

·论著·

# 多不饱和脂肪酸 $\omega$ -3 和 $\omega$ -6 影响胃癌新生血管的机制

马家驰 马云涛 郭天康 陈泉 李一平 苏河 陈晓昌 赵晓丹  
郭庆金 亓建波

**【摘要】目的** 探讨多不饱和脂肪酸(PUFA)  $\omega$ -3(二十碳五烯酸)和  $\omega$ -6(花生四烯酸)及其代谢产物前列腺素(PG)E2 和 PGE3 对胃癌新生血管的影响及作用机制。**方法** 分别采用细胞增殖实验、侵袭实验和体外胃癌新生血管实验检测  $\omega$ -3 和  $\omega$ -6 对人胎儿脐静脉血管内皮细胞(HUVEC)增殖、侵袭以及血管新生的影响。所有实验均设置未添加  $\omega$ -3 或  $\omega$ -6 的组别作为对照组。**结果** 当  $\omega$ -6 浓度从 1  $\mu\text{mol/L}$  增加到 10  $\mu\text{mol/L}$ , HUVEC 增殖能力增加, 侵袭细胞数从  $(28.2 \pm 3.0)$  个增加到  $(32.8 \pm 2.1)$  个, 高于对照组  $(21.2 \pm 3.2)$  个, 差异有统计学意义(均  $P < 0.05$ ); 而当  $\omega$ -3 浓度从 1  $\mu\text{mol/L}$  增加到 10  $\mu\text{mol/L}$ , HUVEC 细胞增殖能力则受到抑制, 侵袭细胞数从  $(15.8 \pm 2.0)$  个下降到  $(11.0 \pm 2.1)$  个, 低于对照组  $(22.1 \pm 3.0)$  个, 差异有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。与对照组新生血管标准量  $(43721 \pm 4654)$  相比,  $\omega$ -6 对新生血管具有促进作用( $1 \mu\text{mol/L}$  组:  $63238 \pm 4795$ ;  $10 \mu\text{mol/L}$  组:  $78166 \pm 6123$ ), 而  $\omega$ -3 对新生血管具有明显的抑制作用( $1 \mu\text{mol/L}$  组:  $30129 \pm 3102$ ;  $10 \mu\text{mol/L}$  组:  $20012 \pm 1541$ ), 差异均有统计学意义(均  $P < 0.01$ )。当  $\omega$ -6 中间代谢产物 PGE2 的浓度从 1  $\mu\text{g/ml}$  增加到 10  $\mu\text{g/ml}$ , HUVEC 的增殖能力和侵袭能力均显著增加(均  $P < 0.05$ ); 而当  $\omega$ -3 中间代谢产物 PGE3 的浓度从 1  $\mu\text{g/ml}$  增加到 10  $\mu\text{g/ml}$  时, HUVEC 的增殖能力和侵袭能力则均明显受抑(均  $P < 0.05$ )。用罗非昔布(rofecoxib)抑制 COX-2 表达后, PGE2 的表达水平明显下降, 该抑制作用具有剂量依赖性。在表达 COX-2 的培养系统中, 加入  $\omega$ -6 能促进胃癌新生血管生成( $P < 0.01$ ), 加入  $\omega$ -3 则明显抑制胃癌新生血管生成( $P < 0.01$ ); 而在不表达 COX-2 的培养系统中, 加入  $\omega$ -6 对胃癌新生血管无明显作用, 加入  $\omega$ -3 能抑制胃癌新生血管( $P < 0.05$ )。**结论**  $\omega$ -6PUFA 可以通过血管内皮细胞的增殖和侵袭, 而促进肿瘤的新血管生成, COX-2 和 PGE2 在其中扮演重要作用; 而  $\omega$ -3 PUFA 可以通过积累中间代谢产物 PGE3, 抑制血管内皮细胞的增殖和侵袭, 从而抑制肿瘤新血管生成, 这可为预防和抑制胃癌的转移提供新方向。

**【关键词】** 多不饱和脂肪酸; 血管内皮细胞; 新生血管; 胃肿瘤

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81260325)

**Effect of polyunsaturated fatty acids  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6 on angiogenesis formation in human gastric cancer** Ma Jiachi, Ma Yuntao, Guo Tiankang, Chen Quan, Li Yiping, Su He, Chen Xiaochang, Zhao Xiaodan, Guo Qinjin, Qi Jianbo

*Department of General Surgery, Gan Su provincial hospital, LanZhou 730000, China (Ma JC, Ma YT, Guo TK, Chen Q, Li YP, Su H); Ning Xia Medical University Graduate School, YinChuan 750004, China(Chen XH, Zhao XD, Guo QJ, Qi JB)*

*MA Jiachi and Ma Yuntao are the first authors who contributed equally to the article.*

*Corresponding author: Ma Jiachi, Email: tsmjc2013@163.com*

**【Abstract】 Objective** To investigate the effects of polyunsaturated fatty acids (PUFA)  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6, and their middle metabolites PGE2 and PGE3 on angiogenesis formation of gastric cancer, and

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2017.01.017

作者单位:730000 兰州,甘肃省人民医院普通外科(马家驰、陈泉、李一平、郭天康、苏河),中西医结合急腹症中心(马云涛);750004 银川,宁夏医科大学临床学院研究生院(陈晓昌、赵晓丹、郭庆金、亓建波)

马家驰和马云涛对本文有同等贡献,均为第一作者

通信作者:马家驰, Email:tsmjc2013@163.com

to explore associated mechanism. **Methods** The effects of  $\omega$ -3,  $\omega$ -6, PGE2, PGE3 on the proliferation and migration of human umbilical vein endothelial cell (HUVEC) were measured by proliferation and migration assay respectively. The angiogenesis assay in vivo was used to measure the effects of  $\omega$ -3,  $\omega$ -6, PGE2 and PGE3 on neovascularization. In all the assays, groups without  $\omega$ -3,  $\omega$ -6, PGE2 and PGE3 were designed as the control. **Results** With the increased concentration of  $\omega$ -6 from 1  $\mu\text{mol/L}$  to 10  $\mu\text{mol/L}$ , the proliferation ability of HUVECs enhanced, and the number of migration cells also increased from  $28.2 \pm 3.0$  to  $32.8 \pm 2.1$ , which was higher than control group ( $21.2 \pm 3.2$ ) respectively (both  $P < 0.05$ ). With the increased concentration of  $\omega$ -3 from 1  $\mu\text{mol/L}$  to 10  $\mu\text{mol/L}$ , the proliferation ability of HUVECs was inhibited, and the number of migration cells decreased from  $15.8 \pm 2.0$  to  $11.0 \pm 2.1$ , which was lower than control group ( $22.1 \pm 3.0$ ) respectively (both  $P < 0.05$ ). In the angiogenesis assay, compared with control group (standard number: 43 721  $\pm$  4 654), the angiogenesis ability of HUVECs was significantly enhanced by  $\omega$ -6 in concentration-dependent manner (1  $\mu\text{mol/L}$  group:  $63 238 \pm 4 795$ , 10  $\mu\text{mol/L}$  group:  $78 166 \pm 6 123$ , all  $P < 0.01$ ). Meanwhile, with the increased concentration of  $\omega$ -3 from 1  $\mu\text{mol/L}$  to 10  $\mu\text{mol/L}$ , the angiogenesis ability was significantly decreased from  $30 129 \pm 3 102$  to  $20 012 \pm 1 541$  (all  $P < 0.01$ ). The proliferation and migration ability of HUVECs were significantly promoted by  $\omega$ -6 metabolites PGE2 ( $P < 0.05$ ) in a concentration-dependent manner. In contrast,  $\omega$ -3 metabolites PGE3 significantly inhibited the proliferation and migration ability of HUVECs in a concentration-dependent manner (all  $P < 0.05$ ). After rofecoxib (a COX-2 specific inhibitor) inhibited the expression of COX-2, the expression level of PGE2 was significantly decreased in a dose-dependent manner. In co-culture system, whose gastric cancer cells expressed positive COX-2,  $\omega$ -6 could increase angiogenesis of gastric cancer cells ( $P < 0.01$ ), but  $\omega$ -3 could inhibit such angiogenesis ( $P < 0.01$ ). In co-culture system, whose gastric cancer cells did not express COX-2,  $\omega$ -3 could inhibit the angiogenesis of gastric cancer cells ( $P < 0.05$ ), but  $\omega$ -6 had no effect on angiogenesis. **Conclusions** The PUFA  $\omega$ -6 can enhance the angiogenesis via the promotion of proliferation and migration of HUVECs, and COX-2 and PGE2 may play an important role in this process, whereas, the  $\omega$ -3 can inhibit the angiogenesis through its middle metabolites PGE3 to inhibit the proliferation and migration of HUVECs. Results of this experiment may provide a new approach to inhibit and prevent the spread of gastric cancer.

**【Key words】** Polyunsaturated fatty acids; Vascular endothelial cell; Angiogenesis; Stomach neoplasms

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China(81260325)

胃癌细胞可以通过新生血管转移,这是导致治疗失败和患者死亡的主要原因。目前已有研究证实膳食中的多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid,PUFA)与胃癌的发生及转移密切相关<sup>[1]</sup>。其中  $\omega$ -6 PUFA(花生四烯酸)能够与环氧合酶2(cyclooxygenase 2,COX-2)结合产生前列腺素(prostaglandin,PG)E2,增强癌细胞侵袭能力<sup>[2]</sup>;而  $\omega$ -3 PUFA(二十碳五烯酸)与环氧合酶1(cyclooxygenase 1,COX-1)结合后产生PGE3,并抑制COX-2的活性,减少PGE2的生成,抑制癌细胞侵袭能力<sup>[3]</sup>。但目前尚未见关于PUFA在胃癌血管新生中的相关研究报道。为此,本文主要探讨  $\omega$ -3 PUFA 和  $\omega$ -6 PUFA 对胃癌新生血管的作用机制,为临床预防和治疗胃癌转移提供理论依据。

## 资料与方法

### 一、实验试剂和材料准备

$\omega$ -3 PUFA 和  $\omega$ -6 PUFA 原液均购自北京百慧生化制药有限责任公司。人胎儿脐静脉血管内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell,HUVEC)和人成纤维细胞(fibroblast)购自日本 Kurubo 公司。高肝脏转移势能、表达 COX-2 的胃癌细胞株 MKN74 以及低肝脏转移势能、不表达 COX-2 的胃癌细胞株 NUGC-4 均由甘肃省人民医院中心实验室保存,癌细胞均孵育在 RPMI 1640 培养液中。HUVEC 用 HuMedia-EB2 培养液进行培养。所有细胞均保存在 37℃、含 5% CO<sub>2</sub> 空气的细胞孵育箱中。培养液中均含 10%热灭活胎牛血清(fetal bovine serum,

FBS)、2 mmol/L 谷氨酸氨和 100 μg/ml 的链霉素。所有细胞置于 37℃、含 5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中进行原代培养。每 2~3 d 更换培养液, 经过 4~8 个继代培养后进行实验。PGE2 和 PGE3 均购自上海拜沃生物科技有限公司。单克隆抗体包括: 兔抗人 COX-1、COX-2、PGE2 及 PGE3 单克隆抗体(美国 Cell Signaling Technology 公司); RPMI-1640 及 HuMedia-EB2 培养液(美国 Sigma Chemical 公司); Premix WST-1 Cell Assay 试剂盒(日本 Takara Bio 公司)。

## 二、分组方法

1. 检测 ω-3 和 ω-6 对 HUVEC 增殖、侵袭及新生血管的影响: 在 HUVEC 细胞培养过程中, 分别加入 1 μmol/L 或 10 μmol/L 的 ω-3 或 ω-6, 并均以 0 μmol/L 为对照组。
2. 检测中间代谢产物 PGE2、PGE3 对 HUVEC 增殖侵袭的影响: 在 HUVEC 细胞培养过程中, 分别加入 1 μg/ml 或 10 μg/ml 的 PGE2 或 PGE3, 并均以 0 μg/ml 为对照组。
3. 检测 ω-3 和 ω-6 对胃癌新生血管作用的机制: 将表达 COX-2 的胃癌细胞株 MKN45 和不表达 COX-2 的胃癌细胞株 NUGC-4 分别与 HUVEC 及人成纤维细胞共同培养, 在两组共同培养系统中分别加入 10 μmol/L 的 ω-3 或 ω-6, 组成 4 个实验组: A 组: COX-2(+) 加 ω-3; B 组: COX-2(-) 加 ω-3; C 组: COX-2(+) 加 ω-6; D 组: COX-2(-) 加 ω-6。

另设置两个对照组: COX-2(+) 对照组: COX-2 阳性胃癌细胞株、HUVEC 和人成纤维细胞; COX-2(-) 对照组: COX-2 阴性胃癌细胞株、HUVEC 和人成纤维细胞)。

## 三、实验方法

1. 增殖实验: 应用 Premix WST-1 Cell Assay System 试剂盒检测。取对数生长期的 HUVEC, 按 1×10<sup>5</sup> 个/ml 接种于 24 孔的培养皿使细胞贴壁过夜。更换 2% 的 FBS 培养液再分别加入不同浓度的 ω-6、PGE2、ω-3 及 PGE3 刺激, 继续培养 72 h 后, 每孔加入 100 μl 的 Cell Titer 96 Aqueous One Solution Reagent 液后置于 37℃ 的孵育箱中反应 4 h, 然后用酶标仪测定各孔细胞在波长为 490 nm 的吸光度(A)值。用上述方法连续测定 24、48、72、96、120 h 时间点各组细胞生长的 A<sub>490</sub> 值, 以时间为横坐标, 平均 A<sub>490</sub> 值为纵坐标, 绘制细胞生长曲线。实验重复 3 次。

2. 侵袭实验: 应用 transwell 小室法检测。取对

数生长期的 HUVEC, 用含 5% FBS 的不同培养液调整到密度为 1.0×10<sup>5</sup> 个/ml 的单细胞悬液, 接种到成胶带膜的 transwell 小室内, 并将小室置于 24 孔的细胞培养板内, 培养液中分别添加不同浓度的 ω-6、PGE2、ω-3 和 PGE3 干预; 每组细胞设 4 个平行样本。培养 12 h 后取出, 用棉签擦掉未滤过的膜的癌细胞, PBS 缓冲液冲洗 3 次, 甲醇固定 5 min 后, 用迪夫快速染色液(Diff-Quik stain)染色。结果判定方法为: 在 200 倍光镜下每个滤膜分别对 5 个视野内的穿膜细胞数进行计数, 再计算每个视野的平均细胞数。实验重复 3 次。

3. 新生血管实验: HUVEC 和人成纤维细胞按一定的比例接种在 24 孔的培养盘中共同培养, 第 2 天更换培养液并加入不同浓度的 ω-6、PGE2、ω-3 及 PGE3 后, 再于 24 孔培养盘中均放入用带有 0.45 μm 微孔聚碳酸酯膜底部覆盖的、孔内含 1×10<sup>4</sup>/ml 个胃癌细胞的 transwell 小室, 组成共同培养系统。每天更换培养液, 共同培养 11 d 后, 去除培养液, 用 PBS 液清洗培养孔 3 次后用甲醛固定 30 min, 然后用 CD31 抗体进行血管染色后自然干燥。在显微镜下取 10 个不同区域的新生血管拍照, 然后每张照片用血管分析软件(日本 Kurabo 公司)计算每张图片的血管总面积或总长度, 以像素表示新生血管标准量。

4. Western blot 检测方法: 取对数生长期的胃癌细胞株 MKN45 1×10<sup>6</sup> 个/ml, 裂解细胞提取总蛋白, 在 4℃, 1 500 rpm/min 离心 15 min 后, 收集上清液, 用考马斯亮蓝染色法测定蛋白浓度。取 30 μg 蛋白上样, 用 10% 凝胶上电泳 2 h, 将电泳后胶板上的蛋白质转移至 PVDF 膜上, 再以 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h 后, 用 TBST 缓冲液冲洗膜 3 次。然后浸入含兔抗人的 PGE2 和 PGE3 单克隆抗体(稀释比例 1:800)的封闭液中, 置于摇摆机上 4℃ 过夜。然后用 TBST 缓冲液洗膜 3 次, 每次 10 min, 再将 PVDF 膜浸入含辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG(稀释比 1:2 000)液中 4℃ 过夜, 再次用洗膜 3 次, 每次 5 min。每张膜加入化学发光酶底物液 200 μl 保鲜膜覆盖, 电脑扫描保存检测结果。

## 四、统计学方法

统计分析用 SPSS 17.0 统计软件, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组内比较采用重复测量方差分析, 组间比较采用单因素方差分析。P < 0.05 表示差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、 $\omega$ -3 和 $\omega$ -6 对 HUVEC 增殖和侵袭能力的影响

增殖实验显示,当  $\omega$ -6 浓度从  $1 \mu\text{mol/L}$  增加到  $10 \mu\text{mol/L}$ , HUVEC 增殖能力增加,平均侵袭的细胞数从  $(28.2 \pm 3.0)$  个增加到  $(32.8 \pm 2.1)$  个,远高于对照组  $(21.2 \pm 3.2)$  个,差异有统计学意义(均  $P < 0.05$ );相反,当  $\omega$ -3 浓度从  $1 \mu\text{mol/L}$  增加到  $10 \mu\text{mol/L}$ , HUVEC 细胞增殖能力越受到抑制,平均侵袭的细胞数从  $(15.8 \pm 2.0)$  个下降到  $(11.0 \pm 2.1)$  个,远低于对照组  $(22.1 \pm 3.0)$  个,差异有统计学意义(均  $P < 0.05$ ),见图 1 和图 2。

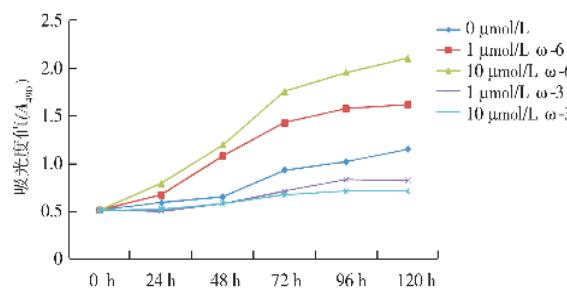


图 1  $\omega$ -3 和  $\omega$ -6 多不饱和脂肪酸对人胎儿脐静脉血管内皮细胞(HUVEC)增殖能力的影响

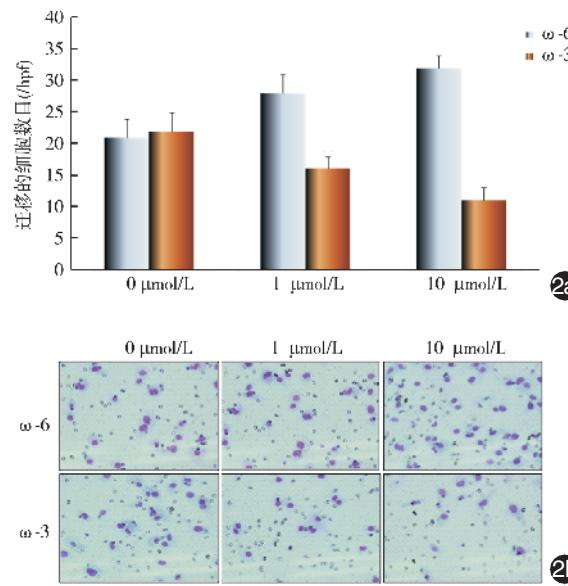


图 2  $\omega$ -3 和  $\omega$ -6 多不饱和脂肪酸对人胎儿脐静脉血管内皮细胞侵袭能力的影响 2a. 侵袭细胞数量统计图;2b. 侵袭细胞代表图( $\times 200$ )

### 二、 $\omega$ -3 和 $\omega$ -6 对胃癌新生血管的作用

与对照组  $(43721 \pm 4654)$  相比,  $\omega$ -6 对新生血管具有的促进作用( $1 \mu\text{mol/L}$  组:  $63238 \pm 4795$ ;

$10 \mu\text{mol/L}$  组:  $78166 \pm 6123$ ),差异有统计学意义(均  $P < 0.01$ );而  $\omega$ -3 则对新生血管具有明显抑制作用( $1 \mu\text{mol/L}$  组:  $30129 \pm 3102$ ;  $10 \mu\text{mol/L}$  组:  $20012 \pm 1541$ ),差异有统计学意义(均  $P < 0.01$ ),见图 3。

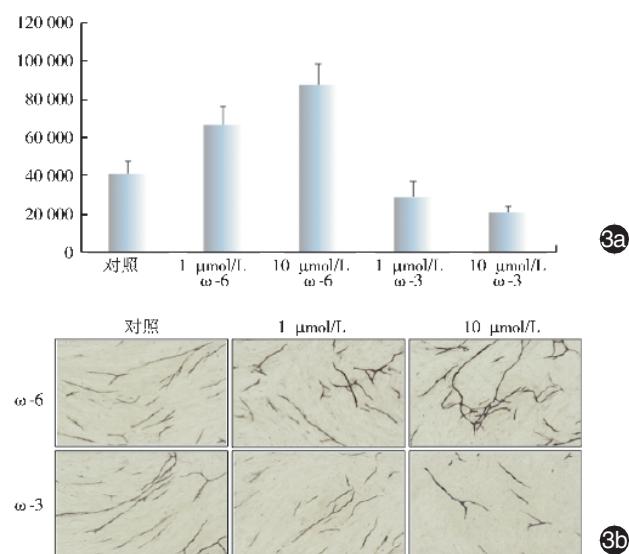


图 3  $\omega$ -3 和  $\omega$ -6 多不饱和脂肪酸对胃癌新生血管的作用 3a. 胃癌新生血管数量统计图;3b. 胃癌新生血管的代表图( $\times 200$ )

### 三、 $\omega$ -3 和 $\omega$ -6 对胃癌新生血管作用的机制

1. 中间代谢产物 PGE2、PGE3 对 HUVEC 增殖和侵袭能力的影响:当  $\omega$ -6 中间代谢产物 PGE2 浓度从  $1 \mu\text{g/ml}$  增加到  $10 \mu\text{g/ml}$ , HUVEC 的增殖能力增加,平均侵袭的细胞数从  $(30.6 \pm 3.8)$  个上升到  $(36.0 \pm 4.0)$  个,远高于对照组  $(22.0 \pm 3.1)$  个,差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ );而  $\omega$ -3 中间代谢产物 PGE3 浓度从  $1 \mu\text{g/ml}$  增加到  $10 \mu\text{g/ml}$ , HUVEC 的增殖能力被抑制,平均侵袭的细胞数从  $(14.9 \pm 2.1)$  个下降到  $(10.6 \pm 2.4)$  个,远低于对照组  $(22.0 \pm 3.0)$  个,差异有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。见图 4 和图 5。

2. 胃癌细胞株中 COX-2 表达与 PEG2 的关系:在表达 COX-2 的胃癌细胞株 MKN45 中,特异性的 COX-2 抑制剂罗非昔布(rofecoxib)能够明显抑制 PGE2 的表达水平,且具有剂量依赖性,见图 6。

3. COX-2 在  $\omega$ -3 和  $\omega$ -6 影响胃癌血管新生机制中的作用:在表达 COX-2 的胃癌细胞 MKN45 培养系统中, $\omega$ -6 组能够促进胃癌新生血管,而  $\omega$ -3 组明显抑制胃癌新生血管(均  $P < 0.05$ )。在不表达 COX-2 的胃癌细胞 NUGC-4 培养系统中, $\omega$ -6 组对

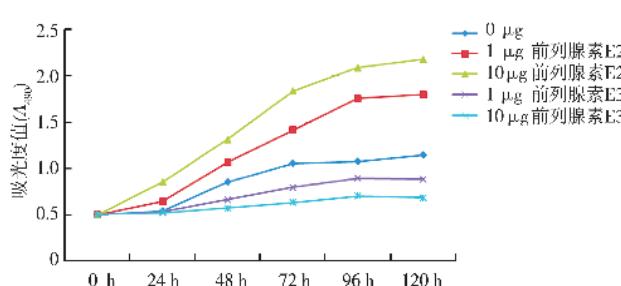


图4 前列腺素(PG)E2和PGE3对人胎儿脐静脉血管内皮细胞(HUVEC)增殖能力的影响

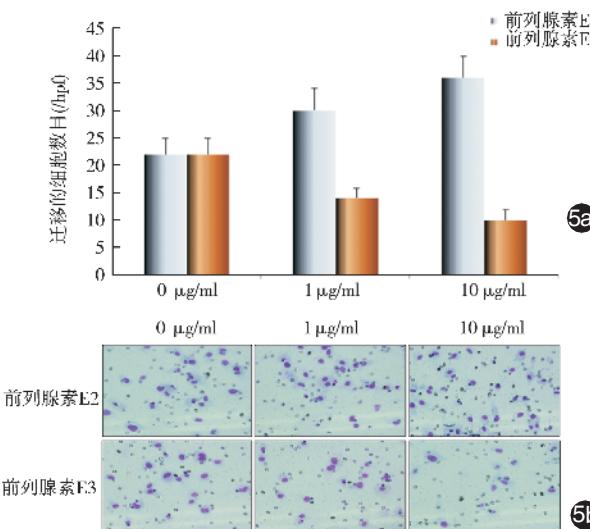


图5 前列腺素(PG)E2和PGE3对人胎儿脐静脉血管内皮细胞(HUVEC)侵袭能力的影响 5a. 侵袭数量统计图; 5b. 侵袭细胞代表图(×200)

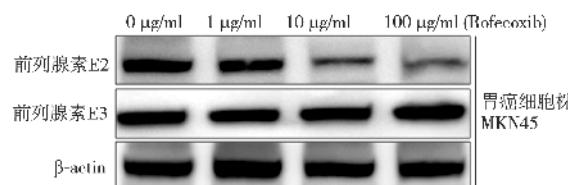


图6 表达环氧合酶2(COX-2)的胃癌细胞株MKN45中特异性COX-2抑制剂罗非昔布对PGE2表达的影响

胃癌新生血管无明显作用,而 $\omega$ -3组能抑制胃癌新生血管(均 $P < 0.05$ ),见图7。

## 讨 论

PUFA作为重要的人体必须营养成分之一。近年来,PUFA与肿瘤的相关研究取得了较大的成效<sup>[4]</sup>。其中 $\omega$ -3 PUFA能够抑制肿瘤细胞的增殖和转移,并对肿瘤患者的恶病质有一定的预防和治疗作用<sup>[5]</sup>;而 $\omega$ -6 PUFA却能够促进部分肿瘤的侵袭

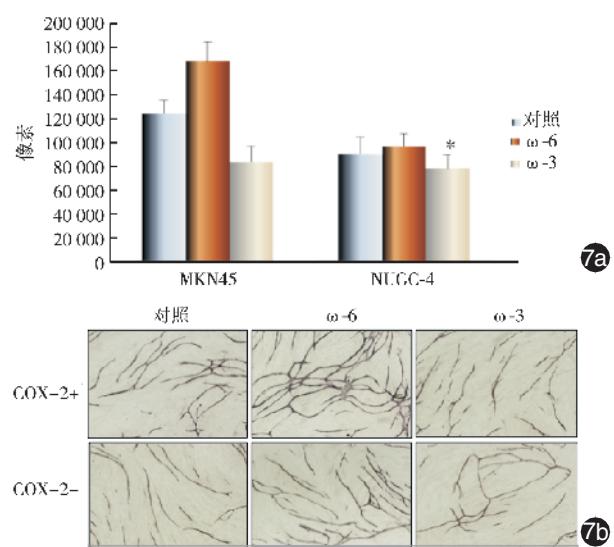


图7 环氧合酶2(COX-2)在二十碳五烯酸和花生四烯酸影响胃癌血管新生机制中的作用 7a. 胃癌新生血管数量统计图; 7b. 胃癌新生血管的代表图(×200)

及转移<sup>[6]</sup>。同时研究发现:这一作用产生的机制与PUFA的中间代谢产物PGE及相关生化反应的主要酶系COX有密切关系<sup>[7]</sup>。通过膳食进入人体的 $\omega$ -6会经过COX-2催化生成PGE2,而 $\omega$ -3经过COX-1催化生成能够竞争性抑制PGE2的弱生物活性物质PGE3,同时还可以与 $\omega$ -6竞争COX,抑制PGE2的产生<sup>[8]</sup>。COX-1和COX-2是COX的2种同功酶:COX-1为结构酶,表达于大多数的正常组织中,能够促进PGE的生成;COX-2为诱导酶,几乎不表达于正常组织,而在某些肿瘤(如黑色素瘤、胃癌、乳腺癌、肝癌、宫颈癌、食管癌、胰腺癌、结肠癌等)组织高表达<sup>[9-11]</sup>。

本实验结合多种细胞因子综合研究了 $\omega$ -3、 $\omega$ -6、COX-1、COX-2及PGE2、PGE3在胃癌细胞增殖中的作用。结果显示:特异性的COX-2抑制剂罗非昔布能够明显抑制PGE2的表达水平,且与浓度呈正相关,降低PGE2的产生能够抑制胃癌细胞的转移能力。 $\omega$ -3和PGE3对HUVEC的增殖和侵袭具有抑制作用,而 $\omega$ -6和PGE2对HUVEC的增殖和侵袭具有强化作用,并与浓度呈正相关。我们在国内首次报道应用胃癌细胞和基质细胞构建共同培养系统的方法在体外培育胃肿瘤新生血管,并检测了不同表达COX-2的胃癌细胞对新生血管的影响。在COX-2阳性的胃癌细胞MKN45对HUVEC的新血管生成能力的影响明显强于COX-2阴性胃癌细胞NUGC-4; $\omega$ -6 PUFA及其中间代谢产物PGE2能够增强

HUVEC 的增殖和侵袭,而  $\omega$ -3 PUFA 及 PGE3 则具有抑制作用; $\omega$ -6 能够在一定程度上促进胃癌细胞与 HUVEC 加入成纤维细胞共同培养系统中新血管的生成,而  $\omega$ -3 可以抑制新血管生成。上述结果证明: $\omega$ -3 对胃癌细胞的增殖与侵袭具有抑制作用, $\omega$ -6 则对其有促进作用,且这两种 PUFA 对肿瘤细胞的影响主要通过调节 COX 及 PGE 的生理功能而实现。 $\omega$ -6 通过与 COX-2 结合后转变成促进肿瘤生长的 PGE2,PGE2 能够以浓度递增的方式渐进性的方式强化胃癌细胞的侵袭力和癌细胞所在微环境中血管内皮细胞的新血管生成能力; $\omega$ -3 一方面可以抑制 COX-2 的活性,减少 PGE2 的生成,从而抑制肿瘤细胞的侵袭能力;另一方面, $\omega$ -3 可与  $\omega$ -6 竞争结合 COX-1 产生 PGE3,PGE3 能够显著性的抑制肿瘤细胞的侵袭和癌细胞所在微环境中血管内皮细胞的新血管生成能力。这种以 PUFA 及其中间代谢产物为干扰因素,使用共同培养系统对肿瘤所在内环境的体外模拟实验和探究实验,能更加客观真实地再现和观察 PUFA 对胃癌细胞微环境的影响,对于认识肿瘤细胞具体的生长、侵袭及转移机制有着不可替代的重要作用,也为接下来的体内实验和临床试验奠定重要的理论基础。

以目前的研究来看,PUFA 对肿瘤影响的机制仍有待完善。国内外研究者就其提出了多种假设和理论:Rogers 等<sup>[12]</sup>的研究表示  $\omega$ -3 可以增加肿瘤细胞膜的流动性,并诱导瘤细胞凋亡,减少肿瘤细胞增殖和侵袭;Dwivedi 等<sup>[13]</sup>认为  $\omega$ -3 可上调 caspase 表达,诱导瘤细胞凋亡,起到抑制肿瘤细胞增殖的作用;Kiyabu 等<sup>[14]</sup>发现  $\omega$ -3 可以提高过氧化物酶增殖激活受体的表达,进而抑制瘤细胞的增殖。 $\omega$ -3 类的 EPA 及 DHA 可以抑制 PLA2、PI-PLC 和 COX-2 活性,从而抑制肿瘤的发生;这些理论和实验成果都具有重要的参考和研究价值。目前, $\omega$ -3 PUFA、 $\omega$ -6 PUFA 及 PGE 在胃癌中的研究很少,多不饱和脂肪酸对胃癌发生、发展及转移的影响机制和临床意义还有待更加深入全面的研究。我们科研团队接下來的计划,将通过后期进一步体内外实验,寻找两种脂肪酸的适合比例或 COX-2 抑制剂的适合浓度,以期抑制肿瘤细胞的侵袭及转移,并最终为临床预防和治疗胃癌提供新途径。

## 参 考 文 献

- [1] 史浩,马家驰,陈泉,等. 多不饱和脂肪酸  $\omega$ -3 和  $\omega$ -6 对胃癌侵袭影响的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2012, 19(22):1700-1703, 1715.
- [2] Fabian CJ, Kimler BF, Hursting SD. Omega-3 fatty acids for breast cancer prevention and survivorship [J]. Breast Cancer Res, 2015, 17:62. DOI: 10.1186/s13058-015-0571-6.
- [3] DiNicolantonio JJ, McCarty MF, Chatterjee S, et al. A higher dietary ratio of long-chain omega-3 to total omega-6 fatty acids for prevention of COX-2-dependent adenocarcinomas [J]. Nutr Cancer, 2014, 66(8):1279-1284. DOI: 10.1080/01635581.2014.956262.
- [4] Brown MD, Hart CA, Gazi E, et al. Promotion of prostatic metastatic migration towards human bone marrow stoma by Omega 6 and its inhibition by Omega 3 PUFAs [J]. Br J Cancer, 2006, 94(6):842-853. DOI: 10.1038/sj.bjc.6603030.
- [5] Gerber M. Omega-3 fatty acids and cancers: a systematic update review of epidemiological studies [J]. Br J Nutr, 2012, 107 Suppl 2:S228-S239. DOI: 10.1017/S0007114512001614.
- [6] Zhang P, Wen X, Gu F, et al. Role of serum polyunsaturated fatty acids in the development of colorectal cancer [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(9):15900-15909.
- [7] Han YM, Park JM, Cha JY, et al. Endogenous conversion of  $\omega$ -6 to  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids in fat-1 mice attenuated intestinal polyposis by either inhibiting COX-2/ $\beta$ -catenin signaling or activating 15-PGDH/IL-18[J]. Int J Cancer, 2016, 138(9):2247-2256. DOI: 10.1002/ijc.29956.
- [8] Gravaghi C, La Perle KM, Ogródzki P, et al. Cox-2 expression, PGE (2) and cytokines production are inhibited by endogenously synthesized n-3 PUFAs in inflamed colon of fat-1 mice [J]. J Nutr Biochem, 2011, 22 (4):360-365. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2010.03.003.
- [9] Haqq J, Howells LM, Garcea G, et al. Targeting pancreatic cancer using a combination of gemcitabine with the omega-3 polyunsaturated fatty acid emulsion, Lipidem? [J]. Mol Nutr Food Res, 2016, 60(6):1437-1447. DOI: 10.1002/mnfr.201500755.
- [10] Jump DB, Depner CM, Tripathy S, et al. Potential for dietary  $\omega$ -3 fatty acids to prevent nonalcoholic fatty liver disease and reduce the risk of primary liver cancer[J]. Adv Nutr, 2015, 6(6):694-702. DOI: 10.3945/an.115.009423.
- [11] 王向群,陈丽娟. n-3 多不饱和脂肪酸抗肿瘤机制的研究进展 [J]. 实用癌症杂志, 2011, 26 (3):321-324. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5930.2011.03.035.
- [12] Rogers KR, Kikawa KD, Mouradian M, et al. Docosahexaenoic acid alters epidermal growth factor receptor-related signaling by disrupting its lipid raft association[J]. Carcinogenesis, 2010, 31(9):1523-1530. DOI: 10.1093/carcin/bgg111.
- [13] Dwivedi C, Natarajan K, Matthees DP. Chemopreventive effects of dietary flaxseed oil on colon tumor development [J]. Nutr Cancer, 2005, 51(1):52-58. DOI: 10.1207/s15327914nc5101\_8.
- [14] Kiyabu GY, Inoue M, Saito E, et al. Fish, n-3 polyunsaturated fatty acids and n-6 polyunsaturated fatty acids intake and breast cancer risk: The Japan Public Health Center-based prospective study[J]. Int J Cancer, 2015, 137(12):2915-2926. DOI: 10.1002/ijc.29672.

(收稿日期:2016-03-01)

(本文编辑:朱雯洁)