

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2015.13.017

川芎嗪对高转移性人肺巨细胞癌 PG-BE1 干细胞样细胞黏附能力的影响

杨 栋¹, 张培彤^{1*}, 王耀焱¹, 郭秀伟¹, 马雪曼²

(1. 中国中医科学院广安门医院, 北京市西城区广安门内大街北线阁 5 号, 100053; 2. 北京中医药大学)

摘要 目的 研究川芎嗪对高转移性人肺巨细胞癌 PG-BE1 干细胞样细胞黏附能力的影响及可能作用机制。方法 采用无血清成球培养法分选 PG-BE1 细胞中的干细胞样细胞, 并检测其表面 OCT-4、SOX-2、Nanog 蛋白表达及平板克隆形成实验进行验证。再采用人造基底膜黏附实验比较 PG-BE1 干细胞样细胞在不同环境(常氧和低氧环境)与其原代细胞黏附能力的差异, 同时观察不同浓度川芎嗪(终浓度分别为 100、300、500 $\mu\text{g/ml}$)及顺铂(2 $\mu\text{g/ml}$)干预后各组干细胞样细胞的黏附能力, 以及干预后各组干细胞样细胞表面黏附分子 β 整合素、CD44V6 的表达量。结果 与原代细胞相比, PG-BE1 干细胞样细胞克隆灶形成能力更强, 干细胞样细胞表面的 SOX-2、OCT-4 及 Nanog 蛋白的表达相对光密度更强 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。常氧干细胞样细胞和低氧干细胞样细胞黏附能力均明显高于原代细胞 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 川芎嗪中、高剂量组及顺铂组干细胞样细胞黏附能力低于对照组 ($P < 0.01$), 川芎嗪高剂量组细胞黏附抑制率最高达 42.2%。常氧干细胞样细胞和低氧干细胞样细胞 β 整合素、CD44V6 表达量均高于原代细胞 ($P < 0.01$), 川芎嗪低、中、高剂量组及顺铂组 β 整合素表达均较对照组下调 ($P < 0.01$), 川芎嗪高剂量组 CD44V6 表达较对照组亦明显降低 ($P < 0.01$)。结论 PG-BE1 干细胞样细胞对基底膜的黏附能力强于其原代细胞, 川芎嗪可抑制其黏附能力, 其机制可能与抑制细胞表面 β 整合素、CD44V6 蛋白的表达有关。

关键词 川芎嗪; 人肺巨细胞癌; 肿瘤干细胞; 细胞黏附; β 整合素; CD44V6

肿瘤侵袭和转移是恶性肿瘤高复发率和高死亡率的关键因素, 细胞黏附是肿瘤侵袭和转移过程中的重要步骤, 故抑制肿瘤细胞异质性黏附分子的表达从而降低其对细胞外基质 (ECM) 的黏附对阻断肿瘤细胞的侵袭和转移有积极意义。肿瘤干细胞 (CSCs) 是具有异质性的肿瘤组织中的含量极少的一个细胞亚群, 被认为是肿瘤组织的初始细胞, 相对于已分化的肿瘤细胞, CSCs 有着更强的恶性生物学特性^[1]。本研究探讨从高转移性人肺巨细胞癌 PG-BE1 细胞中分选的干细胞样细胞与其原代细胞在黏附能力上的差别, 继而观察临床常用活血药川芎有效成分川芎嗪对 PG-BE1 干细胞样细胞黏附能力的影响。

1 材料与方法

1.1 细胞

高转移性人肺巨细胞癌 PG-BE1 细胞系由中国

中医科学院广安门医院肿瘤研究室提供。

1.2 主要药品及试剂

盐酸川芎嗪: 中国药品生物制品鉴定所, 批号: 110817-200305; 顺铂注射液: 云南个旧生物药业有限公司, 批号: H53021740; 双抗: Hyclone 公司, 货号: SV30010; 胰蛋白酶: 吉诺生物科技有限公司, 货号: GNM-25200; RPMI-1640 培养基: Hyclone 公司, 货号: SH30809.01B; DMEM/F12 培养基: Hyclone 公司, 货号: SH30023.01B; 胎牛血清 (FBS): Hyclone 公司, 货号: SH30396.03; 人碱性成纤维细胞生长因子 (FGF): 美国 Pepro Tech 公司, 货号: AF-100-18B; 重组人表皮生长因子 (EGF): 美国 Pepro Tech 公司, 货号: AF-100-15; B27 添加剂: 美国 Gibco 公司, 货号: 7504-044; 胰岛素: 美国 Sigma 公司, 货号: 18405; Matrigel 基质胶: 美国 BD 公司, 货号: 354234; 兔抗人 OCT-4 抗体: 美国 CST 公司, 货号: 2750; 兔抗人 SOX-2 抗体: 美国 CST 公司, 货号: 3579; 兔抗人 Nanog 抗体: 美国 CST

基金项目: 国家自然科学基金(81173450)

* 通讯作者: zhangpeitong@sohu.com, (010) 88001500

公司, 货号: 4903; 兔抗人 β -Actin 抗体: 美国 CST 公司, 货号: 4970; 鼠抗人 β 整合素抗体: 美国 BD 公司, 货号: 555443; 鼠抗人 CD44v6 抗体: 美国 Abcam 公司, 货号: ab78960; 酶标山羊抗兔二抗: 美国 Abcam 公司, 货号: ab97051; 酶标山羊抗鼠二抗: 美国 Abcam 公司, 货号: ab6006。

1.3 主要仪器

CO₂ 细胞培养箱: 日本 Sanyo 公司, 型号: MCO-18AIC; 光学显倒置显微镜: 日本 Nikon 公司, 型号: TS100; 高速冷冻离心机: 美国 Sigma 公司, 型号: 3-30K; 凝胶成像分析系统: 美国 Bio-Rad 公司; 酶标仪: 美国 Bio Tek 公司, 型号: Synergy HT。

1.4 细胞培养与干细胞分选

常规复苏 PG-BE1 细胞, 用含 10% FBS 的 RPMI-1640 培养基培养, 细胞传代后进入指数生长期时, 弃去培养液, 胰酶消化收集细胞, 终止消化后再用 PBS 反复清洗 3 遍, 后重悬于含 1% 双抗、20 μ g/L FGF、20 μ g/L EGF、2% B27 及 5 μ g/ml 胰岛素的 DMEM/F12 培养基中, 调整其浓度为 2×10^4 个/ml, 后接种于超低吸附 6 孔板中, 每孔接种 2 ml。细胞接种第 3 天有细胞微球体形成, 随培养时间延长, 球体逐渐增大, 培养至第 6 天, 球体折光度降低, 表面颜色变暗时收集细胞即干细胞样细胞用于以下实验。

1.5 细胞克隆形成能力检测

采用平板克隆形成实验进行检测。收集 PG-BE1 原代细胞及干细胞样细胞, 消化后重悬于含 10% FBS 的 RPMI-1640 培养基中, 调整其浓度为 200 个/ml, 分别接种于 6 孔板中, 每孔接种 2 ml, 置于细胞培养箱中培养 6 天, 后弃去培养液, 95% 乙醇固定后行结晶紫染色, 倒置显微镜下 (40 倍) 观察每孔随机 5 个视野下超过 10 个细胞的克隆灶的数目。

1.6 细胞表面 OCT-4、SOX-2、Nanog 蛋白表达检测

采用 Western blot 法进行检测。收集 PG-BE1 原代细胞 (用无酶细胞消化液消化) 及干细胞样细胞, 提取细胞总蛋白, 用 BCA 法测定各组总蛋白浓度, 分别制备浓缩胶与分离胶, 加样后分别行蛋白电泳、电转移, 5% 脱脂奶粉封闭后, 一抗 (稀释倍数为 1 : 1000)、二抗 (稀释倍数为 1 : 2000) 室温孵育各 1 h, 后于暗室中滴加超敏发光液孵育 5 min, 于凝胶成像分析系统拍照, 并用系统图像采集软件 Quantity one1-D (Bio-Rad 公司)

分析各组蛋白表达量, 采用相对光密度值 (RQ) 表示, 以原代细胞光密度值作为参照。

1.7 川芎嗪对干细胞样细胞黏附能力的影响

采用人造基底膜黏附实验进行检测。先将 PG-BE1 干细胞样细胞分别进行低氧 (5% CO₂、5% O₂、90% N₂)、常氧 (5% CO₂、95% 空气) 干预, 比较不同环境下干细胞样细胞与原代细胞的黏附能力。另将 PG-BE1 干细胞样细胞经低、中、高浓度川芎嗪 (终浓度分别为 100、300、500 μ g/ml) 及顺铂 (2 μ g/ml) 干预 24 h 后, 分别收集各组细胞, 用含 10% FBS 的 RPMI-1640 培养基制备成浓度为 1×10^5 个/ml 的单细胞悬液。将 Matrigel 基质胶用 PBS 按 1 : 3 比例于冰上稀释, 后滴加于 96 孔板底部, 每孔滴加 30 μ l, 轻轻晃动使其均匀铺满整个 96 孔板底部, 置于 37℃ 细胞培养箱中静置 30 min, 待基质胶凝固后, 将细胞悬液加入 96 孔板中, 每孔加液 200 μ l, 每组设 4 个复孔, 置于培养箱中培养, 6 h 后取出 24 孔板, 弃去培养液, 用 PBS 清洗每孔 3 遍, 每孔加入 200 μ l 含 10% FBS 的 RPMI-1640 培养基, 同时每孔加入 5 mg/ml 的 MTT 20 μ l, 置于细胞培养箱中继续培养 4 h, 后吸干孔中培养基, 每孔加入 150 μ l DMSO, 于振荡器上轻轻震荡 10 min, 于酶标仪 490 nm 波长处测各孔吸光值, 计算各组细胞黏附抑制率。细胞黏附抑制率 = [(对照组 OD 值 - 实验组 OD 值) / 对照组 OD 值] $\times 100\%$ 。

1.8 川芎嗪对干细胞样细胞 CD44V6 及 β 整合素表达的影响

采用 Western blot 法进行检测。细胞分组和处理方法同上, 各组细胞分别经不同浓度川芎嗪及顺铂干预, 无血清培养基中培养 24 h 后, 收集各组细胞后按 1.6 步骤行 CD44V6、 β 整合素表达检测。

1.9 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计处理, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 原代细胞与干细胞样细胞之间以及不同氧浓度干细胞样细胞之间比较采用独立样本 t 检验; 多组间比较采用单因素方差分析, 多组内两组间比较采用 LSD 检验。

2 结果

2.1 PG-BE1 干细胞样细胞与原代细胞平板克隆形成能力比较

PG-BE1 干细胞样细胞克隆灶形成数为 (8.06 $\pm$ 1.31) 个, 原代细胞克隆灶形成数为 (3.94 $\pm$ 1.06) 个。与原代细胞比较, PG-BE1 干细胞样细

胞克隆灶形成能力更强 ($P < 0.01$)。

2.2 PG-BE1 干细胞样细胞与原代细胞 OCT-4、SOX-2、Nanog 蛋白表达比较

以原代细胞光密度值 (设为 1.00) 为参照, PG-BE1 干细胞样细胞表面的 SOX-2、OCT-4 及 Nanog 蛋白表达的相对光密度值分别为 (1.99 ± 0.59)、(1.52 ± 0.21)、(1.44 ± 0.36), 均强于其原代细胞, 差异有统计学意义 (P 值分别为 0.017、0.010、0.029)。

2.3 各组 PG-BE1 干细胞样细胞黏附能力比较

表 1 示, PG-BE1 常氧干细胞样细胞和低氧干细胞样细胞的吸光值均明显高于原代细胞 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 而常氧干细胞样细胞和低氧干细胞样细胞之间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 并且黏附抑制率均为负数, 提示常氧和低氧环境下干细胞样细胞的黏附能力均强于原代细胞。表 2 示, 川芎嗪中、高剂量组及顺铂组干细胞样细胞吸光值明显低于对照组 ($P < 0.01$), 而川芎嗪低剂量组与对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 川芎嗪高剂量组干细胞样细胞吸光值明显低于川芎嗪低剂量组 ($P < 0.05$), 川芎嗪中、高剂量组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。川芎嗪高剂量组细胞黏附抑制率最高达 42.2%, 说明川芎嗪对干细胞样细胞的黏附产生抑制作用, 并且以高浓度效果最好。

表 1 不同环境下 PG-BE1 干细胞样细胞与原代细胞黏附能力比较

细胞	样本数	吸光值 ($\bar{x} \pm s$)	黏附抑制率 (%)
原代细胞	5	0.360 ± 0.052	0
常氧干细胞样细胞	5	$0.573 \pm 0.074^*$	-58.30
低氧干细胞样细胞	5	$0.614 \pm 0.017^{**}$	-69.40

注: 与原代细胞比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 2 各组 PG-BE1 干细胞样细胞黏附能力比较

组别	样本数	吸光值 ($\bar{x} \pm s$)	黏附抑制率 (%)
对照组	5	0.623 ± 0.035	0
川芎嗪低剂量组	5	$0.471 \pm 0.010^\Delta$	24.4
川芎嗪中剂量组	5	$0.428 \pm 0.031^*$	31.3
川芎嗪高剂量组	5	$0.360 \pm 0.025^*$	42.2
顺铂组	5	$0.410 \pm 0.028^*$	34.2

注: 与对照组比较, * $P < 0.01$; 与川芎嗪高剂量组比较, $\Delta P < 0.05$

2.4 各组 PG-BE1 干细胞样细胞 β 整合素、CD44V6 表达比较

表 3 示, 以常氧干细胞样细胞 β 整合素、

CD44V6 表达光密度值 [设为 (1.000 ± 0.000)] 为参照, 常氧干细胞样细胞和低氧干细胞样细胞 β 整合素、CD44V6 表达量均高于原代细胞 ($P < 0.01$); 而常氧干细胞样细胞和低氧干细胞样细胞 β 整合素表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$), CD44V6 表达常氧干细胞样细胞高于低氧干细胞样细胞 ($P < 0.01$)。表 4 示, 以对照组光密度值 [设为 (1.000 ± 0.000)] 为参照, 川芎嗪低、中、高剂量组及顺铂组 β 整合素表达均较对照组下调 ($P < 0.01$), 而各剂量组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 川芎嗪高浓度组 CD44V6 表达较对照组亦明显降低 ($P < 0.01$), 川芎嗪低、中剂量组及顺铂组 CD44V6 表达与对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 3 不同环境下 PG-BE1 干细胞样细胞与原代细胞 β 整合素、CD44V6 表达比较 ($RQ, \bar{x} \pm s$)

细胞	样本数	β 整合素	CD44V6
原代细胞	5	0.493 ± 0.019	0.430 ± 0.063
低氧干细胞样细胞	5	$0.938 \pm 0.099^*$	$0.877 \pm 0.027^*$
常氧干细胞样细胞	5	$1.000 \pm 0.000^*$	$1.000 \pm 0.000^{*\Delta}$

注: 与原代细胞比较, * $P < 0.01$; 与低氧干细胞样细胞比较, $\Delta P < 0.01$

表 4 各组 PG-BE1 干细胞样细胞 β 整合素、CD44V6 表达比较 ($RQ, \bar{x} \pm s$)

组别	样本数	β 整合素	CD44V6
对照组	5	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000
川芎嗪低剂量组	5	$0.533 \pm 0.093^*$	0.985 ± 0.038
川芎嗪中剂量组	5	$0.487 \pm 0.141^*$	0.982 ± 0.030
川芎嗪高剂量组	5	$0.660 \pm 0.089^*$	$0.817 \pm 0.030^*$
顺铂组	5	$0.728 \pm 0.059^*$	0.993 ± 0.025

注: 与对照组比较, * $P < 0.01$

3 讨论

细胞黏附在肿瘤侵袭和转移过程中发挥重要作用。本研究中采用无血清成球培养法分选出 PG-BE1 干细胞样细胞, 并通过对干细胞样细胞与原代细胞标志物 OCT-4、SOX-2、Nanog 蛋白的检测及平板克隆形成实验, 确定了 PG-BE1 干细胞样细胞具有干细胞样生物学特性, 即克隆能力更强。采用分选出的 PG-BE1 干细胞样细胞对人造基底膜的黏附能力强于其原代细胞, 而过强的黏附能力可能成为除上皮间质化外 CSCs 具有较强侵袭和转移能力的另一个原因。在肿瘤生长过程中, 大多数实体瘤由于肿瘤细胞快速增殖而处于低氧状态, 有研究指出, 低氧环境会通过低氧诱导因子信号通路促

进肿瘤细胞的侵袭和转移^[9]。CSCs 处于由不同细胞、ECM、毛细血管、淋巴管所组成的干细胞龛中,干细胞龛的氧供水平也低于正常,而低氧状态有助于其干性的保持^[9]。本研究中,通过在不同氧环境下培养 PG-BE1 干细胞样细胞,并比较不同氧环境下 PG-BE1 干细胞样细胞对于人造基底膜的黏附能力,结果显示,在常氧和低氧环境中干细胞样细胞的黏附能力差异无统计学意义,说明低氧环境可能未对 PG-BE1 干细胞样细胞的黏附能力产生影响。

细胞黏附借助细胞表面的黏附分子而实现,作为黏附分子的整合素家族和 CD44 对于介导肿瘤细胞与 ECM 之间的黏附有关键作用。整合素除可与 ECM 成分中的层粘连蛋白、纤维粘连蛋白、玻璃粘连蛋白和胶原蛋白等识别并结合外,还可降低肿瘤细胞之间的同质性黏附^[9]。既往研究表明,整合素在恶性肿瘤组织中普遍呈现高表达^[5-8]。本研究中,PG-BE1 干细胞样细胞的 β 整合素表达量高于原代细胞,而不同氧环境下 β 整合素的表达无差异,表明缺氧环境未对 β 整合素的表达产生影响。此外,CD44V6 在多种恶性肿瘤组织中高表达,已成为肿瘤预后的不利因素^[9-13]。本研究中 PG-BE1 干细胞样细胞的 CD44V6 表达水平显著高于其原代细胞,对于不同氧环境而言,CD44V6 在常氧环境中的表达强于低氧环境,说明低氧环境可从一定程度上抑制 CD44V6 的表达。

基础研究表明,活血药不仅可抑制肿瘤细胞增殖,还可对肿瘤的侵袭和转移产生一定的抑制作用^[14-16]。川芎是临床常用活血药,气味辛、温,具有活血行气、祛风止痛之效,川芎嗪是其有效成分。在本研究中,中、高浓度川芎嗪对 PG-BE1 干细胞样细胞的人造基底膜黏附能力有一定的抑制作用,其作用的原因可能与其对 PG-BE1 干细胞样细胞表面的黏附分子表达的抑制有关。不同浓度川芎嗪均可对 PG-BE1 干细胞样细胞 β 整合素的表达产生抑制作用,而不同浓度之间抑制作用无差异。而对于 CD44V6 的表达,高剂量川芎嗪对其有一定的抑制作用,而低、中剂量效果不明显。川芎嗪对 β 整合素及 CD44V6 表达的抑制作用可以从一定程度上解释其对 PG-BE1 干细胞样细胞黏附的抑制作用。

参考文献

[1] Creighton CJ, Li X, Landis M, et al. Residual breast cancers after conventional therapy display mesenchymal as well as tumor-initiating features [J]. Proc Natl Acad Sci, 2009, 106

(33): 13820-13825.

- [2] Rundqvist H, Johnson RS. Hypoxia and metastasis in breast cancer [J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2010, 345: 121-139. doi: 10.1007/82_2010_77.
- [3] Rehn M, Olsson A, Reckzeh K, et al. Hypoxia induction of vascular endothelial growth factor regulates murine hematopoietic stem cell function in the low-oxygenic niche [J]. Blood, 2011, 118(6): 1534-1543.
- [4] Whittard JD, Akiyama SK. Activation of beta-integrins induces cell-cell adhesion [J]. Exp Cell Res, 2001, 263(1): 65-76.
- [5] 李科, 洪志鹏, 沈立达, 等. CD151 及整合素 $\alpha 3 \beta 1$ 蛋白在非小细胞肺癌中的表达及意义 [J]. 中国全科医学, 2014, 17(5): 531-535.
- [6] 杨志, 许绍发, 张海青, 等. 非小细胞肺癌中整合素和 ECM 蛋白表达与转移及预后的相关性研究 [J]. 中国肺癌杂志, 2009, 12(5): 397-402.
- [7] 初定丽, 苏志慧, 姜学强. 宫颈癌整合素 $\alpha V \beta 5$ 的表达及其与血管生成和侵袭性转移的关系 [J]. 解放军医学杂志, 2011, 36(12): 1282-1285.
- [8] Mitra AK, Sawada K, Tiwari P, et al. Ligand-independent activation of c-Met by fibronectin and $\alpha 5 \beta 1$ -integrin regulates ovarian cancer invasion and metastasis [J]. Oncogene, 2011, 30(13): 1566-1576.
- [9] 董艳, 张端莲. CD44V6 在膀胱癌中的表达及临床意义 [J]. 数理医药学杂志, 2013, 26(6): 685-686.
- [10] 黄秀英, 李凤玲, 唐福兴, 等. P-选择素、CD44V6 和 nm23 蛋白在乳腺癌中的表达及其临床意义 [J]. 诊断病理学杂志, 2013, 20(1): 42-45.
- [11] 谭玉林, 孙亚伟, 王一波, 等. CD44V6 和 MMP-7 蛋白在胃癌组织中表达及意义 [J]. 江苏医药, 2014, 40(3): 309-312.
- [12] 仇玲玲, 付琼, 黄雅萍, 等. CD147 和 CD44V6 在甲状腺乳头状癌中表达及其与侵袭转移的意义 [J]. 现代实用医学, 2013, 25(6): 640-645.
- [13] 赵朋, 刘德祥, 于斌, 等. Galectin-3 和 CD44V6 的表达与前列腺癌转移及预后的关系 [J]. 临床泌尿外科杂志, 2013, 28(8): 610-615.
- [14] 张明辉, 张培彤, 周天, 等. 丹参酮 II A 对乏氧环境下人高转移性巨细胞肺癌细胞表面 $\beta 1$ -整合素及 E-cadherin 表达的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2011, 19(1): 39-41.
- [15] 江保中, 张培彤, 杨栋, 等. 苏木对 PG 细胞增殖、黏附及侵袭能力的影响 [J]. 中国肿瘤, 2014, 23(3): 239-243.
- [16] 田甜, 张培彤, 于明薇, 等. 4 种活血化瘀药物对不同阶段 Lewis 肺癌生长和转移影响的实验研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2010, 37(3): 546-548.

Effect of Ligustrazine on the Adhesion of PG-BE1 Stem Like Cells in the Pulmonary Giant Cell Carcinoma of Human with High Metastatic Lung Cancer

YANG Dong¹, ZHANG Peitong¹, WANG Yaohan¹, GUO Xiuwei¹, MA Xueman²

(1. Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing City, 100053; 2. Beijing University of Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To study the effect and the possible mechanism of ligustrazine on the adhesion of PG-BE1 stem like cells in the pulmonary giant cell carcinoma of human with high metastatic lung cancer. **Methods** The stem like cells were sorted from PG-BE1 cells by no serum ball culture, the expression of OCT-4, SOX-2, Nanog protein and the flat panel clone formation experiment were tested for verification. Then artificial basement membrane adhesion experiment was taken to compare the difference of adhesion between PG-BE1 stem like cells and its primary cells in different environments (normal oxygen and hypoxia). At the same time, the adhesion ability of stem like cells in each group with intervention of different concentrations of ligustrazine (final concentrations of 100, 300, 500 g/ml) and cisplatin (2 g/ml) were observed, the surface adhesion molecules beta integrin and the expression of CD44V6 in the stem like cells in each group were also observed after intervention. **Results** Compared with the primary cells, the PG-BE1 stem cells like cells were more capable of forming clone foci. The expression of SOX-2 OCT-4 and Nanog protein in the surface of stem like cells was stronger ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The adhesion ability of the normal oxygen stem like cells and the hypoxia stem like cells was significantly higher than that of the primary cells ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The adhesion ability of the stem like cells in ligustrazine groups with middle and high dose and cisplatin groups was lower than that in control group ($P < 0.01$). The rate of cell adhesion inhibition was up to 42.2% in the ligustrazine group with high dose. The expression of beta integrin and CD44V6 in the stem like cells of normal oxygen and hypoxia was higher than those of the primary cells ($P < 0.01$). The expression of beta integrin in groups of ligustrazine with low, middle and high dose and cisplatin group was lower than that of control group ($P < 0.01$). The expression of CD44V6 in the high dose group of ligustrazine was significantly lower than that in the control group ($P < 0.01$). **Conclusion** The adhesion of PG-BE1 stem like cells to the basement membrane is stronger than that of its primary cells. Ligustrazine can inhibit its adhesion ability; the underlying mechanism may be related to the inhibition of the expression of the integrin and CD44V6 protein in the cell surface.

Keywords ligustrazine; human pulmonary giant cell carcinoma; tumor stem cells; cell adhesion; beta integrin; CD44V6

(收稿日期: 2014-09-29; 修回日期: 2015-01-21)

编辑: 邓 媛

第六届国际中医妇科学术大会 暨世界中医药学会联合会中医妇科专业委员会成立 10 周年纪念大会 征 文 通 知

为促进国内外从事中医妇科领域学者进行学术交流, 加强中医药国际传播, 共同提高中医药防治妇科疾病水平, 由世界中医药学会联合会妇科专业委员会主办的“第六届国际中医妇科学术大会暨世界中医药学会联合会妇科专业委员会成立 10 周年纪念大会”, 以“女性生殖健康”为主题, 拟定 2015 年 9 月在中国长沙举行, 届时将举办“女性生殖健康高级研讨班”, 并设“潘高寿杯”丹鳖胶囊有奖征文活动, 评选优秀学术论文, 颁发一、二、三等奖。同时邀请国内外著名妇科专家进行专题讲座及大会学术交流。现将有关事宜通知如下。

一、征文内容: 1. 有效提高女性生殖健康的新技术、新方法 & 最新研究进展; 2. 有效提高女性生殖健康的中医诊疗优势及特色疗法; 3. 影响生殖健康的相关因素研究及卵巢早衰的中医药防治研究; 4. 不孕症与辅助生殖技术研究及子宫肌瘤与内异症防治研究; 5. 丹鳖胶囊组方研究、药理作用及临床应用; 6. 丹鳖胶囊药效基础及安全性研究等。

二、征文要求: 1. 论文要求未在公开杂志发表, 主题鲜明, 论据充分, 内容详实, 文责自负。2. 中英文论文均以 word 格式投稿, 全文篇幅在 4000 字左右。3. 所有论文一律采用电子投稿 (fkfh189@163.com)。4. 投稿截至日期: 2015 年 7 月 31 日。

三、会议负责人及联系方式: 刘丹卓, 13787132521, fkfh189@163.com