

脱氧雪腐镰刀菌烯醇对胃癌细胞增殖及细胞周期的影响

邢欣 刘静 邢凌霄 刘惠民 周炳娟 王俊灵 严霞 张祥宏*

(河北医科大学病理研究室, 石家庄 050017)

摘要 探讨脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)对体外培养的两株胃癌细胞(SGC-7901和BGC-823)增殖及细胞周期的影响。采用细胞培养、噻唑蓝(MTT)比色法、流式细胞定量检测(FCM)、蛋白质免疫印迹(Western印迹)以及免疫细胞化学染色(ICH)等方法,研究不同浓度DON处理72h对体外培养胃癌细胞的增殖、细胞周期及细胞周期相关蛋白——细胞周期蛋白依赖性激酶抑制蛋白(CKIs)P21^{WAF/CIP1}和细胞周期蛋白E(cyclinE)表达的影响。MTT法检测结果显示DON可明显抑制两株胃癌细胞的增殖,SGC-7901和BGC-823细胞100、500、1000 μg/L DON处理组的增殖抑制率分别为4.28%、36.20%、45.35%和14.89%、32.30%、51.61%。FCM检测结果显示,给予1000 μg/L DON处理72h可使两株细胞周期阻滞在G₂/M期。在100~1000 μg/L浓度范围内,两株细胞P21^{WAF/CIP1}表达量均高于对照组,P21^{WAF/CIP1}的表达与DON浓度呈显著正相关关系(SGC-7901细胞: $r=0.886$, $P<0.01$; BGC-823细胞: $r=0.943$, $P<0.01$);两株细胞的细胞周期蛋白E表达量均低于对照组,与DON浓度有明显剂量依赖关系(SGC-7901细胞: $r=-0.923$, $P<0.01$; BGC-823细胞: $r=-0.854$, $P<0.01$)。Western印迹及免疫细胞化学检测进一步证实了DON处理对蛋白质表达的影响。综合结果表明,DON可抑制体外培养胃癌细胞的增殖活性,G₂/M期阻滞、P21^{WAF/CIP1}表达增高及细胞周期蛋白E表达下降可能是DON抑制胃癌细胞增殖的可能机制,DON对分化程度不同的胃癌细胞的影响没有明显差别。

关键词 脱氧雪腐镰刀菌烯醇; 细胞周期; P21^{WAF/CIP1}; 细胞周期蛋白E

脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)又名呕吐毒素(vomitoxin, VT),是粮食和饲料中较普遍存在的一种单端孢霉烯族毒素^[1,2],也是我国食管癌、胃癌高发区最常见污染真菌毒素之一,DON在当地粮食中的检出量可达46.51~170.22 μg/kg^[2]。许多研究表明,DON有广泛的细胞毒性作用,可抑制正常细胞的分裂,抑制DNA和RNA的合成,抑制蛋白质等生物大分子的合成等作用^[3-5]。但有关DON生物效应的研究多集中于正常细胞,DON对肿瘤细胞作用的研究国内外少有报道。

为探讨DON对肿瘤的可能影响,本研究采用细胞培养、噻唑蓝(MTT)比色法、流式细胞定量分析(FCM)、蛋白质免疫印迹(Western印迹)以及免疫细胞化学染色(ICH)SP等方法观察了不同浓度DON对体外培养胃腺癌细胞——SGC-7901(高分化)、BGC-823(低分化)细胞增殖、细胞周期以及与细胞周期调控密切相关的细胞周期蛋白依赖性激酶抑制蛋白(CKIs)P21^{WAF/CIP1}和细胞周期蛋白E(cyclinE)的影

响。

1 材料与方法

1.1 材料

人胃癌细胞SGC-7901、BGC-823购自中国医学科学院实验动物中心;DON购自Sigma公司;RPMI-1640培养基购自Gibco BRL公司;小鼠抗人P21^{WAF/CIP1}单克隆抗体购自Santa Cruz公司;小鼠抗人细胞周期蛋白E购自NEOMARKERS公司;SP免疫组化试剂盒、DAB显色试剂盒购自北京中山生物技术有限公司。

1.2 试验分组

取对数生长期的人胃癌细胞株SGC-7901、BGC-823细胞,随机分组,根据前期预实验结果,实验组给予生理盐水稀释的DON,使其终浓度分别为

收稿日期: 2006-12-11 接受日期: 2007-06-07

* 通讯作者。Tel: 0311-86266229, E-mail: zhangxh@hebm.edu.cn

100、500、1 000 $\mu\text{g/L}$, 对照组给予等体积生理盐水, 继续培养 72 h, 收集细胞进行相关指标检测。

1.3 DON 对 SGC-7901、BGC-823 细胞增殖影响的 MTT 检测

取对数生长期 SGC-7901、BGC-823 细胞, 按 1×10^4 个/孔接种于 96 孔板, 待细胞进入对数生长期后, 更换培养基, 加入生理盐水稀释的 DON, 使其浓度为 100、500、1 000 $\mu\text{g/L}$, 每孔终体积为 200 μl , 同时设生理盐水对照孔和空白对照孔, 每组 4 孔, 于实验结束前 4 h 分别加入 20 μl 5 g/L MTT 溶液, 继续培养 4 h 后, 弃去上清液, 加入 150 μl 二甲基亚砜 (DMSO), 振荡器上震荡 10 min, 多功能微板分析仪检测 570 nm 的 A 值。通过下列公式计算细胞增殖抑制率: 增殖抑制率 (%) = (对照组 A_{570} 值 - 实验组 A_{570} 值) / 对照组 A_{570} 值 $\times 100\%$ 。

1.4 细胞周期及细胞周期相关蛋白表达的 FCM 检测

分别收集各组细胞, PBS 洗涤, 70% 乙醇固定, 调整细胞浓度为 4×10^8 个/L。按照文献^[6]方法分别进行溴化乙啶 (50 mg/L) 和免疫荧光染色, 采用 Epics-XLII 型流式细胞仪检测细胞周期及 P21^{WAF/CIP1}、细胞周期蛋白 E 表达情况, 以 Muticycle AV 软件进行细胞周期分析, 以荧光强度 (FI) 值表示蛋白质表达的强弱。

1.5 P21^{WAF/CIP1} 和细胞周期蛋白 E 表达的 Western 印迹分析

将收集的各组细胞分别用 PBS 洗涤, 加入预冷的细胞总蛋白裂解液, 提取细胞总蛋白, 考马斯亮蓝方法进行蛋白质定量。15% SDS-PAGE, 电转移于 PVDF 膜上, 5% 脱脂奶封闭过夜。一抗 (1:100) 37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 4 h, 二抗 (1:2 000) 37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 2 h, DAB 显色。Snygene 全自动凝胶成像分析系统分析 P21^{WAF/CIP1}、细胞周期蛋白 E 的表达, 以 β -肌动蛋白表达作为内参照, 以 P21^{WAF/CIP1}、细胞周期蛋白 E 与 β -肌动蛋白的比值分别表示 P21^{WAF/CIP1}、细胞周期蛋白 E 的相对表达量。

1.6 P21^{WAF/CIP1} 和细胞周期蛋白 E 表达的免疫细胞化学检测

取 SGC-7901 和 BGC-823 细胞, 消化、按 1×10^4 个/孔接种于事先放入灭菌盖玻片的 6 孔板中, 更换培养基后, 按终浓度 100、500、1 000 $\mu\text{g/L}$ 加入 DON, 对照组给予等体积生理盐水, 每孔终体积为 2 ml。继续培养 72 h, 生理盐水洗涤, 4% 多聚甲醛固定 30 min。常规 SP 方法分别进行两株细胞 P21^{WAF/CIP1}、

细胞周期蛋白 E 表达的免疫细胞化学染色。

以细胞胞浆及胞核内出现棕黄色颗粒状免疫反应阳性产物为 P21^{WAF/CIP1}、细胞周期蛋白 E 免疫细胞化学阳性的判定标准, 排除边缘细胞, 随机选取 10 个高倍视野, 计数每高倍视野阳性细胞百分数, 取平均值作为标记指数 (LI), $LI = (\text{视野中阳性细胞数}) / (\text{视野中阳性细胞数} + \text{阴性细胞数}) \times 100\%$ 。

1.7 统计学处理

各项数据均以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 SPSS12.0 统计软件进行单因素方差分析, 时效关系采用相关回归分析。

2 结果

2.1 DON 对胃癌细胞增殖影响的 MTT 法检测

结果表明, 500 和 1 000 $\mu\text{g/L}$ DON 处理组 SGC-7901 细胞增殖抑制率高于对照组 ($P < 0.05$), 而 BGC-823 细胞则各 DON 处理组增殖抑制率均明显高于对照组 ($P < 0.05$)。并且在 100~1 000 $\mu\text{g/L}$ DON 浓度范围内, 两株细胞增殖抑制率均随着 DON 浓度的升高而升高 (SGC-7901 细胞: $r = 0.802$, $P < 0.01$; BGC-823 细胞: $r = 0.952$, $P < 0.01$) (表 1)。

2.2 DON 对胃癌细胞周期影响的 FCM 检测结果

FCM 细胞周期分析结果表明, DON 处理 72 h, 随 DON 浓度从 100 $\mu\text{g/L}$ 增高至 1 000 $\mu\text{g/L}$, 体外培养 SGC-7901 和 BGC-823 细胞 G_0/G_1 期细胞比例分别由 $(54.17 \pm 2.61)\%$ 和 $(57.00 \pm 0.53)\%$ 下降至 $(22.40 \pm 4.67)\%$ 和 $(26.27 \pm 1.27)\%$, 而 G_2/M 期细胞比例则从 $(14.07 \pm 1.36)\%$ 和 $(14.10 \pm 1.31)\%$ 增加至 $(62.07 \pm 4.29)\%$ 和 $(55.73 \pm 0.12)\%$ 。500 $\mu\text{g/L}$ DON 组两株细胞 S 期细胞比例明显增高 ($P < 0.05$), 而 1 000 $\mu\text{g/L}$ DON 组两株细胞 S 期细胞比例明显降低 ($P < 0.05$)。研究结果提示, DON 处理可明显影响体外培养胃癌细胞的细胞周期分布, 较高浓度 DON (1 000 $\mu\text{g/L}$) 处理可以引起 SGC-7901 和 BGC-823 细胞 G_2/M 期阻滞 (表 2, 图 1、图 2)。

2.3 DON 对 P21^{WAF/CIP1} 表达的影响

Western 印迹检测结果显示, 两株胃癌细胞对照组与各 DON 处理组在 21 kDa 位置均出现了棕色的 P21^{WAF/CIP1} 免疫反应阳性条带, 随着 DON 处理浓度的增加阳性条带棕色逐渐加深。定量分析直方图显示, 各 DON 处理组 P21^{WAF/CIP1} 的相对含量均高于对照组 (图 3)。

免疫细胞化学检测结果显示, 500 和 1 000 $\mu\text{g/L}$

表1 MTT 检测 DON 对体外培养胃癌细胞增殖的抑制情况($\bar{x}\pm s, n=6$)

DON 处理组 ($\mu\text{g/L}$)	SGC-7901		BGC-823	
	A_{570}	抑制率(%)	A_{570}	抑制率(%)
0	0.6253 \pm 0.1342	0	0.3243 \pm 0.0206	0
100	0.5985 \pm 0.0842	4.28	0.2760 \pm 0.0215*	14.89
500	0.3989 \pm 0.0671*	36.20	0.2196 \pm 0.0128*	32.30
1 000	0.3417 \pm 0.0660*	45.35	0.1736 \pm 0.0319*	51.61

与对照组相比, * $P<0.05$ 。

表2 FCM 检测 DON 对体外培养胃癌细胞周期分布的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

细胞种类	DON 浓度($\mu\text{g/L}$)	G_0/G_1	S	G_2/M
SGC-7901	0	57.17 \pm 1.18	26.17 \pm 1.33	13.63 \pm 2.11
	100	54.17 \pm 2.61	31.77 \pm 1.46	14.07 \pm 1.36
	500	36.77 \pm 3.40*	45.40 \pm 5.11*	17.90 \pm 1.85
	1 000	22.40 \pm 4.67*	15.51 \pm 7.85*	62.07 \pm 4.29*
BGC-823	0	57.60 \pm 2.88	27.33 \pm 1.81	15.03 \pm 1.44
	100	57.00 \pm 0.53	28.93 \pm 1.07	14.10 \pm 1.31
	500	43.83 \pm 0.49*	38.07 \pm 2.32*	18.17 \pm 2.64*
	1 000	26.27 \pm 1.27*	18.00 \pm 1.37*	55.73 \pm 0.12*

与对照组相比, * $P<0.05$ 。

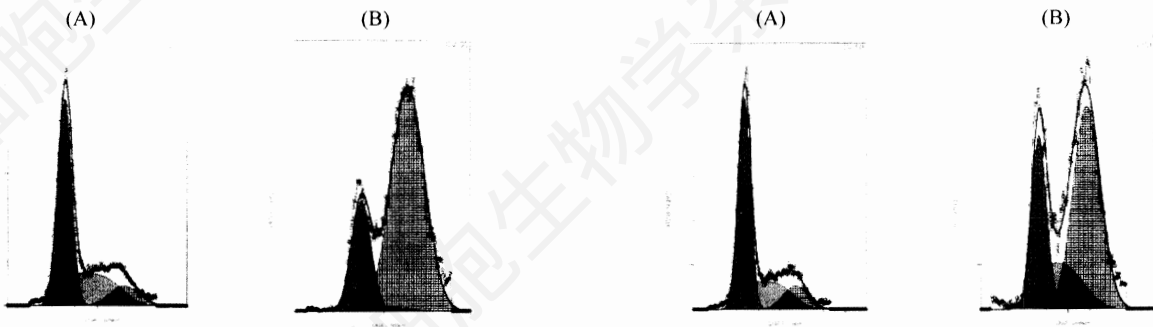


图1 DON 对体外培养 SGC-7901 细胞周期分布影响的 FCM 组方图, 示 DON 引起的 G_2/M 期阻滞

A: 0 $\mu\text{g/L}$ 组, G_0/G_1 : 57.9%, G_2/M : 11.4%; B: 1 000 $\mu\text{g/L}$ 组, G_0/G_1 : 21.9%, G_2/M : 76.0%。

图2 DON 对体外培养 BGC-823 细胞周期分布影响的 FCM 组方图, 示 DON 诱导的 G_2/M 期阻滞

A: 0 $\mu\text{g/L}$ 组, G_0/G_1 : 60.0%, G_2/M : 13.4%; B: 1 000 $\mu\text{g/L}$ 组, G_0/G_1 : 26.5%, G_2/M : 55.8%。

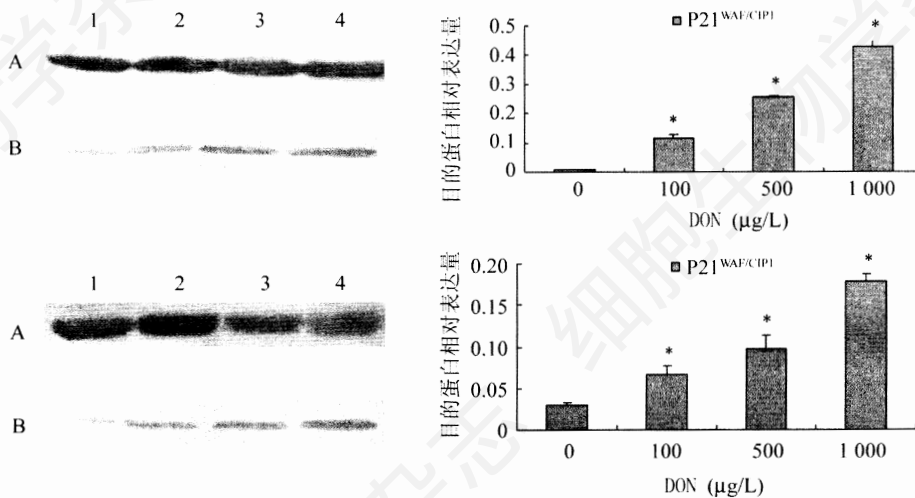


图3 各组 SGC-7901 和 BGC-823 细胞 P21^{WAF1/CIP1} 表达的 Western 印迹及定量分析结果

1: 0 $\mu\text{g/L}$ 组; 2: 100 $\mu\text{g/L}$ 组; 3: 500 $\mu\text{g/L}$ 组; 4: 1 000 $\mu\text{g/L}$ 组。A: β -肌动蛋白(42 kDa); B: P21^{WAF1/CIP1}(21 kDa)。左: 蛋白质印迹条带图; 右: 定量分析直方图。上: SGC-7901 细胞; 下: BGC-823 细胞。与对照组相比, * $P<0.05$ 。

DON 处理组 SGC-7901 细胞 P21^{WAF/CIP1} 阳性表达细胞百分率明显高于对照组, 而 BGC-823 细胞各 DON 处理组 P21^{WAF/CIP1} 表达阳性细胞百分率均明显高于对照组 ($P < 0.05$) (表 3, 图 4)。

FCM 检测结果与 Western 印迹和免疫细胞化学结果一致。并且在 100~1 000 $\mu\text{g/L}$ 的 DON 浓度范围内, P21^{WAF/CIP1} 表达量与 DON 浓度呈显著正相关关系 (SGC-7901 细胞: $r=0.886$, $P < 0.01$; BGC-823 细胞: $r=0.943$, $P < 0.01$) (表 3, 图 5)。

2.4 DON 对细胞周期蛋白 E 表达的影响

Western 印迹结果显示, 两株胃癌细胞对照组与各 DON 处理组在 50 kDa 位置均出现浅棕色的细胞周期蛋白 E 免疫反应阳性条带, 随着 DON 处理浓度

的增加, 阳性条带棕色逐渐减淡。定量分析直方图显示, SGC-7901 细胞 500 和 1 000 $\mu\text{g/L}$ DON 处理组细胞周期蛋白 E 的相对含量明显低于对照组, 而 BGC-823 细胞各 DON 处理组细胞周期蛋白 E 的相对含量均明显低于对照组 ($P < 0.05$) (图 6)。

免疫细胞化学染色结果表明, 各 DON 处理组 SGC-7901 细胞内细胞周期蛋白 E 的表达阳性细胞百分率均明显低于对照组, BGC-923 细胞 500 和 1 000 $\mu\text{g/L}$ DON 组阳性细胞百分率明显降低 ($P < 0.05$) (表 4, 图 7)。

FCM 检测结果与 Western 印迹和免疫细胞化学结果一致 ($P < 0.05$)。并且在 100~1 000 $\mu\text{g/L}$ 的 DON 浓度范围内, 细胞周期蛋白 E 表达量与 DON 浓度呈

表 3 FCM 和 ICH 检测 DON 对胃癌细胞 P21^{WAF/CIP1} 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

DON 处理浓度 ($\mu\text{g/L}$)	SGC-7901 细胞		BGC-823 细胞	
	ICH (%)	FCM (FI)	ICH (%)	FCM (FI)
0	63.42 \pm 5.12	1.00 \pm 0.05	18.30 \pm 2.97	1.00 \pm 0.03
100	63.76 \pm 7.01	1.06 \pm 0.06	24.68 \pm 5.36*	1.04 \pm 0.04
500	82.53 \pm 9.55*	1.11 \pm 0.02*	48.22 \pm 3.93*	1.11 \pm 0.01*
1 000	88.74 \pm 6.05*	1.20 \pm 0.03*	51.24 \pm 2.97*	1.20 \pm 0.02*

与对照组相比, * $P < 0.05$, ICH: $n=10$, FCM: $n=3$ 。

表 4 DON 对体外培养胃癌细胞内细胞周期蛋白 E 表达影响的 FCM 和 ICH 检测结果 ($\bar{x} \pm s$)

DON 处理浓度 ($\mu\text{g/L}$)	SGC-7901 细胞		BGC-823 细胞	
	ICH (%)	FCM (FI)	ICH (%)	FCM (FI)
0	14.01 \pm 2.62	1.00 \pm 0.03	31.09 \pm 0.54	1.00 \pm 0.03
100	11.46 \pm 2.16*	0.93 \pm 0.04*	29.89 \pm 0.70	0.90 \pm 0.02*
500	6.78 \pm 1.56*	0.85 \pm 0.02*	25.86 \pm 2.75*	0.90 \pm 0.01*
1 000	2.34 \pm 0.50*	0.78 \pm 0.02*	13.52 \pm 2.59*	0.81 \pm 0.04*

与对照组相比, * $P < 0.05$, ICH: $n=10$, FCM: $n=3$ 。

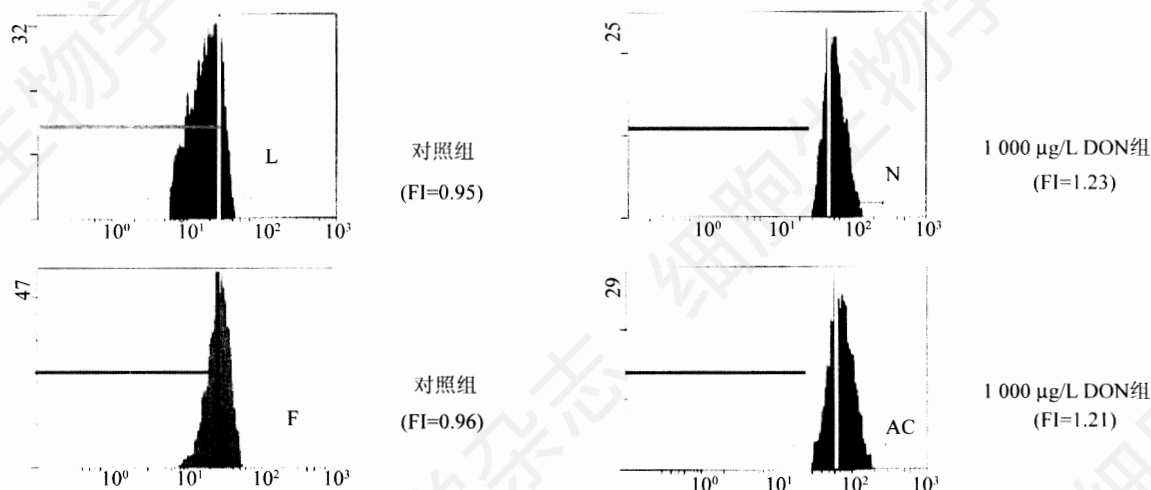


图 5 DON 对体外培养胃癌细胞 P21^{WAF/CIP1} 表达影响的 FCM 检测结果, 示 DON 处理组 P21^{WAF/CIP1} 表达增高上: SGC-7901 细胞; 下: BGC-823 细胞。

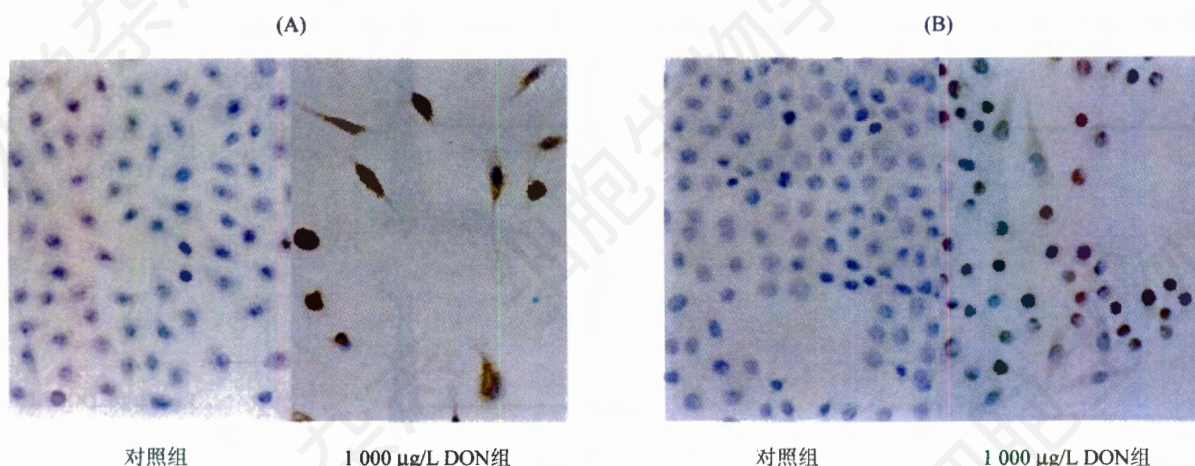


图 4 DON 对体外培养胃癌细胞 P21^{WAF/CIP1} 表达的影响, 示 DON 处理后 P21^{WAF/CIP1} 表达升高 ICC(SP 法), 400×。A: SGC-7901 细胞; B: BGC-823 细胞。

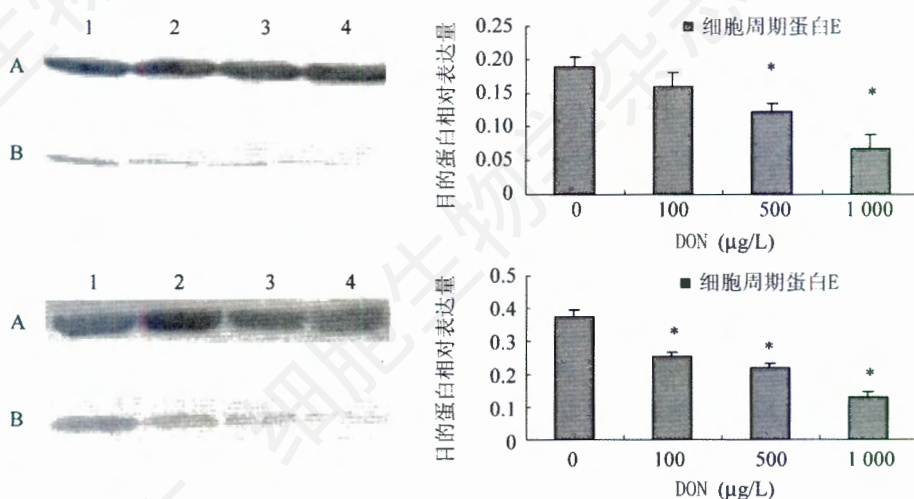


图 6 各组 SGC-7901 和 BGC-823 细胞内细胞周期蛋白 E 表达的 Western 印迹及定量分析结果

1: 0 μg/L 组; 2: 100 μg/L 组; 3: 500 μg/L 组; 4: 1 000 μg/L 组。A: β-肌动蛋白(42 kDa); B: 细胞周期蛋白 E(50 kDa)。左: 蛋白质印迹条带图; 右: 定量分析直方图。上: SGC-7901 细胞; 下: BGC-823 细胞。与对照组相比, *P<0.05。

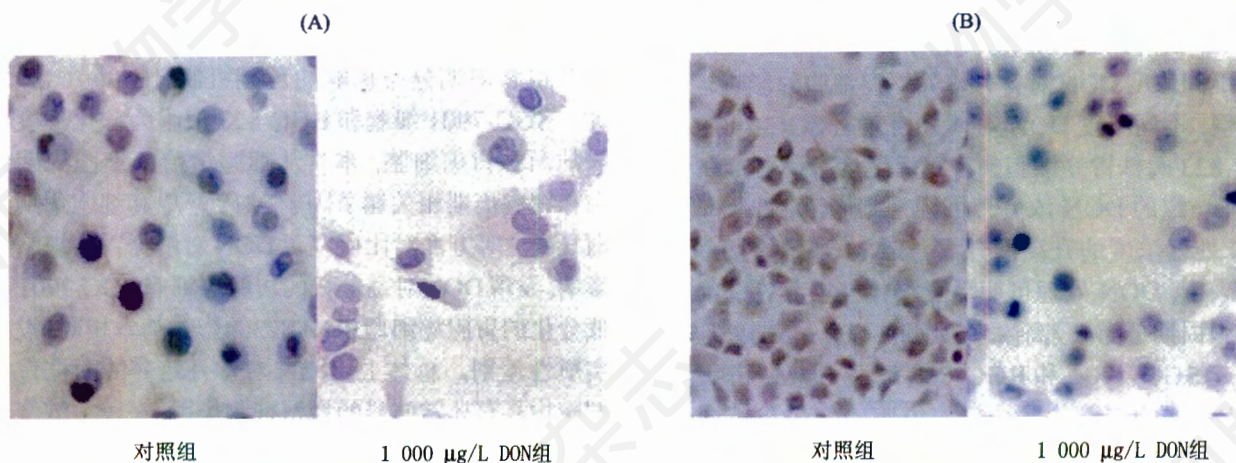


图 7 DON 对体外培养胃癌细胞内细胞周期蛋白 E 表达的影响, 示 DON 处理后细胞周期蛋白 E 表达降低 ICC(SP 法), 400×。A: SGC-7901 细胞; B: BGC-823 细胞。

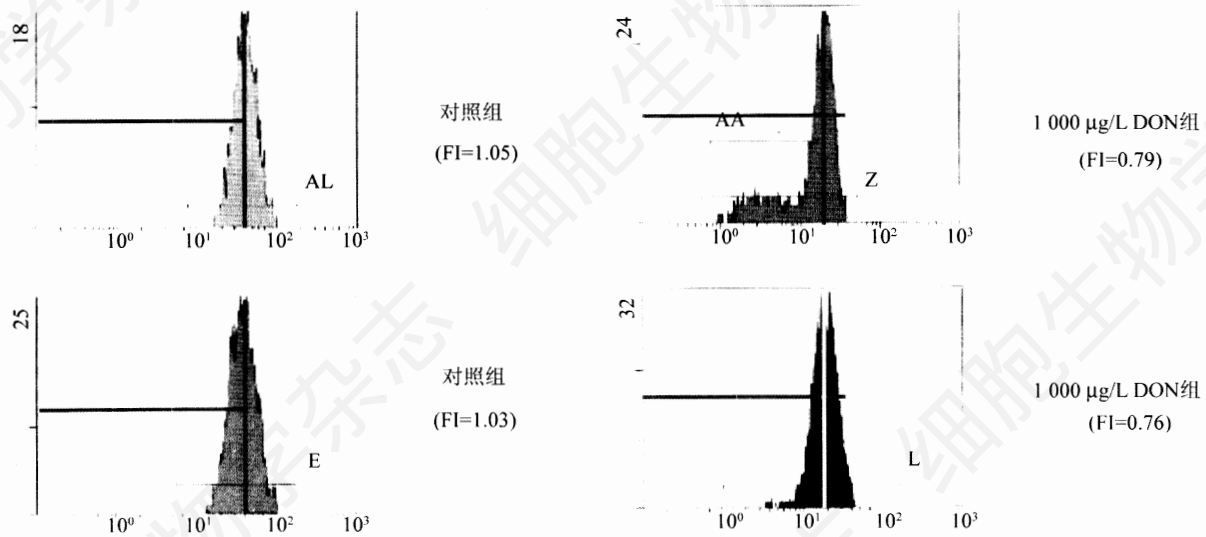


图8 DON对体外培养胃癌细胞内细胞周期蛋白E表达影响的FCM检测结果,示DON处理组细胞周期蛋白E表达降低
上: SGC-7901细胞;下: BGC-823细胞。

显著负相关关系(SGC-7901细胞: $r=-0.923$, $P<0.01$; BGC-823细胞: $r=-0.854$, $P<0.01$)(表4,图8)。

3 讨论

一般认为,肿瘤是机体在各种致癌因素的作用下发生的一类细胞周期疾病。细胞周期的变化及增殖活性的增强是肿瘤细胞的重要生物学特性。抑制生物大分子合成和细胞增殖、影响细胞周期分布是多种抗肿瘤药物治疗肿瘤的关键环节^[7,8]。已有研究表明,DON也具有抑制生物大分子合成,抑制正常免疫细胞增殖,诱导细胞发生凋亡等作用^[1,3,4,9]。但迄今为止,有关DON是否具有抗肿瘤生物效应的报道还很少见到。为探讨DON对肿瘤细胞增殖和细胞周期分布的影响,估价DON作为抗肿瘤化学物质的可能价值,本研究从细胞增殖和细胞周期角度,分析探讨了不同浓度DON对体外培养胃癌细胞的影响。研究发现,不同浓度DON对体外培养的SGC-7901和BGC-823两株胃癌细胞的增殖活性均有明显抑制作用,在一定的DON浓度范围内,细胞增殖抑制率随DON处理浓度的升高而升高。FCM细胞周期分析结果表明,DON处理可明显影响体外培养胃癌细胞的细胞周期分布,较高浓度DON(1 000 µg/L)处理可以引起SGC-7901和BGC-823细胞G₂/M期阻滞。DON对体外培养的两株胃癌细胞的作用与王会艳等^[3]报道的DON对体外培养人外周血单核细胞增殖和细胞周期影响的结果相似,提示DON对两株胃癌细胞的影响与DON对正常人外周血单个核细胞的影

响一致。

细胞周期蛋白(cyclins)是一组具有细胞周期特异性的蛋白质。细胞周期蛋白E是细胞周期G₁/S转换调控的一个正性调节因子,可与细胞周期蛋白依赖性激酶2(CDK2)结合并激活CDK2,使细胞由G₁期进入S期,在细胞增殖中起重要的作用^[10]。P21^{WAF/CIP1}是细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子(CDKI)家族的重要成员,在细胞周期调控方面发挥着重要作用^[7,11],细胞周期蛋白E的过度表达、P21^{WAF/CIP1}的表达降低及其相互作用与多种恶性肿瘤发生、发展密切相关^[12-14]。本研究探讨了DON对体外培养的两株胃癌细胞P21^{WAF/CIP1}和细胞周期蛋白E在蛋白质水平上表达的影响,结果发现DON可剂量依赖性地上调两株胃癌细胞P21^{WAF/CIP1}表达,同时使细胞周期蛋白E表达量降低。这可能是DON对两株胃癌细胞增殖抑制及细胞周期分布影响的可能机制之一。

SGC-7901细胞和BGC-823细胞为分化程度不同的两株胃癌细胞,本文从细胞增殖、细胞周期分布和细胞周期相关调节因子P21^{WAF/CIP1}和细胞周期蛋白E表达等方面对比研究了DON对两株胃癌细胞的影响,发现DON对高分化的胃腺癌细胞SGC-7901和低分化的胃腺癌细胞BGC-823的影响基本相同,没有实质性差别。总体上,DON对体外培养的两株胃癌细胞均具有非常明显的增殖抑制作用,在较大浓度时DON可引起明显的细胞G₂/M期阻滞。上调胃癌细胞P21^{WAF/CIP1}表达、下调细胞周期蛋白E表达可能是DON对胃癌细胞增殖抑制作用的重要机制之一。

参考文献(References)

- [1] Ohtani N *et al. Nature*, 2001, **409**: 1067
[2] Zhang XH *et al. Biomed Environ Sci*, 1998, **11**: 140
[3] 王会艳等. *卫生研究*, 2000, **29**: 387
[4] 王会艳等. *卫生研究*, 1999, **28**: 102
[5] Tiemann U *et al. J Anim Sci*, 2006, **84**: 236
[6] 左连富等. *中华肿瘤杂志*, 2002, **24**: 30
[7] Kuznetsov G *et al. Cancer Res*, 2004, **64**: 5760
[8] Dubner D *et al. Int J Radiat Biol*, 2004, **80**: 593
[9] 李月红等. *细胞生物学杂志*, 2005, **27**: 347
[10] Scott KA *et al. Br J Cancer*, 1997, **76**: 1288
[11] Shao ZM *et al. J Cell Biochem*, 1998, **69**: 44
[12] 赵朝辉等. *药学报*, 2004, **39**: 673
[13] 王建波等. *中华耳鼻咽喉科杂志*, 2003, **38**: 471
[14] Kim YT *et al. Yonsei Med J*, 2005, **46**: 597

Effects of Deoxynivalenol on Proliferation and Cell Cycle Distribution of Human Gastric Carcinoma Cell Line

Xin Xing, Jing Liu, Ling-Xiao Xing, Hui-Min Liu, Bing-Juan Zhou, Jun-Ling Wang, Xia-Yan, Xiang-Hong Zhang*
(Laboratory of Experimental Pathology, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

Abstract To explore the putative effects of deoxynivalenol (DON) on the proliferation and the cell cycle distribution of SGC-7901 and BGC-823 cells *in vitro*. SGC-7901 and BGC-823 cells were treated with DON at different concentrations for 72 h. The effects of DON on the cell proliferation and cell cycle distribution of the two cell lines *in vitro* were determined with MTT and flow cytometric (FCM) DNA analysis, while that on the expression of P21^{WAF/CIP1} and cyclin E at protein level were studied with immunocytochemical (ICH) staining and Western blotting. MTT results showed that DON treatment could significantly inhibit the proliferation of the two cell lines. The inhibition rate of DON at 100, 500 and 1 000 µg/L was 4.28%, 36.20% and 45.35% for SGC-7901 and 14.89%, 32.30% and 51.61% for BGC-823 respectively. FCM cell cycle analysis revealed that G₂/M arrest could be induced by 1 000 µg/L DON treatment for 72 h for both cell lines. Within the concentration range from 100 µg/L to 1 000 µg/L, DON could significantly increase the expression of P21^{WAF/CIP1}. A significant dose-effect correlation could be found between DON concentration and the intensity of P21^{WAF/CIP1} expression at protein level for both cell lines (SGC-7901: $r=0.886$, $P<0.01$; BGC-823: $r=0.943$, $P<0.01$). While the expression of cyclin E was significantly decreased by DON in a dose-dependent way in the two cell lines (SGC-7901: $r=-0.923$, $P<0.01$; BGC-823: $r=-0.854$, $P<0.01$). The results of immunocytochemical staining and Western blotting confirmed that DON could increase the expression of P21^{WAF/CIP1}, while decrease that of cyclin E in both two cell lines. Thus, the results in this study suggested that DON could significantly inhibit the proliferation of gastric carcinoma SGC-7901 and BGC-823 cells *in vitro*, and the possible mechanism of the proliferation inhibiting effects of DON may be G₂/M arrest and the increase of the expression of P21^{WAF/CIP1} and decrease of cyclin E. No significant differences were found in the effects of DON on the two different gastric carcinoma cell lines.

Key words deoxynivalenol; cell cycle; P21^{WAF/CIP1}; cyclin E

Received: December 11, 2006 Accepted: June 7, 2007

*Corresponding author. Tel: 86-311-86266229, E-mail: zhangxh@hebmu.edu.cn