

文章编号:1001-6880(2016)6-0943-07

大蒜素对大鼠实验性大肠癌的作用及其机制研究

王先坤¹,王雪^{2*},黄建³¹黔南布依族苗族自治州中医医院;²黔南布依族苗族自治州人民医院,
都匀 558000;³浙江大学附属第二医院胃肠外科,杭州 310009

摘要:本研究旨在探讨大蒜素对实验性结肠癌大鼠的治疗作用及其作用机制。运用二甲肼 30 mg/kg 腹腔注射,每周注射 1 次,连续应用 20 周,成功建立实验性大鼠大肠癌模型,造模同时给予大蒜素注射液治疗。观察各组大鼠一般状态、脾脏指数、胸腺指数和组织病理学变化,酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测血清中 CD44V6 和 VEGF 水平变化。Western blot 法检测大肠组织中 survivin、Cleaved Caspase-3 和 Cleaved Caspase-7 的蛋白水平变化。实验结果显示第 32 周实验结束时,模型组大鼠平均体重与正常组相比显著降低 ($P < 0.05$)。大蒜素高、低剂量组大鼠体重与模型组相比显著增加 ($P < 0.05$)。大蒜素高、低剂量组大鼠平均胸腺指数、平均脾脏指数与模型组相比显著增高 ($P < 0.05$)。而大蒜素高剂量组胸腺指数、脾指数显著高于大蒜素低剂量组 ($P < 0.05$)。模型组肿瘤发生率、荷瘤数及肿瘤转移率均显著高于各给药组 ($P < 0.05$)。模型组大鼠血清 CD44V6 和 VEGF 水平显著高于正常组 ($P < 0.05$)。大蒜素高、低剂量组血清 CD44V6 和 VEGF 水平与模型组相比显著降低 ($P < 0.05$)。而与低剂量组相比,大蒜素高剂量组二项指标水平增加更为显著 ($P < 0.05$)。模型组大鼠大肠组织 survivin、Caspase-3 和 Caspase-7 表达水平显著高于正常组 ($P < 0.05$)。但与模型组相比,大蒜素高、低剂量组 survivin 表达水平显著降低,而 Cleaved Caspase-3 和 Cleaved Caspase-7 表达水平显著升高 ($P < 0.05$)。提示大蒜素对二甲肼诱导的实验性大鼠大肠癌具有良好的防治作用,可有效抑制大肠癌的发展及转移,其机制可能通过一方面增强大鼠体质,提高大鼠免疫功能,另一方面调节 CD44V6 和 VEGF 的水平来抑制肿瘤内血管的生成和浸润转移,同时抑制 survivin 基因的表达,上调 Caspase-3 和 Caspase-7 水平,从而促进癌细胞的凋亡。

关键词:大蒜素;大肠癌;病理;胸腺指数;脾脏指数

中图分类号:R255.4

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.6.022

Effects of Allicin on Experimental Colorectal Cancer in Rats and its Mechanism

WANG Xian-kun¹, WANG Xue^{2*}, HUANG Jian³¹Qianan Buyi and Miao Autonomous Prefecture, Chinese Medicine Hospital, Duyun 558000, China;²Qianan Buyi and Miao Autonomous Prefecture People's Hospital, Duyun 558000, China;³Second Affiliated Hospital of Zhejiang University of Gastrointestinal Surgery, Hangzhou 310009, China

Abstract: To study the therapeutic effect and mechanism of allicin on experimental colorectal cancer in rats. Experimental rat colon cancer model was successfully established by 30 mg/kg intraperitoneal injection of DMH, injection once a week, continuous application of 20 weeks, and the model was treated with allicin injection at the same time. The changes of general state, spleen index, thymus index, histopathological changes, CD44V6 and VEGF levels in serum and Survivin, Caspase-3 and Caspase-7 protein levels in colorectal tissues were compared before and after the treatment. At the end of the thirty-two weeks, the average weight of the model group was significantly lower than that of the normal group ($P < 0.05$). The average weight of high and low dose allicin groups increased significantly compared with that of the model group ($P < 0.05$). Thymus index and spleen index of high and low dose allicin group significantly increased compared with those of the model group ($P < 0.05$). The thymus index and spleen index in high dose allicin group was significantly higher than that of low dose allicin group ($P < 0.05$). The tumor incidence, tumor number and tumor metastasis rate in the model group were significantly higher than those in the other groups ($P < 0.05$). The serum levels of CD44V6 and VEGF in model group were significantly higher than those in normal group ($P < 0.05$). Serum CD44V6 and VEGF levels of allicin high and low dose group decreased significantly compared with the model group ($P < 0.05$). Compared with the

VEGF in model group were significantly higher than those in normal group ($P < 0.05$). Serum CD44V6 and VEGF levels of allicin high and low dose group decreased significantly compared with the model group ($P < 0.05$). Compared with the

收稿日期:2016-02-14 接受日期:2016-04-15

基金项目:国家自然科学基金(J20110192)

* 通讯作者 Tel:86-018985088678; E-mail:chengjp119@yeah.net

low dose allicin group, CD44V6 and VEGF levels of high dose allicin group increased more significantly ($P < 0.05$). The expression level of survivin, Caspase-3 and Caspase-7 in the model group was significantly higher than that in the normal group ($P < 0.05$). But compared with the model group, the survivin expression levels of high and low dose allicin group were significantly decreased, and expression level of Caspase-3 and caspase-7 were significantly increased ($P < 0.05$). In conclusion, allicin had good prevention and cure function on experimental rats with colorectal cancer induced by dimethylhydrazine, which can effectively inhibit the development and metastasis of colorectal cancer, the mechanism may through enhancing rat physique, improving the immune function of rats and inhibiting tumor vessel formation and invasion and metastasis by regulating the expression of CD44v6 and VEGF, while allicin may inhibit the expression of survivin gene, upregulate Caspase-3 and caspase-7 level, so as to promote the apoptosis of cancer cells.

Key words: allicin; colorectal cancer; pathology; thymus index; spleen index

大肠癌是常见的消化道恶性肿瘤之一,近年来其死亡率和发病率呈逐年升高趋势,严重威胁人类的生命健康。目前,治疗大肠癌的方法主要包括手术、放疗、化疗、生物治疗和免疫治疗等^[1,2],但无论施行哪种治疗方案,患者的长期生存率和生活质量均不是十分理想。因此,积极寻找防治大肠癌的有效方法具有重要临床意义。研究表明,膳食中所存在的天然抗癌成分与其它化疗药物相比可能更安全,实用性更强,而逐渐受到国内外研究学者们的追捧。大蒜是人类必不可少的食材,传统中医学认为其具有温中消食、行滞气、暖脾胃、消积、解毒、杀虫的功效。研究表明,经常使用大蒜的人群,罹患胃肠道肿瘤的相对危险度也相应下降。大蒜素是从大蒜中提取的主要成分,具有抗炎、促凋亡、抗肿瘤等作用^[3,4],可以有效抑制肿瘤细胞 SW620、HCT116 等的生长。但其对大肠癌的作用如何,目前鲜有报道。本研究成功复制了 1,2-二甲肼化学诱导的大鼠大肠癌模型,初步观察了大蒜素对实验性大鼠大肠癌的防治作用,并对其可能的作用机制进行了初步研究,旨在为大蒜素应用于大肠癌防治的可行性提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物及药品

雄性 Wistar 大鼠共 48 只,由重庆第三军医大学大坪医院实验动物中心提供,许可证号为 SCXK-(渝)2007-006,SPF 级,5 周龄,体质量 50~60 g。大蒜素注射液,由山东辰欣药业有限公司提供。1,2-二甲肼,由美国 Sigma 公司提供。

1.2 研究方法

1.2.1 模型制作

参照文献报道的方法^[5],采用 0.9% NaCl 溶液配制浓度为 5 mg/mL 的 1,2-二甲肼致癌剂,4 ℃冰

箱保存备用。以雄性 Wistar 大鼠为实验动物,给予二甲肼 30 mg/kg 腹腔注射,每周注射 1 次,连续应用 20 周。同时造模结束后,继续观察至 32 周,以大肠癌发生为观察终点。

1.2.2 分组及给药

所有大鼠均给予标准颗粒饲料喂养,自由饮水,并适应性喂养 1 周。第 3 周开始实验。采用随机数字表法将 48 只 Wistar 大鼠随机均分为 4 组,正常组:给予与二甲肼等体积的 0.9% NaCl 腹腔注射,连续 20 周;模型组:给予大鼠相应剂量的二甲肼腹腔注射,连续 20 周;大蒜素高剂量组:大鼠造模开始,同时给予剂量为 90 mg/kg 的大蒜素注射液灌胃给药,每日 1 次,连续给药 20 周;大蒜素低剂量组:大鼠造模开始,同时给予剂量为 30 mg/kg 的大蒜素注射液灌胃给药,每日 1 次,连续给药 20 周。造模结束后,大蒜素高、低剂量组分别继续给予相应剂量的大蒜素注射液,直至 32 周实验结束时。末次给药 48 h 后处死大鼠,取材。

1.3 指标观察

1.3.1 一般状态

每日观察并记录各组大鼠饮食、进水、体重、活动度、毛色、大便性状等一般状态的改变。

1.3.2 脾脏指数和胸腺指数比较

试验结束后,处死大鼠,分离大鼠脾脏和胸腺,分别称取各组大鼠胸腺、脾脏重量,根据公式:胸腺指数(mg/g) = 胸腺重量(mg)/大鼠重量(g);脾脏指数(mg/g) = 脾脏重量(mg)/大鼠重量(g),计算胸腺指数和脾脏指数。

1.3.3 组织病理学观察

试验结束后,处死大鼠,分离大肠,同时取同一部位相同长度的大肠组织,4% 多聚甲醛溶液固定、脱水、石蜡包埋、切片,0.2% 亚甲蓝染色。观察其肿瘤的组织学类型及肿瘤转移情况。观察并记录各组

大鼠肿瘤的数目及大小等情况,计算各组大鼠肿瘤的发生率、荷瘤率及肿瘤转移率。

1.3.4 大鼠血清中 CD44V6 和 VEGF 的含量变化

取大鼠静脉血,离心分离血清,4℃冰箱保存备用,采用 ELISA 法检测大鼠血清中 CD44V6 和 VEGF 的水平变化,操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。

1.3.5 Western blot 法检测大鼠结肠癌组织中 survivin、Cleaved Caspase-3 和 Cleaved Caspase7 的蛋白水平变化

取大鼠冷冻肠组织,液氮速冻,研磨成细粉,提取大肠组织总蛋白。SDS-PAGE 蛋白质电泳后,经转膜、封闭后,加入相应抗体,凝胶成像系统成像,曝光获取图像。分别分析 survivin、Cleaved Caspase-3、Cleaved Caspase-7 和 β -actin 条带的灰度值,运用目的蛋白的灰度值除以对应的 β -actin 灰度值所得到的比值计算各组目的蛋白相对表达量。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件包进行数据分析,计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,同组干预前后均数比较采用配对 t 检验。组间均数比较采用单因素方差分析,两两比较方差齐采用 LSD 法,方差不齐采用 Dennett T3 法。率的比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 实验结果

2.1 各组大鼠一般状态

正常组大鼠饮食饮水正常,毛色光泽,体重增加,活动自如。其他组大鼠自造模开始均无死亡。模型组大鼠实验第 29 周时开始出现饮食减少,体重减轻,毛色无光泽,懒动,血便等表现,有 3 只大鼠出

现腹部增大,至 32 周实验结束时,上述表现最为明显,腹部增大大鼠解剖后证实为腹水所致。其余两组大鼠也不同程度的出现饮食减少,体重减轻的表现。但未出现血便和腹部增大症状。

2.2 脾脏指数和胸腺指数比较

各组大鼠在实验开始前平均体重比较无统计学差异 ($P > 0.05$)。第 32 周实验结束时,模型组大鼠平均体重显著低于正常组,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。大蒜素高、低剂量组大鼠体重显著大于模型组,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。而大蒜素高、低剂量组之间体重比较无统计学差异 ($P > 0.05$)。实验结束时,大蒜素高、低剂量组大鼠平均胸腺指数与模型组相比显著增高,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。而大蒜素高剂量组平均胸腺指数显著高于大蒜素低剂量组,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。大蒜素高、低剂量组大鼠平均脾指数与模型组相比显著增高,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。而大蒜素高剂量组平均脾指数显著高于大蒜素低剂量组,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。但正常组胸腺指数及脾指数与大蒜素各给药组之间比较无统计学差异 ($P > 0.05$)。见表 1、图 1。

2.3 各组大鼠组织病理学观察

正常组大鼠肠粘膜完整光滑,腺体排列整齐连续,未见大肠肿瘤发生。模型组有 3 只大鼠剖开腹腔后可见血性腹水,组内其余大鼠及各给药组大鼠均未见腹水。沿纵轴剖开大肠后,模型组和各给药组均可见大肠粘膜出现不同程度的迂曲、褶皱及增粗和僵硬,在肠壁粘膜面可见突出肠腔内,呈息肉状隆起的肿瘤,大小不一,直径约 5~10 mm 不等,多位大肠中段,表面光滑,未见明显溃疡。光镜下观察,模型组肿瘤多以腺癌为主,可见大小不等,形状

表 1 各组大鼠脾脏指数和胸腺指数比较 ($n = 12, \bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of spleen index and thymus index in rats ($n = 12, \bar{x} \pm s$)

| 分组 Group | n | 剂量 (mg/kg) | 体重 Body weight (g) | | 胸腺指数 Thymus index (mg/g) | 脾指数 Spleen index (mg/g) |
|---------------------------------|-----|---------------|-----------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| | | | 实验前 Before experiment | 实验后 After experiment | | |
| 正常组 Normal group | 12 | | 55.39 \pm 8.68 | 312.85 \pm 36.47 [△] | 0.865 \pm 0.139 [△] | 2.315 \pm 0.403 [△] |
| 模型组 Model group | 12 | | 55.67 \pm 7.56 | 263.79 \pm 53.46 | 0.712 \pm 0.246 | 1.918 \pm 0.522 |
| 大蒜素高剂量组 High dose Allicin group | 12 | 90 | 54.92 \pm 5.19 | 305.11 \pm 43.58 [△] | 0.857 \pm 0.213 [△] | 2.423 \pm 0.512 [△] |
| 大蒜素低剂量组 Low dose Allicin group | 12 | 30 | 56.13 \pm 9.02 | 315.66 \pm 39.15 [△] | 0.887 \pm 0.305 ^{△*} | 2.558 \pm 0.628 ^{△*} |

注:与模型组比较,[△] $P < 0.05$;与大蒜高剂量组比较,^{*} $P < 0.05$ 。

Note: [△] $P < 0.05$, compared with model group; ^{*} $P < 0.05$, compared with High dose Allicin group.

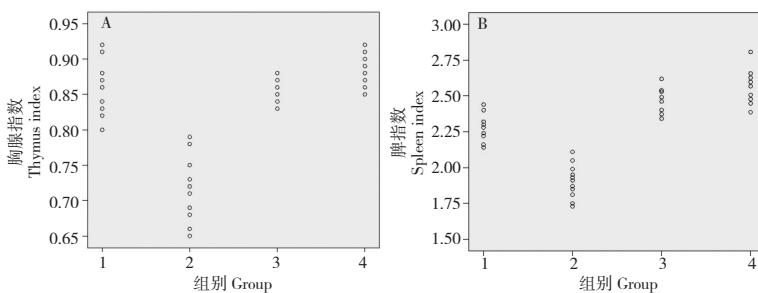


图1 各组胸腺指数(A)及脾指数(B)散点图

Fig. 1 Scatter plots of thymus index (A) and spleen index (B) in each group

不规则,排列紊乱的腺样结构,癌细胞核多大小不一,可见核分裂现象,部分可浸润至粘膜下层及以下。各给药组以腺瘤为主,腺体排列密集,形态大小不规则,腺细胞体积增大,染色较深,排列紊乱,胞核大小不一,可见核分裂增多,但多局限在粘膜层内。模型组肿瘤发生率和荷瘤数均显著高于各给药组,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。同时,经组织病

理学观察,肿瘤转移以肠系膜淋巴结及肝脏转移为主,共11只大鼠发生了肿瘤转移,模型组9只发生了肠系膜淋巴结及肝转移,大蒜素低剂量组2只发生了肠系膜转移,大蒜素高剂量组未见明显肿瘤转移。模型组的肿瘤转移率显著高于各给药组,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。结果见表2、图2。

表2 各组大鼠肿瘤发生情况比较

Table 2 Comparison of the incidence of cancer in rats

| 分组 Group | n | 剂量 Dose (mg/kg) | 肿瘤发生率 Tumor incidence (%) | | | 肿瘤转移率 Incidence of tumor metastasis (%) | 荷瘤数 (个/只) Tumor-bearing number |
|---------------------------------|----|-----------------------|------------------------------|----------------------|------------------------------|--|---|
| | | | 腺瘤 Adenoma | 腺癌 Adenocarcinoma | 总发生率 Overall incidence | | |
| 正常组 Normal group | 12 | - | - | - | - | - | - |
| 模型组 Model group | 12 | - | 1/12 | 11/12 | 9/12(100.0) | 9/12(75.0) | 2.39 ± 1.67 |
| 大蒜素高剂量组 High dose Allicin group | 12 | 90 | 6/12 | 1/12 | 7/12(58.0) △△ | 0/12(0) △△ | 0.96 ± 0.87 △△ |
| 大蒜素低剂量组 Low dose Allicin group | 12 | 30 | 3/12 | 1/12 | 4/12(33.0) △△ | 2/12(16.7) △△ | 0.54 ± 0.75 △△ |

注:与模型组比较,△△ $P < 0.01$ 。

Note: △△ $P < 0.01$, compared with Model group.

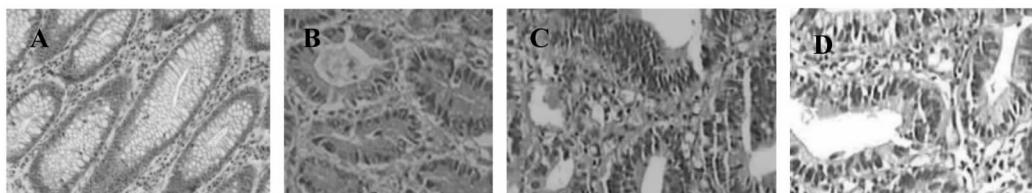


图2 正常组(A)、模型组(B)、大蒜素高剂量组(C)及大蒜素低剂量组(D)大鼠大肠组织病理学变化(HE染色, ×400)

Fig. 2 Histopathological changes in rats of normal group (A), model group (B), high dose allicin group (C) and low dose allicin group (D)

2.4 各组大鼠血清CD44V6和VEGF水平比较

模型组大鼠血清CD44V6和VEGF水平显著高于正常组,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。大蒜素高、低剂量组血清CD44V6和VEGF水平显著降

低,与模型组相比,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。而大蒜素高剂量组二项指标水平增加更为显著,与低剂量组相比,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 各组大鼠血清 CD44V6 和 VEGF 水平比较
Table 3 Comparison of CD44V6 and VEGF levels in rats

| 分组 Group | n | 剂量 Dose (mg/kg) | CD44V6 (μg/L) | VEGF (ng/L) |
|---------------------------------|----|--------------------|--------------------|---------------------|
| 正常组 Normal group | 12 | | 0.07 ± 0.02 | 72.33 ± 15.26 |
| 模型组 Model group | 12 | | 91.36 ± 13.69▲▲ | 385.45 ± 39.15▲▲ |
| 大蒜素高剂量组 High dose Allicin group | 12 | 90 | 56.83 ± 9.03▲▲△△ | 186.23 ± 29.12▲▲△△ |
| 大蒜素低剂量组 Low dose Allicin group | 12 | 30 | 65.96 ± 10.22▲▲△△* | 215.44 ± 36.78▲▲△△* |

注:与正常组比较,▲▲P<0.01;与模型组比较,△△P<0.01;与大蒜高剂量组比较,※P<0.05。

Note:▲▲P<0.01, compared with normal group;△△P<0.01, compared with model group;※P<0.05, compared with high dose allicin group.

2.5 各组大鼠大肠组织中 survivin、Cleaved Caspase-3 和 Cleaved Caspase-7 表达水平比较

模型组大鼠大肠组织 survivin、Cleaved Caspase-3 和 Cleaved Caspase-7 表达水平显著高于正常组,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。但与模型组相

比,大蒜素高、低剂量组 survivin 表达水平显著降低,而 Cleaved Caspase-3 和 Cleaved Caspase-7 表达水平显著升高,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。见表4、图3。

表4 各组大鼠大肠组织中 survivin、Caspase-3 和 Caspase-7 表达水平比较

Table 4 Comparison of expression of survivin, Caspase-3 and Caspase-7 of intestine in rats

| 分组 Group | n | 剂量 Dose (mg/kg) | Survivin | Cleaved Caspase-3 | Cleaved Caspase-7 |
|---------------------------------|----|--------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| 正常组 Normal group | 12 | | 0.13 ± 0.05 | 0.10 ± 0.03 | 0.14 ± 0.05 |
| 模型组 Model group | 12 | | 0.89 ± 0.23▲▲ | 0.45 ± 0.13▲▲ | 0.48 ± 0.22▲▲ |
| 大蒜素高剂量组 High dose Allicin group | 12 | 90 | 0.59 ± 0.25▲▲△△ | 0.68 ± 0.29▲▲△△ | 0.75 ± 0.36▲▲△△ |
| 大蒜素低剂量组 Low dose Allicin group | 12 | 30 | 0.71 ± 0.32▲▲△△※※ | 0.55 ± 0.28▲▲△△※※ | 0.43 ± 0.19 ▲▲△△※※ |

注:与正常组比较,▲▲P<0.01;模型组比较,△△P<0.01;与大蒜高剂量组比较,※※P<0.01。

Note:▲▲P<0.01, compared with normal group;△△P<0.01, compared with model group;※P<0.05, compared with high dose allicin group.

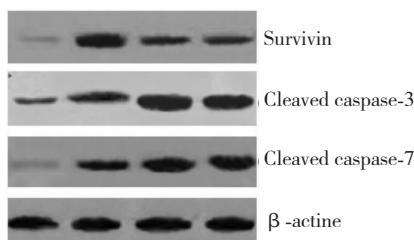


图3 大肠粘膜中 survivin、Cleaved Caspase-3 和 Cleaved Caspase-7 蛋白的表达

Fig. 3 The expression of survivin, Cleaved Caspase-3 and Cleaved Caspase-7 protein of intestine in rats

3 讨论

随着我国精细食物和高蛋白、高脂肪食物的饮食结构和生活方式的改变,大肠癌的发病率和死亡率逐年升高,严重威胁人类的生命健康。目前,大肠癌的治疗方案主要包括外科手术、放疗、化疗、生物治疗等。尽管各种治疗方案不断发展和成熟,并取得了一定的临床疗效,延长了患者的生存期,但由于

手术和放疗仅为局部疗法,无法控制肿瘤的复发和转移^[6],而化疗药物存在毒副作用大,易耐药,选择性差的缺点,均有一定的局限性,导致治疗效果不理想,严重影响疾病的预后。因此,积极寻找防治的大肠癌的有效药物具有重要临床意义。

大蒜素是从大蒜中提取的挥发性油状物,具有抗肿瘤、提高免疫功能、降胆固醇、抗血小板聚集、护肝、预防心血管疾病和降血压等多种生物学活性。研究发现,大蒜素可显著抑制胃癌、结肠癌、肝癌和肺癌等多种肿瘤的生长增殖^[7]。并能对抗多种促癌剂或致癌剂的致癌作用,并具有提高肿瘤患者的细胞免疫功能,增强免疫力,抑制癌细胞的繁殖和扩散的作用。且具有在人和动物体内代谢无残留、不易产生耐药性、提取方面及价格低廉等优点,是一种具有良好发展前景的抗癌药物,但其对大肠癌的防治作用及机制研究报道较少。

本研究采用二甲肼腹腔注射法诱导实验性大鼠大肠癌模型,观察了大蒜素对大肠癌的治疗作用,并初步探讨了其作用机制。二甲肼作为一种间接致癌

物质,通过体内代谢转化可转化为甲基偶氮氢氧化物,与DNA、RNA、蛋白质反应,导致DNA分子结构发生改变,从而诱发癌变。其诱发的大鼠大肠癌实验模型的发病过程与人类大肠癌发生过程极为相似,是较为理想的大肠癌动物模型^[3,8]。本研究结果显示,给予二甲肼腹腔注射后,模型组大鼠成功发生大肠癌,总肿瘤发生率为100%,而同步给予大蒜素治疗各组的肿瘤发生率、荷瘤数和肿瘤转移率均显著低于正常组($P < 0.05$)。说明大蒜素对二甲肼诱导的实验性大鼠大肠癌具有良好的防治作用,可有效抑制大肠癌的发展及转移。同时,研究结果还表明,大蒜素各给药组胸腺指数和脾指数均显著高于模型组($P < 0.05$),体重亦高于模型组($P < 0.05$)。说明大蒜素在抑制大肠癌发生发展的同时,还具有增强大鼠体质,提高大鼠免疫功能的作用。

CD44V6基因是近年来发现的肿瘤转移促进基因,可与透明质酸等多种配体分子结合,在细胞与细胞间、细胞与细胞外基质间的黏附中发挥重要作用,促进肿瘤细胞的侵袭转移。VEGF是内皮细胞分裂和迁移的重要血管生成因子,在肿瘤的浸润转移中发挥重要作用。因此,CD44V6和VEGF是判断肿瘤发生转移及预后的重要指标^[9,10]。研究结果显示,模型组大鼠血清CD44V6和VEGF水平显著高于正常组($P < 0.05$)。而与模型组相比,大蒜素高、低剂量组血清CD44V6和VEGF水平显著降低($P < 0.05$)。说明大蒜素可能通过调节CD44V6和VEGF的水平来抑制肿瘤内血管的生成和浸润转移。

Survivin作为迄今为止发现的最强的凋亡抑制因子,其可通过Wnt3a/ β -catenin/survivin信号通路、Smac/Survivin信号通路、JAK-STAT/Survivin通路等多条信号通路,促进肿瘤的形成与进展。一方面,Survivin可竞争性的与CDK4结合,而其竞争力强于pl6,诱导CDK4被活化,使细胞从G1期向S转化,最终导致细胞的迅速繁殖和生长;另一方面,Survivin还可上调血管生成素I的表达增加,诱导毛细血管网的形成和内皮细胞的增生;同时Survivin还在G2/M期中有表达,通过调节细胞周期和纺锤体微管的作用,促使细胞发生异常的有丝分裂,从而使凋亡得到抑制。可见Survivin通过抑制线粒体细胞色素C的释放,直接或间接抑制凋亡下游效应分子Caspase-3和Caspase-7表达来促进肿瘤进展^[11]。本研究结果显示,模型组大鼠大肠组织survivin、

Cleaved Caspase-3和Cleaved Caspase-7表达水平显著高于正常组($P < 0.05$)。但与模型组相比,大蒜素高、低剂量组survivin表达水平显著降低,而Cleaved Caspase-3和Cleaved Caspase-7表达水平显著升高($P < 0.05$)。说明大蒜素可能通过抑制survivin基因的表达,上调Caspase-3和Caspase-7水平,从而促进癌细胞的凋亡而达到抗肿瘤的目的。

综上所述,大蒜素对二甲肼诱导的实验性大鼠大肠癌具有良好的防治作用,可有效抑制大肠癌的发展及转移,其机制可能通过一方面增强大鼠体质,提高大鼠免疫功能,另一方面调节CD44V6和VEGF的水平来抑制肿瘤内血管的生成和浸润转移,同时抑制survivin基因的表达,上调Caspase-3和Caspase-7水平,从而促进癌细胞的凋亡来实现的。但本研究仅初步观察了大蒜素对大肠癌的治疗效果,并对其作用机制做了初探,Survivin作为凋亡抑制因子促进肿瘤的发生发展,可通过多条信号通路发挥作用,而大蒜素发挥作用的具体激活通路尚未做详细研究,在下一步的研究中拟对大蒜素通过Survivin发挥作用的具体信号通路进行详细研究及探讨。

参考文献

- Qin R (秦锐), Shi Y (石燕), Chen L (陈丽), et al. Clinical observation of cetuximab in conversion therapy of patients with unresectable colorectal liver-limited metastases. *Acade J Chin Pla Med School* (解放军医学院学报), 2014, 35:696-700.
- Cao G (曹广), Tao ZZ (陶振洲), Wu JX (伍冀湘). Clinical application of laparoscopic versus open surgery in treatment of colorectal cancer and its effects on human immune function. *J Capital Med Univ* (首都医科大学学报), 2012, 33:59-62.
- Ma XQ (马晓强), Wang WJ (王伟杰), Li H (李海), et al. Expression and significance of tumor suppressor gene APC protein in the rat colorectal carcinoma induced by dimethylhydrazine. *J Ningxia Med Univ* (宁夏医科大学学报), 2014, 36:842-845.
- Liu LY (刘灵燕), Dong Q (董群). Effects of allicin on estrogen and androgen receptors of spleen cells of mice. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2014, 26:961-966.
- Liu YW (刘一文). The recent research advances about experimental and clinical application of allicin. *Int J Tradit Chin Med* (国际中医中药杂志), 2015, 37:1054-1056.

(下转第985页)