

## 重组人生长激素对人胃癌 MGC803 细胞生长的影响

常见荣<sup>1</sup> 魏练平<sup>2</sup> 王荣海<sup>3</sup> 宋礼华<sup>1,3</sup>

**摘要** 目的 探究重组人生长激素 (rhGH) 对人胃癌 MGC803 细胞生长的影响。方法 采用 Western blot 法检测 MGC803 与 MKN45 两种胃癌细胞生长激素受体 (GHR) 蛋白的表达以及实时定量 PCR (qRT-PCR) 法检测二者 GHR mRNA 的相对表达量。采用 MTT 法检测在无血清同步 24 h、3% 胎牛血清 (FBS) 给药培养基条件下, 不同浓度 rhGH 作用不同时间对 MGC803 细胞增殖的影响。采用流式细胞术及 Western blot 法测定不同浓度的 rhGH 对 MGC803 细胞周期及相关信号通路节点蛋白表达的影响。结果 Western blot 与 qRT-PCR 结果表明, MGC803 细胞在蛋白以及 mRNA 水平都被验证为 GHR 阳性表达的细胞株, 具有发挥作用的生物学基础。MTT 结果表明, 在含 3% FBS 的给药培养基条件下, 不同浓度的 rhGH 对 MGC803 细胞有促增殖作用, 但不同 rhGH 浓度组之间差异无统计学意义。细胞周期的结果表明, 与对照组比较, rhGH 给药组增殖指数 (PI) 升高。Western blot 结果显示, 在 rhGH 作用下, 磷酸化酪氨酸蛋白激酶 2 (p-JAK2)、磷酸化信号转导和转录活化因子 3 (p-STAT3)、磷酸化丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (p-AKT) 和磷酸化细胞外调节蛋白激酶 (p-ERK) 等信号蛋白表达上调。结论 在 3% FBS 培养条件下, rhGH 促进 MGC803 细胞增殖, 与激活 JAK2-STAT3 通路、上调下游 p-AKT 及 p-ERK 的表达有关。**关键词** 重组人生长激素; 胃癌; MGC803; 生长激素受体; JAK-STAT3 通路

中图分类号 R 735.2; R 341; R 969

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)10-1411-06  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2016.10.004

临床上, 严重的蛋白营养不良和负氮平衡是影响肿瘤治疗疗效和患者生存质量的首要制约因素, 也是晚期肿瘤患者的主要死亡原因, 单纯的营养支持并不能改善肿瘤患者的恶液质状态。生长激素

(growth hormone, GH) 是由垂体分泌的合成类激素, 具有促进蛋白质合成、纠正负氮平衡状态、调节免疫功能等作用, 对于临床上肿瘤患者恶液质的改善具有重要意义。但 GH 作为一种生长因子能否用于肿瘤患者的治疗一直存在争议, 争议的焦点在于 GH 在营养支持的同时是否会促进肿瘤的增殖<sup>[1-2]</sup>, 因此探讨 GH 对肿瘤增殖的影响具有重要的意义。胃癌是源自胃黏膜上皮的恶性肿瘤, 患者往往会出现负氮平衡与恶液质状态<sup>[3-4]</sup>, 严重影响了胃癌患者的生存质量, 该研究初步探究重组人生长激素 (recombinant human growth hormone, rhGH) 体外对胃癌细胞株增殖的影响, 为 rhGH 对肿瘤增殖的影响提供参考。

### 1 材料与方法

**1.1 主要试剂和仪器** MGC803、MKN45 人胃癌细胞株购自北京医学科学院; 注射用 rhGH 由安徽安科生物工程 (集团) 股份有限公司提供; TRIzol Reagent (美国 Invitrogen 公司); PrimeScript™ RT Master Mix (Perfect Real Time) 与 SYBR™ Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus) 试剂盒 (日本 Takara 公司); GHR、 $\beta$ -actin 引物由上海生工公司合成; MTT (美国 Sigma 公司); RPMI-1640 改良型培养基、双抗 (青霉素) (美国 Hyclone 公司); 胎牛血清 (上海生工公司); 细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒 (上海碧云天生物研究所); GHR 单克隆抗体 (英国 Abcam 公司); 酪氨酸蛋白激酶 2 (janus kinase2, JAK2)、信号转导和转录活化因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (serine/threonine kinase, AKT)、细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinase 1/2, ERK1/2)、磷酸化 AKT、磷酸化 ERK、磷酸化 STAT3、磷酸化 JAK2 等单克隆抗体 (美国 Cell Signaling Technology 公司);  $\beta$ -actin 单克隆抗体 (北京锐抗生物科技有限公司); 辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔、山羊抗鼠抗体以及预染蛋白 Marker (美国 Thermo 公司); 实时定量 PCR (qRT-PCR) 仪 (美国

2016-05-30 接收

作者单位: <sup>1</sup>安徽医科大学生物化学与分子生物学教研室, 合肥 230032<sup>2</sup>安徽农业大学生命科学学院, 合肥 230061<sup>3</sup>安徽安科生物工程 (集团) 股份有限公司, 合肥 230000

作者简介: 常见荣, 女, 硕士研究生;

宋礼华, 男, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: Sonlh@ankebio.com

Applied Biosystems 公司); Emax Plus 酶标仪、FACS Verse 流式细胞仪(美国 MD 公司); ChemiScope 3600 Pro 化学发光成像系统(上海勤翔公司)。

## 1.2 方法

### 1.2.1 Western blot 法检测 GHR 的表达

正常培养 MGC803 与 MKN45 两种细胞。待细胞生长至对数期, 弃去上清液并用预冷的 PBS 洗去残留培养基后, 加入含有蛋白酶抑制剂的细胞裂解液 400  $\mu$ l, 冰上放置 15 min 充分裂解。分别用细胞刮刀收集后, 转移至干净的离心管中, 4  $^{\circ}$ C、15 000 r/min 离心 15 min, 取上清液。利用 BCA 试剂盒定量检测蛋白浓度, 根据测出浓度值加入适量含 DTT 的上样缓冲溶液, 调整两样品最终蛋白浓度相等, 沸水浴 8 min。等体积上样, 聚丙烯酰胺凝胶电泳 2 h, 通过转膜将胶上蛋白转移至 PVDF 膜上。经过 5% BSA 封闭、一抗 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜, 辣根过氧化物酶标记的二抗孵育 1.5 ~ 2 h, 凝胶自动成像系统对于覆盖 ECL 发光液的膜条进行扫描, 最终获得 GHR 以及  $\beta$ -actin 的蛋白表达结果图。

### 1.2.2 qRT-PCR 法检测细胞内 GHR mRNA 的表达

取正常培养的细胞, 控制细胞数在一定范围(  $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$  个), 加入 1 ml TRIzol 试剂提取细胞内总 RNA。利用超微量紫外分光光度计测得 RNA 浓度并得到光密度(optical density, OD) 值, 计算  $OD_{260}/OD_{280}$ , 纯 RNA 的  $OD_{260}/OD_{280}$  范围为 1.7 ~ 2.0。根据所提取的 RNA 样品浓度, 利用 Prime-Script<sup>TM</sup> RT Master Mix(Perfect Real Time) 试剂盒构成适当的体系(10  $\mu$ l) 并逆转录得到 cDNA, 逆转录条件为 37  $^{\circ}$ C、15 min(反转录反应), 85  $^{\circ}$ C、5 s(反转录酶的失活反应)。逆转录所得的产物作为 qRT-PCR 的模板, 根据 SYBR<sup>TM</sup> Premix Ex Taq<sup>TM</sup> II (Tli RNaseH Plus) 试剂盒构成总体积为 20  $\mu$ l 的反应体系, 设置 MKN45 组以及 MGC803 组, 以  $\beta$ -actin 为内参, 所用引物<sup>[5-6]</sup> 见表 1。qRT-PCR 反应条件为 95  $^{\circ}$ C、20 s, 95  $^{\circ}$ C、3 s, 60  $^{\circ}$ C、30 s, 重复 40 个循环。溶解曲线的条件为 95  $^{\circ}$ C、15 s, 60  $^{\circ}$ C、1 min, 95  $^{\circ}$ C、

15 s。根据最终反应所得的 CT 值, 计算出  $2^{-\Delta\Delta CT}$  值, 从而得出两种细胞 GHR mRNA 的相对表达量。

### 1.2.3 MTT 法测定细胞增殖

取对数生长期的 MGC803 细胞, 调整细胞浓度为  $5 \times 10^7$  /L, 分别接种于 3 块 96 孔板中, 每孔 100  $\mu$ l, 贴壁生长。待细胞贴壁后, 倾去培养基, 每孔加入 200  $\mu$ l 无血清培养基饥饿处理。24 h 后倾去无血清培养基并分别加入给药培养基(含 3% FBS) 配置的终浓度为 25、100、400  $\mu$ g/L 的 rhGH 180  $\mu$ l/孔。同时设置对照组, 每组设 6 个复孔。药物作用 24、48、72 h 后, 分别取出 96 孔板, 每孔加入 20  $\mu$ l MTT, 孵育 4 ~ 6 h 后, 缓慢吸弃上清液, 每孔加 150  $\mu$ l DMSO 并振荡溶解 10 min, 酶标仪检测各孔 OD 值, 波长为 490 nm。相对增殖率(%) = (实验组 OD 值/对照组 OD 值)  $\times$  100%。根据以上步骤, 重复 3 次, 得出不同药物浓度、不同时间对于 MGC803 细胞增殖的影响。

### 1.2.4 流式细胞仪检测细胞周期

将对数生长期的 MGC803 细胞铺于 60 mm 一次性无菌平皿中, 贴壁生长后弃去上清液, 加无血清培养基饥饿处理 24 h。分为对照组以及给药组, 根据 MTT 结果设置给药组 rhGH 浓度为 100  $\mu$ g/L。分别作用 4、8、12、24 h 后, 0.25% 胰酶消化收集细胞。参考试剂盒说明书进行处理, 最后上机检测。

根据以上实验结果, 得到 rhGH 作用效果的最佳时间, 再设置不同 rhGH 浓度(对照组、25、100、400  $\mu$ g/L) 作用 MGC803 细胞固定时间后, 0.25% 胰酶消化, 收取细胞, 根据试剂盒操作处理, 上机检测。以上同法重复 3 次。采用 modifit 软件进行细胞 DNA 含量分析, 得到药物作用时间以及浓度对于 MGC803 细胞增殖指数(PI) 的影响,  $PI(\%) = (S + G2/M) / (G0/G1 + S + G2/M) \times 100\%$ 。

### 1.2.5 Western blot 法检测 rhGH 作用后细胞内相关信号通路节点蛋白的表达

取处于对数生长期的 MGC803 细胞铺于 4 个 100 mm 一次性培养皿中, 待细胞贴壁后倾去上清液, 加无血清培养基饥饿处理 24 h。待无血清饥饿结束, 每皿加入 9 ml 含药培养基(含 3% FBS), rhGH 终浓度分别为 0、25、100、400  $\mu$ g/L。给药作用半小时后弃去上清液, 裂解细胞收取蛋白, 处理步骤与 1.2.1 方法相同。检测的信号蛋白有 JAK2、STAT3、AKT、ERK、p-JAK2、p-STAT3、p-AKT、p-ERK 以及  $\beta$ -actin, 利用 Quantity One 软件对所测蛋白的灰度值进行分析。

表 1 qRT-PCR 法检测细胞内 GHR mRNA 的表达所用引物

基因名称	引物序列(5'-3')
$\beta$ -actin	F: GCACAGAGCCTCGCCTT
	R: CCTTGCACATGCCGGAG
hGHR	F: GCGAGAGACTTTTTCATGCC
	R: TCAGGGCATTCTTTCCATTTC

1.3 统计学处理 应用 SPSS 16.0 软件进行分析, 计量数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用两独立样本  $t$  检验以及单因素方差分析。

## 2 结果

### 2.1 Western blot 法检测两种细胞 GHR 的表达

MGC803 与 MKN45 的 GHR 表达见图 1, MKN45 细胞 GHR 表达呈阴性, 而 MGC803 细胞 GHR 则呈阳性表达。

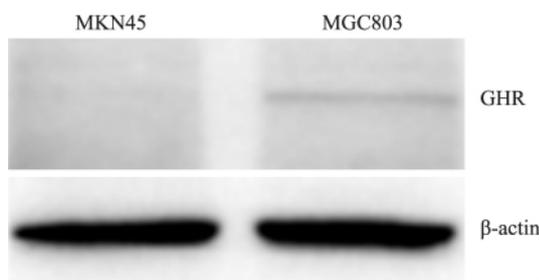


图1 MKN45 与 MGC803 细胞 GHR 的表达

### 2.2 qRT-PCR 法检测两种细胞内 GHR mRNA 的表达

MKN45 与 MGC803 细胞 GHR mRNA 相对表达量结果见图 2。MGC803 细胞 GHR mRNA 与 MKN45 细胞比较, 差异有统计学意义 ( $t = 24.076, P < 0.05$ )。

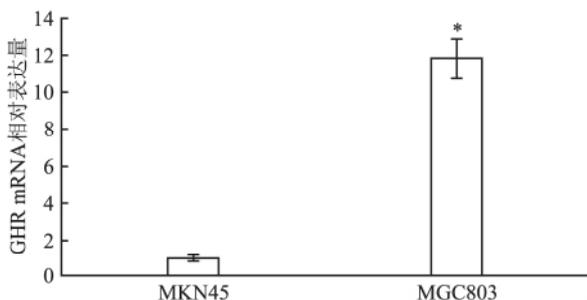


图2 MKN45 与 MGC803 细胞 GHR mRNA 相对表达量与 MKN45 比较: \*  $P < 0.05$

综合以上两种方法对于 GHR 以及 GHR mRNA 的检测, Western blot 结果显示 MKN45 细胞呈 GHR 阴性表达, 且 qRT-PCR 结果也显示其 GHR mRNA 明显低于 MGC803 细胞, 说明 MGC803 是 GHR 阳性表达的细胞株。故此后续实验主要研究对象为 MGC803 细胞。

### 2.3 MTT 法检测 rhGH 对 MGC803 细胞增殖的影响

#### 2.3.1 rhGH 作用时间对 MGC803 细胞增殖的影响

在 3% FBS 培养条件下, 与对照组 ( $0.428 \pm 0.034$ 、 $0.945 \pm 0.058$ 、 $1.335 \pm 0.069$ ) 比较, 浓度为  $100 \mu\text{g/L}$  的 rhGH 作用 24 h ( $0.492 \pm 0.035$ )、48 h ( $1.127 \pm 0.069$ ) 以及 72 h ( $1.514 \pm 0.046$ ) 对 MGC803 细胞均有促进增殖作用, 且差异有统计学意义 ( $t = 3.629$ 、 $5.726$ 、 $6.074, P < 0.05$ )。与同时对照组比较, 24 h 时给药组相对增殖率为 114.9% ( $t = 4.847, P < 0.05$ )、48 h 以及 72 h 给药组相对增殖率分别 119.2% ( $t = 8.390, P < 0.05$ ) 以及 113.4% ( $t = 6.421, P < 0.05$ ), 差异均有统计学意义, 见图 3、4。

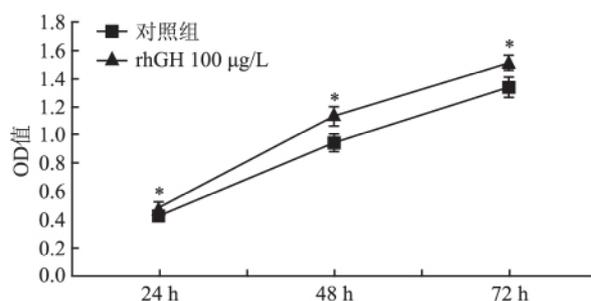


图3 对照组与  $100 \mu\text{g/L}$  rhGH 作用 MGC803 细胞不同时间 OD 值变化与同时对照组比较: \*  $P < 0.05$

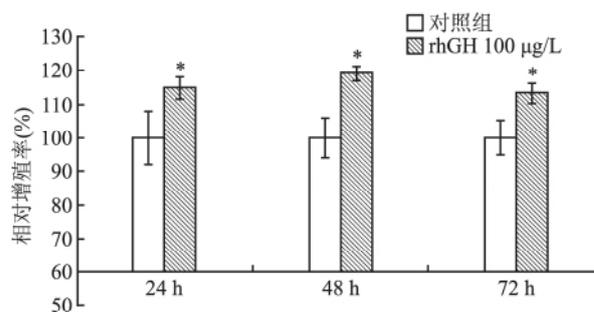


图4  $100 \mu\text{g/L}$  rhGH 作用 MGC803 细胞不同时间的相对增殖率与同时对照组比较: \*  $P < 0.05$

#### 2.3.2 不同浓度 rhGH 对 MGC803 细胞增殖的影响

在 3% FBS 培养条件下, rhGH 浓度分别为 25、100、 $400 \mu\text{g/L}$ 。不同浓度 rhGH 分别作用 MGC803 细胞 24、48、72 h 时均表现出促进增殖的作用, 给药组 OD 值与对照组比较差异均有统计学意义 ( $F = 6.836$ 、 $13.577$ 、 $18.273, P < 0.05$ ), 但同一时间各浓度组之间差异无统计学意义, 见图 5。

### 2.4 流式细胞仪检测 rhGH 对 MGC803 细胞周期的影响

表2 rhGH 作用 MGC803 细胞不同时间周期变化及增殖指数( % n = 3  $\bar{x} \pm s$ )

项目	作用时间	G0/G1 期	S 期	G2/M 期	PI
对照组	4 h	76.62 ± 0.66	17.30 ± 0.54	6.09 ± 1.21	23.38 ± 0.66
	8 h	61.18 ± 0.61	26.77 ± 0.48	12.05 ± 0.13	38.82 ± 0.61
	12 h	77.02 ± 0.64	17.10 ± 0.21	5.89 ± 0.85	22.99 ± 0.64
	24 h	61.97 ± 0.88	26.11 ± 1.08	11.93 ± 0.21	38.03 ± 0.88
rhGH 100 μg/L	4 h	69.95 ± 0.86	21.01 ± 0.47*	9.05 ± 0.39	30.06 ± 0.86*
	8 h	58.57 ± 0.82	30.54 ± 1.03	10.9 ± 0.21	41.43 ± 0.82
	12 h	75.38 ± 0.22	18.29 ± 0.76	6.34 ± 0.54	24.63 ± 0.13
	24 h	59.96 ± 0.04	28.05 ± 0.64	11.99 ± 0.25	40.04 ± 0.38

与同时时间对照组比较: \* P < 0.05

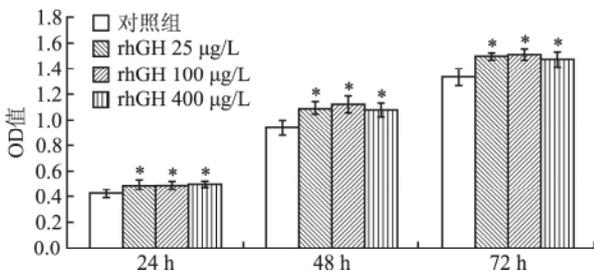


图5 不同浓度 rhGH 对 MGC803 细胞增殖的影响  
与对照组比较: \* P < 0.05

**2.4.1 rhGH 作用不同时间对 MGC803 细胞周期的影响** rhGH 对于 MGC803 细胞的影响随着时间的变化而呈现不同的作用。结果显示, rhGH 作用 MGC803 细胞 4 h 时, 给药组与对照组比较差异有统计学意义( P < 0.05)。可推断, rhGH 作用 MGC803 细胞 4 h 可能为最优条件, 见表 2。

**2.4.2 不同浓度 rhGH 作用 MGC803 细胞 4 h 对细胞周期的影响** 依据公式可算得 PI 值, 与对照组比较, 给药组 PI 有不同程度的增加。对照组 PI 为 39.83%, 给药组 PI 依次为 45.95%、46.64%、42.83%, 说明 rhGH 促使 MGC803 细胞由 G0/G1 期向 S 期、G2/M 期转变, 促进细胞增殖, 见图 6。

**2.5 Western blot 法检测细胞内相关信号通路蛋**

白表达 给药组 p-JAK2、p-STAT3、p-AKT、p-ERK 的表达水平均有上调, 其中 p-JAK2/JAK2 低浓度组与对照组差异无统计学意义, 随着 rhGH 给药浓度的增加, 给药组与对照组灰度比差异有统计学意义( F = 13.407, P < 0.05), 同时给药组 p-STAT3/STAT3 和 p-AKT/AKT 与对照组比较均有不同程度上调, 且差异有统计学意义( F = 9.050、9.936, P < 0.05), 但给药组间差异无统计学意义。给药组 p-ERK/ERK 与对照组比较蛋白水平明显上调, 差异有统计学意义( F = 3.727E3, P < 0.01)。见图 7。

**3 讨论**

rhGH 是否促进肿瘤的增殖是介入肿瘤治疗的关键因素。从分子机制看, 细胞膜表面 GHR 的表达是 GH 影响肿瘤细胞增殖的生物学基础<sup>[7-10]</sup>。最初选取了两株人胃癌细胞株作为研究对象, 探讨二者 GHR 的表达情况。Western blot 结果显示, MGC803 呈 GHR 阳性表达, 而 MKN45 则呈阴性。qRT-PCR 结果显示, 人胃癌 MGC803 细胞株 GHR mRNA 相对表达量明显多于人胃癌 MKN45 细胞株, 差异有统计学意义。说明 rhGH 确实存在促进 MGC803 细胞增殖的生物学基础。由于体外 rhGH 发挥作用的第一步是与 GHR 结合<sup>[11]</sup>, 故此后续实

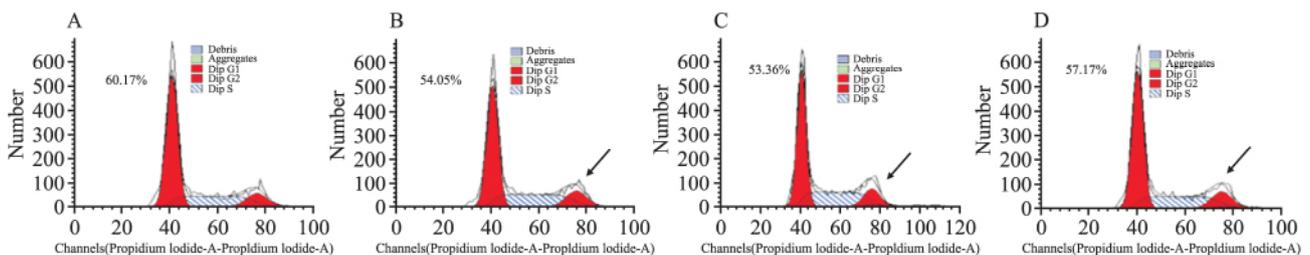


图6 不同浓度 rhGH 对 MGC803 细胞周期的影响  
A: 对照组; B: 25 μg/L rhGH; C: 100 μg/L rhGH; D: 400 μg/L rhGH

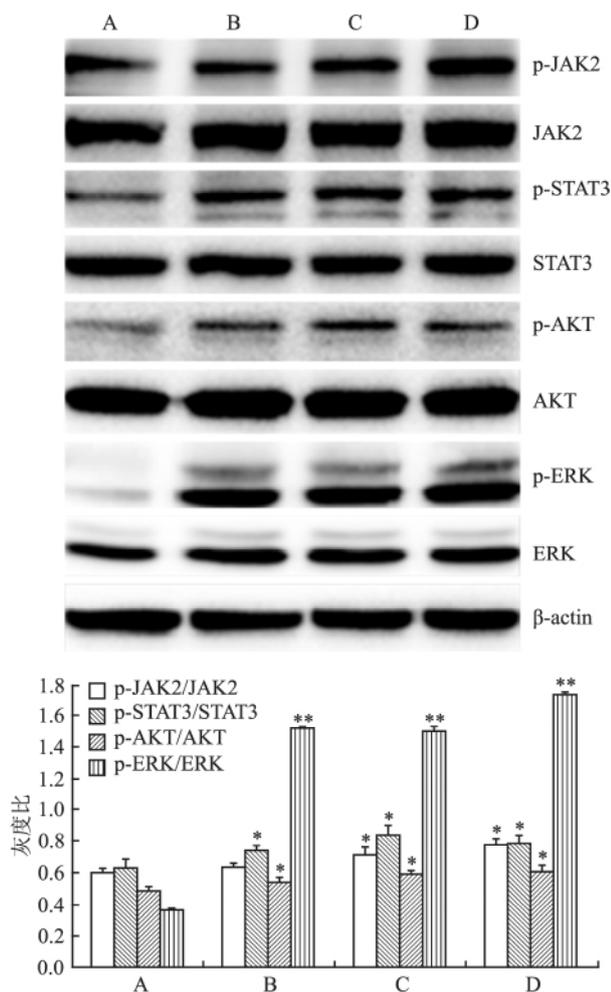


图7 不同浓度 rhGH 作用 MGC803 细胞相关信号通路蛋白表达  
A: 对照组; B: rhGH 25  $\mu\text{g/L}$ ; C: rhGH 100  $\mu\text{g/L}$ ; D: rhGH 400  $\mu\text{g/L}$ ; 与对照组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

验主要研究对象为 MGC803 细胞。

MTT 实验表明 3% FBS 培养条件下(为降低血清生长因子对实验的影响) rhGH 对 MGC803 的增殖有促进作用 ( $P < 0.05$ )。进一步研究显示,在无血清饥饿处理 24 h 后, rhGH 能促进 MGC803 细胞由 G0/G1 期向 S 期、G2/M 期转变。Western blot 结果显示 rhGH 能不同程度上调 MGC803 细胞 p-JAK2、p-STAT3、p-AKT、p-ERK 的表达水平。其中 p-AKT 与 p-ERK 是 JAK2-STAT3 信号通路的下游信号蛋白, p-ERK 被认为可以从细胞质入核,介导诸多基因转录,从而促进细胞增殖<sup>[12]</sup>。而 AKT 是 PI3K-AKT-mTOR 经典信号通路的重要组成部分, p-AKT 的上调能够激发下游蛋白,引发一系列细胞增殖以及抑制细胞凋亡的反应<sup>[13]</sup>。由此可见,本研究中 rhGH 在低血清水平下,可能通过与 GHR 结合,激活

JAK2-STAT3 信号通路,进一步上调 p-AKT 与 p-ERK,从而促进 GHR 阳性表达的 MGC803 细胞的增殖与细胞周期的改变。

实验设置 3 个 rhGH 给药浓度,以生理浓度 25  $\mu\text{g/L}$  为低浓度,临床药理浓度 100  $\mu\text{g/L}$  为中浓度,400  $\mu\text{g/L}$  为高浓度<sup>[14]</sup>。在 MTT 实验及流式细胞周期实验中,均没有表现出浓度依赖性,3 种浓度的 rhGH 对下游信号蛋白磷酸化水平的调节差异亦无统计学意义。与对照组比较, rhGH 能够促进 MGC803 细胞株的增殖 ( $P < 0.05$ ),但与生理浓度 (25  $\mu\text{g/L}$ ) 比较, rhGH 临床药理浓度 (100  $\mu\text{g/L}$ ) 及高浓度 400  $\mu\text{g/L}$  未表现出增殖差异。推测这与细胞内 GHR 受体的表达量以及 GH 饱和有关,研究<sup>[15]</sup>显示 2 分子的 GHR 结合 1 分子的 GH 形成二聚化,是 GH 发挥生物学功能的基础,而当 GH 浓度超出细胞内 GHR 所能结合的范围,1 个受体分子与 1 个 GH 分子结合,将阻止受体二聚化,从而不能发挥信息传递的功能。

综上所述, rhGH 在体外对 MGC803 细胞的生长有促进作用。此外,与体外研究相比, rhGH 在体内对肿瘤细胞增殖的影响更加复杂。 rhGH 在体内不仅可以与肿瘤表面 GHR 结合,直接或间接通过 IGF-1 影响肿瘤增殖,也可以与肝脏 GHR 结合,通过循环 IGF-1 作用于肿瘤细胞<sup>[16]</sup>。而 rhGH 作用下机体营养与免疫的改善对肿瘤的增殖也会产生影响。 rhGH 是否能应用于肿瘤患者以及对 MGC803 细胞的体内影响受多种因素调控而可能呈现不同的反应,将通过动物模型进一步研究。

## 参考文献

- [1] Couch M E, Dittus K, Toth M J, et al. Cancer cachexia update in head and neck cancer: Pathophysiology and treatment [J]. Head Neck 2015, 37(7): 1057-72.
- [2] Clayton P E, Banerjee I, Murray P G, et al. Growth hormone, the insulin-like growth factor axis, insulin and cancer risk [J]. Nat Rev Endocrinol 2011, 7(1): 11-24.
- [3] Li G, Hu Y, Liu H. Current status of randomized controlled trials for laparoscopic gastric surgery for gastric cancer in China [J]. Asian J Endosc Surg, 2015, 8(3): 263-7.
- [4] Huhmann M B, Cunningham R S. Importance of nutritional screening in treatment of cancer-related weight loss [J]. Lancet Oncol, 2005, 6(5): 334-43.
- [5] Nakonechnaya A O, Jefferson H S, Chen X, et al. Differential effects of exogenous and autocrine growth hormone on LNCaP prostate cancer cell proliferation and survival [J]. J Cell Biochem,

- 2013, 114(6): 1322–35.
- [6] Hashemi A, Roohvand F, Ghahremani M H. Selection of valid reference genes for expression studies of hepatic cell lines under IFN- $\alpha$  treatment [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 426(4): 649–53.
- [7] Franklin S L, Geffner M E. Growth hormone: the expansion of available products and indications [J]. *Pediatr Clin North Am*, 2011, 58(5): 1141–65.
- [8] Kenth G, Mergelas J A, Goodyer C G. Developmental changes in the human GH receptor and its signal transduction pathways [J]. *J Endocrinol* 2008, 198(1): 71–82.
- [9] Li S, Hou G, Wang Y, et al. Influence of recombinant human growth hormone (rhGH) on proliferation of hepatocellular carcinoma cells with positive and negative growth hormone receptors *in vitro* [J]. *Tumori*, 2010, 96(2): 282–8.
- [10] Wu W Y, Li J, Wu Z S, et al. STAT3 activation in monocytes accelerates liver cancer progression [J]. *BMC Cancer*, 2011, 11: 506.
- [11] Lin Y, Li S, Cao P, et al. The effects of recombinant human GH on promoting tumor growth depend on the expression of GH receptor *in vivo* [J]. *J Endocrinol* 2011, 211(3): 249–56.
- [12] Ehrenfeld P, Conejeros I, Pavicic M F, et al. Activation of kinin B1 receptor increases the release of metalloproteases-2 and -9 from both estrogen-sensitive and -insensitive breast cancer cells [J]. *Cancer Lett* 2011, 301(1): 106–18.
- [13] Pal I, Mandal M. PI3K and Akt as molecular targets for cancer therapy: current clinical outcomes [J]. *Acta Pharmacol Sin* 2012, 33(12): 1441–58.
- [14] Nuoffer J M, Flock C, Deladoy J, et al. Regulation of human GH receptor gene transcription by 20 and 22 kDa GH in a human hepatoma cell line [J]. *J Endocrinol* 2000, 165(2): 313–20.
- [15] Wells J A, de Vos A M. Hematopoietic receptor complexes [J]. *Annu Rev Biochem*, 1996, 65: 609–34.
- [16] Waters M J, Hoang H N, Fairlie D P, et al. New insights into growth hormone action [J]. *J Mol Endocrinol* 2006, 36(1): 1–7.

## Effect of recombinant human growth hormone on the growth of gastric cancer MGC803 cells

Chang Jianrong<sup>1</sup>, Wei Lianping<sup>2</sup>, Wang Ronghai<sup>3</sup>, et al

(<sup>1</sup>Dept of Biochemistry and Molecular Biology, Anhui Medical University, Hefei 230032;

<sup>2</sup>School of Life Science, Anhui Agricultural University, Hefei 230061;

<sup>3</sup>Anhui Anke Biotechnology (Group) Co., Ltd, Hefei 230000)

**Abstract Objective** To explore the effect of recombinant human growth hormone (rhGH) on the growth of human gastric cancer MGC803 cells. **Methods** Western blot was performed to detect the expressions of growth hormone receptor (GHR) protein of MGC803 and MKN45 cells, and the relative expressions of GHR mRNA of the two kinds of gastric cancer cells were evaluated by qRT-PCR. Under the condition of serum starvation for 24 hours and incubated in culture media with 3% FBS, MTT assay was used to detect the proliferation of MGC803 cells treated with different concentrations of rhGH for different times. Flow cytometry (FCM) was used to detect the effect of rhGH on MGC803 cell cycle. The expressions of related signal pathway proteins were measured by Western blot. **Results** The results of Western blot and qRT-PCR showed that MGC803 cells were verified as the cell strains of GHR positive expression in the level of protein and mRNA. MTT assay revealed that rhGH could promote the proliferation of MGC803 cells but the difference among different rhGH concentration groups was not statistically significant. FCM analysis showed that rhGH could improve the proliferation index (PI) of MGC803 cells. Western blot suggested that rhGH could upregulate the expressions of p-JAK2, p-STAT3, p-AKT and p-ERK. **Conclusion** rhGH may activate the JAK/STAT3 signal pathway and thus upregulate the downstream p-AKT and p-ERK levels to promote the proliferation of MGC803 cells.

**Key words** rhGH; gastric cancer; MGC803; growth hormone receptor; JAK-STAT3 pathway