²⁾
Tie-2	0.6219209 ²⁾	0.559151 ²⁾	0.610389 ²⁾	0.607768 ²⁾	0.549756 ²⁾	0.599644 ²⁾
MMP-2	0.6637458 ²⁾	0.604537 ²⁾	0.676578 ²⁾	0.724589 ¹⁾	0.687945 ²⁾	0.758943 ¹⁾
MMP-9	0.7100599 ¹⁾	0.628045 ²⁾	0.704828 ¹⁾	0.758200 ¹⁾	0.646998 ²⁾	0.746522 ¹⁾

注:1)与对照组比较, $P<0.05$; 2)与对照组比较, $P<0.01$

3 讨论

肿瘤生长和转移具有血管依赖性的,阻断血管生成是遏制肿瘤生长的有效途径^[10],这一学说给肿瘤的治疗带来了新的希望。到目前为止,已有超过20种治疗肿瘤的抗血管生成药物正在进行临床期评价^[11],但效果多不满意,究其原因可能是干扰血管生成的单一环节及容易出现耐药现象^[12]。本实验是研究GP1的抗肿瘤及抑制血管生成的机理。

本实验发现GP1对MKN-45和BGC-823细胞均有抑制作用,呈时间依赖性,在浓度为100 $\mu\text{g/mL}$ 时抑制作用最明显,随着时间的推移抑制作用逐渐增强。GP1作用MKN-45和BGC-823细胞24 h、48 h均出现诱导凋亡的作用。说明GP1可能是通过诱导细胞凋亡而抑制胃癌细胞增殖的。

迁移和转移是一个多步骤、多因素、多基因

参与的复杂过程,其确切机制尚未阐明。肿瘤迁移和转移的关键环节是细胞外基质和基底膜的降解和重建,它们依赖多种蛋白酶表达和激活^[4, 7]。MMP-2、MMP-9是降解基底膜和细胞外基质中IV型胶原的主要酶,已有研究^[13-15]表明MMP-2、MMP-9能促进肿瘤细胞的穿透及迁移作用。在本实验中GP1作用MKN-45和BGC-823细胞24、48 h均抑制其迁移,在RT-PCR实验中MMP-2、MMP-9 mRNA的表达均有降低。这说明GP1可能是通过抑制MMP-2、MMP-9的表达而抑制胃癌细胞迁移和转移的。

VEGF与其受体结合产生的主要生理功能为^[16]:

(1)促进血管内皮细胞增殖;(2)增加血管通透性;(3)促进血管支持物的生成;(4)抑制肿瘤细胞的凋亡。在对多种肿瘤如肝癌、胰腺癌的研究中发现VEGF与其微血管密度呈正相关^[17-18]。因此,认为血清VEGF水平对预测胃癌的侵袭和转移有重要

意义。血管生成素1 (angiopoietin, Ang-1) 是络氨酸激酶或Tie2的主要激活剂, 导致受体的自动磷酸化, 刺激内皮细胞和血管周细胞的增殖^[19]。据研究Ang-1的表达与肿瘤细胞的分化及TNM有关, 在低分化肿瘤中高表达, 高分化肿瘤中表达低^[20]。本实验RT-PCR结果示GP1抑制VEGF、Ang-1及其受体的表达, 说明GP1可能有抗血管生成的作用。

抗血管再生治疗肿瘤不直接作用肿瘤细胞, 而是切断肿瘤生长的营养来源和转移途径, 对正常内皮细胞影响不大^[21], 更易于达到血管靶细胞^[16]。因而抗血管再生治疗肿瘤有广泛的临床应用前景, 阻断内源性血管再生调节因子的产生或抑制其活性, 可以控制肿瘤的生长于转移^[22]。GP1抑制促血管生成因子VEGF、Ang-1及其受体的表达进而推测可能具有抑制血管生长的作用。综上可以推测GP1具有抗肿瘤抗血管生成的作用, 但是关于GP1对不同分化的胃癌和同一分化的胃癌所呈现的不同的作用, 以及其在体内抗肿瘤作用及其副作用仍要进一步研究。

参考文献

- [1] Leiter J, Downing V, Hartwell JL, et al. Damage induced in sarcoma 37 with podophyllin, podophyllotoxin alpha-peltatin, beta-peltatin, and quercetin[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1950, 10(6):1273-1293.
- [2] 陈晓, 王哲元, 张有成, 等. 对-氨基苯甲酸-4' 去甲表鬼臼酯的抗氧化与抗肿瘤作用[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2008, 13(3):288-292.
- [3] 李文广, 田暄. 四种鬼臼毒衍生物的体外抗肿瘤作用[J]. *兰州医学院学报*, 1997, 23(4):9-10.
- [4] Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, et al. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation[J]. *Nature*, 2000, 407(6801):242-248.
- [5] Ushio-Fukai M. Redox signaling in angiogenesis: role of NADPH oxidase[J]. *Cardiovasc Res*, 2006, 71(2):226-235.
- [6] Huang SS, Zheng RL. Biphasic regulation of angiogenesis by reactive oxygen species[J]. *Pharmazie*, 2006, 61(3):223-229.
- [7] Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases[J]. *Nature*, 2000, 407(6801):249-257.
- [8] Gooding PE, Chayen J, Sawyer B, et al. Cytochrome P-450 distribution in rat liver and the effect of sodium phenobarbitone administration[J]. *Chem Biol Interact*, 1978, 20(3):299-310.
- [9] 王彦广, 田暄, 陈耀祖. 自旋标记抗癌药物的研究进展[J]. *药理学报*, 1988, 23(10):792-798.
- [10] Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications[J]. *N Engl J Med*, 1971, 285(21):1182-1186.
- [11] 李占霞, 杨翔, 张国锋. 结肠癌抗血管生成治疗研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2006, 15(9):707-709.
- [12] Kondo T, Ohta T, Igura K, et al. Tea catechins inhibit angiogenesis in vitro, measured by human endothelial cell growth, migration and tube formation, through inhibition of VEGF receptor binding[J]. *Cancer letters*, 2002, 180(2): 139-144
- [13] Wang L, Zhang ZG, Zhang RL, et al. Matrix metalloproteinase 2 (MMP2) and MMP9 secreted by erythropoietin-activated endothelial cells promote neural progenitor cell migration[J]. *J Neurosci*, 2006, 26(22):5996-6003.
- [14] Xu X, Wang Y, Chen Z, et al. Matrix metalloproteinase-2 contributes to cancer cell migration on collagen[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(1):130-136.
- [15] Newby AC. Matrix metalloproteinases regulate migration, proliferation, and death of vascular smooth muscle cells by degrading matrix and non-matrix substrates[J]. *Cardiovasc Res*, 2006, 69(3):614-624.
- [16] 郑江华, 罗开元, 时德, 等. 血液中血管内皮生长因子和肿瘤的研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2004, 13(1):50-52.
- [17] Zorretto VA, Silveira GG, Oliveira-Costa JP, et al. The relationship between lymphatic vascular density and vascular endothelial growth factor A (VEGF-A) expression with clinical-pathological features and survival in pancreatic adenocarcinomas[J]. *Diagn Pathol*, 2013, 8(1):170.
- [18] Brodsky SV, Mendelov N, Melamed M, et al. Vascular density and VEGF expression in hepatic lesions[J]. *J Gastrointest Liver Dis*, 2007, 16(4): 373-377.
- [19] Shim WS, Ho IA, Wong PE. Angiopoietin: a TIE (d) balance in tumor angiogenesis[J]. *Mol Cancer Res*, 2007, 5(7):655-665.
- [20] Wang J, Wu K, Zhang D, et al. Expressions and clinical significances of angiopoietin-1, -2 and Tie2 in human gastric cancer[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 337(1):386-393.
- [21] Barinaga M. Designing therapies that target tumor blood vessels[J]. *Science*, 1997, 275(5299):482-484.
- [22] 贾忠, 沈伟敏, 封光华, 等. 趋化因子IL-8与胃癌组织血管再生的相关性实验研究[J]. *中国普通外科杂志*, 2003, 12(1):39-43.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 赵苗苗, 陈晓, 许庆军, 等. 鬼臼酰肼哌啶氮氧自由基 (GP1) 抑制胃癌细胞生长及血管生成因子表达的实验研究[J]. *中国普通外科杂志*, 2015, 24(9):1323-1328. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.09.023

Cite this article as: ZHAO MM, CHEN X, XU QJ, et al. Effects of podophyllinic acid piperdyl nitroxyl radical hydrazine on gastric cancer cells and expression of angiogenic factor angiogenesis factor[J]. *Chin J Gen Surg*, 2015, 24(9):1323-1328. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.09.023