

6-姜烯酚诱导 SW480 凋亡及对 APC 基因表达的影响

王宇锋^{1,2}, 杨春³, 陈超¹, 巩发海¹, 孙书豪¹, 李海³

(1. 宁夏医科大学临床医学院, 宁夏银川 750004) (2. 上海儿童医学中心, 上海 200127)

(3. 宁夏医科大学总医院, 宁夏银川 750004)

摘要: 本文通过体外细胞实验观察研究 6-姜烯酚诱导结直肠癌细胞凋亡及与 APC (肿瘤抑制基因) 表达的关系, 以探讨 6-姜烯酚抑制结直肠肿瘤的可能机制。首先通过体外细胞实验应用不同浓度 6-姜烯酚 (0、5、10、15 和 20 μM) 分别对 SW480 进行干预诱导 24 h, 再利用高倍荧光显微镜观察细胞数目、形态变化, CCK8 法测定细胞抑制率, Annexin V-FITC/PI 流式细胞术检测细胞凋亡率及细胞凋亡周期, 最后用 Western-blot 检测分析 APC 蛋白表达变化。结果显示, 与对照组相比, 6-姜烯酚可致使 SW480 细胞增殖周期阻断在 G2/M 期, 并呈浓度依赖性地促进 SW480 凋亡, 进而抑制细胞增殖, 而且增强了 APC 表达 ($p < 0.05$)。因此, 可以得出 6-姜烯酚可诱导 SW480 凋亡从而抑制细胞增殖, 并且可能与激活 APC 相关, 随着这一研究的不断深入, 6-姜烯酚作为临床潜在的抗肿瘤辅助药物, 其抑制肿瘤细胞增殖将得到更深层次分子机制的支持。

关键词: 6-姜烯酚; SW480; APC; 细胞增殖

文章编号: 1673-9078(2018)02-14-19

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.2.003

Effects of 6-shogaol on the Apoptosis of SW480 and the Expression of APC

WANG Yu-feng^{1,2}, YANG Chun³, CHEN Chao¹, GONG Fa-hai¹, SUN Shu-hao¹, LI Hai³

(1. Ningxia Medical University, Clinical Medical College, Yinchuan 750004, China)(2. Shanghai Children's Medical Center, Shanghai 200127, China)(3. General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China)

Abstract: The relationship between the apoptosis of human colorectal cancer cells (induced by 6-shogaol) and the expression of APC was investigated to study the possible mechanism of 6-shogaol inhibiting colorectal cancer in this study. SW480 was induced by different concentrations of 6-shogaol (0, 5, 10, 15 and 20 μM) *in vitro* for 24 h. Then the number and morphology of cells were observed by high-frequency fluorescence microscopy, the cell inhibition rate was determined by CCK8 assay, and the apoptosis rate and apoptosis cycle were detected by Annexin V-FITC/PI flow cytometry. In addition, the expression of APC protein was analyzed by western-blot. The results showed that compared with the control group, 6-shogaol could block the proliferation cycle of SW480 in G2/M phase and promote the apoptosis of SW480 in a concentration dependent manner, thereby inhibiting the cell proliferation and enhancing the expression of APC ($p < 0.05$). Consequently, 6-shogaol could induce SW480 apoptosis and inhibit cell proliferation, and might be associated with the activation of APC. With the deepening of this study, the inhibition of tumor cell proliferation induced by 6-shogaol (used as a potential antitumor drug) would get more support of deeper molecular mechanism.

Key words: 6-shogaol; SW480; APC; cell proliferation

结直肠肿瘤 (Colorectal neoplasms) 是目前最常见的恶性肿瘤之一, 每年大约有 120 万人被诊断出患病率也在呈逐年上升趋势, 并且已和世界平均水平相当, 但治愈率仍然偏低^[2]。在《2012 年中国肿瘤登记

收稿日期: 2017-10-08

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81460369); 2017 年宁夏“研究生教育创新计划”学位点建设项目 (YXW2017014); 宁夏医科大学优势学科群项目 (2001060304)

作者简介: 王宇锋 (1989-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 结直肠肿瘤发生发展机制

通讯作者: 李海, 男, 主任医师 (教授), 硕士生导师, 研究方向: 结直肠肿瘤发生发展机制

有结直肠癌, 而且此类疾病是多因素、多基因、多分子信号参与的复杂性过程^[1]。在我国, 结直肠癌的发病率在《2012 年中国肿瘤登记年报》中指出, 前 10 名癌症每 10 万人发病数结直肠肿瘤占据第三位, 仅次于肺癌、胃癌, 并且在 10 名癌症每 10 万人死亡数结直肠肿瘤占据第五位^[3]。目前来说, 结直肠肿瘤的治疗仍以西医手术切除为主, 并辅以放、化疗, 但不良反应居多, 对患者本身及预后造成十分大的影响。随着中医药学的不断发展进步, 中医药类对结直肠肿瘤的治疗也凸显出十分大的优势, 尤其在抑制肿瘤细胞增殖及凋亡方面发挥着不错的疗效^[4]。

生姜是姜科多年生草本植物姜 (*Zingiber officinale*

Roscoe)的新鲜根茎,高40~100 cm,品种居多,别名又称姜根、百辣云、勾装指、因地辛、炎凉小子、鲜生姜和蜜炙姜等^[5]。在中医药学中,姜的根茎(干姜)、栓皮(姜皮)、叶(姜叶)均可入药,还具有发散、止呕、止咳和驱寒等功效^[6]。6-姜烯酚作为生姜中提取的主要活性成分,因其优异的生物活性和极高的稳定性越来越受到广泛的关注。近年来有报道称,6-姜烯酚是抗肿瘤药,对多种肿瘤如前列腺癌^[7]、胃癌^[8]、非小细胞肺癌^[9]、皮肤癌^[10]和乳腺癌^[11]等都十分有效。

本研究拟通过检测不同浓度6-姜烯酚对SW480干预表达作用及APC的表达变化,进而探讨6-姜烯酚在抑制结直肠癌肿瘤细胞增殖中的相关可能机制,旨在为中医药联合西医手术及与放、化疗的综合治疗提供必要的依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验试剂

6-姜烯酚纯度97%,购自于成都德瑞可生物科技有限公司;Leibovitz细胞培养液、Ausbian胎牛血清(FBS)原装进口于以色列;0.3%过氧化氢溶液购于中杉金桥;PAGE、SDS购于武汉博士德;双抗(青霉素加链霉素)、山羊抗兔二抗、山羊抗鼠二抗,CCK8试剂盒、BCA蛋白提取试剂盒、BCA蛋白定量试剂盒购自于南京凯基生物公司;脱脂牛奶、ECL、TEMED购于新西兰生物公司;0.45 μm PVDF膜、抗APC抗体(兔抗人,1:1500稀释)购于Thermo公司;PBS、甲醇、TBST、Tris-甘氨酸缓冲液购自于银川伟博鑫化学试剂有限公司;30%聚丙烯酰胺购于Bio-Rad Laboratories (Berkeley, CA);细胞周期检测试剂盒购于凯基生物公司。

1.1.2 实验仪器

超净工作台(Bio-Rad,型号ESCO AC2);凝胶成像仪(Tanon 4200);紫外可见酶标仪(美国Bio-Rad,型号:770);XSE电子分析天平(常州天之平仪器,型号:DSH-50);倒置荧光显微镜(美国Thermo,型号:Discover.V22);细胞温室培养箱(Bio-Rad,型号03793-6732);液氮罐(河南天池仪器,型号:YDS-20);全自动高压锅(日本SANYO,型号:MLS-3750);高速冷冻离心机(Bio-Rad,型号5435R);台式水平摇床(上海赫田科学仪器,型号HTS-10)。

1.1.3 实验细胞

人结肠癌细胞SW480购自于美国ATCC细胞库,由北京中原公司提供,单层贴壁生长,集落形成率

40%,裸鼠致瘤性100%。细胞培养条件:10%胎牛血清的Leibovitz培养基、含100 U/mL链霉素和100 μg/mL青霉素,置于37℃、95% O₂、5% CO₂细胞培养箱中培养。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞复苏与常规培养

细胞实验室进行常规消毒,紫外照射40 min以上,Leibovitz培养液、0.25%胰蛋白酶(Trypsin)恒温水浴箱37℃预热20 min,备用。二甲基亚砜(DMSO)在40℃冰箱中冷藏30 min,备用。从液氮保存罐中取出冻存管,立即放入37.5℃水浴中,快速摇晃,直至冻存液完全融化,然后将细胞悬液移入15 mL离心管,缓慢加入4 mL培养液,离心(1000 r/min, 5 min)。用培养液悬液混悬沉淀细胞,调整细胞浓度,方培养箱中培养,并记录复苏日期。当细胞密度达到90%以上时,用不含EDTA的胰酶消化收集细胞,以1:3或1:4传代,次日取对数生长期的细胞作为实验用。

1.2.2 分组药物干预

设立五组不同浓度药物干预组:SW480-对照、SW480-6姜烯酚(5 μM)、SW480-6姜烯酚(10 μM)、SW480-6姜烯酚(15 μM)、SW480-6姜烯酚(20 μM)组,于37℃、5% CO₂培养箱中培养24 h,于倒置相差显微镜下观察不同浓度6-姜烯酚对不同分组SW480增殖的影响及细胞形态的不同变化。

1.2.3 CCK8法制作细胞抑制率标准曲线

在96孔板中配置100 μL的SW480细胞悬液,将培养板在培养箱预培养24 h。次日向96孔培养板加入10 μL不同浓度的待测物质。将培养板在培养箱孵育一段适当的时间(例如:6、12、24或48 h),每孔加入10 μL CCK8溶液。最后将培养板在培养箱内孵育1~4 h,并用酶标仪测定在490 nm处的吸光度。制作出一条以细胞数为横坐标、OD值为纵坐标的标准曲线。

1.2.4 提取细胞蛋白,并测定蛋白含量

将上述不同药物干预组细胞于37℃、5% CO₂培养箱中培养24 h,消化、收集细胞,提取各组细胞蛋白,并检测蛋白浓度,按照每4 μL蛋白样品加入1 μL 5×SDS-PAGE蛋白上样缓冲液比例混合蛋白样品和蛋白上样缓冲液,于100℃水浴锅中煮3~5 min,充分变性蛋白质,备用。

1.2.5 Annexin V-FITC/PI流式细胞术检测细胞凋亡

贴壁细胞,先用胰酶消化,细胞计数后取 $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 个/mL细胞,1000 r/min,4℃离心10 min,

弃去上清液,加入 1 mL 预冷的 PBS,轻轻震荡使细胞悬浮,再次 1000 r/min, 4 °C 离心 10 min,弃上清。重复以上步骤两次,将细胞重悬于 200 μ L Binding Buffer,加入 10 μ L Annexin V-FITC 轻轻混匀,避光室温反应 15 min。加入 300 μ L Binding Buffer (总反应体积 500 μ L) 以及 5 μ L PI,在 1 h 内上机检测。

1.2.6 细胞周期检测试剂盒检测细胞凋亡周期

采用适当的方法诱导细胞凋亡,同时设立阴性对照组,并收集各分组细胞,用 PBS 洗涤细胞 2 次,并 2000 r/min, 4 °C 离心 5 min,弃去上清液,调整细胞浓度为 1×10^6 个/mL 细胞,取 1 mL 单细胞悬液,去除上清液,细胞中加入体积分数为 70% 冷乙醇 500 μ L 固定,过夜,4 °C 保存,染色前用 PBS 洗去固定液,加入 100 μ L RNaseA 37 °C 水浴 30 min,再加入 400 μ L PI 染色均匀,4 °C 避光保存 30 min,最后上机在 488 nm 激发波长处记录红色荧光检测。

1.2.7 Western-Blot 检测蛋白表达

根据所测蛋白样品浓度,将蛋白样品经 SDS-PAGE 电泳 80 V, 2 h (浓缩胶 5%、分离胶 10%),然后电转液中湿性电转 120 V、0.5 h,电转至 PVDF 膜,4% 脱脂奶粉 37 °C 封闭 1.5 h,水平摇床摇匀,加入相应的抗体 APC (1:1500 稀释)、 β -actin (1:1000 稀释),4 °C 孵育过夜。应用 1% TBST 洗膜,加入相应的二抗 (山羊抗兔) 进行免疫杂交反应,室温孵育 2 h,再用 1% TBST 洗膜后,化学发光 (ECL),显影,定影,在暗室凝胶成像仪下曝光成像并进行凝胶图像分析。

1.3 统计学分析

应用 SPSS22.0 统计软件进行数据处理,实验数据以均数+标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用 ANOVA 方差分析, $p < 0.05$ 为检验水准,差异具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 6-姜烯酚可明显抑制 SW480 细胞增殖

不同分组 SW480 加入 6-姜烯酚干预后置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h,在倒置相差显微镜下观察细胞的数量及形态变化 (放大倍数: 40 \times 100 倍)。

结果显示 (图 1),与对照组相比,随着 6-姜烯酚浓度的升高,SW480-6 姜烯酚组细胞数明显减少,甚至在 6-姜烯酚 (20 μ M) 时,仍然可以明显抑制细胞增殖。表明 6-姜烯酚可以抑制 SW480 增殖,且随浓

度增加,抑制效果增加。

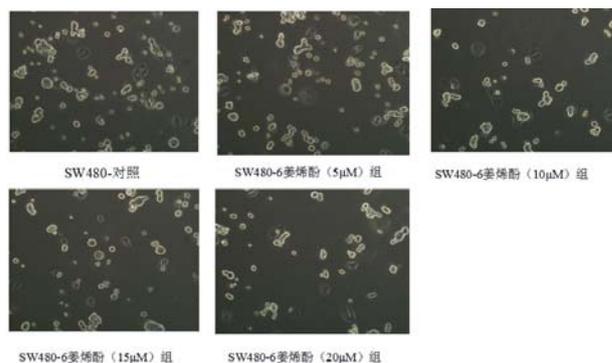


图 1 显微镜下不同浓度 6-姜烯酚干预 SW480 24 h 后细胞的形态变化 ($\bar{x} \pm s$, n=3)

Fig.1 Morphological changes of SW480 induced by different concentrations of 6-shogaol for 24 h ($\bar{x} \pm s$, n=3)

2.2 CCK8 法制作不同分组细胞的生长曲线

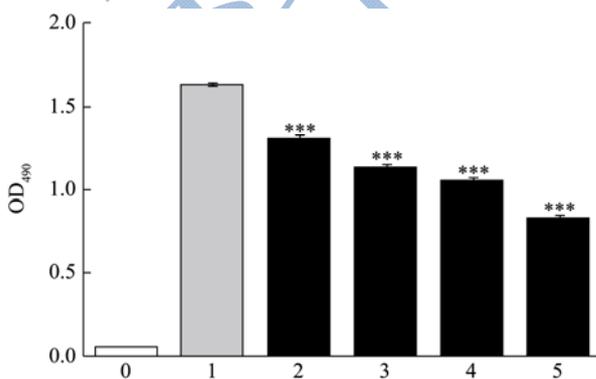


图 2 CCK8 法检测不同浓度 6-姜烯酚对 SW480 增殖能力的调控 ($\bar{x} \pm s$, n=3)

Fig.2 Proliferation of SW480 at different concentrations of 6-shogaol by CCK8 assay (24 h)

注:0 表示空白对照组;1 表示阴性对照组;2 表示 SW480-6 姜烯酚 (5 μ M) 组;3 表示 SW480-6 姜烯酚 (10 μ M) 组;4 表示 SW480-6 姜烯酚 (15 μ M) 组;5 表示 SW480-6 姜烯酚 (20 μ M) 组。## $p < 0.01$ vs control group, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs control group。

培养板在培养箱内孵育 1~4 h,并用酶标仪测定在 490 nm 处的吸光度。CCK8 法检测显示细胞的光密度明显下降与空白对照组相比差异有统计学意义 ($p < 0.05$)。结果显示 (图 2),与阴性对照组相比,SW480-6 姜烯酚 (5 μ M)、SW480-6 姜烯酚 (10 μ M)、SW480-6 姜烯酚 (15 μ M)、SW480-6 姜烯酚 (20 μ M) 组细胞数明显减少,尤其是 SW480-6 姜烯酚 (20 μ M) 组细胞数减少更为明显 ($p < 0.05$);随着 6-姜烯酚的浓度升高,可呈浓度依赖性地抑制细胞增殖 ($p < 0.05$)。

2.3 Annexin V-FITC/PI 流式细胞术检测 6-姜烯酚诱导 SW480 凋亡

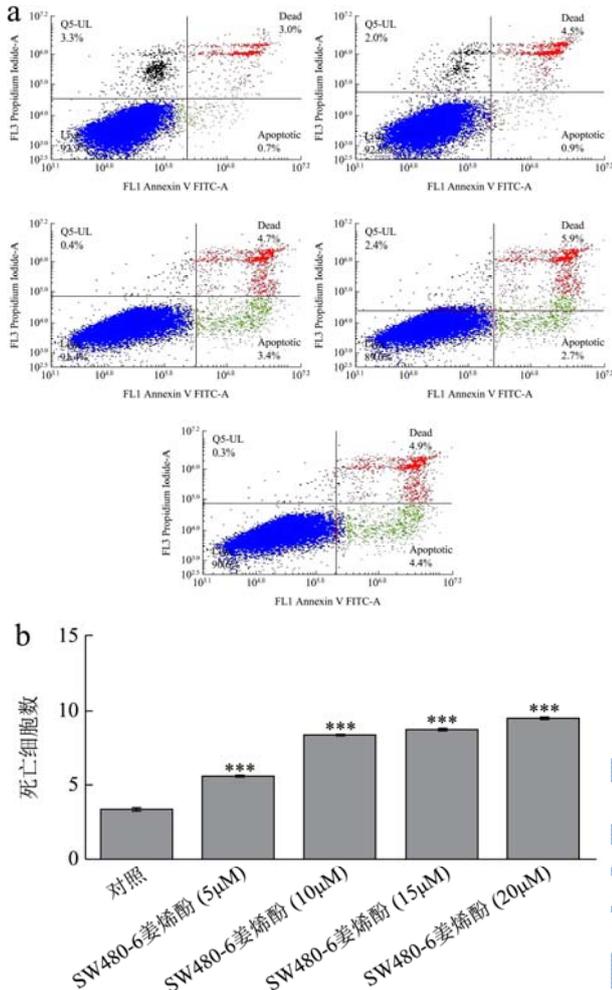


图3 Annexin V-FITC/PI 流式细胞术检测不同浓度 6-姜烯酚诱导人 SW480 凋亡 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig.3 Apoptosis of SW480 at different concentrations of 6-shogaol by Annexin V-FITC/PI flow cytometry ($\bar{x} \pm s, n=3$)

注: ## $p < 0.01$ vs 对照组, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs 对照组。

Nidhi 等^[12]研究 6-姜烯酚在人皮肤癌细胞 A431 中的具体作用,发现 6-姜烯酚可以产生活性氧(ROS),从而降低线粒体膜电位水平,调节凋亡基因 Bax/Bcl-2 的比率,诱导皮肤癌细胞 A431 发生凋亡,抑制细胞增殖。同时还有专家 Debrup^[13]也证实了 6-姜烯酚可以使处理过的 Hela 细胞活性减弱,并发生形态学改变,同时诱导 DNA 构象发生改变,促进宫颈癌细胞发生凋亡。本实验将培养的各分组细胞(SW480)分别上流式细胞仪检测,从荧光双参数点图可以观察(图 3a),其中右上象限、右下象限为死亡细胞数,图 3b 显示的是不同分组的死亡细胞数。在 SW480 各分组细胞中,随着 6-姜烯酚的浓度增加,死亡细胞数明显

不同程度增加($p < 0.05$)。从而证实 6-姜烯酚可以诱导 SW480 发生凋亡,进而抑制细胞增殖。

2.4 细胞周期检测试剂盒检测 6-姜烯酚诱导 SW480 凋亡后细胞周期改变

本实验将培养的各分组细胞(SW480)分别上流式细胞仪检测,从表 1 可以观察不同浓度 6-姜烯酚作用于 SW480 24 h 后,细胞增殖周期中各期细胞构成发生明显变化。其中 G0/G1 期的细胞数由对照组的 53.97%下降到 37.42%和 20.76% ($p < 0.05$),而 G2/M 期的细胞数由对照组 2.96%增加到 33.81%和 51.61% ($p < 0.05$),提示 SW480 细胞被阻断在 G2/M 期。

表 1 细胞周期检测试剂盒检测不同浓度 6-姜烯酚诱导人 SW480 凋亡细胞周期变化 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Cell cycle changes of apoptosis of SW480 at different concentrations of 6-shogaol by cell cycle detection kit ($\bar{x} \pm s, n=3$)

浓度/μM	G0/G1/%	S/%	G2/M/%
0	53.97 ± 0.88	37.67 ± 0.33	2.96 ± 0.33
5	50.46 ± 1.48*	38.57 ± 1.36*	10.97 ± 0.75*
10	42.09 ± 0.87*	31.73 ± 1.29*	26.18 ± 1.21*
15	37.42 ± 1.19*	28.77 ± 0.91*	33.81 ± 1.59*
20	20.76 ± 1.07*	27.63 ± 0.69*	51.61 ± 1.37*

注: ## $p < 0.01$ vs 对照组, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs 对照组。

2.5 6-姜烯酚可促进 APC 的表达

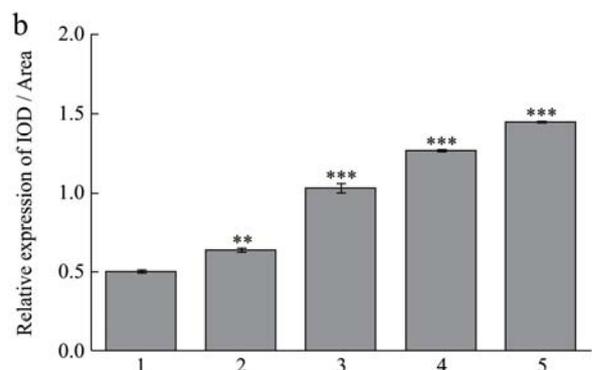
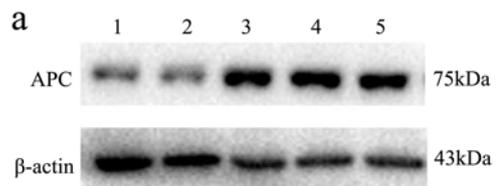


图4 Western-blot 检测不同浓度 6-姜烯酚对 SW480 中 APC 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig.4 Effects of 6-shogaol on the expression of APC in SW480 by Western-blot ($\bar{x} \pm s, n=3$)

注:1表示SW480-对照组;2表示SW480-6-姜烯酚(5 μM)组;3表示SW480-6-姜烯酚(10 μM)组;4表示SW480-6-姜烯酚(15 μM)组;5表示SW480-6-姜烯酚(20 μM)组。

杨平等^[14]在研究藤黄酸抑制人结肠癌及与 *APC* 表达关系中指出,藤黄酸可以在不同时间不同浓度下促进结直肠癌细胞发生凋亡,进而抑制肿瘤细胞的增殖,并且与激活 *APC* 的表达密切相关,同时也阐述了 *APC* 基因的表达可能是藤黄酸抑制结直肠肿瘤细胞增殖的机制之一。同时,国内学者刘杨等^[15]也提出了散发性大肠腺瘤性息肉患者粪便中 *APC* 基因突变表达有助于大肠腺瘤性息肉的筛查,与疾病的发生发展密切相关。本研究结果显示如图 4 (a、b) 所示,与对照组(1组)比较,Western-blot 检测不同浓度的 6-姜烯酚对 *APC* 表达呈现不同程度升高 ($p < 0.05$),与文献报道基本一致。

3 结论

3.1 *APC*基因是一个很大的管家基因 (housekeeping gene),也属于一种肿瘤抑制基因,全长含有一个 8538 bp 开放式可读框架,共 15 个外显子,其中 6 个可变地表达。其中第 15 外显子独自含有 6571 个 bp,组成 77% 的编码区,是人类已知最大外显子,它共编码 2843 个氨基酸,转录产物 mRNA 分子为 8.9 kb,在很多细胞和组织中均有表达。*APC* 蛋白可结合微管,在细胞分裂和移动中起作用^[16]。*APC* 还可通过调控周期素依赖周期素激酶复合物活性而调节细胞周期,通过诱导凋亡而介导其在结肠腺瘤发生中作用,故被誉为结肠上皮完整性的分子性“门卫”(molecular “gatekeeper”)^[17]。有报道称^[18],*APC* 基因的突变可改变 *APC* 蛋白与 β 连环蛋白及 E 钙黏附蛋白之间的平衡,导致细胞细胞、细胞基质之间黏附作用以及接触抑制信号传递的改变,引起细胞分裂与细胞死亡之间的平衡失调,以致生长失控,成为结直肠癌一个限速分子因素。

3.2 中药及其提取物的生物活性成分具有毒副作用小、残留少、药理作用强、药性温和等特点,当今,中药在抗肿瘤方面的独特作用,尤其是机制方面的研究更是越来越受到国内外学者的关注^[19]。中药可以诱导肿瘤细胞发生凋亡,进而抑制肿瘤细胞增殖,主要是通过调控肿瘤细胞的原癌基因和抑癌基因的表达,进而影响肿瘤细胞的相关凋亡通路信号转导及增强肿瘤细胞的增殖周期抑制来实现的^[20]。有报道显示,6S 具有抗炎,镇痛,解热,抗氧化剂和抗癌的特性。在小细胞肺癌 A-549 细胞系中,6S 可以通过抑制 AKT/mTOR 通路诱发肿瘤细胞自我吞噬^[21]。另外, Tan 等^[22]表明,6S 可通过激活过氧化物酶体增殖物激活受

体 γ 而抑制乳腺癌和结肠癌细胞增殖。Park 等^[23]报道,6S 可通过靶向 TBK1 抑制 TRIF 依赖信号通路。在人体、动物和肿瘤细胞系,6S 的重要代谢途径是硫醇尿酸路径,6S 最初通过谷胱甘肽-S-转移酶与谷胱甘肽 (GSH) 形成共轭化合物。其半胱氨酸共轭衍生物 M14 较 6S 具有更强的抑制结肠癌生长作用,在结肠癌细胞和肺癌细胞研究发现 M14 较其母体毒性降低。3.3 为进一步了解 6-姜烯酚可能参与结直肠肿瘤凋亡的机制,本实验重点检测了不同浓度的 6-姜烯酚对人 SW480 的细胞增殖影响作用,发现在不同浓度 6-姜烯酚的作用下,均可对 SW480 造成明显的抑制作用,而且随着药物浓度增加,SW480 凋亡细胞数也不同程度的增加,表明了 6-姜烯酚对结直肠癌细胞 SW480 的抑制作用呈现剂量依赖性。同时也证实了 6-姜烯酚可不同程度地抑制 SW480 的 DNA 合成和有丝分裂,致使 SW480 细胞增殖周期阻断在 G2/M 期,这种周期阻滞会与肿瘤细胞的增殖和生长停滞关系密切相关,当肿瘤细胞自身不能修复或完全修复不了时,细胞就会生长停滞直至凋亡。

3.4 本实验还证实了 6-姜烯酚抑制人 SW480 细胞增殖可能与激活 *APC* 的表达有关,然而 6-姜烯酚具体的抑制结直肠肿瘤细胞机制或 *APC* 直接(间接)与哪些通路有关尚未明确,仍需要更多的实验研究来探讨证实 6-姜烯酚的具体抗结直肠肿瘤作用机制。随着 6-姜烯酚及其药理活性的不断深入研究,进一步明确 6-姜烯酚诱导结直肠肿瘤凋亡的机制,同样可以成为筛选抗癌药物的新靶点和热点,也可为今后临床治疗提供切实有效的依据。

参考文献

- [1] 沈文艳,姚建国,于亚威,等.结直肠高级别 MANEC 和 NEC 的临床病理特征及预后[J].实用肿瘤杂志,2017, 32(2): 141-147
SHEN Wen-yan, YAO Jian-guo, YU Ya-wei, et al. Clinicopathological features and prognosis of colorectal high-grade MANEC and NEC [J]. Journal of Practical Oncology, 2017, 32(2): 141-147
- [2] 杨奕夫.结直肠病死率和并发症率的生理学及手术严重性评分在结直肠癌诊疗中的研究进展[J].中国微创外科杂志,2017,17(5):458-460
YANG Yi-fu. Advances in physiology and severity of colorectal cancer mortality and complication rates in colorectal cancer diagnosis and treatment [J]. Chinese Journal of Minimally Invasive Surgery, 2017, 17(5): 458-460
- [3] 许敬尧.结直肠肿瘤 WHO 分类新进展以及诊断与鉴别诊

- 断[C]/浙江省病理学术年会,2013
- XU Jing-yao. New progress in WHO classification and diagnosis and differential diagnosis of colorectal cancer [C]// annual meeting of Pathology Society of Zhejiang, 2013
- [4] 王伟.中药在治疗肿瘤方面的作用及其有效成分分析[J].内蒙古中医药,2017,36(3):109-109
- WANG Wei. Effect of Chinese herbal medicine on the treatment of tumor and analysis of its effective components [J]. Chinese Medicine of Inner Mongolia, 2017, 36(3): 109-109
- [5] Wilson R, Haniadka R, Sandhya P, et al. Ginger (Zingiber officinale, Roscoe) the dietary agent in skin care: a review [M]. Bioactive Dietary Factors and Plant Extracts in Dermatology, Humana Press, 2013
- [6] 赵文竹,李思慧,宋宝雯,等.生姜多糖类物质的提取及抗氧化活性研究[J].食品安全质量检测学报,2017,8(4): 1357-1362
- ZHAO Wen-zhu, LI Si-hui, SONG Bao-wen, et al. Studies on extraction and antioxidant activities of polysaccharides from ginger [J]. Journal of Food Safety and Quality Control, 2017, 8(4): 1357-1362
- [7] Chen H, Fu J, Chen H, et al. Ginger compound [6]-shogaol and its cysteine-conjugated metabolite (M2) activate Nrf2 in colon epithelial cells *in vitro* and *in vivo* [J]. Chemical Research in Toxicology, 2014, 27(9): 1575-85
- [8] Zick S M, Djuric Z, Ruffin M T, et al. Pharmacokinetics of 6-, 8-, 10-Gingerols and 6-Shogaol and conjugate metabolites in healthy human subjects [J]. Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology, 2008, 17(8): 1930
- [9] Kim S O, Kundu J K, Shin Y K, Park J H, et al. (6)-Gingerol inhibits COX-2 expression by blocking the activation of p38 MAP kinase and NF-kappaB in phorbol ester-stimulated mouse skin [J]. Oncogene, 2005, 24(15): 2558-67
- [10] Luo X J, Xuan-Rong M O, Zhou L L. The effect of Hsp72 on IL-6,IL-8 expression and activation of NF-kB in synoviocytes of rheumatoid arthritis [J]. Chinese Journal of Applied Physiology, 2012, 28(4): 336
- [11] Kim S O, Chun K S, Kundu J K, et al. Inhibitory effects of [6]-gingerol on PMA-induced COX-2 expression and activation of NF-kappaB and p38 MAPK in mouse skin [J]. Biofactors, 2004, 21(4): 27-31
- [12] Nigam N, Bhui K, Prasad S, et al. [6]-Gingerol induces reactive oxygen species regulated mitochondrial cell death pathway in human epidermoid carcinoma A431 cells [J]. Chemico-Biological Interactions, 2009, 181(1): 77
- [13] Chakraborty D, Bishayee K, Ghosh S, et al. [6]-Gingerol induces caspase 3 dependent apoptosis and autophagy in cancer cells: drug-DNA interaction and expression of certain signal genes in HeLa cells [J]. European Journal of Pharmacology, 2012, 694(1-3): 20-29
- [14] 杨平,曹杰,张通,等.藤黄酸抑制人结肠癌 SW480 细胞增殖过程中 APC 蛋白的表达变化 [J]. 热带医学杂志,2013,13(6):726-728,736
- YANG Ping, CAO Jie, ZHANG Tong, et al. Gambogic acid inhibits APC protein on proliferation of human colon cancer SW480 cells the expression of [J]. Tropical Med., 2013, 13(6): 726-728736
- [15] 刘杨,巩阳,林一帆,等.散发性大肠腺瘤性息肉患者粪便中 APC 基因突变的意义及与中医体质的关系[J].中国中西医结合消化杂志,2017,5:327-331
- LIU Yang, GONG Yang, LIN Yi-fan, et al. Significance of APC gene mutations in feces of sporadic colorectal adenomatous polyps and its relationship with constitution of Chinese medicine [J]. Chinese Journal of Integrative Medicine Digest, 2017, 5: 327-331
- [16] Sansregret L, Patterson J O, Dewhurst S, et al. APC/C dysfunction limits excessive cancer chromosomal instability [J]. Cancer Discovery, 2017, 7(2): 218
- [17] Liu S, Tackmann N R, Yang J, et al. Disruption of the RP-MDM2-p53 pathway accelerates APC loss-induced colorectal tumorigenesis [J]. Oncogene, 2017, 36(10): 1374
- [18] Gausachs M, Borrás E, Chang K, et al. Mutational Heterogeneity in APC and KRAS Arises at the Crypt level and Leads to Polyclonality in Early Colorectal Tumorigenesis [J]. Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research, 2017
- [19] 邱淑敏,陈涛,刘美玲,等.中药诱导肿瘤细胞凋亡机制研究进展[J].动物医学进展,2015,1:83-86
- QIU Shu-min, CHEN Tao, LIU Mei-ling, et al. Advances in research on mechanism of chinese medicine inducing apoptosis of tumor cells [J]. Advances in Animal Medicine, 2015, 1: 83-86
- [20] 苗久旺,张钦德.姜黄素诱导肿瘤细胞凋亡的信号途径研究进展[J].陕西中医,2014,12:1692-1694
- MIAO Jiu-wang, ZHANG Qin-de. Progress in signal pathway of curcumin inducing apoptosis of tumor cells [J]. Chinese Medical Science of Shaanxi, 2014, 12: 1692-1694
- [21] Hung J Y, Hsu Y L, Li C T, et al. 6-Shogaol, an active

- constituent of dietary ginger, induces autophagy by inhibiting the AKT/mTOR pathway in human non-small cell lung cancer A549 cells [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2009, 57(20): 9809-9816
- [22] Tan B S, Kang O, Mai C W, et al. 6-Shogaol inhibits breast and colon cancer cell proliferation through activation of peroxisomal proliferator activated receptor gamma (PPAR gamma) [J]. *Cancer Lett.*, 2013, 336: 127-139
- [23] Park S J, Lee M Y, Son B S, et al. TBK1-targeted suppression of TRIF-dependent signaling pathway of Toll-like receptors by 6-shogaol, an active component of ginger [J]. *Biosci., Biotechnol., Biochem.*, 2009, 73(7): 1474-1478

现代食品科技