

引用本文: 韩泽平, 麦正均, 黎毓光, 等. 羽扇豆醇联合槲皮素对膀胱癌 5637 细胞的抑制作用[J]. 安徽医药, 2021, 25(5): 854-858. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2021.05.002.



◇ 药学研究 ◇

羽扇豆醇联合槲皮素对膀胱癌 5637 细胞的抑制作用

韩泽平, 麦正均, 黎毓光, 吕钰冰, 何思华, 周嘉彬, 何金花

作者单位: 广州市番禺区中心医院检验科, 广东 广州 511400

通信作者: 何金花, 女, 副主任技师, 研究方向为肿瘤学、分子生物学, Email: 332518579@qq.com

基金项目: 广东省中医药局面上项目(20192073); 广州市卫生健康委员会中医药和中西医结合科技项目(20192A011027; 20212A010025); 广州市番禺区科技计划项目(2020-Z04-026)。

摘要: **目的** 研究羽扇豆醇(Lupeol)联合槲皮素(Quercetin)对膀胱癌 5637 细胞增殖抑制的作用, 为膀胱癌的治疗提供实验依据。**方法** 利用噻唑蓝(MTT)法分别检测不同浓度的羽扇豆醇(10、20、40、60、80、100、120 $\mu\text{mol/L}$)及槲皮素(5、10、20、40、60、80 $\mu\text{mol/L}$)对膀胱癌 5637 细胞的增殖抑制作用, 并计算作用 48 h 后细胞的生长抑制率。选取抑制率为 30% 的药物浓度(即 IC_{30})作为加药浓度分别单独及联合处理 5637 细胞 48 h, MTT 法检测各处理组细胞生长抑制率, 并计算两种药物多个组合的 Q 值, 以评价联合效果。利用克隆形成实验及划痕实验检测细胞克隆能力及迁移能力的影响。利用实时荧光定量反转录 PCR (qRT-PCR)检测 miR-145 的表达水平。**结果** 羽扇豆醇和槲皮素均能有效抑制膀胱癌细胞的增殖, 呈浓度依赖性, 槲皮素的量效变化更为明显。计算得出羽扇豆醇和槲皮素 48 h 的 IC_{50} 分别为 50.02 $\mu\text{mol/L}$ 和 44.42 $\mu\text{mol/L}$; IC_{30} 分别为 35.40 $\mu\text{mol/L}$ (实验中使用 35 $\mu\text{mol/L}$) 和 29.86 $\mu\text{mol/L}$ (实验中使用 30 $\mu\text{mol/L}$), 羽扇豆醇与槲皮素联合作用 5637 细胞抑制率达 58.83%, 两种药物为协同作用(Q 值为 1.167)。两种药物联合作用可明显抑制 5637 细胞的克隆形成及迁移能力, 并使 miR-145 相对表达量增高。**结论** 羽扇豆醇和槲皮素均能抑制膀胱癌 5637 细胞生长, 并呈浓度依赖性, 两种药物联合能协同抑制细胞的增殖, 并明显抑制其克隆形成能力及迁移能力, 其分子机制可能与 miR-145 的表达增高相关。

关键词: 五环三萜类; 黄酮类; 羽扇豆醇; 槲皮素; 联合作用; 膀胱癌; miR-145

Inhibitory effect of lupeol and quercetin on bladder cancer 5637 cells

HAN Zeping, MAI Zhengjun, LI Yuguang, LYU Yubing, HE Sihua, ZHOU Jiabin, HE Jinhua

Author Affiliation: Department of Laboratory Medicine, Central Hospital of Panyu District, Guangzhou, Guangdong 511400, China

Abstract: **Objective** To study the effects of Lupeol combined with quercetin on the proliferation inhibition of bladder cancer 5637 cells, and to provide experimental evidence for the treatment of bladder cancer. **Methods** The MTT method was used to detect different concentrations of lupeol (10, 20, 40, 60, 80, 100, 120 $\mu\text{mol/L}$) and quercetin (5, 10, 20, 40, 60, 80 $\mu\text{mol/L}$) inhibiting the proliferation of bladder cancer 5637 cells, and calculating the growth inhibition rate of the cells after 48 h. The drug concentration with the inhibition rate of 30% (IC_{30}) was selected as the dosing concentration to treat 5637 cells individually and in combination for 48 h. The MTT method was used to detect the cell growth inhibition rate of each treatment group, and the Q value of multiple combinations of the two drugs was calculated and evaluated the joint effect. The effects of cell cloning ability and migration ability were detected by clone formation experiment and scratch experiment. The expression level of mir-145 was detected by real-time fluorescence quantitative reverse transcription PCR (qRT-PCR). **Results** Both lupeol and quercetin can effectively inhibit the proliferation of bladder cancer cells in a concentration-dependent manner, and the dose-effect change of quercetin was more obvious. The IC_{50} of lupeol and quercetin at 48 h was 50.02 $\mu\text{mol/L}$ and 44.42 $\mu\text{mol/L}$ respectively. The IC_{30} of lupeol and quercetin were 35.40 $\mu\text{mol/L}$ (35 $\mu\text{mol/L}$ in the experiment) and 29.86 $\mu\text{mol/L}$ (30 $\mu\text{mol/L}$ in the experiment) respectively. The inhibition rate of 5637 cells under the combined treatment of lupeol and quercetin was 58.83%, and the two drugs had a synergistic effect (Q value was 1.167). The combination of the two drugs could significantly inhibit the cloning and migration ability of 5637 cells, and increase the relative expression of miR-145. **Conclusions** Both lupeol and quercetin could inhibit the growth of bladder cancer 5637 cells in a concentration-dependent manner. The combination of the two drugs could synergistically inhibit the cell proliferation, and significantly inhibit cell cloning and migration ability. The molecular mechanism might be related to the increased expression of miR-145.

Key words: Pentacyclic triterpenes; Flavones; Lupeol; Quercetin; Combined effect; Bladder cancer; MiR-145

膀胱癌(bladder cancer)是泌尿系统最常见的恶性肿瘤之一, 每年约有 55 万新发病例和 20 万死亡

病例,严重危害着人类的生命健康^[1]。膀胱癌初期症状较隐匿,绝大部分患者被确诊时已为中晚期,手术切除肿物联合化疗是其主要治疗方法,但容易复发转移,5年生存率仅约50%^[2],而且化疗不良反应多,严重影响患者的生活质量,因此寻找新的治疗药物极为必要。

近年来中草药逐渐受到人们的关注,部分天然草本及其有效成分具有抗癌、提高患者免疫力、减轻不良反应以及延长生存期等作用^[3-4]。而且,协同药物组合治疗比单药疗法更有成效,更有增效减毒,剂量降低的优势^[5-6]。近年研究报道,中药单体化合物羽扇豆醇(lupeol)与槲皮素(quercetin)(图1)具有多种抗肿瘤作用,包括有效抑制肿瘤细胞生长、诱导细胞凋亡、减少肿瘤的恶性转化及转移等^[7-10]。本研究自2019年6月至2020年1月利用噻唑蓝(MTT)法分别检测羽扇豆醇与槲皮素联合用药对膀胱癌细胞增殖及迁移能力的影响,为中药联合应用治疗膀胱癌提供理论依据。

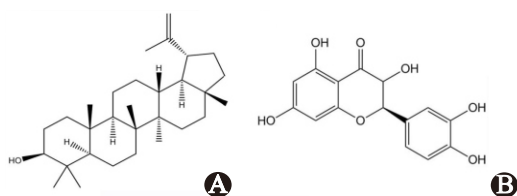


图1 中药单体结构:A为羽扇豆醇的结构;B为槲皮素的结构

1 材料与方法

1.1 试剂和主要仪器 羽扇豆醇购自南京狄尔格医药科技有限公司;槲皮素、二甲基亚砜(DMSO)、四甲基偶氮唑盐(MTT)购自SIGMA公司;胎牛血清(FBS)购自Gibco公司;RPMI1640培养基、胰蛋白酶、磷酸盐缓冲液(PBS)购自HyClone公司;青霉素/链霉素(P/S)购自美国Thermo scientific公司;RT-PCR试剂盒购自美国GeneCopoeia公司;miRNeasy Mini Kit试剂盒购自德国Qiagen公司;PCR引物购自中国上海吉玛生物公司;CO₂培养箱和Bio-Tek酶标仪ELX-800购自美国Biotech公司;1300B2生物安全柜购自美国Thermo公司;750D照相机购自日本Canon公司;ABI 7900 Real-time PCR仪购自美国ABI公司。

1.2 细胞培养和药物处理 膀胱癌5637细胞购自沛瑜生物制品有限公司,细胞培养于含10% FBS、1% P/S的RPMI1640培养基中,置于37℃、饱和湿度、体积分数为5%的二氧化碳培养箱内培养。使用0.25%胰蛋白酶消化传代,取对数生长期的细胞用于实验。羽扇豆醇使用无水乙醇和DMSO(1:1)溶解,配制成10 μmol/L的贮存液;槲皮素使用DMSO溶解,配制成10 μmol/L的贮存液,置-20℃保

存,用RPMI1640完全培养基稀释至相应的工作浓度。

1.3 噻唑蓝(MTT)法检测细胞增殖能力

1.3.1 单独用药 选择对数生长期的膀胱癌5637细胞,0.25%胰蛋白酶消化后制成细胞悬液,调整细胞密度至 1×10^4 个/毫升,细胞悬液移200 μL至96孔板培养24 h。分别加入不同浓度的羽扇豆醇(10、20、40、60、80、100、120 μmol/L)和槲皮素(5、10、20、40、80 μmol/L)干预膀胱癌细胞48 h,每种浓度5个复孔。培养48 h后,每孔加入MTT 20 μL,在5% CO₂、37℃培养箱中孵育4 h,终止培养,吸弃上清,每孔加入150 μL DMSO,并于摇床震荡10 min后,于490 nm波长处测定吸光度A值。计算细胞增殖抑制率、IC₅₀及IC₃₀,细胞增殖抑制率 $= (A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白组}}) / (A_{\text{药物作用组}} - A_{\text{空白组}}) \times 100\%$ 。

1.3.2 联合用药 根据1.3.1实验计算出两种药物作用于膀胱癌5637细胞的IC₃₀。分别设羽扇豆醇IC₃₀组、槲皮素IC₃₀组及联合作用组,分别给予药物相应处理48 h后运用MTT法检测细胞增殖抑制率,并运用金正均法计算出Q值评价联合用药时两药间的相互作用。

1.4 集落形成实验检测细胞克隆形成能力 用胰酶消化细胞,再用完全培养基调整细胞数为400个/孔,接种于12孔板中,设羽扇豆醇IC₃₀组、槲皮素IC₃₀组、联合作用组及空白对照组,每孔补足完全培养基至1 mL,在5%二氧化碳、37℃培养箱中培养7 d,每组设3个平行孔。弃去培养液,用PBS浸洗两次,然后用95%乙醇固定10 min,然后风干,再用0.1%结晶紫染色10 min,蒸馏水冲洗3次,风干后拍照。然后每孔加入10%冰醋酸2 mL,静置30 min,待结晶充分溶解,混匀后取100 μL于96孔板中,酶标仪读取560 nm波长处吸光度A值,计算克隆形成率。克隆形成率 $= (A_{\text{对照组}} - A_{\text{加药组}}) / A_{\text{对照组}} \times 100\%$ 。每组试验重复3次。

1.5 划痕实验检测细胞迁移能力 取处于对数生长期的5637细胞,计数后每孔以 5.0×10^4 个/毫升的细胞悬液2 mL接种至6孔板中,待细胞贴壁后,用200 μL枪头沿孔的纵行直径划痕,并在该划痕左右0.5 cm处各划一条,划痕后用PBS洗3次,去除脱落的细胞。设羽扇豆醇IC₃₀组、槲皮素IC₃₀组、联合作用组及空白对照组,分别加入相应药物的低浓度血清(2%)培养基,放入5%二氧化碳、37℃培养箱中培养,按照0、6、12、18 h时间点选取同一视野进行拍照。利用Image J软件对各组进行划痕分析,计算迁移率。迁移率 $(\%) = (T_0 \text{时面积} - T_t \text{时面积}) / T_0 \text{时面积} \times 100\%$ 。每组试验重复3次。

1.6 qRT-PCR检测miR-145的表达水平 取处于

对数生长期的 5637 细胞,计数后每孔以 5.0×10^4 个/毫升的细胞悬液 2 mL 接种至 6 孔板中培养 24 h,细胞分组同前,药物干预 48 h 后收集细胞。按照试剂盒说明提取各组细胞的总 RNA,并按试剂说明书配制逆转录反应体系合成 cDNA。用 2 μ L cDNA 作为模板配制 25 μ L RT-PCR 的反应体系,反应在 ABI 7300 Real-time PCR 仪上进行,反应条件为:95 $^{\circ}$ C 10 min, 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s, 共 40 个循环。内参为 U6,设置 3 个复孔。miR-145 的相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算。miR-145 正向引物:5'-ACACTC-CAGCTGGGGTCCAGTTTCCCAGGA-3',反向引物:5'-TGGTGTCGTGGAGTCTG-3'; U6 正向引物:5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3',反向引物:5'-AAC-GCTTCACGAATTTGCGT-3'。

1.7 统计学方法 采用 IBM SPSS 22.0 统计分析软件对所得数据进行统计学分析。定量变量以 $\bar{x} \pm s$ 进行描述,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。通过金正均法计算 Q 值评价联合用药时两药间的相互作用, $Q = \text{联合用药的抑制率} E(A+B) / (A \text{药抑制率} EA + B \text{药抑制率} EB - EA \times EB)$ 。判定 $Q > 1.15$ 为协同作用, $1.15 > Q > 0.85$ 为相加作用, $Q < 0.85$ 为拮抗作用。

2 结果

2.1 羽扇豆醇和槲皮素单独对膀胱癌 5637 细胞的作用 MTT 法结果显示,不同浓度羽扇豆醇对膀胱癌 5637 细胞均有抑制作用,随着羽扇豆醇浓度的增加,抑制率升高,计算得 48 h 的 IC_{50} 值为 50.02 μ mol/L, IC_{30} 为 35.40 μ mol/L。槲皮素也能抑制膀胱癌细胞的增殖,呈明显的剂量-效应关系,槲皮素作用 48 h 后的 IC_{50} 、 IC_{30} 值分别为 44.42 μ mol/L、29.86 μ mol/L。本研究选取接近 IC_{30} 浓度的羽扇豆醇(35 μ mol/L)和槲皮素(30 μ mol/L)进行后续实验。

2.2 羽扇豆醇与槲皮素联合对膀胱癌细胞的抑制作用 羽扇豆醇与槲皮素两种药物的 IC_{30} 浓度联合能明显抑制膀胱癌细胞的增殖作用,抑制作用明显强于两者单独作用($P < 0.05$),计算得两者 IC_{30} 联合作用的 Q 值为 1.167, Q 值大于 1.15,提示羽扇豆醇与槲皮素联合干预膀胱癌 5637 细胞产生协同作用。

2.3 羽扇豆醇与槲皮素联合对膀胱癌细胞的克隆形成作用 从图 2 所见,药物处理 7 d 后,与对照组相比,羽扇豆醇与槲皮素均能抑制膀胱癌 5637 细胞的克隆形成,在两种药物 IC_{30} 联合作用下克隆能力抑制的更加明显。溶解结晶紫后于酶标仪读取各孔 560 nm 吸光度,各组间吸光度差异有统计学意义($F = 112.47, P = 0.000$)。代入公式计算后,药物联合组的克隆抑制率[(74.64 $\pm$ 1.70)%]明显高于单用

羽扇豆醇[(32.11 $\pm$ 5.27)%]($t = 13.30, P = 0.000$)及单用槲皮素[(50.23 $\pm$ 5.18)%]($t = 7.75, P = 0.001$)的克隆抑制率,差异有统计学意义,均 $P < 0.05$ 。且单用槲皮素组的抑制率高于单用羽扇豆醇($t = 4.274, P = 0.013$)。

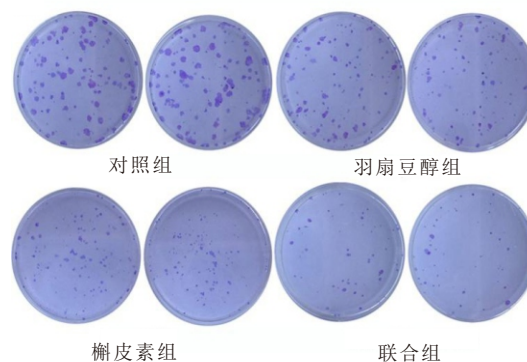
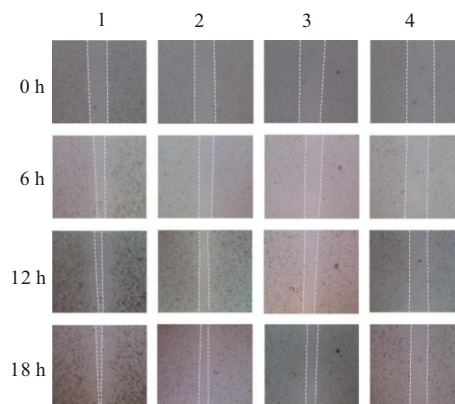


图2 平板法检测羽扇豆醇与槲皮素对膀胱癌 5637 细胞克隆形成能力

2.4 羽扇豆醇与槲皮素对膀胱癌 5637 细胞迁移能力的影响 划痕实验结果显示,与阴性对照组相比,羽扇豆醇组、槲皮素组及联合组均有效抑制膀胱癌 5637 细胞的迁移能力(图 3)。其中联合组的抑制作用最为显著,18 h 的迁移率仅为(37.64 $\pm$ 2.49)%,明显低于对照组(76.83 $\pm$ 4.21)%($t = -13.878, P = 0.000$)、羽扇豆醇组(61.05 $\pm$ 5.07)%($t = -7.178, P = 0.002$)及槲皮素组(51.11 $\pm$ 2.46)%($t = -6.665, P = 0.003$)。单用羽扇豆醇组的迁移率与单用槲皮素的迁移率差异无统计学意义($t = 3.055, P = 0.058$)。



注:1—对照组;2—羽扇豆醇组;3—槲皮素组;4—联合组。

图3 羽扇豆醇与槲皮素对膀胱癌 5637 细胞迁移能力的划痕实验图像(HE 染色 $\times 40$)

2.5 羽扇豆醇与槲皮素对膀胱癌 5637 细胞 miR-145 表达的影响 羽扇豆醇和槲皮素单独干预 5637 细胞 48 h 后,均可使 miR-145 的相对表达量升高($P < 0.01$),但两者间的 miR-145 相对表达量差异无统计

学意义($P>0.05$)。联合组的 miR-145 相对表达量显著高于其余各组,差异有统计学意义($P<0.01$)。

3 讨论

膀胱癌是泌尿系统最常见的恶性肿瘤之一,现今治疗手段主要以手术和化疗为主,但复发率较高,且常规化疗药物对患者有一定程度的副作用,寻找新的抗癌药物尤为必要。在肿瘤治疗方面,传统中药具有全面、低毒、促进免疫调节等特点,优于放化疗^[11]。随着中药驱邪扶正的机理及促进人体免疫力的研究进展,中药在预防癌症和治疗早期癌症,甚至中晚期抗癌的应用方面将具有明显的优势^[12]。

羽扇豆醇是一种五环三萜类化合物,分子量 426.72,分子式 $C_{30}H_{50}O$,广泛存在于多种水果、蔬菜和中药等植物当中。据报道,羽扇豆醇具有多种药理学活性作用,包括抗癌、抗炎、心脏病、抗糖尿病等^[13]。研究报道,羽扇豆醇可诱导小鼠黑色素瘤和人白血病细胞的分化并抑制其增殖;抑制小鼠二期皮肤癌的发展进程,抑制胰腺癌细胞的生长和诱导凋亡;在体内外对前列腺癌都有增值抑制和诱导凋亡的作用^[7-8,13],然而关于羽扇豆醇对膀胱癌作用的研究甚少。槲皮素是一种黄酮类化合物,分子量 302,分子式 $C_{15}H_{10}O_7$,广泛存在于许多植物的花、叶、果实当中。槲皮素具有多种药理活性作用,包括抗纤维化作用、抗炎、降低血压、保护心肌缺血再灌注损伤、抗病毒、镇痛等。此外,槲皮素对鼻咽癌、肝癌、前列腺癌、白血病、胃癌及视网膜母细胞瘤等多种肿瘤细胞均有抑制的作用^[14],是颇具应用前景的抗癌药物之一。

肿瘤的联合用药是指利用不同药物之间的协同作用以取得比单一药物更好的效果^[15],通过减低药物剂量达到减少药物毒副作用目的,并增强药物疗效,有效抑制肿瘤生长,防止肿瘤的侵袭和转移^[16]。本研究检测了不同浓度的羽扇豆醇和槲皮素单独作用于膀胱癌细胞的生长抑制率,结果显示两种药物单独作用于膀胱癌细胞均具有增值抑制作用,并且抑制率与药物浓度呈依赖性。为了减少药物的毒副作用,本研究降低药物作用浓度,采用羽扇豆醇与槲皮素的 IC_{30} 浓度联合干预膀胱癌 5637 细胞。根据 MTT 实验得出两种药物的 IC_{30} ,将两种药物 IC_{30} 联合算出 Q 值来判断两种药物联合效果,结果显示 Q 值为 1.167,大于 1.15,表明羽扇豆醇与槲皮素联合作用产生协同作用,联合作用组对细胞的抑制增殖效果明显高于单独作用组。进一步的研究证明了,与单独用药组比较,联合组可显著抑制 5637 细胞克隆形成能力及细胞迁移能力。

微小 RNA (microRNAs, miRNAs, miR) 是一类长度为 18~22 个碱基对组成的非编码 RNA,大量研究

证实 miRNA 的异常表达与肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡及转移密切相关^[17]。研究发现,微小 RNA-145 (microRNA-145, miR-145) 在多种肿瘤组织中呈低表达,起着抑癌基因的作用,当原癌基因被激活时,miR-145 的表达被抑制,不能发挥其正常功能,导致肿瘤的发生^[18]。多项研究证实,miR-145 在膀胱癌中明显下调,上调其表达可有效抑制膀胱癌细胞增殖并可促进细胞凋亡^[19-20]。据报道,多种药物或基因治疗手段可通过激活 miR-145 通路,上调膀胱癌细胞中 miR-145 的表达水平,进而抑制膀胱癌的发生与发展^[21-22]。qRT-PCR 结果显示,羽扇豆醇与槲皮素单独作用及联合作用 5637 细胞均可使 miR-145 表达升高,且联合作用组升高最为显著。另外,miR-145 是膀胱癌在内的多种癌症上皮间叶转化 (epithelial mesenchymal transition, EM) 调节剂,其表达增高也可抑制癌细胞的侵袭和转移^[23]。本研究中,羽扇豆醇与槲皮素联合作用 5637 细胞后,使胞内 miR-145 相对表达量明显增高从而达到抑癌效果,但其具体分子机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] MYLONAS KS, MALLEY PO, ZIOGAS IA, et al. Malignant urothelial neoplasms: a population-based study and systematic review of literature [J/OL]. Urol Oncol, 2017, 35 (1): e11-e33, e19. DOI: 10.1016/j.urolonc.2016.07.021.
- [3] WANG Y, ZHANG Q, CHEN Y, et al. Antitumor effects of immunity-enhancing traditional Chinese medicine [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 121: 109570. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109570.
- [4] 尹婕, 李琦, 孙立东, 等. 天然产物抗癌研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(1): 19-27.
- [5] JIN X, YANG Q, CAI N, et al. A cocktail of betulinic acid, parthenolide, honokiol and ginsenoside Rh2 in liposome systems for lung cancer treatment [J]. Nanomedicine (Lond), 2020, 15(1): 41-54.
- [6] Liu M, Li Y, Tang Y, et al. Synergistic effect of aconitum lateralis radix praeparata water-soluble alkaloids and ginseng radix et rhizoma total ginsenosides compatibility on acute heart failure rats [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2020, 1137: 121935. DOI: 10.1016/j.jchromb.2019.121935.
- [7] SINHA K, CHOWDHURY S, BANERJEE S, et al. Lupeol alters viability of SK-RC-45 (Renal cell carcinoma cell line) by modulating its mitochondrial dynamics [J/OL]. Heliyon, 2019, 5(8): e02107. DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e02107.
- [8] HSU MJ, PENG SF, CHUEH FS, et al. Lupeol suppresses migration and invasion via p38/MAPK and PI3K/Akt signaling pathways in human osteosarcoma U-2 OS cells [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2019, 83(9): 1729-1739.
- [9] FERNÁNDEZ-PALANCA P, FONDEVILA F, MÉNDEZ-BLANCO C, et al. Antitumor effects of quercetin in hepatocarcinoma in

- vitro and in vivo models: a systematic review [J/OL]. *Nutrients*, 2019, 11(12):11122875. DOI: 10.3390/nu11122875.
- [10] 余天奉, 韩泽平, 黎毓光, 等. Hsa-miR-145 联合槲皮素对人前列腺癌 LNCaP 细胞侵袭、迁移的影响 [J]. *现代肿瘤医学*, 2017, 25(15): 2387-2391.
- [11] Sheng J, Zou X, Cheng Z, et al. Recent Advances in Herbal Medicines for Digestive System Malignancies [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9:01249. DOI: 10.3389/fphar.2018.01249.
- [12] YAN Z, LAI Z, LIN J. Anticancer properties of traditional Chinese medicine [J]. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2017, 20(5):423-429.
- [13] MAURYA SK, SHADAB G, SIDDIQUE HR. Chemosensitization of therapy resistant tumors: targeting multiple cell signaling pathways by lupeol, a pentacyclic triterpene [J]. *Curr Pharm Des*, 2020, 26(4):455-465.
- [14] MAGAR RT, SOHNG JK. A review on structure, modifications and structure-activity relation of quercetin and its derivatives [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2020, 30(1):11-20.
- [15] DANG JH, JIN ZJ, LIU XJ, et al. Metformin in combination with cisplatin inhibits cell viability and induces apoptosis of human ovarian cancer cells by inactivating ERK 1/2 [J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(6):7557-7564.
- [16] MAO Y, XI L, LI Q, et al. Combination of PI3K/Akt pathway inhibition and Plk1 depletion can enhance chemosensitivity to gemcitabine in pancreatic carcinoma [J]. *Transl Oncol*, 2018, 11(4):852-863.
- [17] LU TX, ROTHENBERG ME. MicroRNA [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 141(4):1202-1207.
- [18] XU WX, LIU Z, DENG F, et al. MiR-145: a potential biomarker of cancer migration and invasion [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(11): 6739-6753.
- [19] ZHANG H, JIANG M, LIU Q, et al. miR-145-5p inhibits the proliferation and migration of bladder cancer cells by targeting TAGLN2 [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(5):6355-6360.
- [20] 张雪峰, 张雪琦, 吴翠翠, 等. miRNA-145 与膀胱癌侵袭和转移的关系 [J]. *标记免疫分析与临床*, 2019, 26(9):1552-1555, 1582.
- [21] LIU X, WU Y, ZHOU Z, et al. Celecoxib inhibits the epithelial-to-mesenchymal transition in bladder cancer via the miRNA-145/TGFBR2/Smad3 axis [J]. *Int J Mol Med*, 2019, 44(2):683-693.
- [22] WANG J, ZHANG H, SITU J. KCNQ10T1 aggravates cell proliferation and migration in bladder cancer through modulating miR-145-5p/PCBP2 axis [J]. *Cancer Cell Int*, 2019, 19(1):325.
- [23] YE D, SHEN Z, ZHOU S. Function of microRNA-145 and mechanisms underlying its role in malignant tumor diagnosis and treatment [J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11:969-979.

(收稿日期:2020-03-12, 修回日期:2020-04-21)

引用本文:付琼,殷金凤,颜爱华. 紫花前胡苷抗宫颈癌细胞作用研究 [J]. *安徽医药*, 2021, 25(5): 858-862. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2021.05.003.



◇ 药学研究 ◇

紫花前胡苷抗宫颈癌细胞作用研究

付琼, 殷金凤, 颜爱华

作者单位: 成都市第二人民医院妇产科, 四川 成都 610017

通信作者: 颜爱华, 女, 副主任医师, 研究方向为妇科肿瘤, Email: 2137132126@qq.com

摘要: **目的** 探究紫花前胡苷抗宫颈癌 HeLa 细胞的作用效果及相关信号通路。**方法** HeLa 细胞在 0、0.1、1 和 10 mmol/L 浓度的紫花前胡苷作用 24 h 后, 通过 CCK-8 法检测细胞增殖活性, 流式细胞术检测细胞凋亡水平; 通过蛋白免疫印迹法检测细胞内凋亡相关 cleaved-caspase 3 (cle-caspase 3)、Cytochrome C (Cyto C)、Bax、Bcl2 蛋白水平变化, 以及自噬相关 p-mTOR、mTOR、P62、Beclin1、LC3 蛋白水平变化; 结合 Ad-GFP-LC3B 腺病毒转染检测细胞内 LC3B 聚集状态。**结果** 对照组 (0 mmol/L)、0.1 mmol/L 组、1 mmol/L 组、10 mmol/L 组的 HeLa 细胞凋亡率依次升高, 分别为 (14.93±2.95)%、(15.43±2.13)%、(21.63±3.19)%、(31.42±5.01)%, 且在 10 mmol/L 浓度处理下升高最为明显 ($P<0.05$)。10 mmol/L 的紫花前胡苷作用 24 h 后, HeLa 细胞内的促凋亡 cle-caspase 3、Cyto C、Bax 蛋白水平升高, 抗凋亡蛋白 Bcl2 表达下降, 自噬相关蛋白 p-mTOR/mTOR 水平下降, Beclin1 以及 LC3-II 累积增多, 自噬流相关蛋白 P62 表达下降, LC3B 在紫花前胡苷处理组中呈颗粒性聚集, 均差异有统计学意义 ($P<0.05$)。**结论** 紫花前胡苷具有较好的抗宫颈癌细胞作用, 其机制可能与自噬相关细胞凋亡有关。

关键词: 当归属; 紫花前胡苷; 宫颈癌; 凋亡; 自噬

Study on the effect of Nodakenin on apoptosis and autophagy of cervical cancer cells

FU Qiong, YIN Jinfeng, YAN Aihua

Author Affiliation: Department of Gynecology and Obstetrics, Chengdu Second People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610017, China