

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.07.004

· 基础研究 ·

七氟烷通过抑制 PI3K 磷酸化抑制结肠癌 SW480 细胞的增殖和侵袭以及裸鼠移植瘤的生长

董德嘉¹, 吴伟¹, 豆发福¹, 黄睿², 乔天宇², 沈振¹, 周亚东¹ (1. 汉中市 3201 医院 胃肠外科, 陕西 汉中 723000; 2. 哈尔滨医科大学附属第二医院 胃肠外科, 黑龙江 哈尔滨 150000)

[摘要] **目的:** 探讨七氟烷(sevoflurane)通过调控 PI3K 磷酸化对结肠癌 SW480 细胞增殖和侵袭以及裸鼠移植瘤生长的影响及其机制。**方法:** 采用七氟烷处理结肠癌 SW480 细胞, 将细胞随机分为对照组、0.5% 七氟烷组、1.0% 七氟烷组和 2.0% 七氟烷组进行后续实验。用克隆形成实验检测 SW480 细胞的增殖能力, RT-PCR 检测细胞中 MDM2、survivin mRNA 表达水平, Transwell 小室法检测细胞的侵袭能力, Western blotting 检测细胞中 MDM2、survivin、VEGF、PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT 蛋白的表达水平。并加入 PI3K 激活剂 740 Y-P 进行验证。建立裸鼠 SW480 细胞移植瘤模型, 称取肿瘤质量, 免疫组化检测移植瘤组织中 MDM2 和 VEGF 阳性表达率。**结果:** 与对照组和低剂量组比较, 1.0% 和 2.0% 七氟烷组 SW480 细胞的克隆形成率显著降低(均 $P < 0.01$); 细胞中 MDM2 mRNA 和蛋白水平显著升高(均 $P < 0.01$), survivin mRNA 和蛋白水平显著降低(均 $P < 0.01$); SW480 细胞侵袭数显著降低($P < 0.01$), VEGF、p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 蛋白水平显著降低(均 $P < 0.01$)。740Y-P 可逆转七氟烷对 SW480 细胞增殖、侵袭及 PI3K/AKT 信号通路相关蛋白表达的影响。2.0% 七氟烷组小鼠移植瘤质量显著降低($P < 0.01$), 瘤组织中 MDM2 阳性表达率显著升高($P < 0.01$)、VEGF 阳性表达率显著降低($P < 0.01$)。**结论:** 七氟烷抑制结肠癌 SW480 细胞的增殖和侵袭以及裸鼠移植瘤的生长, 其作用机制可能是通过抑制 PI3K 磷酸化实现的。

[关键词] 七氟烷; 结肠癌; SW480 细胞; 增殖; 侵袭; 移植瘤; PI3K/AKT 信号通路

[中图分类号] R735.3⁵; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)07-0742-07

Sevoflurane inhibits proliferation and invasion of colon cancer SW480 cells and growth of xenografts in nude mice by inhibiting PI3K phosphorylation

DONG Dejia¹, WU Wei¹, DOU Fafu¹, HUANG Rui², QIAO Tianyu², SHEN Zhen¹, ZHOU Yadong¹ (1. Department of Gastroenterology, 3201 Hospital of Hanzhong City, Hanzhong 723000, Shaanxi, China; 2. Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150000, Heilongjiang, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect and mechanism of sevoflurane on the proliferation and invasion of colon cancer SW480 cells and the growth of transplanted tumor in nude mice by regulating the phosphorylation of PI3K. **Methods:** Colon cancer SW480 cells were treated with sevoflurane and randomly divided into control group, 0.5% sevoflurane group, 1.0% sevoflurane group and 2.0% sevoflurane group for subsequent experiments. The proliferation ability of SW480 cells was detected by Clone formation assay, mRNA expression levels of MDM2 and survivin in cells were detected by RT-PCR, invasion ability of cells was detected by Transwell assay, and protein expression levels of MDM2, survivin, VEGF, PI3K, p-PI3K, AKT and p-AKT were detected by Western blotting. PI3K activator 740Y-P was added for verification. SW480 cell transplanted tumor model was constructed on nude mice, and the tumor mass was weighed. The positive expression rates of MDM2 and VEGF in the transplanted tumor tissues were detected by Immunohistochemistry. **Results:** As compared with the control group and the low-dose group, the clone formation rate of SW480 cells and the number of invaded cells in the 1.0% and 2.0% sevoflurane groups were significantly decreased (all $P < 0.01$), the mRNA and protein levels of MDM2 in the cells were significantly increased (all $P < 0.01$), while the mRNA and protein levels of survivin were significantly decreased (all $P < 0.01$); and the protein levels of VEGF, p-PI3K/PI3K and p-AKT/AKT were significantly decreased (all $P < 0.01$). 740Y-P could reverse the effect of sevoflurane on the proliferation, invasion and expression of proteins associated with the PI3K/AKT signaling pathway in SW480 cells. The mass of transplanted tumor in 2.0% sevoflurane group was significantly decreased ($P < 0.01$), and the positive MDM2 expression rate in tumor tissues was significantly increased ($P < 0.01$), while the positive VEGF

[基金项目] 黑龙江省自然科学基金资助项目(No. H2017016)。Project supported by the Natural Science Foundation of Heilongjiang Province (No. H2017016)

[作者简介] 董德嘉(1983-),男,硕士,主治医师,主要从事消化道肿瘤的临床研究,E-mail: dejiadong@163.com

expression rate was significantly decreased ($P < 0.01$). **Conclusion:** Sevoflurane inhibits the proliferation and invasion of colon cancer SW480 cells and the growth of xenografts in nude mice possibly by inhibiting PI3K phosphorylation.

[Key words] sevoflurane; colon cancer; SW480 cell; proliferation; invasion; xenografts; PI3K/AKT signaling pathway

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(7): 742-748. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.07.004]

结肠癌是目前最常见的消化道肿瘤之一,是由微生物组不平衡和炎症引起的组织微环境改变所导致的^[1]。早期发现并及时手术切除的结肠癌患者的预后良好,患者5年生存率为91%,但随着病情的进展,其生存率明显下降^[2]。手术切除是结肠癌的主要治疗手段,但手术中的各个环节都会对结肠癌的后续发展产生影响^[3]。越来越多的研究^[4]表明,手术中吸入性麻醉药的选择不仅仅对麻醉本身产生影响,而且对肿瘤细胞的生物学行为也有影响。七氟烷(sevoflurane)因具有良好镇痛、可控性好、患者易耐受等特点广泛用于术前全身麻醉^[5]。有研究^[6-8]表明,七氟烷抑制结肠癌细胞的增殖、侵袭与迁移,并促进细胞凋亡。但七氟烷对结肠癌细胞的增殖、侵袭与迁移的作用机制尚未完全清楚。本研究通过观察七氟烷对结肠癌SW480细胞增殖、侵袭及其对小鼠体内移植瘤生长的影响,探讨其作用机制,旨在为七氟烷应用于结肠癌的临床治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞株及主要试剂

人结肠癌细胞系SW480购自中国典型培养物保藏中心。七氟烷(101147-201101;化学式: $C_4H_5F_7O$,分子量:200.5,纯度 $\geq 99.9\%$)购自中国食品药品检定研究院,RPMI 1640培养基(61870-127)、胎牛血清(26400-036)、青-链霉素(15140-122)、胰蛋白酶(25200-056)购自美国Gibco公司,740Y-P(S80211)购自上海叶源生物科技有限公司,BCA蛋白测定试剂盒(P0012S)购自上海碧云天生物技术研究所,Transwell小室(3374)购自美国Corning公司,抗MDM2(ab38618)、survivin(ab469)、VEGF(ab2350)、PI3K(ab191606)、p-PI3K(ab182651)、AKT(ab106693)、p-AKT(ab192623)等抗体购自美国Abcam公司,辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的山羊抗小鼠二抗购自美国Santa Cruz公司。

1.2 细胞培养、七氟烷处理及分组

将SW480细胞在含10%胎牛血清、100 U/L青霉素和100 $\mu\text{g/L}$ 链霉素的RPMI 1640培养基中,置于37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的恒温培养箱中培养。每2 d更换培养基1次,平均3~4 d传代一次,后续实验选用对数生长期的细胞。将对数生长期SW480细胞随机分为4组:对照组、0.5%七氟烷组、1.0%七氟烷组和2.0%七氟烷组,分别用0%、0.5%、1.0%、2.0%七氟烷处理7 h。

1.3 克隆形成实验检测SW480细胞的克隆形成率

在培养皿中培养细胞至大约30%汇合度时继续培养4 d,吹散为单个细胞,接种于6孔板(5×10^2 个细胞/孔)中,培养14 d,弃掉培养基,用乙醇固定30 min,用0.5%结晶紫染色1 h,用去离子水漂洗晾干后,在光学显微镜下($\times 40$)拍照、观察克隆形成数目,计算克隆形成率。大于50个细胞的集落为1个克隆,克隆形成率=克隆数/接种细胞数 $\times 100\%$ 。

1.4 RT-PCR检测SW480细胞中MDM2和survivin mRNA的表达水平

用TRIzol法从各组细胞中提取总RNA,用Nanodrop分光光度计测定光密度(D_{260}/D_{280})。按照试剂盒说明书进行cDNA的合成和PCR的扩增,反应条件为:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性30 s,55 $^{\circ}\text{C}$ 退火30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s,扩增35个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延长10 min;在4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下存储。PCR引物序列:MDM2:F为5'-CAGGCAGGGGAGAGTGATA-3',R为5'-GTGATGGAAGGGGGGATT-3';survivin:F为5'-CTTCTCAAGGACCACCGCATC-3',R为5'-CAATCCATGGCAGCCAGCTGC-3';GAPDH:F为5'-GAAGGTCGGAGTCAACGGATT-3',R为5'-CGCTCCTGGAAGATGGTGAT-3'。反应产物用2%琼脂糖凝胶电泳分离,以GAPDH为内参,分析目的基因mRNA的相对表达量。

1.5 Transwell小室法检测SW480细胞的侵袭能力

取300 μl 无血清培养基,4 $^{\circ}\text{C}$ 下加入60 μl 基质胶,充分混匀后加入Transwell上小室,置于37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中孵育5 h。将100 μl 密度为 $1 \times 10^8/\text{ml}$ 的SW480细胞用无血清培养基清洗3次,配成细胞悬液加入Transwell上小室,下室中加入600 μl 含有20% FBS的培养基,置于37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中孵育24 h。取出Transwell小室,用PBS洗2遍,5%戊二醛固定30 min,0.1%结晶紫染色30 min后,在光学显微镜下观察、计数穿膜细胞数。

1.6 Western blotting(WB)检测SW480细胞中PI3K/AKT信号通路相关蛋白的表达

收集各组SW480细胞,在冰上溶解25 min。以12 000 $\times g$ 离心10 min,加入含蛋白酶抑制剂的细胞裂解液进行总蛋白提取,用BCA试剂盒测定蛋白含量。提取等量的蛋白质样品,在100 $^{\circ}\text{C}$ 条件下变性5 min。然后进行SDS-PAGE、转PVDF膜,在4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下加入相应一抗:MDM2(1:500)、survivin(1:1 000)、VEGF(1:1 000)、p-PI3K(1:1 000)、PI3K(1:1 000)、p-AKT(1:1 000)、AKT(1:1 000)并孵育过夜,清洗,

然后在4 °C下加入HRP标记的二抗(1:2 500), 孵育2 h, 最后加入发光液, 曝光处理。ImageJ软件统计蛋白条带的灰度值。

1.7 740 Y-P对SW480细胞PI3K/AKT信号通路相关蛋白表达的影响

加入PI3K激活剂740Y-P(终质量浓度100 μg/ml), 将SW480细胞随机分为4组, 即对照组、2.0%七氟烷组、740Y-P组、740Y-P+2.0%七氟烷组。用WB实验检测各组细胞中PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT蛋白表达水平(方法同1.6), 用克隆形成实验检测细胞的克隆形成率(方法同1.3)和Transwell小室法检测细胞的侵袭数(方法同1.5)。

1.8 裸鼠移植瘤模型的建立及观察

10只雄性、5周龄、体质量为(20±2)g的BALB/c裸鼠[许可证号:SCXK(京)2015-0001]购自北京维通利华动物科技有限公司, 在特定的无病原体条件下饲养。参照文献[9]的方法, 将裸鼠随机分为2组: 对照组和2.0%七氟烷组, 每组各5只。用胰酶消化SW480细胞后, PBS重悬细胞并计数, 用PBS将细胞密度调至 2×10^7 /ml, 加入等体积的基质胶混合, 细胞密度降至 1×10^7 /ml。分别于每只BALB/c裸鼠右肩胛皮下接种细胞悬液0.2 ml。接种后28 d后处死裸鼠, 完整切取移植瘤组织, 用电子天平称取肿瘤质量后, 切取部分瘤组织, 经石蜡包埋、切片、脱蜡至水。加入3% H_2O_2 于室温下孵育10 min, 将切片置于盛枸橼酸盐缓冲液的容器中, 95 °C左右持续10 min后室温

冷却, PBS洗3次, 用5%胎牛血清封闭液37 °C孵育30 min。加入MDM2(1:500)和VEGF(1:1 000)一抗, 37 °C孵育1 h, PBS洗3次, 再加入生物素标记的山羊抗小鼠二抗(1:2 000), 37 °C孵育30 min; PBS洗3次, 加入SABC免疫组化染色试剂, 37 °C孵育30 min; PBS洗3次, 显微镜下显色并控制反应时间, 苏木精复染后脱水、透明、中性树胶封片。使用软件Image J分析阳性细胞百分率。

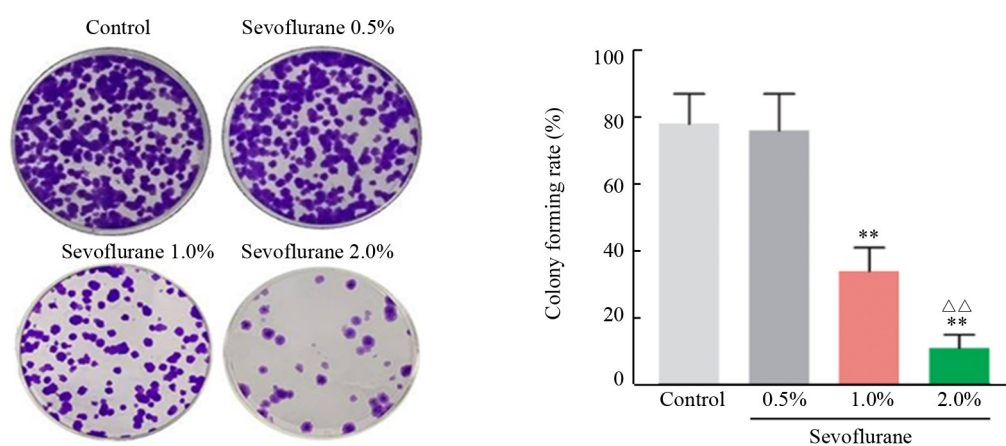
1.9 统计学处理

上述克隆形成、RT-PCR、Transwell、WB等试验均重复3次。用SPSS17.0统计软件对实验数据进行统计分析。正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间采用 t 检验, 多组间比较采用重复测量方差分析, 多组间两两比较采用SNK- q 检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 七氟烷显著抑制SW480细胞的克隆形成能力

克隆形成实验结果(图1)显示, 与对照组和0.5%七氟烷组比较, 1.0%和2.0%七氟烷组SW480细胞的克隆形成率显著降低($q=41.745$ 、 60.350 、 38.590 、 57.263 , 均 $P < 0.01$), 1.0%七氟烷组SW480细胞的克隆形成率显著高于2.0%七氟烷组($q=18.716$, $P < 0.01$)。结果表明, 七氟烷抑制结肠癌细胞的克隆形成能力。



** $P < 0.01$ vs Control or 0.5% sevoflurane group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs 1.0% sevoflurane group

图1 不同质量分数的七氟烷对SW480细胞克隆形成的影响($\times 40$)

Fig.1 Effects of different mass fractions of sevoflurane on clone formation of SW480 cells($\times 40$)

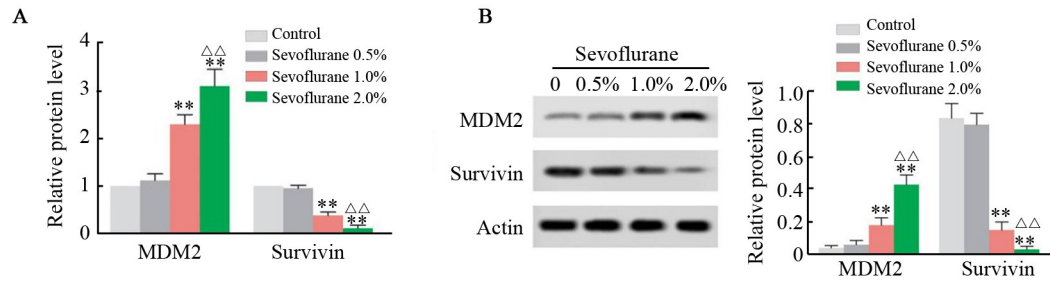
2.2 SW480细胞中七氟烷上调MDM2、下调survivin mRNA和蛋白水平

RT-PCR检测结果(图2A)显示, 与对照组和0.5%七氟烷组比较, 1.0%和2.0%七氟烷组SW480细胞中MDM2 mRNA水平均显著升高($q=7.511$ 、

8.047 、 7.214 、 7.453 , 均 $P < 0.01$)、survivin mRNA水平显著降低($q=4.372$ 、 27.012 、 10.342 、 26.870 , 均 $P < 0.01$); 2.0%七氟烷组MDM2 mRNA水平显著高于1.0%七氟烷组($q=2.291$, $P < 0.01$); 1.0%七氟烷组survivin mRNA水平显著高于2.0%七氟烷组($q=7.894$, $P < 0.01$)。

WB实验结果(图2B)显示,与对照组和0.5%七氟烷组比较,1.0%、2.0%七氟烷组SW480细胞中MDM2蛋白水平显著升高($q=7.778、8.838、4.950、7.798$,均 $P<0.01$)、survivin蛋白水平显著降低($q=15.653、17.889、17.985、21.086$,均 $P<0.01$);2.0%七氟烷组

MDM2蛋白水平显著高于1.0%七氟烷组($q=5.750$, $P<0.01$),而survivin蛋白水平显著低于1.0%七氟烷组($q=11.180$, $P<0.01$)。结果表明,七氟烷上调SW480细胞中MDM2、下调survivin mRNA和蛋白水平。



* $P<0.01$, ** $P<0.01$ vs Control or 0.5% sevoflurane group; $\Delta\Delta P<0.01$ vs 1.0% sevoflurane group

A: RT-PCR was used to detect the mRNA expressions of MDM2 and survivin in the SW480 cells;

B: WB was used to detect the protein expressions of MDM2 and survivin in the SW480 cells

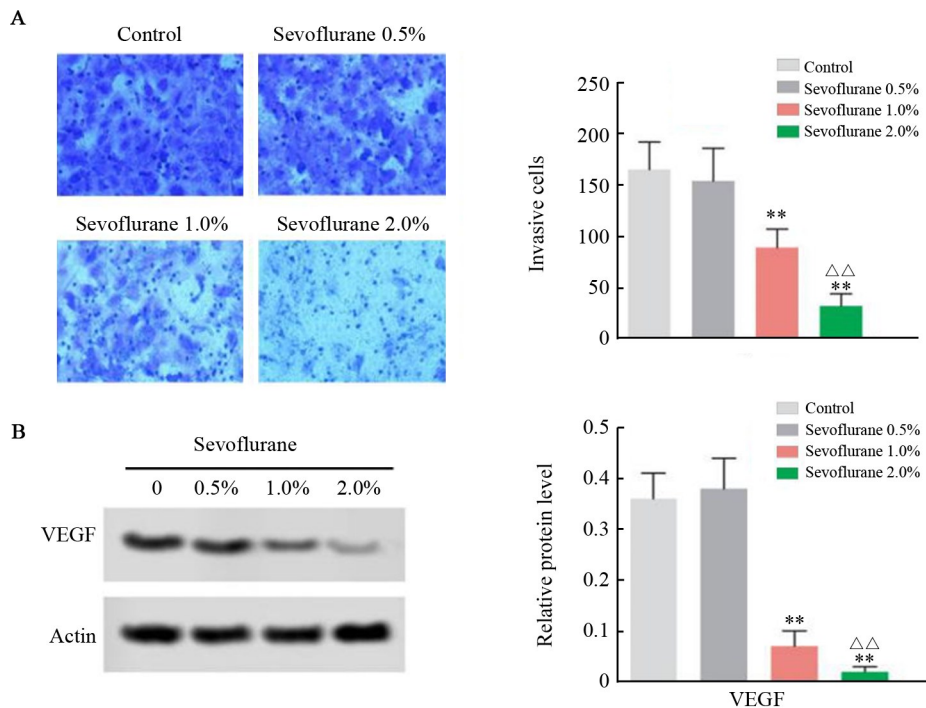
图2 不同质量分数七氟烷对SW480细胞中MDM2、survivin mRNA水平和蛋白水平的影响

Fig.2 Effects of different mass fractions of sevoflurane on mRNA and protein expressions of MDM2, survivin in SW480 cells

2.3 七氟烷显著抑制SW480细胞的侵袭能力

Transwell小室法检测结果(图3A)显示,与对照组和0.5%七氟烷组比较,1.0%、2.0%七氟烷组侵袭细胞数显著降低($q=11.431、18.278、10.216、717.058$,均 $P<0.01$),1.0%七氟烷组细胞侵袭数显著高于2.0%七氟烷组($q=8.652$, $P<0.01$)。WB检测各(图3B)显

示,与对照组和0.5%组比较,1.0%、2.0%七氟烷组SW480细胞中VEGF蛋白水平显著降低($q=64.782、37.963、12.271、14.120$,均 $P<0.01$),1.0%七氟烷组VEGF蛋白水平显著高于2.0%七氟烷组($q=5.657$, $P<0.01$)。结果表明,七氟烷上调SW480细胞中MDM2、下调survivin mRNA和蛋白水平。



** $P<0.01$ vs Control or 0.5% sevoflurane group; $\Delta\Delta P<0.01$ vs 1.0% sevoflurane group

A: Transwell assay was used to detect the invasion of SW480 cells (Transwell, $\times 200$);

B: WB was used to detect the expression of VEGF in the SW480 cells

图3 不同质量分数七氟烷对SW480细胞侵袭能力的影响

Fig.3 Effects of different mass fractions of sevoflurane on the invasion of SW480 cells

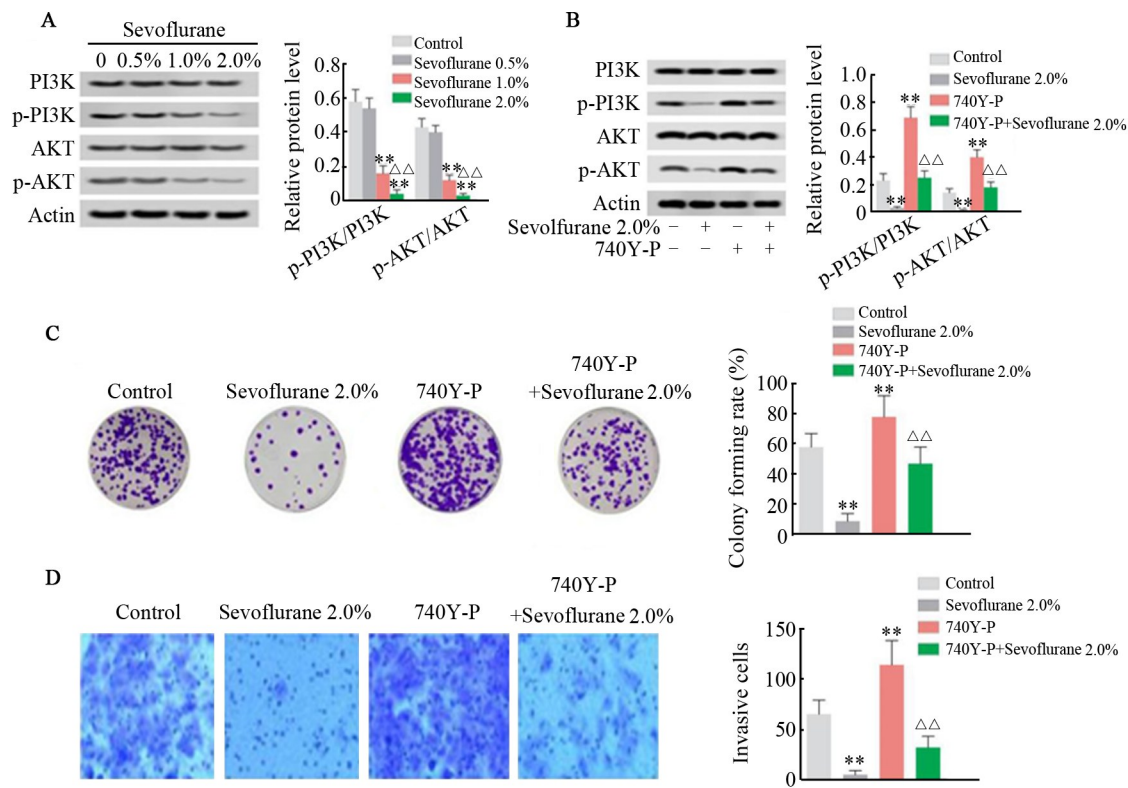
2.4 740Y-P可逆转七氟烷对SW480细胞中PI3K/AKT信号通路相关蛋白表达和细胞增殖及侵袭的影响

WB实验结果(图4A)显示,与对照组和0.5%七氟烷组比较,1.0%、2.0%七氟烷组SW480细胞中p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT蛋白水平显著降低($q=9.428, 13.777, 10.847, 15.504$, 均 $P<0.01$; $q=11.510, 13.933, 10.667, 13.969$, 均 $P<0.01$), 1.0%七氟烷组p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT蛋白水平显著高于2.0%七氟烷组($q=5.000, 8.000$, 均 $P<0.01$)。

加入PI3K激活剂740Y-P后, WB检测结果(图4B)显示,与对照组比较, 2.0%七氟烷组SW480细胞中p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT蛋白水平显著降低($q=16.202, 5.491$, 均 $P<0.01$), 740Y-P组细

胞中p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT蛋白水平显著升高($q=8.380, 5.303$, 均 $P<0.01$), 740Y-P组p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT蛋白水平显著高于740Y-P+七氟烷组($q=7.273, 7.060$, 均 $P<0.01$)。克隆形成、Transwell实验结果(图4C、D)显示, 2.0%七氟烷组克隆形成率、细胞侵袭数显著低于对照组($q=83.958, 72.331$, 均 $P<0.01$), 740Y-P组克隆形成率、细胞侵袭数显著高于对照组($q=32.289, 50.116$, 均 $P<0.01$), 740Y-P组克隆形成率、细胞侵袭数显著高于740Y-P+七氟烷组($q=58.863, 90.071$, 均 $P<0.01$)。

上述结果表明,加入PI3K抑制剂740Y-P可逆转七氟烷对SW480细胞中PI3K/AKT信号通路相关蛋白表达和细胞增殖及侵袭的影响。



** $P<0.01$ vs Control or 0.5% sevoflurane group; $\triangle\triangle P<0.01$ vs 1.0% sevoflurane or 740Y-P group

A and B: WB assay was used to detect the expressions of VEGF in the SW480 cells; Transwell assay was used to detect the invasion of SW480 cells; C: Clone formation assay was used to detect the clone formation rate of SW480 cells ($\times 40$); D: Transwell experiment was used to detect the invasion ability of SW480 cells ($\times 200$)

图4 740Y-P对七氟烷处理SW480细胞中PI3K/AKT信号通路相关蛋白表达和细胞增殖及侵袭的影响
Fig.4 Effects of 740Y-P on the proliferation, invasion, and the expressions of PI3K/AKT signaling pathway associated proteins in SW480 cells treated with sevoflurane

2.5 七氟烷抑制裸鼠移植瘤的生长和升高MDM2、降低VEGF的阳性表达率

SW480细胞的裸鼠皮下移植瘤模型实验结果(图5A)显示, 2.0%七氟烷组肿瘤质量显著低于对照组($t=7.593, P<0.01$); 免疫组化染色结果(图5B)显

示, 2.0%七氟烷组移植瘤组织中MDM2阳性表达率显著高于对照组($t=27.106, P<0.01$), 而VEGF阳性表达率显著低于对照组($t=30.550, P<0.01$)。实验结果表明, 七氟烷抑制裸鼠移植瘤的生长和升高MDM2、降低VEGF的阳性表达率。

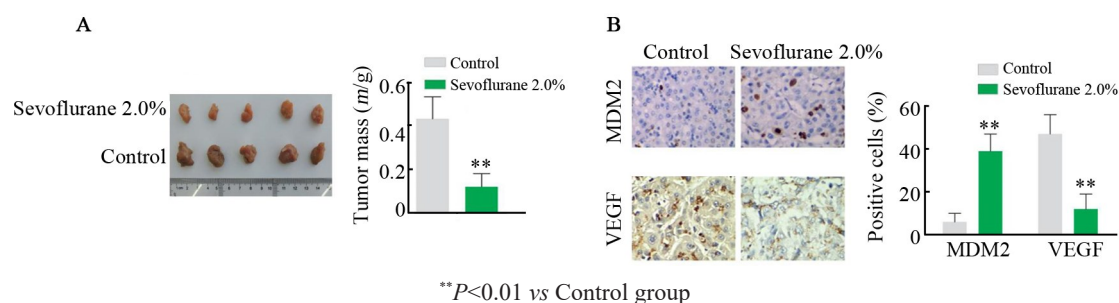


图5 七氟烷对移植瘤质量(A)和组织中MDM2和VEGF(B:免疫组化染色,×200)表达的影响

Fig.5 Effects of sevoflurane on the tumor mass (A), and the expressions of MDM2 and VEGF

(B: Immunocytochemistry,×200) in xenograft tumor tissues of nude mice

3 讨论

目前结肠癌主要采取根治性手术治疗,即腹腔镜手术,但腹腔镜手术需要足够的麻醉深度,所以全身麻醉是必须的^[10]。麻醉技术和麻醉药品在肿瘤患者手术治疗时合理的选择和利用,可以改善患者的预后和生存率,麻醉对肿瘤的复发和转移具有很大的影响^[11]。七氟烷在临床麻醉中具有较大的优势,几乎无刺激性,患者耐受良好,诱导、苏醒快,镇痛效果好,可控性高,是一种新型强效全身气体麻醉剂,在麻醉中发挥着非常重要的作用^[12]。王晖等^[13]研究发现,七氟烷麻醉能降结肠癌患者的血液黏度,使血栓形成风险减少。本研究发现,七氟烷具有抑制结肠癌细胞增殖和裸鼠结肠癌移植瘤生长的作用。

MDM2为小鼠双微体基因,是近几年发现的一种癌基因,具有增强细胞生存活力,使细胞生存期延长和促进细胞增殖和肿瘤生长^[14]。HAV等^[15]研究发现,MDM2基因扩增与蛋白表达水平显著相关,MDM2可作为结肠癌基因治疗的新靶点。Survivin是凋亡抑制蛋白家族的成员,是唯一能通过内源性抑制caspase活性而抑制细胞凋亡的因子,具有抑制凋亡和调控细胞分裂的双重功能,与细胞的增殖、分化及组织的生长密切相关^[16]。KAWASAKI等^[17]研究发现,survivin基因在人结肠癌组织中表达上调抑制细胞凋亡。本研究发现,七氟烷上调SW480细胞MDM2 mRNA和蛋白水平,下调survivin mRNA和蛋白水平,从而促进结肠癌细胞的凋亡。

结肠癌的侵袭转移是结肠癌患者术后复发最关键的原因之一,约90%的患者死于转移相关的并发症^[18]。肿瘤的发生发展、侵袭和转移依赖于肿瘤的血管生成,VEGF是促进血管生长的细胞因子,与肿瘤的侵袭和转移密切相关^[19]。研究^[20]表明,VEGF过表达与肿瘤的不良预后密切相关。本研究发现,七氟烷具有抑制结肠癌细胞侵袭、下调VEGF蛋白表达的作用。结果提示,七氟烷通过抑制VEGF表达从而抑

制结肠癌细胞的侵袭。

PI3K是具有脂质激酶和蛋白激酶双重活性的异质二聚体,通过活化蛋白激酶B(protein kinase B, PKB或AKT)参与肿瘤细胞增殖、分化及凋亡等过程^[21]。在结肠癌组织中,PI3K和AKT基因及其蛋白的表达明显高于癌旁组织^[22]。本研究结果显示,七氟烷显著抑制PI3K和AKT的磷酸化水平,抑制PI3K/AKT信号通路活化。且PI3K/AKT信号通路激活剂740Y-P可逆转七氟烷对细胞增殖、凋亡、侵袭及PI3K/AKT信号通路相关蛋白表达的影响。

综上所述,七氟烷具有抑制细胞增殖、侵袭和促进细胞凋亡、抑制裸鼠SW480细胞移植瘤生长的作用,其可能是通过抑制PI3K/AKT信号通路实现的。本研究结果七氟烷治疗结肠癌的临床应用提供了实验依据。

[参考文献]

- [1] 高阳, 霍苗苗, 刘梅, 等. 西达本胺通过调控肿瘤相关巨噬细胞功能增强对结肠癌细胞的抑制作用[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2019, 26(4): 381-388. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2019.04.003.
- [2] SIEGEL R L, MILLER K D, FEDEWA S A, et al. Colorectal cancer statistics, 2017[J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(3): 177-193. DOI: 10.3322/caac.21395.
- [3] 韩峥, 黄晓东, 刘蒙, 等. 那可丁通过下调钙黏素17及Wnt3a/β-catenin信号通路抑制结肠癌SW480细胞迁移[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2019, 26(10): 1089-1094. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.10.006.
- [4] GAO K, SU Z, LIU H, et al. Anti-proliferation and anti-metastatic effects of sevoflurane on human osteosarcoma U2OS and Saos-2 cells[J]. Exp Mol Pathol, 2019, 108: 121-130. DOI: 10.1016/j.yexmp.2019.04.005.
- [5] 蒲劲宏. 七氟烷对骨肉瘤细胞生长、侵袭转移能力的影响及机制研究[D]. 昆明: 昆明医科大学, 2018.
- [6] 吕航宇. 七氟烷插管全麻对合并轻中度COPD结肠癌患者围术期血气的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2019, 28(35): 3947-3950. DOI:10.3969/j.issn.1008-8849.2019.35.019.
- [7] KVOLIK S, DOBROSEVIC B, MARCZI S, et al. Different apoptosis ratios and gene expressions in two human cell lines after sevoflu-

- rane anaesthesia[J]. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2009, 53(9): 1192-1199. DOI:10.1111/j.1399-6576.2009.02036.x.
- [8] MÜLLER-EDENBORN B, ROTH-Z'GRAGGEN B, BARTNICKA K, et al. Volatile anesthetics reduce invasion of colorectal cancer cells through down-regulation of matrix metalloproteinase-9[J]. *Anesthesiology*, 2012, 117(2): 293-301. DOI:10.1097/ALN.0b013e3182605df1.
- [9] 汪瑞辰, 赵敏, 黄双佳, 等. 单胺氧化酶抑制剂氯吉灵抑制结肠癌的作用及机制研究[J]. *中国医院药学杂志*, 2019, 39(6): 590-594. DOI:10.13286/j.cnki.chinhosp-pharmacy.2019.06.11.
- [10] 譙松. 开腹手术与腹腔镜手术治疗结肠癌效果对比观察[J]. *中西医结合心血管病电子杂志*, 2018, 6(16): 185-186. DOI:10.16282/j.cnki.cn11-9336/r.2018.16.138.
- [11] CUMMINGS K C 3rd, XU F, CUMMINGS L C, et al. A comparison of epidural analgesia and traditional pain management effects on survival and cancer recurrence after colectomy: a population-based study[J]. *Anesthesiology*, 2012, 116(4): 797-806. DOI: 10.1097/ALN.0b013e31824674f6.
- [12] 黄光梅, 李水忠. 七氟烷在小儿麻醉中的临床应用研究进展[J]. *现代医药卫生*, 2019, 35(17): 2673-2676. DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2019.17.026
- [13] 王晖, 王臻, 杨瑞. 丙泊酚与七氟烷麻醉对老年结肠癌根治术患者血流变学及T淋巴细胞亚群的影响[J]. *实用老年医学*, 2016, 30(12): 1020-1022, 1026. DOI:10.3969/j.issn.1003-9198.2016.12.016.
- [14] CAHILLY-SNYDER L, YANG-FENG T, FRANCKE U, et al. Molecular analysis and chromosomal mapping of amplified genes isolated from a transformed mouse 3T3 cell line[J]. *Somat Cell Mol Genet*, 1987, 13(3): 235-244. DOI:10.1007/BF01535205.
- [15] HAV M, LIBBRECHT L, FERDINANDE L, et al. MDM2 gene amplification and protein expressions in colon carcinoma: is targeting MDM2 a new therapeutic option?[J]. *Virchows Arch*, 2011, 458(2): 197-203. DOI:10.1007/s00428-010-1012-7.
- [16] FEI B J, CHI A L, WENG Y. Hydroxycamptothecin induces apoptosis and inhibits tumor growth in colon cancer by the downregulation of survivin and XIAP expression[J/OL]. *World J Surg Oncol*, 2013, 11: 120[2020-01-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3679846/>. DOI:10.1186/1477-7819-11-120.
- [17] KAWASAKI H, TOYODA M, SHINOHARA H, et al. Expression of survivin correlates with apoptosis, proliferation, and angiogenesis during human colorectal tumorigenesis[J]. *Cancer*, 2001, 91(11): 2026-2032. DOI:10.1002/1097-0142(20010601)91:11<2026::aid-cncl1228>3.0.co;2-e.
- [18] GÓMEZ DEL PULGAR T, BANDRÉS E, ESPINA C, et al. Differential expression of Rac1 identifies its target genes and its contribution to progression of colorectal cancer[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39(12): 2289-2302. DOI:10.1016/j.biocel.2007.06.014.
- [19] ABDEL-RAHMAN O. Targeting vascular endothelial growth factor (VEGF) pathway in gastric cancer: preclinical and clinical aspects [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2015, 93(1): 18-27. DOI:10.1016/j.critrevonc.2014.05.012.
- [20] AGGARWAL S, DEVARAJA K, SHARMA S C, et al. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in patients with oral squamous cell carcinoma and its clinical significance[J]. *Clin Chim Acta*, 2014, 436: 35-40. DOI:10.1016/j.cca.2014.04.027.
- [21] DANIELSEN S A, EIDE P W, NESBAKKEN A, et al. Portrait of the PI3K/AKT pathway in colorectal cancer[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1855(1): 104-121. DOI:10.1016/j.bbcan.2014.09.008.
- [22] ZHANG J H, WANG L H, LI X J, et al. Expression of Ang-2/Tie-2 and PI3K/AKT in colorectal cancer[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(20): 8651-8656. DOI:10.7314/apjcp.2014.15.20.8651.

[收稿日期] 2020-01-28

[修回日期] 2020-05-29

[本文编辑] 党瑞山