

引用本文:孙贺,李展.利多卡因调控微小RNA-195对骨肉瘤MG63细胞增殖、凋亡及化疗敏感性的影响[J].安徽医药,2022,26(5):869-873.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.05.005.



◇ 药学研究 ◇

利多卡因调控微小RNA-195对骨肉瘤MG63细胞增殖、凋亡及化疗敏感性的影响

孙贺¹,李展²

作者单位:¹商丘市第一人民医院麻醉科,河南 商丘 476400;

²商丘市中心人民医院麻醉科,河南 商丘 476400

摘要: 目的 探讨利多卡因(lidocaine)对骨肉瘤MG63细胞增殖、凋亡及化疗敏感性的影响及其可能的作用机制。方法 研究于2018年5—12月,体外培养骨肉瘤MG63细胞,不同浓度的利多卡因干预MG63细胞,采用甲基噻唑基四唑(MTT)法检测MG63细胞存活率及顺铂半抑制浓度(IC50值);流式细胞术检测细胞凋亡率;实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测微小RNA-195(miR-195)、多药耐药相关蛋白1(MRP1)的表达水平;观察miR-195过表达或抑制miR-195的表达后MG63细胞增殖、凋亡及IC50值变化情况;蛋白质印迹法(Western blotting)检测增殖、凋亡相关蛋白表达。**结果** 利多卡因对MG63细胞增殖具有一定抑制作用;与0 mmol/L组相比,利多卡因2 mmol/L组、4 mmol/L组细胞凋亡率[(18.35±1.85)%、(30.25±3.03)%比(8.22±0.82)%]、活化的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3(Cleaved-caspase-3)[(0.65±0.06)、(1.00±0.10)比(0.15±0.02)]与miR-195的表达水平增加[(1.86±0.18)、(2.25±0.22)比(1.00±0.10)],MRP1 mRNA表达水平[(0.72±0.08)、(0.42±0.05)比(1.00±0.11)]、顺铂IC50值降低[(6.59±0.71)mg/L、(2.16±0.23)mg/L比(9.05±0.92)mg/L],差异有统计学意义($P<0.05$),MG63细胞中miR-195过表达具有相似作用;抑制miR-195的表达可逆转利多卡因对MG63细胞增殖、凋亡及化疗敏感性的作用。**结论** 利多卡因可通过miR-195抑制骨肉瘤MG63细胞增殖及诱导细胞凋亡,并可增强其对顺铂化疗敏感性。

关键词: 利多卡因; 微小RNA-195; 骨肉瘤; 增殖; 凋亡; 化疗敏感性

Effect of lidocaine of proliferation, apoptosis and chemosensitivity of osteosarcoma MG63 cells by regulating miR-195

SUN He¹, LI Zhan²

*Author Affiliations:*¹Department of Anesthesiology, First People's Hospital of Shangqiu, Shangqiu, Henan 476400, China;²Department of Anesthesiology, Central People's Hospital of Shangqiu, Shangqiu, Henan 476400, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect of lidocaine on proliferation, apoptosis and chemosensitivity of osteosarcoma MG63 cells and its possible mechanism. **Methods** The study started May 2018 to December 2018, osteosarcoma MG63 cells were cultured in vitro, and MG63 cells were treated with different concentrations of lidocaine. MTT was used to detect the survival rate of MG63 cells and the semi-inhibitory concentration of cisplatin (IC50 value). Flow cytometry was used to detect the apoptosis rate. Real-time quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to detect the expression levels of microRNA-195 (miR-195) and multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1). The proliferation, apoptosis and IC50 value of MG63 cells were observed after overexpression of miR-195 or inhibition of miR-195 expression. The proliferation and apoptosis-related protein expression were detected by Western blot. **Results** Lidocaine had a certain inhibitory effect on the proliferation of MG63 cells. Compared with the 0 mmol/L group, the apoptosis rate of lidocaine [(18.35±1.85)%, (30.25±3.03)% vs. (8.22±0.82)%], Cleaved-caspase-3 [(0.65±0.06), (1.00±0.10) vs. (0.15±0.02)] and the expression levels of miR-195 [(1.86±0.18), (2.25±0.22) vs. (1.00±0.10)] in 2 mmol/L, 4 mmol/L groups were increased, MRP1 mRNA expression levels [(0.72±0.08), (0.42±0.05) vs. (1.00±0.11)], cisplatin IC50 value [(6.59±0.71) mg/L, (2.16±0.23) mg/L vs. (9.05±0.92) mg/L] were decreased, the difference was statistically significant ($P<0.05$), and miR-195 overexpression in MG63 cells had a similar effect. Inhibition of miR-195 expression reversed the effect of lidocaine on proliferation, apoptosis and chemosensitivity of MG63 cells. **Conclusion** Lidocaine can inhibit the proliferation of osteosarcoma MG63 cells and induce apoptosis by regulating miR-195, and enhance its sensitivity to cisplatin chemotherapy.

Key words: Lidocaine; MiR-195; Osteosarcoma; Proliferation; Apoptosis; Chemosensitivity

骨肉瘤是发生于骨组织的恶性肿瘤,其具有恶性程度高及早期转移等特点,早期化疗对控制疾病

进展具有重要意义,但部分患者易产生化疗耐药性从而降低治疗效果^[1-2]。目前关于骨肉瘤细胞化疗

抵抗产生机制尚未完全阐明,研究表明骨肉瘤患者围手术期应用的麻醉药物对癌细胞增殖、迁移等具有重要调控作用^[3]。研究表明利多卡因(lidocaine)可诱导结肠癌细胞周期停滞,抑制细胞生长^[4]。利多卡因还可抑制乳腺癌细胞转移^[5]。但利多卡因对骨肉瘤细胞的研究尚未可知。近来研究报道指出miRNA可调节肿瘤细胞增殖、凋亡等生物学行为,以miRNA为靶点可作为化疗干预的重要手段,其中miR-195在乳腺癌细胞中表达降低,并可增强细胞化疗敏感性^[6]。miR-195可靶向调控RAF1表达抑制口腔鳞状细胞癌细胞发展^[7]。关于miR-195对骨肉瘤细胞生物学行为及化疗敏感性的研究未见报道。本研究于2018年5—12月探究利多卡因是否可通过调控miR-195影响骨肉瘤细胞增殖、凋亡及化疗敏感性。

1 材料与与方法

1.1 材料与试剂 利多卡因购自宜昌人福药业公司;骨肉瘤MG63细胞购自美国ATCC公司。胎牛血清与RPMI 1640培养基均购自美国Gibco公司;Trizol、SYBR Green核酸荧光染料、反转录试剂盒均购自日本TaKaRa公司;MTT与二喹啉甲酸(BCA)蛋白定量检测试剂盒均购自美国Sigma公司;细胞凋亡试剂盒购自大连美仑生物公司;cyclinD1、Cleaved Caspase-3抗体均购自美国Abcam公司;山羊抗兔IgG抗体购自上海碧云天生物技术有限公司;Lipofectamine2000购自Thermo Scientific公司;miR-195模拟物(miR-195 mimics)、阴性对照mimic NC序列(miR-con)、阴性对照序列(anti-miR-con)、miR-195抑制物(anti-miR-195)均购自山东维真生物公司。

1.2 方法

1.2.1 实验处理与分组 RPMI 1640培养基+10%胎牛血清培养骨肉瘤MG63细胞,于37℃、5%二氧化碳饱和湿度培养箱内培养。收集对数生长期MG63细胞,利多卡因(0、2、4、8、16 mmol/L)处理细胞,分为0 mmol/L组、2 mmol/L组、4 mmol/L组、8 mmol/L组、16 mmol/L组,各组分别处理24、48、72 h。经MTT筛选适宜利多卡因适宜浓度进行后续研究。

MG63细胞分别转染miR-195 mimics、miR-con,分别命名为miR-195组、miR-con组,未经任何处理的细胞作为NC组,各组处理时间24 h。后续实验中将anti-miR-195、anti-miR-con分别转染入MG63细胞后,用含有4 mmol/L的利多卡因处理48 h,分别命名为lidocaine+anti-miR-195组、lidocaine+anti-miR-con组。

1.2.2 甲基噻唑基四唑(MTT)检测细胞增殖 取对数生长期细胞,接种于96孔板(2×10^3 个/细胞),按照

“1.2.1”分组处理细胞,每孔加MTT溶液20 μ L,培养4 h,弃上清,每孔别加入50 μ L二甲基亚砷(DMSO),用酶标仪检测490 nm处吸光度值(A值)。

利多卡因、miR-195过表达或抑制miR-195表达对顺铂敏感性检测:取0 mmol/L组、2 mmol/L组、4 mmol/L组、NC组、miR-con组、miR-195组、lidocaine+anti-miR-con组、lidocaine+anti-miR-195组对数生长期细胞,接种于96孔板,加入不同浓度梯度顺铂(0.5、1、2、4、8、16 mg/L)的培养基处理24 h^[8],更换为MTT与正常培养基的混合液(1:9),避光孵育1 h,用酶标仪490 nm检测吸光度值(A值),计算半抑制浓度(IC₅₀值)。

1.2.3 流式细胞术检测细胞凋亡 取各组骨肉瘤MG63细胞,加入500 μ L结合缓冲液,依次加5 μ L Annexin V-FITC与5 μ L PI,避光孵育10 min,用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.2.4 实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测细胞中miR-195、多药耐药相关蛋白1(MRP1)mRNA表达水平 用Trizol法提骨肉瘤MG63细胞总RNA,反转录合成cDNA,以cDNA为模板进行qRT-PCR反应。miR-195以U6为内参,MRP1以 β -actin为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算miR-195、MRP1 mRNA相对表达量。

1.2.5 蛋白质印迹法(Western blotting)检测cyclinD1、Cleaved-caspase-3蛋白表达 各组骨肉瘤MG63细胞,室温条件下,800 r/min转速离心5 min,弃上清液,加入蛋白裂解液提取细胞总蛋白,取适量蛋白上清液加入5×Buffer(4:1),充分混匀,100℃煮沸10 min,采用12%凝胶100 V恒压进行蛋白电泳实验,250 V恒压转膜1 h,封闭1 h,加稀释为1:1 000一抗,4℃孵育24 h,加稀释为1:2 000二抗,室温孵育1 h显影,应用ImageJ软件分析各条带灰度值。

1.3 统计学方法 用SPSS 21.0统计学软件分析数据,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,每个实验重复3次,多组间用单因素方差分析,组内两两比较用LSD法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 利多卡因对骨肉瘤MG63细胞的增殖的影响 用不同浓度的利多卡因处理骨肉瘤MG63细胞,MTT法检测结果显示,与0 mmol/L组相比,利多卡因2 mmol/L组、4 mmol/L组、8 mmol/L组、16 mmol/L组细胞存活率显著降低($P < 0.05$),呈时间-剂量依赖效应,见表1。

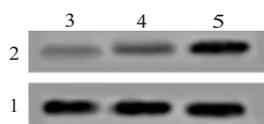
2.2 利多卡因对骨肉瘤MG63凋亡和化疗敏感性的影响 与0 mmol/L组相比,2 mmol/L组、4 mmol/L

表1 不同浓度利多卡因对骨肉瘤MG63细胞不同处理时间存活率的影响/(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	重复次数	0 h	24 h	48 h	72 h	F值	P值
0 mmol/L	3	100.01±10.01	100.00±10.12	101.27±10.13	99.76±9.98	0.04	0.989
2 mmol/L	3	96.13±9.62 ^①	90.46±9.05 ^①	82.16±8.22 ^{①②}	79.16±7.92 ^{①②}	7.10	0.001
4 mmol/L	3	82.26±8.23 ^①	70.05±7.01 ^{①②}	52.36±5.24 ^{①②}	55.28±5.53 ^{①②}	39.63	0.000
8 mmol/L	3	67.13±6.71 ^①	58.01±5.80 ^{①②}	38.11±3.81 ^{①②}	43.14±4.32 ^{①②}	57.49	0.000
16 mmol/L	3	35.17±3.52 ^①	24.09±2.41 ^{①②}	21.04±2.11 ^{①②}	23.75±2.38 ^{①②}	49.76	0.000
F值		32.64	48.91	73.48	61.60		
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		

注:①与0 mmol/L组比较, $P < 0.05$ 。②与0 h比较, $P < 0.05$ 。

组MRP1 mRNA表达水平、顺铂IC50值显著下降, 凋亡率、Cleaved-caspase-3蛋白表达水平增加 ($P < 0.05$), 见图1、表2。



注:1— β 肌动蛋白(β -actin);2—活化的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(Cleaved caspase-3);3—0 mmol/L;4—2 mmol/L组;5—4 mmol/L组。

图1 蛋白质印迹法(Western blotting)检测 Cleaved-caspase-3蛋白表达

表2 不同浓度利多卡因对骨肉瘤MG63细胞凋亡和化疗敏感性的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	Cleave-caspase-3	细胞凋亡率/%	MRP1 mRNA	对顺铂IC50/(mg/L)
0 mmol/L	3	0.15±0.02	8.22±0.82	1.00±0.11	9.05±0.92
2 mmol/L	3	0.65±0.06 ^①	18.35±1.85 ^①	0.72±0.08 ^①	6.59±0.71 ^①
4 mmol/L	3	1.00±0.10 ^①	30.25±3.03 ^①	0.42±0.05 ^①	2.16±0.23 ^①
F值		117.32	82.43	36.06	78.18
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

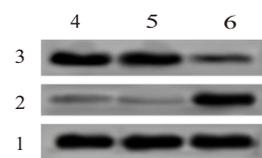
注: Cleaved caspase-3为活化的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶。

①与0 mmol/L组比较, $P < 0.05$ 。

2.3 利多卡因对miR-195表达的影响 不同浓度的利多卡因处理后, 2 mmol/L组、4 mmol/L组骨肉瘤细胞中miR-195的表达水平显著高于0 mmol/L组 [(1.86±0.18)、(2.25±0.22)比(1.00±0.10), $P < 0.05$]。

2.4 上调miR-195对骨肉瘤MG63细胞增殖、凋亡和化疗敏感性的影响 miR-195组miR-195的表达

水平、细胞凋亡率、Cleaved-caspase-3蛋白表达水平明显高于miR-con组 ($P < 0.05$), cyclinD1蛋白表达水平、MRP1 mRNA表达水平、细胞存活率、顺铂IC50值明显低于miR-con组 ($P < 0.05$), 见图2、表3。



注:1— β 肌动蛋白(β -actin);2—活化的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(Cleaved caspase-3);3—细胞周期蛋白D1(cyclin D1);4—NC;5—miR-con;6—miR-195。

图2 上调miR-195对骨肉瘤MG63细胞cyclinD1、Cleaved-caspase-3蛋白表达的影响

2.5 低表达miR-195能够逆转利多卡因(4 mmol/L)对骨肉瘤MG63增殖、凋亡和化疗敏感性的影响 lidocaine+anti-miR-195组cyclinD1蛋白表达水平、细胞存活率、MRP1 mRNA表达水平、顺铂IC50值明显高于lidocaine+anti-miR-con组 ($P < 0.05$), Cleaved-caspase-3蛋白表达水平、细胞凋亡率明显低于lidocaine+anti-miR-con组 ($P < 0.05$), 见图3、表4。

3 讨论

利多卡因可通过调节GOLT1A的表达而抑制肺癌细胞增殖^[9]。利多卡因通过调节miR-539/EGFR分子轴抑制肺癌细胞发展^[10]。利多卡因抑制胃癌细胞生长分化^[11]。Bax是Bcl-2蛋白家族成员, 可通过激活线粒体凋亡途径激活caspase形成活化cas-

表3 miR-195过表达对骨肉瘤MG63细胞增殖、凋亡和化疗敏感性的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	miR-195	cyclinD1	Cleave-caspase-3	细胞存活率/%	细胞凋亡率/%	MRP1 mRNA	对顺铂IC50/(mg/L)
NC	3	1.00±0.12	1.00±0.09	0.20±0.03	100.00±10.11	8.38±0.85	1.00±0.11	9.10±0.90
miR-con	3	1.12±0.10	0.98±0.10	0.18±0.02	101.23±10.13	8.30±0.80	0.68±0.07	8.99±0.85
miR-195	3	2.36±0.04 ^①	0.40±0.04 ^①	0.90±0.09 ^①	53.26±5.25 ^①	22.36±2.28 ^①	0.40±0.04 ^①	4.05±0.40 ^①
F值		196.25	53.06	160.98	28.96	89.880	43.61	44.24
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: cyclin D1为细胞周期蛋白D1, Cleaved caspase-3为活化的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶。

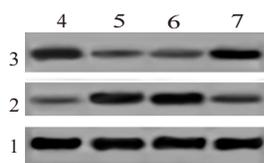
①与miR-con组比较, $P < 0.05$ 。

表4 低表达 miR-195 能够逆转利多卡因对骨肉瘤 MG63 增殖、凋亡和化疗敏感性的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	重复次数	miR-195	cyclinD1	Cleave-caspase-3	细胞存活率/%	细胞凋亡率/%	MRP1 mRNA	对顺铂 IC50/(mg/L)
NC	3	1.00±0.09	1.00±0.11	0.25±0.02	100.00±10.18	8.54±0.85	1.00±0.10	9.15±0.95
lidocaine	3	2.20±0.22 ^①	0.40±0.04 ^①	0.98±0.10 ^①	53.68±5.28 ^①	29.88±3.00 ^①	0.43±0.04 ^①	2.20±0.25 ^①
lidocaine +anti-miR-con	3	2.25±0.25	0.42±0.05	1.00±0.11	50.88±5.11	30.86±3.09	0.41±0.03	2.12±0.22
lidocaine +anti-miR-195	3	1.35±0.13 ^②	0.88±0.09 ^②	0.40±0.04 ^②	92.46±9.25 ^②	15.49±1.55 ^②	0.86±0.09 ^②	8.14±0.81 ^②
F 值		34.29	47.46	75.30	32.30	66.73	52.45	101.99
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: cyclin D1 为细胞周期蛋白 D1, Cleaved caspase-3 为活化的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶。

①与 NC 组比较, $P < 0.05$ 。②与 lidocaine+anti-miR-con 组比较, $P < 0.05$ 。



注: 1— β 肌动蛋白(β -actin); 2—活化的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(Cleaved caspase-3); 3—细胞周期蛋白 D1(cyclin D1); 4—NC; 5—lidocaine; 6—lidocaine +anti-miR-con; 7—lidocaine +anti-miR-195。

图3 蛋白质印迹法(Western blotting)检测 cyclinD1、Cleave-caspase-3 蛋白表达

pase, 加快细胞发生凋亡^[12]。本研究用利多卡因干预后, 凋亡率、Cleaved-caspase-3 蛋白表达水平上调, 细胞活性降低, 说明利多卡因干预骨肉瘤细胞可抑制细胞增殖, 诱导细胞凋亡, 且呈剂量依赖效应。骨肉瘤的主要化疗用药是顺铂, 其作用机制是促进细胞凋亡, 而化疗耐药性是影响骨肉瘤化疗效果的重要原因^[13]。研究报道指出七氟醚、异氟醚等可抑制骨肉瘤细胞增殖, 还可影响细胞化疗敏感性^[14]。因而积极探寻化疗增敏剂对提高骨肉瘤化疗效果具有重要意义。

MRP1 可通过将异型物质运出细胞外而保护细胞, 还可与抗肿瘤药物、铂类耐药等密切相关^[15]。本研究结果显示利多卡因处理后骨肉瘤细胞中 MRP1 表达水平显著降低, 其对顺铂半抑制率浓度(IC50 值)显著下降, 说明利多卡因可提高顺铂敏感性, 提示利多卡因下调 MRP1 表达从而提高细胞顺铂敏感性。

miR-195 可能通过抑制肝癌细胞增殖进而增加细胞对 5-氟尿嘧啶药物敏感性^[16]。研究表明 miR-195 可能通过负向调控 Raf-1 信号通路从而增加结肠癌细胞对奥沙利铂的敏感性^[17]。miR-195 表达量降低与顺铂的化疗敏感性及胃癌患者预后不良密切相关^[18]。本研究结果显示骨肉瘤细胞中上调 miR-195 表达可抑制细胞增殖, 细胞凋亡率显著增加, MRP1 mRNA 表达水平显著降低, IC50 值显著降低, 说明上调 miR-195 抑制骨肉瘤细胞增殖和诱导细胞凋亡, 增加细胞化疗敏感性。cyclinD1 可促进

肿瘤细胞增殖, 还可通过与 CDK4/CDK6 结合从而促进细胞由 G1 期转为 S 期, 促进细胞增殖^[19]。本研究发现, 上调 miR-195 表达可降低 cyclinD1 表达, 提示上调 miR-195 表达可能通过下调 cyclinD1 而抑制骨肉瘤细胞增殖。本研究拟建立利多卡因与 miR-195 之间的作用关系, 结果显示, 利多卡因可增加 miR-195 的表达, 抑制 miR-195 表达可逆转利多卡因对骨肉瘤细胞凋亡、增殖及化疗敏感性的作用。说明利多卡因可通过上调 miR-195 促进骨肉瘤细胞发展。

利多卡因可通过上调 miR-195 的表达在骨肉瘤细胞顺铂抵抗形成过程中发挥重要抑制作用, 利多卡因浓度为 4 mmol/L 时作用效果较好, 通过体外实验证实利多卡因可抑制骨肉瘤细胞增殖、促进细胞凋亡及增强顺铂化疗敏感性, 可为临床合理应用利多卡因提供理论依据。

参考文献

- MEYERS PA. Systemic therapy for osteosarcoma and Ewing sarcoma [J/OL]. Am Soc Clin Oncol Educ Book, 2015: e644-647. DOI: 10.14694/EdBook_AM.2015.35.e644.
- 李梅, 杨小明, 蓝国波, 等. 骨肉瘤化疗多药耐药的分子机制及其逆转[J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(2): 353-356.
- TAVARE AN, PERRY NJ, BENZONANA LL, et al. Cancer recurrence after surgery: direct and indirect effects of anesthetic agents[J]. Int J Cancer, 2012, 130(6): 1237-1250.
- BUNDSCHERER AC, MALSY M, BITAINGER DI, et al. Effects of Lidocaine on HT-29 and SW480 colon cancer cells in vitro [J]. Anticancer Res, 2017, 37(4): 1941-1945.
- WALL TP, CROWLEY PD, SHERWIN A, et al. Effects of lidocaine and src inhibition on metastasis in a murine model of breast cancer surgery[J]. Cancers (Basel), 2019, 11(10): 11101414. DOI: 10.3390/cancers11101414.
- 杨舸, 蒋鸥, 吴道全, 等. miR-195 表达在乳腺癌细胞对阿霉素药物敏感性中的意义[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(15): 2043-2046.
- 郭芳, 黄硕, 刘宁, 等. miR-195 靶向 RAF1 调控口腔鳞状细胞癌的生长、凋亡及迁移侵袭[J]. 山西医科大学学报, 2019, 50(2): 163-168.
- 李玉椿. 长链非编码 RNA H19 对骨肉瘤顺铂化疗敏感性的影响及机制[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(24): 6043-6046.

- [9] ZHANG L, HU R, CHENG Y, et al. Lidocaine inhibits the proliferation of lung cancer by regulating the expression of GOLT1A [J]. *Cell Prolif*, 2017, 50(5): 12364. DOI: 10.1111/cpr.12364.
- [10] SUN H, SUN Y. Lidocaine inhibits proliferation and metastasis of lung cancer cell via regulation of miR-539/EGFR axis [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47(1): 2866-2874.
- [11] YE L, ZHANG Y, CHEN YJ, et al. Anti-tumor effects of lidocaine on human gastric cancer cells in vitro [J]. *Bratisl Lek Listy*, 2019, 120(3): 212-217.
- [12] 王亚非, 邢姝琴, 尉志强, 等. 巴戟天含药血清对人骨肉瘤 MG63 细胞凋亡及 JNK 信号通路的影响 [J]. *遵义医学院学报*, 2018, 41(5): 579-583.
- [13] 柴旭泽, 魏凯, 王贵方. 番茄红素对人骨肉瘤细胞顺铂增敏作用及机制研究 [J]. *医学研究杂志*, 2018, 47(4): 167-170.
- [14] 邹海町, 孙丽, 陶蕾, 等. 七氟醚、异氟醚对骨肉瘤 MG63 细胞增殖、凋亡及化疗敏感性的影响 [J]. *现代生物医学进展*, 2015, 15(23): 4419-4423.
- [15] 王峻, 刘仁忠, 徐亚青, 等. 苯妥英钠对化疗耐药胶质母细胞瘤多药耐药相关蛋白 1 及 O6-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶基因表达的影响 [J]. *中华实验外科杂志*, 2015, 32(11): 2718-2721.
- [16] 杨晓燕, 向琼, 殷杰, 等. MiR-195 对 BEL-7402/5-FU 细胞 5-氟尿嘧啶耐药性的影响 [J]. *中南医学科学杂志*, 2017, 45(1): 32-34, 47.
- [17] 王鸽, 周志红. 微小 RNA-195 对结肠癌细胞奥沙利铂耐药逆转的影响及其机制 [J]. *中华实验外科杂志*, 2016, 33(4): 979-981.
- [18] YE R, WEI B, LI S, et al. Expression of miR-195 is associated with chemotherapy sensitivity of cisplatin and clinical prognosis in gastric cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(57): 97260-97272.
- [19] 阳曙东, 谭文甫, 刘金华, 等. 沉默 PPAR γ 对骨肉瘤 MG-63 细胞增殖的影响及相关机制 [J]. *暨南大学学报(自然科学与医学版)*, 2018, 39(1): 55-60.

(收稿日期: 2019-10-14, 修回日期: 2019-12-08)

引用本文: 周自广. 人参皂苷 Rh2 调控微小 RNA-133a-3p 对瘢痕疙瘩成纤维细胞凋亡的影响 [J]. *安徽医药*, 2022, 26(5): 873-876. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2022.05.006.

◇ 药学研究 ◇



人参皂苷 Rh2 调控微小 RNA-133a-3p 对瘢痕疙瘩成纤维细胞凋亡的影响

周自广

作者单位: 郑州市第一人民医院皮肤科, 河南 郑州 450000

摘要: 目的 探讨人参皂苷 Rh2 调控微小 RNA(miR)-133a-3p 对瘢痕疙瘩成纤维细胞(KF)凋亡的影响。方法 用浓度为 50、100、200 mg/L 的人参皂苷 Rh2 培养 KF, 未给人参皂苷 Rh2 的 KF 记为对照(NC)组; 将 miR-NC、miR-133a-3p 分别转染至 KF 中记为 miR-NC 组、miR-133a-3p 组; 将 anti-miR-NC、anti-miR-133a-3p 分别转染至 KF 再用 200 mg/L 的人参皂苷 Rh2 处理记为 anti-miR-NC+人参皂苷 Rh2 组、anti-miR-133a-3p+人参皂苷 Rh2 组。流式细胞术检测细胞凋亡; 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测 miR-133a-3p 表达水平; 蛋白质印迹法检测裂解的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Cleaved caspase-3)、 β -连环素(β -catenin)表达。结果 与对照组相比, 50、100、200 mg/L 人参皂苷 Rh2 处理的 KF 中细胞凋亡率升高[(9.08 \pm 0.91)%、(16.28 \pm 1.63)%、(23.18 \pm 2.32)%比(4.29 \pm 0.43)%], miR-133a-3p 表达水平升高, β -catenin 表达水平降低($P < 0.05$)。过表达 miR-133a-3p, Cleaved caspase-3 表达水平升高, 细胞凋亡率升高($P < 0.05$)。低表达 miR-133a-3p 部分逆转了人参皂苷 Rh2 对 KF 凋亡和 β -catenin 的影响。结论 人参皂苷 Rh2 可促进瘢痕疙瘩成纤维细胞凋亡, 其机制可能与 miR-133a-3p 和 Wnt/ β -catenin 信号通路有关。

关键词: 人参皂苷类; 瘢痕疙瘩; 成纤维细胞; 微小 RNA-133a-3p; Wnt/ β -连环素信号通路; 凋亡

Effect of ginsenoside Rh2 on the apoptosis of keloid fibroblasts by regulating miR-133a-3p

ZHOU Ziguang

Author Affiliation: Department of Dermatology, The First People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou, Henan 450000, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect of ginsenoside Rh2 on the apoptosis of keloid fibroblasts (KF) by regulating miR-133a-3p. **Methods** KF was cultured with ginsenoside Rh2 at different concentrations of 50, 100, 200 mg/L, and KF without ginsenoside Rh2 was recorded as control (NC) group; miR-NC and miR-133a-3p were transfected to KF, which was recorded as miR-NC group and miR-133a-3p group; anti-miR-NC and anti-miR-133a-3p were transfected into KF and treated with 200 mg/L ginsenoside Rh2 as anti-miR-NC+ginsenoside Rh2 group, anti-miR-133a-3p+ginsenoside Rh2 group. Apoptosis was detected by flow cytometry; the expression of miR-133a-3p was detected by real-time quantitative PCR (RT-qPCR); the expression of cleaved cysteine-containing