引用本文:郭慧,刘鹏飞.人参皂苷Rg5通过抑制蛋白激酶B信号通路调控肝癌HepG2细胞生物学行为[J].安徽医药,2021,25(6):1095-1099.**DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.06.008.**

◇药学研究◇

人参皂苷Rg5通过抑制蛋白激酶B信号通路调控肝癌HepG2细胞生物学行为

郭慧,刘鹏飞

作者单位:湖南中医药高等专科学校附属第一医院药学部,湖南 株洲 412000

摘要: 目的 探讨人参皂苷Rg5对肝癌HepG2细胞生物学行为和蛋白激酶B(AKT)信号通路的影响。**方法** 采用四甲基偶氮唑盐微量酶反应比色法(MTT法)检测不同浓度人参皂苷Rg5对HepG2细胞24、48和72 h下的细胞存活率,并计算出半数抑制浓度(IC_{50})以筛选出合适的作用浓度。Transwell小室实验检测人参皂苷Rg5对细胞侵袭和迁移的影响,流式细胞仪检测人参皂苷Rg5对细胞周期和凋亡的影响,蛋白质印迹法(Western blotting)检测人参皂苷Rg5对细胞中AKT、磷酸化蛋白激酶B(p-AKT)、细胞周期蛋白D1(cyclin D1)、基质金属蛋白酶9(MMP-9)和B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)表达的影响。**结果** 与对照(0 μmol/L)组相比,40、80和160 μmol/L人参皂苷Rg5 24 h下细胞存活率降低(P<0.05),20、40、80和160 μmol/L人参皂苷Rg5 48 h下细胞存活率明显降低(P<0.05),不同浓度的人参皂苷72 h下均可使细胞存活率降低(P<0.05)。人参皂苷Rg5作用HepG2细胞24、48和72 h后的IC_{50}值分别为138.60、91.12和46.92 μmol/L。与对照(0 μmol/L)组相比,40、80和160 μmol/L处理组中侵袭细胞数[(57.38±3.65)个,(35.26±2.15)个,(32.48±2.23)个比(82.55±6.02)个]、迁移细胞数[(94.25±6.12)个,(51.57±3.15)个,(48.73±3.26)个比(137.62±8.83)个]、细胞在S期的百分比[(30.06±1.75)%,(23.32±1.51)%,(21.95±1.13)% 比(36.85±2.26)%]和p-AKT[(0.61±0.04),(0.32±0.03),(0.28±0.03) 比 (0.79±0.06)]、cyclin D1、MMP-9、Bcl-2蛋白的表达水平均明显降低(P<0.05),而细胞凋亡率[(12.58±2.12)%,(28.35±2.26)%,(25.27±3.23)% 比(5.06±1.25)%]、细胞在G0/G1期的百分比[(52.85±3.42)%,(64.54±4.03)%,(67.02±4.15)% 比(44.16±3.08)%]均明显升高(P<0.05)。**结论** 人参皂苷Rg5可抑制肝癌HepG2细胞增殖、侵袭和迁移并诱导细胞周期阻滞和凋亡,其作用机制可能与抑制AKT信号通路活化有关。

关键词: 肝肿瘤; HepG2细胞; 人参皂苷Rg5; 细胞增殖; 侵袭; 迁移; 细胞周期; 凋亡; AKT信号通路

Ginsenoside Rg5 regulates the biological behavior of hepatocellular carcinoma HepG2 cells by inhibiting AKT signaling pathway

GUO Hui,LIU Pengfei

Author Affiliation:Department of Pharmacy, First Affiliated Hospital of Hunan College of Traditional Chinese Medicine, Zhuzhou, Hunan 412000, *China*

Abstract: Objective To investigate the effects of ginsenoside Rg5 on the biological behavior of HepG2 cells and protein kinase B (AKT) signaling pathway.**Methods** Methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay was used to detect the cell viability of HepG2 cells at different concentrations of ginsenoside Rg5 at 24, 48 and 72 hours, and half inhibitory concentration (IC_{50}) was calculated to screen the appropriate concentration. Transwell cell assay was used to detect the effects of ginsenoside Rg5 on cell invasion and migration. Flow cytometry was used to detect the effects of ginsenoside Rg5 on cell cycle and apoptosis. Western blotting was used to detect the effects of ginsenoside Rg5 on the expression of AKT, p-AKT, cyclin D1, matrix metalloproteinase (MMP)-9 and B cell lymphoma (Bcl)-2 proteins. **Results** Compared with the control group (0 μmol/L), the cell survival rate of 40, 80 and 160 μmol/L ginsenoside Rg5 decreased at 24 h (P<0.05), and that of 20, 40, 80 and 160 μmol/L ginsenoside Rg5 decreased at 48 h (P<0.05), and that of different concentrations of ginsenoside Rg5 decreased at 72 h (P<0.05). IC_{50} values of HepG2 cells treated with ginsenoside Rg5 for 24, 48 and 72 h were 138.60, 91.12 and 46.92 μmol/L, respectively. Compared with the control group (0 μmol/L), the number of invasive cells [(57.38±3.65), (35.26±2.15), (32.48±2.23) *vs*. (82.55±6.02)], the number of migrating cells [(94.25±6.12), (51.57±3.15), (48.73±3.26) *vs*. (137.62±8.83)], the percentage of cells in S phase [(30.06±1.75)%, (23.32±1.51)%, (21.95±1.13)% *vs*. (36.85±2.26)%] and the expression levels of p-AKT [(0.61±0.04), (0.32±0.03), (0.28±0.03) *vs*. (0.79±0.06)], cyclin D1, MMP-9 and Bcl-2 proteins in 40, 80 and 160 μmol/L treatment groups were significantly decreased (P<0.05), while the apoptotic rate [(12.58±2.12)%, (28.35±2.26)%, (25.27±3.23)% *vs*. (5.06±1.25)%] and the percentage of cells in G0/G1 phase [(52.85±3.42)%, (64.54±4.03)%, (67.02±4.15)% *vs*. (44.16±3.08)%] were significantly increased (P<0.05).**Conclusion** Ginsenoside Rg5 can inhibit the proliferation, invasion and migration of HepG2 cells and induce cell cycle arrest and apoptosis. Its mechanism may be related to the inhibition of AKT signaling pathway activation.

Key words: Liver neoplasms; HepG2 cells; Ginsenoside Rg5; Cell proliferation; Invasion; Migration; Cell cycle; Apoptosis; AKT signaling pathway

肝癌是肿瘤相关性死亡的重要原因之一,我国是肝癌的高发区,每年有11~13万人死于肝癌,占全球肝癌死亡的50%以上[1];目前以手术切除为主的综合治疗是肝癌的主要治疗手段,但其治疗效果并不理想[2]。人参皂苷是中药材人参的主要活性成分之一,具有提高免疫、抗病毒、抗炎和抗肿瘤等广泛的药理作用[3-5];人参皂苷Rg5是稀有人参皂苷之一,可通过影响肿瘤细胞增殖和凋亡等抑制宫颈癌、乳腺癌和胃癌等多种肿瘤细胞的生长[6-8],但其对肝癌细胞生长的影响并不清楚。因此,本研究通过常规生物学手段观察人参皂苷Rg5对肝癌HepG2细胞增殖、侵袭、迁移、周期和凋亡的影响,并探讨其可能的分子机制,以揭示其对肝癌细胞的作用。

1 材料与方法

1.1 主要试剂 人参皂苷Rg5(纯度98%)购于维克奇生物科技公司,洛斯维公园纪念所1640培养基(RPMI1640)、胎牛血清、青霉素链霉素双抗和胰蛋白酶购于美国Gibco公司,3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)试剂和二甲基亚砜购于美国Sigma公司,RIPA细胞裂解液购于上海碧云天公司,兔抗蛋白激酶B(AKT)、磷酸化蛋白激酶B(p-AKT)、B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、基质金属蛋白酶9(MMP-9)和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)单克隆抗体购于美国CST公司,鼠抗细胞周期蛋白D1(cyclin D1)单克隆抗体购于美国Santa Cruz公司,辣根过氧化酶标记的羊抗兔或鼠IgG抗体购于北京中杉金桥生物公司,细胞周期检测试剂盒、细胞凋亡检测试剂盒、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)试剂盒、Braford蛋白含量检测试剂盒和电化学发光法(ECL)检测试剂盒均购于南京凯基生物公司。

1.2 细胞培养 将来自中科院上海细胞库的肝癌HepG2细胞解冻复苏后,接种于含100 U/mL青霉素链霉素双抗和10%胎牛血清的RPMI1640培养基中,并在温度为37 ℃、湿度饱和、体积分数为5%二氧化碳的细胞培养箱内常规培养。每2天更换一次细胞液,定期观察。待细胞铺满瓶底85%时,加入0.25%胰蛋白酶消化,并按照1∶3比例传代。实验所用细胞为生长状况良好的第3代对数生长期细胞。

1.3 细胞增殖实验 将对数生长期的HepG2细胞以每孔2×10^5个细胞种植于96孔细胞板上,置于细胞培养箱中常规培养过夜。以RPMI1640培养基将人参皂苷Rg5的浓度调整为10、20、40、80和160 μmol/L。次日,弃细胞培养液后,加入终浓度为10、20、40、80和160 μmol/L人参皂苷Rg5,并以不含人参皂苷Rg5的细胞作为对照(0 μmol/L)组,另设置不含细胞的培养液作为空白对照组,每组设置3个复孔。分别在细胞培养箱内培养24、48和72 h后,每孔加入20 μL浓度为5 mg/mL的MTT溶液,于细胞培养箱内培养4 h后,加入100 μL二甲基亚砜震荡反应至MTT结晶完全溶解。采用酶标仪检测各处理组细胞的吸光度(OD)值,并以(药物组OD-空白组OD)/(对照组OD-空白组OD)×100%的值表示各组细胞的存活率。实验重复3次。

1.4 细胞侵袭和迁移实验 将对数生长期的HepG2细胞以每孔100 μL(浓度10^6个/毫升)接种于24孔细胞板上,于细胞培养箱中常规培养过夜后,加入终浓度为0、40、80和160 μmol/L人参皂苷Rg5,每组设置3个重复。继续培养24 h后,胰蛋白酶消化收集各组细胞,并制成浓度为10^5个/毫升细胞悬液。侵袭实验:首先,以50 μL Matrigel溶液包被Transwell小室的聚碳酸酯微孔膜,并在室温下充分融合凝固(迁移实验中无需该步骤)。在小室下层加入600 μL含血清培养基,上层中加入制备的细胞悬液100 μL。在细胞培养箱中培养48 h后,取出小室。拭去上层内残留的细胞,分别以甲醛固定、结晶紫染色15 min。洗去染色液后,自然晾干,在倒置显微镜下随机选取3个视野统计穿过滤膜的细胞数(即侵袭细胞数)。迁移实验:除了不需对Transwell小室的聚碳酸酯微孔膜进行包被外,其余步骤与侵袭实验的步骤相同。实验重复3次。

1.5 细胞周期和凋亡实验 将对数生长期的HepG2细胞以每孔2×10^5个细胞接种至6孔细胞板上,于培养箱内培养过夜。加入终浓度为0、40、80和160 μmol/L人参皂苷Rg5,每组设置3个复孔,培养箱内处理48 h后,以胰蛋白酶消化收集各处理组细胞,并将其分为两份,一份用以细胞周期检测,一份用以细胞凋亡检测。具体操作步骤参照细胞周期检测试剂盒和细胞凋亡检测试剂盒说明书。实验重复3次。

1.6 AKT信号通路相关蛋白表达实验 将对数生长期的HepG2细胞以每孔2×10^5个细胞接种至6孔细胞板上,孵育过夜后,加入终浓度为0、40、80和160 mol/L人参皂苷Rg5,每孔设置3次复孔。孵育48 h后,胰蛋白酶消化收集各组细胞,磷酸缓冲液洗

涤细胞后,1 200 r/min低温离心5 min,弃上清,加入RIPA细胞裂解液冰上裂解提取总蛋白,并以Braford法检测总蛋白的浓度。在蛋白样品中加入上样缓冲液,混匀后,置于沸水浴中变性5 min。在SDS-PAGE凝胶孔中,加入各处理组蛋白样品,40 mA恒流电泳2 h。以湿转法将蛋白样品转至PVDF膜上后,浸泡于含5%脱脂奶粉的封闭液中封闭1 h。以一抗工作液(AKT 1∶1 000、p-AKT 1∶1 000、cyclin D1 1∶500、MMP-9 1∶800、Bcl-2 1∶1 000和GAPDH 1∶1 000)4 ℃孵育过夜后,置于二抗工作液(1∶2 000)中室温孵育1 h。经ECL发光液显影曝光后,以GAPDH为内参,采用凝胶成像系统分析各组细胞中目的蛋白的表达水平。实验重复3次。

1.7 统计学方法 实验数据以$\bar{x} \pm s$形式表示,采用SPSS 22.0进行统计学分析,两组间比较采用独立样本t检验;多组间比较使用单因素方差分析,组间多重比较采用SNK法。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 人参皂苷Rg5对肝癌HepG2细胞增殖的影响 在24 h作用时间下,40、80和160 μmol/L人参皂苷Rg5的细胞存活率较对照(0 μmol/L)组明显降低($P<0.05$);在48 h作用时间下,20、40、80和160 μmol/L人参皂苷Rg5的细胞存活率均显著低于对照(0 μmol/L)组($P<0.05$);而在72 h作用时间下,不同浓度的人参皂苷均可使HepG2细胞存活率低于0 μmol/L组($P<0.05$)。计算得出,人参皂苷Rg5作用HepG2细胞24、48和72 h后的半数抑制浓度(IC_{50})值分别为138.60、91.12和46.92 μmol/L。故后续选用40、80和160 μmol/L的人参皂苷Rg5进行实验。见表1。

2.2 人参皂苷Rg5对肝癌HepG2细胞侵袭、迁移的影响 与对照(0 μmol/L)组相比,40、80和160 μmol/L处理组中侵袭细胞数和迁移细胞数均明显降低($P<0.05$);且80和160 μmol/L处理组显著低于40 μmol/L处理组($P<0.05$);但160 μmol/L处理组与80 μmol/L处理组相比,侵袭和迁移细胞数差异无统计学意义($P>0.05$)。见图1、表2。

表1 不同浓度人参皂苷Rg5处理后各组肝癌HepG2细胞的存活率/(%,$\bar{x} \pm s$)

组别	重复次数	24 h	48 h	72 h
0 μmol/L	3	100.00±5.87	100.00±6.25	100.00±5.64
10 μmol/L	3	98.32±6.15	96.48±5.16	87.85±5.28①
20 μmol/L	3	92.13±5.58	85.13±4.22①	73.64±4.75①
40 μmol/L	3	75.46±5.06①	68.57±3.73①	56.39±3.28①
80 μmol/L	3	62.64±3.34①	50.26±3.05①	37.96±3.05①
160 μmol/L	3	48.35±3.02①	38.75±2.24①	19.58±2.36①
F值		53.166	101.077	155.325
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:①与0 μmol/L相比,$P<0.05$。

表2 各组肝癌HepG2细胞中侵袭细胞数和迁移细胞数/(个,$\bar{x} \pm s$)

组别	重复次数	侵袭细胞数	迁移细胞数
0 μmol/L	3	82.55±6.02	137.62±8.83
40 μmol/L	3	57.38±3.65①	94.25±6.12①
80 μmol/L	3	35.26±2.15①②	51.57±3.15①②
160 μmol/L	3	32.48±2.23①②	48.73±3.26①②
F值		109.772	155.094
P值		<0.001	<0.001

注:①与0 μmol/L相比,$P<0.05$。②与40 μmol/L相比,$P<0.05$。

2.3 人参皂苷Rg5对肝癌HepG2细胞周期的影响 人参皂苷Rg5处理后HepG2细胞在G2/M期的百分比与对照(0 μmol/L)组相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。与对照(0 μmol/L)组相比,40、80和160 μmol/L人参皂苷Rg5可使HepG2细胞在G0/G1期的百分比明显升高($P<0.05$),而在S期的百分比明显降低($P<0.05$);且80和160 μmol/L人参皂苷Rg5引起的细胞周期分布的变化明显大于40 μmol/L($P<0.05$),但80 μmol/L和160 μmol/L处理组之间差异无统计学意义($P>0.05$)。见表3。

表3 各组肝癌HepG2细胞的周期分布和凋亡率/(%,$\bar{x} \pm s$)

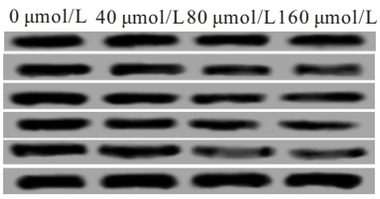
组别	重复次数	细胞周期			凋亡率
		G0/G1	S	G2/M	
0 μmol/L	3	44.16±3.08	36.85±2.26	12.96±1.13	5.06±1.25
40 μmol/L	3	52.85±3.42①	30.06±1.75①	11.05±1.28	12.58±2.12①
80 μmol/L	3	64.54±4.03①②	23.32±1.51①②	12.16±1.02	28.35±2.26①②
160 μmol/L	3	67.02±4.15①②	21.95±1.13①②	11.03±1.15	25.27±3.23①②
F值		24.833	48.115	1.994	66.056
P值		<0.001	<0.001	0.194	<0.001

注:①与0 μmol/L相比,$P<0.05$。②与40 μmol/L相比,$P<0.05$。

2.4 人参皂苷Rg5对肝癌HepG2细胞凋亡的影响 与对照(0 μmol/L)组相比,不同浓度的人参皂苷Rg5处理后HepG2细胞凋亡率均明显升高($P<0.05$);且80和160 μmol/L处理组细胞凋亡率明显高于40 μmol/L处理组($P<0.05$);但是,160 μmol/L处理组细胞凋亡率与80 μmol/L处理组相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。见图2、表3。

2.5 人参皂苷Rg5对肝癌细胞中AKT、p-AKT、cy-

clin D1、MMP-9和Bcl-2蛋白表达的影响 与对照(0 μmol/L)组相比,人参皂苷Rg5处理后HepG2细胞中AKT蛋白的表达水平差异无统计学意义(P>0.05),但40、80和160 μmol/L处理组细胞中p-AKT、cyclin D1、MMP-9和Bcl-2的表达水平较对照(0 μmol/L)组均明显降低(P<0.05),且高浓度80和160 μmol/L的作用强度明显大于低浓度40 μmol/L(P<0.05);而160 μmol/L和80 μmol/L的作用效果差异无统计学意义(P>0.05)。见图3、表4。



注:1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH);2—B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2);3—基质金属蛋白酶9(MMP-9);4—细胞周期蛋白D1(cyclin D1);5—磷酸化蛋白激酶B(p-AKT);6—蛋白激酶B(AKT)。

图3 蛋白质印迹法检测不同浓度人参皂苷Rg5处理的肝癌HepG2细胞AKT信号通路相关蛋白的表达

表4 各组肝癌HepG2细胞中AKT信号通路相关蛋白的表达情况/$\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	AKT	p-AKT	cyclin D1	MMP-9	Bcl-2
0 μmol/L	3	0.86±0.05	0.79±0.06	1.18±0.09	0.74±0.05	0.68±0.05
40 μmol/L	3	0.88±0.06	0.61±0.04①	0.85±0.06①	0.52±0.03①	0.42±0.03①
80 μmol/L	3	0.82±0.05	0.32±0.03①②	0.46±0.03①②	0.38±0.03①②	0.26±0.03①②
160 μmol/L	3	0.84±0.06	0.28±0.03①②	0.51±0.04①②	0.36±0.03①②	0.23±0.02①②
F值		0.656	101.143	94.817	70.769	108.319
P值		0.602	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:①与0 μmol/L相比,P<0.05。②与40 μmol/L相比,P<0.05。

3 结论

人参是我国传统的中药材之一,含有丰富的皂苷类成分,其中人参皂苷Rg3已被作为肿瘤新生血管抑制剂批准上市[9],而人参皂苷Rg5在肿瘤中的研究还处在实验阶段。有学者在肺癌中发现,人参皂苷Rg5具有一定的抗癌活性,可通过调控与凋亡相关的钙调素样蛋白、嘌呤核苷磷酸化酶、转醛酶、胆绿素还原酶、醛脱氢酶、二氢蝶啶还原酶和活性反应DNA结合蛋白-43的表达诱导癌细胞凋亡[10]。Cui等[11]在视网膜母细胞瘤中发现,人参皂苷Rg5通过灭活AKT信号通路,抑制肿瘤细胞增殖,诱导细胞凋亡,并下调Bcl-2的表达。有研究在乳腺癌中发现,人参皂苷Rg5可通过下调周期相关蛋白cyclin D1、CyclinE2、周期素依赖性激酶4(CDK4)和上调p21、p53等的表达诱导细胞周期阻滞于G0/G1,抑制癌细胞增殖并诱导细胞凋亡[12]。此外,李为等[13]在胃癌中指出,人参皂苷Rg5可通过调控miR-125b表达抑制癌细胞侵袭和迁移。本研究以不同浓度的人参皂苷Rg5作用于肝癌HepG2细胞不同时间后发现,人参皂苷Rg5可呈时间-剂量依赖性抑制HepG2细胞增殖;此外,还发现人参皂苷Rg5可诱导HepG2细胞周期阻滞于G0/G1期,抑制HepG2细胞侵袭、迁移并促进细胞凋亡。该结果与人参皂苷Rg5在乳腺癌、胃癌中的抗肿瘤作用相吻合[12-13]。这提示人参皂苷Rg5可通过抑制肝癌细胞增殖、侵袭、迁移和促进细胞凋亡发挥抗肝癌的作用。

磷脂酰肌醇-3-羟激酶(PI3K)/AKT信号通路是细胞内重要的信号转导途径,AKT是PI3K下游的调节分子,活化的AKT以磷酸化形式存在,可通过影响下游转移相关基因MMP-9、凋亡相关基因Bcl-2、增殖相关基因cyclin D1等的表达[14],在调控细胞增殖、转移和凋亡过程在发挥着重要作用,其过度活化与包括肝癌在内的多种肿瘤的发生发展密切相关[15-17]。Liu等[18]和Zhang等[19]分别在乳腺癌和食管癌中证实人参皂苷Rg5可通过抑制AKT信号通路的活化发挥抗肿瘤作用。为了进一步探讨人参皂苷Rg5抗肝癌的分子机制,本研究采用蛋白质印迹法检测发现,人参皂苷Rg5可使肝癌HepG2细胞中AKT信号通路相关蛋白p-AKT、cyclin D1、MMP-9和Bcl-2蛋白的表达水平明显降低。这提示,人参皂苷Rg5可能通过抑制AKT信号通路活化影响肝癌HepG2细胞增殖、转移和凋亡过程,进而发挥抗肝癌的作用。

综上所述,人参皂苷Rg5可抑制肝癌HepG2细胞增殖、侵袭、迁移并诱导细胞周期阻滞和凋亡,其作用机制可能与抑制AKT信号通路的活化有关。该结果从细胞水平上阐述了人参皂苷Rg5对肝癌的作用,为人参皂苷Rg5在肝癌方面的深入研究奠定了基础,也为肝癌的治疗提供了新的线索。

(本文图1,2见插图6-3)

参考文献

[1] 杨艺萱,郭文静,马承旭,等.血根碱通过诱导活性氧促进HepG2细胞凋亡的机制研究[J].中国药理学通报,2018,34(3):370-375.

[2] LI Z, PENG Y, ZHOU J. New advances in the treatment of primary hepatocellular carcinoma[J]. J Med Discov, 2018, 3(1): JMD18001.DOI: DOI:10.24262/jmd.3.1.18001.

[3] 王宇晨,王小利,沈思嗣,等.人参皂苷抗病毒作用的研究进展[J].国际中医中药杂志,2018,40(7):677-681.

[4] CHEN T, LI B, QIU Y, et al. Functional mechanism of Ginsen-

osides on tumor growth and metastasis[J]. Saudi J Biol Sci, 2018, 25(5): 917-922.
[5] 曾露露, 丁传波, 刘文丛, 等. 人参稀有皂苷药理活性的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(3): 680-682.
[6] LIANG LD, HE T, Du TW, et al. Ginsenoside Rg5 induces apoptosis and DNA damage in human cervical cancer cells[J]. Mol Med Rep, 2015, 11(2): 940-946.
[7] ZOU Y, LIU P. Ginsenoside-Rg5 inhibits proliferation of the breast carcinoma cells through promotion of the proteins involved in AMP kinase pathway[J]. Int J Clin Exp Med, 2016, 9(9): 17664-17669.
[8] 李为, 刘伟, 邹君君. 人参皂苷Rq5对胃癌BGC-823细胞增殖、凋亡及凋亡相关因子的影响[J]. 中国中医急症, 2018,27(6):955-958.
[9] 邵长军, 白凤祥, 赵丽霞. 人参皂甙Rg3-参一胶囊辅助治疗手术后乳腺癌的临床研究[J]. 中国肿瘤临床, 2008, 35(15): 861,863.
[10] KWAK JH, PYO JS. Characterization of apoptosis induced by ginsenosides in human lung cancer cells[J]. Anal Lett, 2016, 49(6): 843-854.
[11] CUI Y, SU Y, DENG L, et al. Ginsenoside-Rg5 inhibits retinoblastoma proliferation and induces apoptosis through suppressing BCL2 expression[J]. Chemotherapy, 2018, 63(5): 293-300.
[12] KIM SJ, KIM AK. Anti-breast cancer activity of Fine Black ginseng (Panax ginseng Meyer) and ginsenoside Rg5[J]. J Ginseng Res, 2015, 39(2): 125-134.
[13] 李为,刘伟,邹君君. 人参皂苷Rg5通过miR-125b/STARD13/NEU1信号通路对胃癌BGC-823细胞侵袭迁移的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(22):138-142.
[14] 刘哲, 李文良, 康春生,等. Ad-PTEN增强LY294002对人胶质瘤细胞系U251的生长抑制作用[J]. 实用肿瘤学杂志, 2010, 24(1):1-7.
[15] WU JH, TIAN XY, AN QM, et al. LINC00963 promotes hepatocellular carcinoma progression by activating PI3K/AKT pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(6): 1645-1652.
[16] AN T, DONG T, ZHOU H, et al. The transcription factor Krüppel-like factor 5 promotes cell growth and metastasis via activating PI3K/AKT Snail signaling in hepatocellular carcinoma[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 508(1): 159-168.
[17] 施银,冯晓兰,谢李芬,等. PI3K/AKT信号通路在肿瘤中的研究进展[J].生命的化学,2018,38(3):421-426.
[18] LIU Y, FAN D. Ginsenoside Rg5 induces apoptosis and autophagy via the inhibition of the PI3K/AKT pathway against breast cancer in a mouse model[J]. Food Funct, 2018, 9(11): 5513-5527.
[19] ZHANG D, WANG A, FENG J, et al. Ginsenoside Rg5 induces apoptosis in human esophageal cancer cells through the phosphoinositide 3 kinase/protein kinase B signaling pathway[J]. Mol Med Rep, 2019, 19(5): 4019-4026.

(收稿日期:2019-09-12,修回日期:2019-11-18)

引用本文:邱敏,陈波.组织蛋白酶L对糖尿病大鼠肾脏炎症及氧化应激指标的影响[J].安徽医药,2021,25(6):1099-1103.**DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.06.009.**

◇药学研究◇

组织蛋白酶L对糖尿病大鼠肾脏炎症及氧化应激指标的影响

邱敏,陈波
作者单位:云南省第三人民医院肾病科,云南 昆明650000
通信作者:陈波,女,主任医师,研究方向为肾脏疾病,Email:3494416157@qq.com

摘要: 目的 观察组织蛋白酶L(Cat L)对糖尿病大鼠肾脏炎症及氧化应激指标的影响,探索Cat L在糖尿病肾病发生发展中的作用。**方法** 将30只SD雄性大鼠采用随机数字表法分为对照组和糖尿病组,分别为10只和20只。腹腔注射链脲佐菌素建立糖尿病大鼠模型,建立成功后从糖尿病组取10只大鼠每天腹腔注射10 mg/kg Cat L抑制剂Z-FY-CHO,作为抑制剂组。之后4周、8周分别收集三组各5只大鼠24 h尿,采血并处死大鼠取肾组织。全自动生化分析仪检测各组大鼠的尿蛋白、血尿素氮和血肌酐含量,实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)检测Cat L的mRNA表达,试剂盒测定Cat L活性、白细胞介素-1(IL-1)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子α(TNF-α)、丙二醛、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化酶(GSH-Px)和谷胱甘肽水平并比较。**结果** 与对照组相比,糖尿病大鼠血糖持续较高、体质量减轻,而肾脏组织中Cat L mRNA表达增加[4周(0.79±0.06)比(1.02±0.14),8周(0.54±0.10)比(0.93±0.19)],且活性增强[4周(218.90±23.35)%比(404.00±94.46)%,8周(283.10±29.99)%比(463.80±85.32)%]。与正常大鼠比,糖尿病大鼠尿蛋白增加[8周(52.06±7.75)mg/24 h]、血尿素氮[8周(342.2±54.9)mg/L]和血肌酐[8周(282±68)μmol/L]水平升高;与糖尿病组相比,Cat L拮抗剂处理组大鼠尿蛋白减少[8周(38.12±5.98)mg/24 h]、血尿素氮[8周(228.4±32.3)mg/L]和血肌酐[8周(157±51)μmol/L]水平降低。与正常大鼠比,糖尿病大鼠肾组织中炎性因子IL-1[8周(58.94±27.52)ng/L]、IL-6[8周(39.25±3.47)ng/L]和TNF-α[8周(257.73±78.88)ng/L]水平增加、氧化应激相关指标丙二醛表达增加[8周(0.97±0.14)nmol/mg],SOD、GSH-Px和谷胱甘肽水平降低[8周(25.86±3.62)U/mg、8周(13.03±1.76)U/mg、8周(3.00±0.61)μmol/g],而Cat L拮抗剂抑制了这一改变[8周IL-1(27.84±2.81)ng/L、IL-6(33.41±4.72)ng/L、TNF-α(150.78±56.07)ng/L、丙二醛(0.52±0.18)nmol/mg、SOD(36.55±4.35)U/mg、GSH-Px(18.54±2.26)U/mg、谷胱甘肽(5.93±