引用本文:陈吉柏,范长玲,张浩.薯蓣提取物通过KTN1反义RNA 1对食管癌细胞生物行为的影响[J].安徽医药,2022,26(6):1084-1088.**DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.06.005.**

◇药学研究◇

薯蓣提取物通过KTN1反义RNA 1对食管癌细胞生物行为的影响

陈吉柏[a],范长玲[b],张浩[a]

作者单位:儋州市人民医院,[a]胸心胸肿瘤外科,[b]病理科,海南 儋州 571799

通信作者:张浩,男,主任医师,研究方向为心肌保护,Email:zzhh1279@163.com

基金项目:海南省卫生和计划生育委员会科研项目(1605032027A2001)

摘要: **目的** 研究薯蓣提取物是否影响食管癌细胞的生物学行为。**方法** 自2019年1月至2020年1月,采用(10、20和30 mg/L)浓度的薯蓣提取物处理食管癌Eca109细胞,分别记为薯蓣-L组、薯蓣-M组、薯蓣-H组,另以未加薯蓣提取物的Eca109细胞作为对照组。细胞计数试剂盒8(CCK-8)测定细胞增殖,克隆形成实验分析细胞克隆能力,蛋白质印迹法检测周期素依赖激酶抑制剂p21(P21)、上皮钙黏素(E-cadherin)、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)蛋白表达,Transwell分析细胞迁移、侵袭,实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)检测长链非编码RNA(lncRNA)KTN1反义RNA 1(KTN1-AS1)表达。在Eca109细胞中转染KTN1-AS1小干扰RNA(si-KTN1-AS1),或转染KTN1-AS1过表达质粒(pcDNA3.1-KTN1-AS1)并使用薯蓣提取物处理,观察其对细胞增殖、迁移和侵袭的影响。**结果** 与对照组相比,薯蓣-L组、薯蓣-M组、薯蓣-H组Eca109细胞的抑制率[(1.06±0.21)%比(19.25±1.68)%比(38.57±3.69)%比(62.14±6.06)%]、P21、E-cadherin蛋白水平明显提高,细胞的克隆形成数、迁移细胞数[(142.00±11.59)比(121.00±11.07)比(94.00±9.26)比(73.00±7.15)]、侵袭细胞数[(81.00±8.03)比(67.00±6.21)比(50.00±5.04)比(37.00±3.56)]、MMP-2蛋白表达量、KTN1-AS1表达量显著减少(P<0.05),均呈浓度依赖性。抑制KTN1-AS1明显增加Eca109细胞的抑制率[(1.04±0.17)%比(47.81±4.55)%]、E-cadherin、P21蛋白表达量,显著降低迁移细胞数[(144.00±13.52)比(85.00±8.51)]、侵袭细胞数[(80.00±8.11)比(47.00±4.36)]、克隆形成数和MMP-2蛋白水平(P<0.05)。过表达KTN1-AS1能减弱薯蓣提取物对食管癌细胞增殖、迁移、侵袭的抑制作用。**结论** 薯蓣提取物通过下调食管癌细胞中KTN1-AS1的表达,发挥抑制细胞增殖、迁移和侵袭的作用。

关键词: 薯蓣属; 薯蓣提取物; KTN1反义RNA 1; 食管肿瘤; 增殖; 迁移; 侵袭

Effect of *Dioscorea cirrhosa* extract on biological behavior of esophageal cancer cells through KTN1-AS1

CHEN Jibai[a],FAN Changling[b],ZHANG Hao[a]

Author Affiliation:[a]Department of Thoracic and Cardiothoracic Tumor, [b]Department of Pathology, Danzhou People's Hospital, Danzhou, Hainan 571799, *China*

Abstract: **Objective** To investigate whether the extract of *Dioscorea cirrhosa* extract affects the biological behavior of esophageal cancer cells through long non-coding RNA (lncRNA) KTN1 antisense RNA 1 (KTN1-AS1). **Methods** From January 2019 to January 2020, esophageal cancer Eca109 cells were treated with (10, 20, and 30 mg/L) *Dioscorea cirrhosa* extract, which were designated as *Dioscorea cirrhosa*-L group, *Dioscorea cirrhosa*-M group and *Dioscorea cirrhosa*-H group, respectively, and Eca109 cells without *Dioscorea cirrhosa* extract were used as control group. Cell proliferation was measured by Cell Counting Kit-8 (CCK-8), the cloning formation experiment analyzed the cloning ability of the cells. Western blotting was used to detect the protein expression of P21, E-cadherin and matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), Transwell analyzed cell migration and invasion, and real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR) detected KTN1-AS1 expression. Eca109 cells were transfected with KTN1-AS1 small interfering RNA (si-KTN1-AS1), or transfected with KTN1-AS1 overexpressed plasmid (pcDNA3.1-KTN1-AS1) and treated with *Dioscorea cirrhosa* extract to observe the effects on cell proliferation, migration, and invasion. **Results** Compared with the control group, the inhibition rate [(1.06±0.21) % *vs*. (19.25±1.68) % *vs*. (38.57±3.69) % *vs*. (62.14±6.06) %] of Eca109 cells in *Dioscorea cirrhosa*-L group, *Dioscorea cirrhosa*-M group and *Dioscorea cirrhosa*-H group, P21, and E-cadherin protein levels were significantly increased, and the number of colony formation, number of migrating cells [(142.00±11.59) *vs*. (121.00±11.07) *vs*. (94.00±9.26) *vs*. (73.00±7.15)], number of invading cells [(81.00±8.03) *vs*. (67.00±6.21) *vs*. (50.00±5.04) *vs*. (37.00±3.56)], MMP-2 protein expression levels, and KTN1-AS1 expression were evidently reduced (P<0.05), with concentration dependence. Inhibition of KTN1-AS1 greatly increased the inhibition rate [(1.04±0.17) % *vs*. (47.81±

4.55) %] of Eca109 cells, as well as the expression of E-cadherin, and P21 protein, and obviously reduced the number of migrating cells [(144.00±13.52) *vs*. (85.00±8.51)], invading cells [(80.00±8.11) *vs*. (47.00±4.36)], colony formation, and MMP-2 protein levels ($P<0.05$). Overexpression of KTN1-AS1 can reduce the inhibitory effect of *Dioscorea cirrhosa* extract on the proliferation, migration and invasion of esophageal cancer cells. **Conclusion** *Dioscorea cirrhosa* extract can inhibit cell proliferation, migration and invasion by down-regulating the expression of KTN1-AS1 in esophageal cancer cells.

Key words: Dioscorea; *Dioscorea cirrhosa* extract; KTN1-AS1; Esophageal neoplasms; Proliferation; Migration; Invasion

食管癌是世界上发病率和病死率最高的恶性肿瘤之一，是导致肿瘤相关死亡的第六大原因[1]。食管癌主要分为食管鳞癌和食管腺癌[2]。目前，即使采用外科手术切除或广泛应用全身放化疗，食管癌治疗对侵袭和迁移均无积极作用，病人的5年生存率并不乐观[3]。因此，开发新的治疗方法和天然抗肿瘤药已成为食管癌治疗中亟待解决的问题。薯蓣为薯蓣科薯蓣属藤本植物薯蓣（*Dioscorea cirrhosa* Lour.）的干燥块茎，具有活血补血，收敛固涩的功效，用于功能性子宫出血，产后出血，咯血，吐血，便血，尿血，腹泻；外用治烧伤[4]。研究发现，薯蓣提取物对肝癌、胃癌、食管癌、肾癌等多种恶性肿瘤具有一定的治疗作用，其可抑制恶性肿瘤的生长[5]，但薯蓣对食管癌细胞的具体影响及其机制目前还未有研究。长链非编码RNA（lncRNA）长度超过200个核苷酸，但不编码蛋白质。lncRNA已经被证明参与多种生命过程，如细胞增殖，迁移、侵袭和细胞凋亡[6]。KTN1反义RNA 1（KTN1 antisense RNA 1，KTN1-AS1），又称MYCLo-3或C14orf33，是新近发现的结直肠癌和头颈鳞癌中的致癌lncRNA，KTN1-AS1作为肝癌、肺癌的预后相关的lncRNA，在癌细胞中高表达，KTN1-AS1的敲除可抑制细胞增殖[7-8]。然而KTN1-AS1在食管癌中的生物学功能尚未见诸报道。基于此，本研究自2019年1月至2020年1月，探讨薯蓣提取物对食管癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响，并通过KTN1-AS1探索其分子机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂 食管癌细胞Eca109购自中国科学院典型培养物保藏中心，RPMI-1640培养基（Roswell Park Memorial Institute）购自美国Hyclone公司，薯蓣购自上海雷允上药业有限公司，KTN1-AS1小干扰RNA（si-KTN1-AS1）、小干扰RNA阴性对照（si-NC）、KTN1-AS1过表达质粒（pcDNA3.1-KTN1-AS1）、过表达质粒对照质粒（pcDNA3.1）购自广州锐博生物有限公司，Lipofectamine 2000试剂购自美国Invitrogen公司，兔抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶（GAPDH）、周期素依赖激酶抑制剂p21（P21）、上皮钙黏素（E-cadherin）、基质金属蛋白酶-2（MMP-2）、羊抗兔免疫球蛋白G（IgG）抗体购自上海艾博抗贸易有限公司。

1.2 薯蓣提取物的制备 薯蓣提取物的制备参照文献[5]的方案进行。取薯蓣药材粉末，以1∶10加入蒸馏水，90 ℃水煮30 min，重复2次，合并2次滤液，旋转蒸发仪浓缩至1.5的浓缩液比重，之后加入乙醇沉淀，过滤干燥得到的红棕色粉末即为薯蓣提取物。用时使用二甲基亚砜溶解至所需浓度。

1.3 细胞培养与处理 Eca109细胞在补充有10%胎牛血清（FBS），100 U/mL青霉素和100 mg/L链霉素的RPMI-1640培养基中培养，并在37 ℃和5%二氧化碳条件下孵育。每2天更换一次培养基，当细胞达到80%~90%融合时传代。取生长状态良好的Eca109细胞，用不同浓度（10、20和30 mg/L）的薯蓣提取物处理细胞48 h，分别记为薯蓣-L组、薯蓣-M组、薯蓣-H组。同时将未加药物处理的Eca109细胞设为对照组。处理结束后，收集细胞用于后续实验。

1.4 细胞转染 在6孔板中接种Eca109细胞，当细胞达到70%融合，严格依照Lipofectamine 2000试剂说明书的指示，在Eca109细胞中转染si-KTN1-AS1、si-NC、pcDNA3.1-KTN1-AS1、pcDNA3.1。其中，转染pcDNA3.1-KTN1-AS1和pcDNA3.1的细胞使用30 mg/L薯蓣提取物处理。细胞在37 ℃和5%二氧化碳的环境中培养48 h后使用。

1.5 细胞计数试剂盒8（CCK-8）测定细胞增殖 在96孔板中接种Eca109细胞（5×10^3个/孔），48 h后向每个孔中添加10 μL CCK-8溶液，并将混合物在37 ℃，5%二氧化碳培养箱中孵育1 h，通过酶标仪在450 nm波长处测量吸光度。细胞增殖的抑制率（%）=（1−实验组吸光度/对照组吸光度）×100%。

1.6 克隆形成实验分析细胞克隆能力[9] Eca109细胞经不同的处理后，接种于6孔板中培养约两周。细胞菌落用磷酸盐缓冲液洗涤3次，苏木精溶液染色，于显微镜下计算克隆形成数。

1.7 蛋白质印迹法检测P21、E-cadherin、MMP-2蛋白表达 Eca109细胞在冰上与RIPA裂解液混合30 min，然后将样品在10 000 *g*、4 ℃下离心10 min。使用二辛可宁酸蛋白质浓度测定试剂盒测定蛋白质浓度。用10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS-PAGE）分离蛋白质样品（20 μg），然后电

转移到冰的聚偏二氟乙烯膜上。在室温下,用5%脱脂牛奶封闭膜1 h。随后,将膜与抗P21、E-cadherin、MMP-2和GAPDH一抗在4 ℃下孵育过夜。用Tris-HCl-Tween缓冲盐溶液(TBST)洗涤膜,并与二抗在室温下孵育1 h。将膜用TBST洗涤5次,每次5 min,并使用增强的化学发光检测试剂盒显影。使用Image J软件获取和分析成像数据。以GAPDH为对照计算P21、E-cadherin、MMP-2蛋白的相对表达。

1.8 Transwell分析细胞迁移、侵袭 Transwell小室(直径8 μm,24个孔)用于评估Eca109细胞的迁移和侵袭。迁移能力分析:通过胰蛋白酶消化收集Eca109细胞,并以2×10^5个/毫升的密度重悬于无血清RPMI-1640培养基中。将细胞悬液(200 μL)加入上室中。将500 μL补充有10% FBS的RPMI-1640培养基添加到下室中。在37 ℃孵育24 h后,使用棉签除去上室中的细胞,随后在室温下使用4%甲醛固定20 min,结晶紫染色30 min并洗涤3次,对迁移到下室的Eca109细胞进行计数,以评估迁移能力。侵袭能力分析:首先将基质胶以1∶2的比例用无血清RPMI-1640培养基稀释。在上腔室中,添加100 μL稀释的基质胶,37 ℃静置1 h。后续步骤同迁移。

1.9 实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)检测KTN1-AS1表达 使用Trizol试剂提取细胞总RNA,PrimeScript RT试剂盒获得互补DNA(cDNA),使用SYBR® Premix Ex Taq™ Ⅱ试剂盒进行qRT-PCR反应,由$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算KTN1-AS1相对于GAPDH的表达。KTN1-AS1引物序列:5′-ATGCACACTTCTCGGCTAAGAGTC-3′(正向)和5′-CTACAATGCCACAAGTGATTCCAGC-3′(反向),内参GAPDH引物序列:5′-CCATGTTCGTCATGGGTGTG-3′(正向)和5′-GGTGCTAAGCAGTTGGTGGTG-3′(反向)。

1.10 统计学方法 采用SPSS 22.0统计,结果表示为$\bar{x}\pm s$。采用成组t检验比较两组间数据差异,采用单因素方差分析比较多组间数据差异,采用SNK法进行多组间两两比较。采用Spearman相关性分析检验相关性。$P<0.05$代表差异有统计学意义。

2 结果

2.1 薯莨提取物对食管癌细胞增殖的影响 与对照组比较,10、20、30 mg/L薯莨提取物明显增加Eca109细胞的抑制率,显著降低细胞的克隆形成数,明显提高P21蛋白水平($P<0.05$),均呈浓度依赖性。Spearman相关性分析表明,食管癌细胞增殖的抑制率($r=0.564$)、P21($r=0.517$)与薯莨提取物浓度间存在正相关关系,克隆形成数($r=-0.498$)与薯莨提取物浓度间存在负相关关系($P<0.05$)。见表1。

表1 薯莨提取物对食管癌细胞增殖的影响/$\bar{x}\pm s$

组别	重复次数	抑制率/%	克隆形成数	P21
对照组	3	1.06±0.21	126.00±12.08	0.16±0.01
薯莨-L	3	19.25±1.68①	102.00±10.01①	0.30±0.03①
薯莨-M	3	38.57±3.69①	78.00±7.72①	0.49±0.05①
薯莨-H	3	62.14±6.06①	53.00±5.21①	0.67±0.07①
F值		154.81	35.48	70.71
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:P21为周期素依赖激酶抑制剂p21。

①与对照组比较,$P<0.05$。

2.2 薯莨提取物对食管癌细胞迁移、侵袭的影响 与对照组比较,10、20、30 mg/L薯莨提取物显著减少Eca109细胞的迁移细胞数、侵袭细胞数,明显提高E-cadherin蛋白水平,而显著降低MMP-2蛋白表达量($P<0.05$),均呈浓度依赖性。Spearman相关性分析表明,食管癌迁移细胞数($r=-0.62$)、侵袭细胞数($r=-0.55$)、MMP-2($r=-0.64$)与薯莨提取物浓度间存在负相关关系,E-cadherin($r=0.61$)与薯莨提取物浓度间存在正相关关系($P<0.05$)。见表2。

表2 薯莨提取物对食管癌细胞迁移、侵袭的影响/$\bar{x}\pm s$

组别	重复次数	迁移细胞数	侵袭细胞数	E-cadherin	MMP-2
对照组	3	142.00±11.59	81.00±8.03	0.22±0.02	0.79±0.08
薯莨-L	3	121.00±11.07①	67.00±6.21①	0.36±0.03①	0.65±0.06①
薯莨-M	3	94.00±9.26①	50.00±5.04①	0.54±0.05①	0.44±0.04①
薯莨-H	3	73.00±7.15①	37.00±3.56①	0.77±0.08①	0.27±0.02①
F值		27.89	31.54	66.46	52.49
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:E-cadherin为上皮钙黏素,MMP-2为基质金属蛋白酶-2。

①与对照组比较,$P<0.05$。

2.3 薯莨提取物对食管癌细胞中KTN1-AS1表达的影响 qRT-PCR检测结果表明,对照组、薯莨-L组、薯莨-M组、薯莨-H组食管癌Eca109细胞中KTN1-AS1表达量分别为(1.00±0.10)、(0.78±0.07)、(0.54±0.05)、(0.30±0.03)($F=59.87$,$P<0.001$)。与对照组比较,10、20、30 mg/L薯莨提取物显著减少KTN1-AS1表达量($P<0.05$),且呈浓度依赖性。Spearman相关性分析表明,食管癌细胞KTN1-AS1表达($r=-0.672$)与薯莨提取物浓度间存在负相关关系($P<0.05$)。

2.4 抑制KTN1-AS1对食管癌细胞增殖、迁移、侵袭的影响 抑制KTN1-AS1对Eca109细胞增殖、迁移、侵袭及相关蛋白表达的影响如表3,图1所示。在Eca109细胞中转染si-KTN1-AS1,其表达量(0.41±0.04)显著低于si-NC组(1.01±0.10)($P<0.05$),说明转染有效。与si-NC组比较,抑制KTN1-

AS1明显增加Eca109细胞的抑制率、E-cadherin、P21蛋白表达量，显著降低迁移细胞数、侵袭细胞数、克隆形成数和MMP-2蛋白水平（$P<0.05$）。

2.5 过表达KTN1-AS1能减弱薯莨提取物对食管癌细胞增殖、迁移、侵袭的影响 过表达KTN1-AS1在薯莨提取物诱导的Eca109细胞增殖、迁移、侵袭及相关蛋白表达中的作用如表4,5；图2所示。与薯莨-H+pcDNA3.1组比较，薯莨-H+pcDNA3.1-KTN1-AS1组Eca109细胞中KTN1-AS1表达量、克隆形成数、迁移细胞数、侵袭细胞数、MMP-2蛋白表达量明显增加，抑制率、E-cadherin、P21蛋白水平显著降低（$P<0.05$）。

3 讨论

食管癌是消化道常见的恶性肿瘤，病人预后差。在我国，食管癌发病率高，是所有恶性肿瘤中第四常见的肿瘤[10]。另外，90%的食管癌为鳞状细胞癌。虽然近年来食管癌的临床诊断方法和治疗方法有所改善，大多数食管癌病人由于早期缺乏预警症状而被诊断为晚期，不再适合手术治疗。此外，约20%的病人在食管癌根治性切除术后复发[11]。根据报道，远处转移是病人预后不良的主要原因[12]。侵袭和转移作为恶性肿瘤的主要生物学特征，也是食管癌病人高病死率的根本原因。肿瘤细胞的侵袭转移是一个复杂过程，调控这一过程的分子机制尚不清楚[13]。因此，迫切需要了解食管癌侵袭和迁移的分子机制，并针对这种致命疾病开发新颖的预防和/或治疗策略。

近年来，中医药在治疗癌症方面进行了大量有益的研究[14]。薯莨是我国传统中药，也是贵州少数民族常用药，其化学成分丰富，含有鞣质、酚类、糖类、苷类等活性成分[15]。现代药理研究发现，薯莨及其提取物具有抗氧化、降压、抗菌、抗辐射等功能[16-18]。资料显示，薯莨提取物对食管癌Eca-109细胞、肝癌Huh-7细胞、胃癌AGS细胞、肾癌786-0细胞、肺癌A549细胞的增殖具有明显抑制效果[5]，然而其对食管癌Eca-109细胞迁移和侵袭的作用及机制尚不明确。本实验中，不同浓度的薯莨提取物明显提高Eca109细胞的抑制率、P21、E-cadherin蛋白水平，并显著减少细胞的克隆形成数、迁移细胞数、侵袭细胞数、MMP-2蛋白表达量，均呈浓度依赖性，Spearman相关性分析表明，食管癌细胞增殖的抑制率、P21、克隆形成数、食管癌迁移细胞数、侵袭细胞数、MMP-2、E-cadherin与薯莨提取物浓度间均显著相关，说明薯莨提取物拥有抑制食管癌细胞增殖、迁移和侵袭的活性，为食管癌的临床治疗药物提供了有价值的参考。

新的证据表明，lncRNA可以参与多种生理和病理过程，影响不同的细胞功能，特别是在人类癌症中[19]。值得注意的是，lncRNA作为肿瘤的促进或抑制因子来调节食管癌的生长和转移，并可能作为食管癌等肿瘤的预测标志物[20-22]。KTN1-AS1作为一种致癌lncRNA，与头颈部鳞状细胞癌病人的存活率

表3 抑制KTN1反义RNA 1（KTN1-AS1）对食管癌细胞增殖、迁移、侵袭及相关蛋白表达的影响/$\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	迁移细胞数	侵袭细胞数	抑制率/%	克隆形成数	E-cadherin	MMP-2	P21	KTN1-AS1
si-NC	3	144.00±13.52	80.00±8.11	1.04±0.17	124.00±12.01	0.21±0.02	0.80±0.08	0.18±0.02	1.01±0.10
si-KTN1-AS1	3	85.00±8.51	47.00±4.36	47.81±4.55	70.00±7.04	0.59±0.06	0.34±0.03	0.51±0.05	0.41±0.04
t值		6.40	6.21	17.79	6.72	10.41	9.33	10.61	9.65
P值		0.003	0.003	<0.001	0.003	0.001	0.001	<0.001	0.001

注：E-cadherin为上皮钙黏素，MMP-2为基质金属蛋白酶-2，P21为周期素依赖激酶抑制剂p21。

表4 过表达KTN1反义RNA 1（KTN1-AS1）能减弱薯莨提取物对食管癌细胞增殖、迁移、侵袭的影响/$\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	迁移细胞数	侵袭细胞数	抑制率/%	克隆形成数
薯莨-H+pcDNA3.1	3	72.00±7.18	36.00±3.51	62.07±6.18	52.00±5.17
薯莨-H+pcDNA3.1-KTN1-AS1	3	122.00±12.05	73.00±7.14	14.37±1.15	111.00±11.03
t值		6.17	8.06	13.14	8.39
P值		0.004	0.001	<0.001	0.001

表5 过表达KTN1-AS1能减弱薯莨提取物对食管癌细胞中E-cadherin、MMP-2、P21表达的影响/$\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	E-cadherin	MMP-2	P21	KTN1-AS1
薯莨-H+pcDNA3.1	3	0.75±0.07	0.28±0.03	0.66±0.06	0.31±0.03
薯莨-H+pcDNA3.1-KTN1-AS1	3	0.34±0.03	0.61±0.06	0.28±0.03	0.84±0.08
t值		9.33	8.52	9.81	10.74
P值		0.001	0.001	0.001	<0.001

注：KTN1-AS1为KTN1反义RNA 1，E-cadherin为上皮钙黏素，MMP-2为基质金属蛋白酶-2，P21为周期素依赖激酶抑制剂p21。

显著相关,可能成为一种准确预测病人预后的新型生物标志物[23]。然而KTN1-AS1在食管癌中的功能和意义仍然未知。本实验对KTN1-AS1表达的检测结果显示,薯蓣提取物以浓度依赖方式显著减少Eca109细胞中KTN1-AS1的表达,猜想KTN1-AS1可能涉及薯蓣提取物抑制食管癌细胞增殖、迁移和侵袭的作用。功能实验结果发现,抑制KTN1-AS1明显增加Eca109细胞的抑制率、E-cadherin、P21蛋白表达量,显著降低迁移细胞数、侵袭细胞数、克隆形成数和MMP-2蛋白水平,证实KTN1-AS1可能充当食管癌的癌基因,抑制其表达可以显著降低食管癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力,与前人研究[7-8]一致。对薯蓣提取物作用机制的进一步考察发现,过表达KTN1-AS1减弱了薯蓣提取物对食管癌细胞增殖、迁移、侵袭的抑制效果,KTN1-AS1表达与薯蓣提取物浓度间显著相关,这些结果说明,薯蓣提取物可能下调KTN1-AS1的表达,从而发挥食管癌的肿瘤抑制功能。

综上所述,薯蓣提取物可以抑制食管癌细胞的增殖、迁移和侵袭,显示出一定的抗肿瘤活性,并且其抗食管癌的功能可能是通过调控KTN1-AS1的表达而实现的,表明薯蓣具有作为预防和治疗食管癌药物的潜力,并且,KTN1-AS1可能是食管癌潜在的、有希望的生物标志物和治疗靶标。

(本文图1,2见插图6-2)

参考文献

[1] MORITA FH, BERNARDO WM, IDE E, et al. Narrow band imaging versus lugol chromoendoscopy to diagnose squamous cell carcinoma of the esophagus: a systematic review and meta-analysis[J]. BMC Cancer, 2017, 17(1): 54.

[2] SMYTH EC, LAGERGREN J, FITZGERALD RC, et al. Oesophageal cancer[J]. Nat Rev Dis Primers, 2017, 3:17048.

[3] KONG L, WU Z, ZHAO Y, et al. Qigesan reduces the motility of esophageal cancer cells via inhibiting Gas6/Axl and NF-κB expression[J]. Biosci Rep, 2019, 39(6): BSR20190850. DOI: 10.1042/BSR20190850.

[4] 岳峰, 王庆蓉, 张蕾蕾, 等. 薯蓣鞣质的提取、鉴别及对自由基的清除作用[J]. 中医药临床杂志, 2013, 25(7): 578-580.

[5] 中国人民解放军海军医学研究所. 一种薯蓣提取物在制备抗肿瘤药物中的应用:CN200510026798.8[P]. 2006-02-22.

[6] SHI H, SHI J, ZHANG Y, et al. Long non-coding RNA DANCR promotes cell proliferation, migration, invasion and resistance to apoptosis in esophageal cancer[J]. J Thorac Dis, 2018, 10(5): 2573-2582.

[7] ZHANG L, WANG L, WANG Y, et al. LncRNA KTN1-AS1 promotes tumor growth of hepatocellular carcinoma by targeting miR-23c/ERBB2IP axis[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 109: 1140-1147.

[8] 刘颖, 王可, 何杨婷, 等. 基于TCGA数据挖掘筛选肺鳞癌预后相关lncRNA分子标签[J]. 癌变·畸变·突变, 2018, 30(6): 468-472, 478.

[9] ZHANG L, WANG Y, WANG L, et al. miR-23c suppresses tumor growth of human hepatocellular carcinoma by attenuating ERBB2IP[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 107: 424-432.

[10] CONG L, HU L. The value of the combination of hemoglobin, albumin, lymphocyte and platelet in predicting platinum-based chemoradiotherapy response in male patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. Int Immunopharmacol, 2017, 46: 75-79.

[11] LIANG F, WANG YG, WANG C. Metformin inhibited growth, invasion and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma in Vitro and in Vivo[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 51(3): 1276-1286.

[12] LIU Y, TANG Y, LI P. Inhibitory effect of microRNA-455-5p on biological functions of esophageal squamous cell carcinoma Eca109 cells via Rab31[J]. Exp Ther Med, 2018, 16(6): 4959-4966.

[13] SUGASE T, TAKAHASHI T, SERADA S, et al. Suppressor of cytokine signaling-1 gene therapy induces potent antitumor effect in patient-derived esophageal squamous cell carcinoma xenograft mice[J]. Int J Cancer, 2017, 140(11): 2608-2621.

[14] HUNG KF, HSU CP, CHIANG JH, et al. Complementary Chinese herbal medicine therapy improves survival of patients with gastric cancer in Taiwan: a nationwide retrospective matched-cohort study[J]. J Ethnopharmacol, 2017, 199: 168-174.

[15] 王媛媛, 李莹, 潘洁, 等. 薯蓣的质量控制方法[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(24): 83-88.

[16] 夏承来, 钟超. 薯蓣醇提成分对大鼠血压的影响[J]. 南方医科大学学报, 2010, 30(1): 160-162.

[17] 岳峰, 王庆敏, 唐瑛, 等. 薯蓣和五倍子鞣质对辐射暴露小鼠的防护作用初步研究[J]. 中国辐射卫生, 2012, 21(2): 139-140.

[18] 彭建飞, 范润珍, 李晓菲. 薯蓣色素的提取工艺及基本成分和抗菌活性研究[J]. 食品与药品, 2014, 26(2): 106-109.

[19] YU B, WANG S. Angio-LncRs: LncRNAs that regulate angiogenesis and vascular disease[J]. Theranostics, 2018, 8(13): 3654-3675.

[20] SONG J, LU Y, SUN W, et al. Changing expression profiles of lncRNAs, circRNAs and mRNAs in esophageal squamous carcinoma[J]. Oncol Lett, 2019, 18(5): 5363-5373.

[21] LIU D, WU K, YANG Y, et al. Long noncoding RNA ADAMTS9-AS2 suppresses the progression of esophageal cancer by mediating CDH3 promoter methylation[J]. Mol Carcinog, 2020, 59(1): 32-44.

[22] LI FZ, ZANG WQ. Knockdown of lncRNAXLOC_001659 inhibits proliferation and invasion of esophageal squamous cell carcinoma cells[J]. World J Gastroenterol, 2019, 25(42): 6299-6310.

[23] CAO W, LIU J, LIU Z, et al. A three-lncRNA signature derived from the Atlas of ncRNA in cancer (TANRIC) database predicts the survival of patients with head and neck squamous cell carcinoma[J]. Oral Oncol, 2017, 65: 94-101.

(收稿日期:2020-02-08,修回日期:2020-06-08)