

引用本文:朱征全,王松,郭宏志,等.重楼皂苷Ⅶ通过p38丝裂原活化蛋白激酶信号通路对肝癌细胞恶性生物学行为的影响[J].安徽医药,2024,28(3):470-474.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2024.03.009.

◇ 药学研究 ◇



重楼皂苷Ⅶ通过p38丝裂原活化蛋白激酶信号通路 对肝癌细胞恶性生物学行为的影响

朱征全,王松,郭宏志,陈海洋

作者单位:南阳市第一人民医院肝胆胰脾外科,河南 南阳 473000

基金项目:河南省医学科技攻关计划(联合共建)项目(LHGJ20190640)

摘要 目的 观察重楼皂苷Ⅶ对肝癌细胞恶性生物学行为的影响,并探讨相关机制。**方法** 于2021年6月至2022年6月,取对数期人肝癌HepG2细胞,分为对照组(常规培养)、重楼皂苷Ⅶ组(重楼皂苷Ⅶ 0.8 $\mu\text{mol/L}$)、SB203580[p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)信号通路抑制剂]组(SB203580 10 $\mu\text{mol/L}$)、联合组(重楼皂苷Ⅶ 0.8 $\mu\text{mol/L}$ 、SB203580 10 $\mu\text{mol/L}$)。噻唑蓝法检测细胞增殖能力;膜联蛋白V(Annexin V)/碘化丙啶(PI)双染法检测细胞凋亡率;划痕实验检测细胞迁移能力;小室实验检测细胞侵袭能力;蛋白质印迹法检测细胞p38 MAPK、磷酸化p38丝裂原活化蛋白激酶(p-p38 MAPK)、细胞外信号调节激酶(ERK)1/2、磷酸化细胞外信号调节激酶(p-ERK1/2)蛋白表达。**结果** 与对照组24、48、72 h吸光度值,迁移率(74.33 $\pm$ 9.37)%,凋亡率(3.25 $\pm$ 0.78)%,p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-ERK1/2/ERK1/2及侵袭细胞数(364.92 $\pm$ 47.99)个比较,重楼皂苷Ⅶ组24、48、72 h吸光度值,迁移率(11.21 $\pm$ 3.35)%降低,凋亡率(39.87 $\pm$ 8.94)%,p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-ERK1/2/ERK1/2升高,侵袭细胞数(54.84 $\pm$ 7.41)个减少($P<0.05$);SB203580组24、48、72 h吸光度值,迁移率(89.30 $\pm$ 14.56)%升高,凋亡率(1.05 $\pm$ 0.15)%,p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-ERK1/2/ERK1/2降低,侵袭细胞数(617.04 $\pm$ 75.34)个增加($P<0.05$)。与重楼皂苷Ⅶ组比较,联合组24、48、72 h吸光度值,迁移率(40.52 $\pm$ 8.18)%升高,凋亡率(11.30 $\pm$ 2.80)%,p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-ERK1/2/ERK1/2降低,侵袭细胞数(141.36 $\pm$ 16.75)个增加($P<0.05$);与SB203580组比较,联合组24、48、72 h吸光度值、迁移率降低,凋亡率、p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-ERK1/2/ERK1/2升高,侵袭细胞数减少($P<0.05$)。**结论** 重楼皂苷Ⅶ可抑制肝癌HepG2细胞增殖、迁移及侵袭等恶性生物学行为,并诱导其凋亡,作用机制可能与激活p38 MAPK信号通路相关。

关键词 重楼; 皂苷类; p38丝裂原活化蛋白激酶; 肝癌; 增殖; 侵袭; 迁移

Effect of Polyphyllin VII on malignant biological behavior of hepatocellular carcinoma cells through p38 MAPK signaling pathway

ZHU Zhengquan, WANG Song, GUO Hongzhi, CHEN Haiyang

Author Affiliation: Department of Hepatobiliary Pancreatic Splenic Surgery, Nanyang First People's Hospital,
Nanyang, He'nan 473000, China

Abstract Objective To observe the effect of Polyphyllin VII on the malignant biological behavior of hepatoma cells, and to explore the related mechanism. **Methods** From June 2021 to June 2022, HepG2 cells in logarithmic phase were assigned into control group (conventional culture), Polyphyllin VII group (Polyphyllin VII 0.8 $\mu\text{mol/L}$), SB203580 [p38 mitogen-activated protein kinase (p38 MAPK) signaling pathway Inhibitor] group (SB203580 10 $\mu\text{mol/L}$), combined group (Polyphyllin VII 0.8 $\mu\text{mol/L}$, SB203580 10 $\mu\text{mol/L}$). Cell proliferation was detected by methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide assay. The apoptosis rate of cells was detected by Annexin V/propidium iodide (PI) double staining. The scratch assay was used to examine cell migration ability. The cell invasive ability was detected by a small laboratory experiment. Western blotting was used to detect the protein expressions of p38 MAPK, phosphorylated p38 mitogen-activated protein kinase (p-p38 MAPK), extracellular signal-regulated kinase (ERK) 1/2 and phosphorylated extracellular signal-regulated kinase (p-ERK1/2). **Results** Compared with the absorbance value at 24 h, 48 h and 72 h, the mobility (74.33 $\pm$ 9.37)%, the apoptosis rate (3.25 $\pm$ 0.78)%, p-p38 MAPK/p38 MAPK, p-ERK1/2/ERK1/2, and the number of membrane-penetrating cells [(364.92 $\pm$ 47.99) cells] in the control group, the absorbance value at 24, 48, and 72 h, migration rate (11.21 $\pm$ 3.35)%, and the number of membranous cells [(54.84 $\pm$ 7.41) cells] were decreased, apoptosis rate (39.87 $\pm$ 8.94)%, p-p38 MAPK/p38 MAPK, p-ERK1/2/ERK1/2 were increased in the Polyphyllin VII group ($P<0.05$); the absorbance value at 24, 48, and 72 h, migration rate (89.30 $\pm$ 14.56)% and the number of membranous cells [(617.04 $\pm$ 75.34) cells] were increased, apoptosis rate (1.05 $\pm$ 0.15)%, p-p38 MAPK/p38 MAPK, p-ERK1/2/ERK1/2 were decreased in the SB203580 group ($P<0.05$). Compared with the Polyphyllin VII group, the absorbance value at 24, 48, and 72 h, migration rate (40.52 $\pm$ 8.18)% and the number of membranous cells [(141.36 $\pm$ 16.75) cells] were increased, apoptosis rate (11.30 $\pm$

2.80)% , p-p38 MAPK/p38 MAPK, p-ERK1/2/ERK1/2 were decreased in the combination group ($P<0.05$). Compared with the SB203580 group, the absorbance value at 24, 48, and 72 h, migration rate and the number of membranous cells were decreased, apoptosis rate, p-p38 MAPK/p38 MAPK, p-ERK1/2/ERK1/2 were increased in the combination group ($P<0.05$). **Conclusions** Polyphyllin VII can inhibit the malignant biological behaviors such as proliferation, migration and invasion of liver cancer HepG2 cells, and induce their apoptosis. The mechanism may be related to the activation of p38 MAPK signaling pathway.

Keywords Paris root; Saponins; p38 mitogen-activated protein kinase; Liver cancer; Proliferation; Invasion; Migration

肝癌是临床最常见的消化系统恶性肿瘤之一, 常发于40岁以上男性人群, 以病情进展快、预后不佳为主要特征, 可并发自发性低血糖症、肝性脑病、红细胞增多症、肝肾衰竭及其他伴癌重症, 危及病人生命安全, 现已成为全球第二大癌症相关致死性疾病^[1]。临床治疗肝癌以根治性切除术为首选方案, 配合放化疗可显著提升早期病人生存率, 但对于中晚期病人来说, 因其复发率高、转移性强的特点, 治疗效果并不理想^[2]。重楼是常见中药, 具有清热解毒、消肿止痛及凉肝定惊之功效, 皂苷是其主要活性成分, 主要苷元为薯蓣皂苷元(重楼皂苷 I、II)及偏诺皂苷元(重楼皂苷 VI、VII)。重楼皂苷 VII 是判定中药重楼质量的重要指标之一, 具有抗菌、抗氧化、免疫调节、止血等多种药理活性。以往研究多集中在重楼皂苷 I、VI 上, 关于重楼皂苷 VII 的研究较少。近年来有研究认为, 重楼皂苷 VII 可显著抑制结直肠癌细胞增殖, 诱导细胞周期停滞及细胞凋亡, 表现出潜在的抗肿瘤作用^[3]。本研究于2021年6月至2022年6月采用重楼皂苷 VII 干预肝癌细胞, 观察其对该细胞恶性生物学行为的影响, 并探讨可能机制。

1 材料与方法

1.1 细胞系 人肝癌 HepG2 细胞系, 购自中国科学院上海细胞库。

1.2 药物、主要试剂、仪器 重楼皂苷 VII (纯度: 99%)、p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK) 信号通路抑制剂 SB203580 (上海易恩化学技术有限公司), 噻唑蓝比色法试剂盒、膜联蛋白 V (Annexin V)/碘化丙啶 (PI) 双染凋亡检测试剂盒[翌圣生物科技(上海)股份有限公司], 兔抗人 p38MAPK、磷酸化 p38 丝裂原活化蛋白激酶(phosphorylated p38 mitogen-activated protein kinase, p-p38MAPK)、细胞外信号调节激酶 1/2 (extracellular signal-regulated kinase, ERK1/2)、磷酸化细胞外信号调节激酶 1/2 (phosphorylated extracellular signal-regulated kinase, p-ERK1/2) 一抗[艾比玛特医药科技(上海)有限公司]。

Synergy-HT 酶标仪(美国 BioTek 公司), SZX16 显微镜(日本 OLYMPUS 公司)。

1.3 细胞培养 取 HepG2 细胞系在 DMEM 高糖培养基(含有 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素、100 mg/L 链霉素), 培养箱内标准条件(37 °C, 5% 二氧化碳)下体外培养, 每天半量更换培养液, 待细胞融合至贴壁, 胰酶消化传代, 取对数期细胞进行下一步实验。

1.4 噻唑蓝法检测重楼皂苷 VII 细胞毒性 取对数期 HepG2 细胞, 缓冲液清洗, 胰酶消化、重悬, 调整细胞密度为 1×10^5 个/毫升接种至 96 孔板, 待细胞融合至贴壁, 分别加入终浓度为(0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、3.2 $\mu\text{mol/L}$)的重楼皂苷 VII DMEM 高糖混合培养液, 48 h 后加入新制备噻唑蓝溶液 20 μL , 2 h 后吸弃上清, 加入二甲基亚砜(DMSO)后摇床振荡至晶体完全溶解, 酶标仪测定 490 nm 波长处吸光度 [$D_{(A)490 \text{ nm}}$], 计算各干预孔细胞增殖抑制率(%) = $(1 - \text{干预孔细胞 } D_{(A)490 \text{ nm}} / \text{对照孔细胞 } D_{(A)490 \text{ nm}}) \times 100\%$, 绘制折线图计算重楼皂苷 VII 对 HepG2 细胞的半抑制浓度(median inhibition concentration, IC_{50})。

1.5 干预与分组 取对数期 HepG2 细胞, 胰酶消化重悬, 待其融合至贴壁, 分为对照组、重楼皂苷 VII 组、SB203580 组、联合组, 对照组置于 DMEM 高糖培养基常规培养, 重楼皂苷 VII 组培养基内加入重楼皂苷 VII (终浓度 0.8 $\mu\text{mol/L}$ 溶于 DMSO), SB203580 组培养基内加入 SB203580 (终浓度 10 $\mu\text{mol/L}$ 溶于 DMSO)^[4], 联合组培养基内加入重楼皂苷 VII (0.8 $\mu\text{mol/L}$)、SB203580 (10 $\mu\text{mol/L}$)。干预 48 h 用于下一步实验。

1.6 噻唑蓝法检测肝癌细胞增殖能力 取干预后各组细胞, 清洗、重悬、接种同“1.4”, 加入完全培养液常规培养, 分别于培养第 24、48、72 h 加入新制备噻唑蓝溶液, 2 h 后吸弃上清, 加入 DMSO 摇床振荡, 酶标仪测定 490 nm 波长处各组细胞吸光度值。

1.7 Annexin V/PI 双染法检测肝癌细胞凋亡率 取干预后各组细胞, 清洗、重悬, 调整细胞密度为 1×10^5 个/毫升接种至 6 孔板, DMEM 高糖培养液常规培养, 48 h 后磷酸缓冲盐溶液(PBS)清洗, 离心吸弃上清, binding buffer 液重悬并标记细胞, 加入 Annexin V-FITC 液染色, PI 液双染, 冷藏避光孵育 20 min, 经流式细胞仪检测各组细胞凋亡率。

1.8 划痕实验检测肝癌细胞迁移能力 取干预后各组细胞,清洗、重悬,调整细胞密度为 1×10^6 个/毫升接种至6孔板,DMEM高糖培养液常规培养,待贴壁后吸弃培养液,利用移液枪头垂直均匀在板面沿孔中心画出一直线划痕,PBS冲洗掉边缘细胞,无血清培养液继续培养24 h。光镜下拍照测量计算0 h及24 h划痕面积,计算细胞迁移率 $= (1-24\text{ h划痕面积}/0\text{ h划痕面积})\times 100\%$ 。

1.9 小室实验检测肝癌细胞侵袭能力 人工基膜胶经预冷无血清培养基稀释,以40微升/孔铺于Transwell小室底部,取干预后各组细胞,清洗、重悬,调整细胞密度为 4×10^5 个/毫升接种于小室中,下层加入完全培养基(含10%胎牛血清),培养24 h后取出杯底滤膜,PBS冲洗,甲醇固定,结晶紫染色,PBS冲洗、风干,置于光镜下观察,选取5个不相邻视野,拍照记录侵袭细胞数,取均值。

1.10 蛋白质印迹法检测肝癌细胞p38 MAPK、p-p38 MAPK、ERK1/2、p-ERK1/2蛋白表达 取干预后各组细胞,PBS清洗,加入放射免疫沉淀法(RIPA)裂解液裂解细胞,注入离心管内,低温离心15 min($10\,000\text{ r/min}$, $r=10\text{ cm}$),弃上清,BCA法定量蛋白。取40 μg 待测样本,按1:5体积比与十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)蛋白电泳试剂混匀,金属浴煮沸变性蛋白,电压80 V行上样电泳分离,跑胶后湿转至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜,BSA溶液封闭2 h,加入兔抗人p38 MAPK、p-p38 MAPK、ERK1/2、p-ERK1/2(稀释浓度1:500),4 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏过夜,洗膜后加入二抗(稀释浓度1:2 000),室温孵育2 h,常规洗膜、发光、显影,经成像分析仪分析各蛋白条带灰度值,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参蛋白,分析p38 MAPK、p-p38 MAPK、ERK1/2、p-ERK1/2蛋白表达水平,计算p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-ERK1/2/ERK1/2。

1.11 统计学方法 数据资料的分析、处理采用统计学软件SPSS 25.0。计量资料以服从正态分布以 $\bar{x}\pm s$ 表示,方差齐,多组间比较采用单因素方差分析,不同时间点样本资料采用重复测量方差分析,多组间两两比较采用LSD-*t*检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各剂量重楼皂苷Ⅶ对肝癌 HepG2 细胞的增殖抑制率 经终浓度(0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、3.2 $\mu\text{mol/L}$)重楼皂苷Ⅶ干预后,其对 HepG2 细胞增殖抑制率逐渐升高, IC_{50} 位于0.6~0.8 $\mu\text{mol/L}$,故后续实验采用0.8 $\mu\text{mol/L}$ 作为重楼皂苷Ⅶ干预剂量。详情见图1。

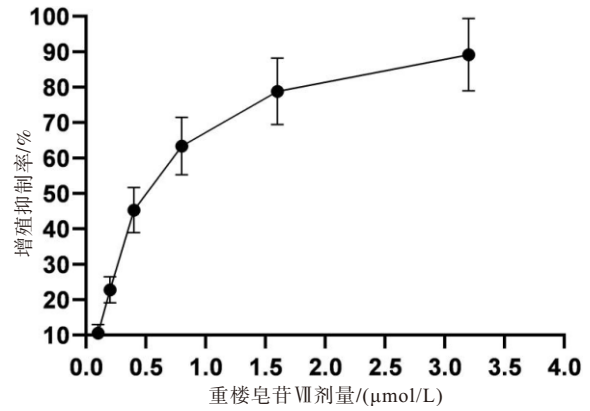


图1 各剂量重楼皂苷Ⅶ对 HepG2 细胞的增殖抑制率

2.2 各剂量 SB203580 对肝癌 HepG2 细胞的增殖抑制率 经终浓度(1、2.5、5、10、20、40 $\mu\text{mol/L}$)SB203580干预后,其对 HepG2 细胞增殖抑制率逐渐升高, IC_{50} 位于5~10 $\mu\text{mol/L}$,故后续实验采用10 $\mu\text{mol/L}$ 作为SB203580干预剂量。见图2。

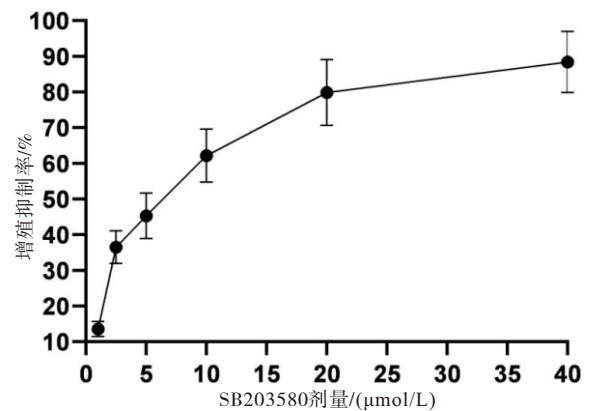


图2 各剂量SB203580对肝癌 HepG2 细胞的增殖抑制率

2.3 各组细胞增殖能力 与对照组比较,重楼皂苷Ⅶ组24、48、72 h吸光度值降低($P<0.05$),SB203580组24、48、72 h吸光度值升高($P<0.05$);与重楼皂苷Ⅶ组比较,联合组24、48、72 h吸光度值升高($P<0.05$);与SB203580组比较,联合组24、48、72 h吸光度值降低($P<0.05$)。见表1。

2.4 各组细胞凋亡率 对照组、重楼皂苷Ⅶ组、

表1 各组 HepG2 细胞吸光度值 $D_{(\lambda)490\text{ nm}}$ 比较/ $\bar{x}\pm s$

组别	重复次数	24 h	48 h	72 h
对照组	5	0.38±0.08	0.56±0.06	0.73±0.09
重楼皂苷Ⅶ组	5	0.16±0.04 ^①	0.24±0.05 ^①	0.44±0.05 ^①
SB203580组	5	0.56±0.07 ^{①②}	0.74±0.09 ^{①②}	0.90±0.12 ^{①②}
联合组	5	0.23±0.03 ^{①②③}	0.43±0.05 ^{①②③}	0.57±0.08 ^{①②③}
F值		45.54	53.28	25.27
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:①与对照组比较, $P<0.05$ 。②与重楼皂苷Ⅶ组比较, $P<0.05$ 。③与SB203580组比较, $P<0.05$ 。

SB203580组、联合组细胞凋亡率分别为 $(3.25 \pm 0.78)\%$ 、 $(39.87 \pm 8.94)\%$ 、 $(1.05 \pm 0.15)\%$ 、 $(11.30 \pm 2.80)\%$ ($F=72.38, P<0.001$);与对照组比较,重楼皂苷Ⅶ组凋亡率升高,SB203580组凋亡率降低 ($P<0.05$);联合组凋亡率低于重楼皂苷Ⅶ组,高于SB203580组 ($P<0.05$)。

2.5 各组细胞迁移能力 对照组、重楼皂苷Ⅶ组、SB203580组、联合组细胞迁移率分别为 $(74.33 \pm 9.37)\%$ 、 $(11.21 \pm 3.35)\%$ 、 $(89.30 \pm 14.56)\%$ 、 $(40.52 \pm 8.18)\%$ ($F=64.78, P<0.001$);与对照组比较,重楼皂苷Ⅶ组迁移率降低 ($P<0.05$),SB203580组迁移率升高 ($P<0.05$);联合组迁移率高于重楼皂苷Ⅶ组,低于SB203580组 ($P<0.05$)。

2.6 各组细胞侵袭能力 对照组、重楼皂苷Ⅶ组、SB203580组、联合组侵袭细胞数分别为 (364.92 ± 47.99) 个、 (54.84 ± 7.41) 个、 (617.04 ± 75.34) 个、 (141.36 ± 16.75) 个 ($F=152.25, P<0.001$);与对照组比较,重楼皂苷Ⅶ组侵袭细胞数减少 ($P<0.05$),SB203580组侵袭细胞数增加 ($P<0.05$);与比较,联合组侵袭细胞数高于重楼皂苷Ⅶ组,低于SB203580组 ($P<0.05$)。

2.7 各组细胞 p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-ERK1/2/ERK1/2 与对照组比较,重楼皂苷Ⅶ组 p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-ERK1/2/ERK1/2 升高 ($P<0.05$),SB203580组 p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-ERK1/2/ERK1/2 降低 ($P<0.05$);与重楼皂苷Ⅶ组比较,联合组 p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-ERK1/2/ERK1/2 降低 ($P<0.05$);与SB203580组比较,联合组 p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-ERK1/2/ERK1/2 升高 ($P<0.05$)。见表2;图3。

3 讨论

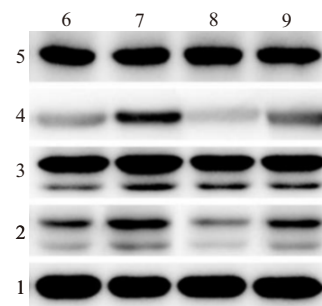
肝癌是源自肝细胞及肝内胆管上皮细胞的原

表2 各组 HepG2 细胞 p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-ERK1/2/ERK1/2 比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	p-p38 MAPK/ p38 MAPK	p-ERK1/2/ERK1/2
对照组	5	0.18±0.01	0.22±0.01
重楼皂苷Ⅶ组	5	0.69±0.01 ^①	0.48±0.04 ^①
SB203580组	5	0.10±0.01 ^{①②}	0.15±0.01 ^{①②}
联合组	5	0.38±0.03 ^{①②③}	0.37±0.02 ^{①②③}
F 值		1 151.53	200.30
P 值		<0.001	<0.001

注:p-p38 MAPK为磷酸化p38丝裂原活化蛋白激酶,p38 MAPK为p38丝裂原活化蛋白激酶,p-ERK1/2为磷酸化细胞外信号调节酶1/2,ERK1/2为细胞外信号调节酶1/2。

①与对照组比较, $P<0.05$ 。②与重楼皂苷Ⅶ组比较, $P<0.05$ 。③与SB203580组比较, $P<0.05$ 。



注:1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH);2—磷酸化细胞外信号调节酶1/2(p-ERK1/2);3—细胞外信号调节酶1/2(ERK1/2);4—磷酸化p38丝裂原活化蛋白激酶(p-p38 MAPK);5—p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK);6—对照组;7—重楼皂苷Ⅶ组;8—SB203580组;9—联合组。

图3 蛋白质印迹法检测各组 HepG2 细胞 p38 MAPK、p-p38 MAPK、ERK1/2、p-ERK1/2 蛋白表达量

发性癌症,其发病可能与持续性肝损伤有关,乙型肝炎及丙型肝炎病毒感染、饮酒、吸烟、黄曲霉毒素及慢性代谢疾病均与其具有显著相关性,大多数病人依次发展为肝炎、肝纤维化、肝硬化,最终发展为肝癌^[5-7]。因早期缺乏特异性症状,超过60%的病人被确诊时已处于晚期,此时肝癌细胞多已出现转移,仅能采用放化疗及免疫靶向药物,但其高恶性的特点,极大缩短了病人生存期^[8]。因此临床上亟待开发抑制其高恶性的治疗新药物。中医治疗肝癌由来已久,具有减少放化疗毒副作用、提升机体免疫、多效能、多靶点等多重优势。随着现代提取工艺的进步,从中药中提取单体成分为肝癌治疗带来了新的希望。

本研究结果显示,与对照组比较,重楼皂苷Ⅶ组24、48、72 h吸光度值,迁移率降低,凋亡率升高,侵袭细胞数减少,提示重楼皂苷Ⅶ可抑制肝癌 HepG2 细胞增殖、迁移及侵袭,并诱导凋亡。中医将肝癌归属于“肝积”“黄疸”“肝水”等症范畴,主要病机为机体失和、病邪乱入,脏腑失调、气血不通,或情志内伤、宣发无门、肝气郁结,横逆犯脾、水不克化、日久生痰、痰瘀互搏、肿块积聚、发为肝积,故治疗应以清肝去火、化痰排毒为主^[9-10]。重楼是中医治肝常用中草药,入肝经血分,可化瘀、凉肝、解毒、清热,重楼皂苷Ⅶ是自其提取的一种甾体皂苷化合物,可通过增加线粒体分裂及活性氧产生,降低线粒体膜电位,从而产生细胞毒性诱导卵巢癌凋亡^[11-12]。何昊等^[13]进行了一项关于重楼皂苷Ⅶ对胰腺癌细胞影响的研究,结果发现其可抑制胰腺癌 PANC-1 细胞增殖、迁移和侵袭,并可能通过下调 PD-L1 表达诱导 PANC-1 细胞凋亡。此外,Zhang 等^[14]研究认为,重楼皂苷Ⅶ可显著抑制斑马鱼肿瘤异种移植癌细胞及肝癌荷瘤小鼠肺转移,改善转移

引发的肺损伤,降低体外HepG2细胞血管生成和转移能力,提示其可作为治疗肝癌的潜在候选药物。

p38 MAPK 信号通路是一条重要的肿瘤相关通路,是MAPK通路家族成员,在恶性肿瘤细胞增殖、侵袭、迁移、凋亡、自噬等过程中扮演重要角色^[15]。p38 MAPK、ERK1/2是该通路重要调控因子,二者均属于丝蛋白/苏氨酸激酶家族,外界交换因子激活通路上游丝/苏氨酸蛋白激酶引发MAPK三级连接反应(MAPKKK-MAPKK-MAPK),p-p38 MAPK中酪氨酸及苏氨酸使之激活,进一步磷酸化下游唯一底物蛋白ERK1/2,ERK1/2进入细胞核后调节多个转录因子活性,参与细胞能量、死亡抵抗、免疫逃逸、骨架结构改变及细胞能动性调控,从而发挥其抑癌功效^[16,14]。Han等^[17]体外实验表明,激活p38 MAPK通路可抑制人肝细胞癌细胞生长,诱导细胞凋亡及G2/M期阻滞,从而对肝细胞癌荷瘤小鼠产生治疗作用,提示p38 MAPK通路或可成为肝癌新治疗靶点,提升其通路活性可作为肝癌治疗未来研究方向之一。Zhang等^[18]在脂多糖刺激的RAW264.7细胞和多种动物模型中对重楼皂苷Ⅶ的抗炎活性及其潜在机制进行了研究,结果发现,重楼皂苷Ⅶ在多种体外和体内模型中均具有很强的抗炎活性,通过下调MAPK和核因子- κ B(NF- κ B)通路发挥抗炎作用,可能是其治疗癌症的机制之一。本研究结果显示,与对照组比较,重楼皂苷Ⅶ组p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-ERK1/2/ERK1/2升高,在重楼皂苷Ⅶ基础上增用p38 MAPK通路抑制剂SB203580可减弱重楼皂苷Ⅶ对肝癌的治疗作用,提示重楼皂苷Ⅶ可能通过激活该通路治疗肝癌。

综上所述,重楼皂苷Ⅶ可抑制肝癌HepG2细胞增殖、迁移及侵袭等恶性生物学行为,并诱导其凋亡,作用机制可能与激活p38 MAPK信号通路相关。

参考文献

- [1] CHEN DL, YAN Y, WANG XY, et al. Chronic alcohol exposure promotes HCC stemness and metastasis through β -catenin/miR-22-3p/TET2 axis [J]. Aging (Albany NY), 2021, 13(10): 14433-14455.
- [2] ZHOU T, LIANG X, WANG P, et al. A hepatocellular carcinoma targeting nanostrategy with hypoxia-ameliorating and photothermal abilities that, combined with immunotherapy, inhibits metastasis and recurrence [J]. ACS Nano, 2020, 14(10):12679-12696.
- [3] SONG C, PAN B, YANG X, et al. Polyphyllin Ⅶ suppresses cell proliferation, the cell cycle and cell migration in colorectal cancer [J]. Oncol Lett, 2021, 21(1):25-26.
- [4] 唐治蓉, 龙琼先, 刘欣雅, 等. 当归多糖通过调节p38通路抑制宫颈癌Hela细胞生长、迁移和侵袭[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(3):332-337.
- [5] ZHANG C, HUANG S, ZHUANG H, et al. YTHDF2 promotes the liver cancer stem cell phenotype and cancer metastasis by regulating OCT4 expression via m6A RNA methylation [J]. Oncogene, 2020, 39(23):4507-4518.
- [6] LI Z, MA L, DI L, et al. MicroRNA-1271-5p alleviates the malignant development of hepatitis B virus-mediated liver cancer via binding to AQP5 [J]. Mol Med Rep, 2021, 23(5):386-387.
- [7] JIANG B, YANG B, WANG Q, et al. lncRNA PVT1 promotes hepatitis B virus-positive liver cancer progression by disturbing histone methylation on the c-Myc promoter [J]. Oncol Rep, 2020, 43(2):718-726.
- [8] MEI K, QIN S, CHEN Z, et al. Camrelizumab in combination with apatinib in second-line or above therapy for advanced primary liver cancer: cohort A report in a multicenter phase I b/II trial [J]. J Immunother Cancer, 2021, 9(3):219-220.
- [9] 王惠国, 李丹, 孙颖超, 等. 双氢青蒿素对肝癌细胞氨基酸代谢的影响及机制研究[J]. 中国药房, 2020, 31(2):132-137.
- [10] 丁园园, 张冬华, 张荣生, 等. 华蟾素注射液联合肝动脉化疗栓塞治疗原发性肝癌 Meta 分析 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2020, 27(19):1573-1584.
- [11] LI X, LIU Y, LIAO S, et al. Polyphyllin Ⅶ induces apoptosis and autophagy via mediating H2O2 levels and the JNK pathway in human osteosarcoma U2OS cells [J]. Oncol Rep, 2021, 45(1): 180-190.
- [12] ZHAO L, LIU Z, DENG X, et al. Polyphyllin Ⅶ induces mitochondrial apoptosis by regulating the PP2A/AKT/DRP1 signaling axis in human ovarian cancer [J]. Oncol Rep, 2021, 45(2): 513-522.
- [13] 何昊, 刘杨, 钱小英, 等. 重楼皂苷Ⅶ对胰腺癌PANC-1细胞增殖、迁移与侵袭作用及机制研究[J]. 中草药, 2021, 52(7): 1981-1986.
- [14] ZHANG C, LI Q, QIN G, et al. Anti-angiogenesis and anti-metastasis effects of Polyphyllin Ⅶ on hepatocellular carcinoma cells in vitro and in vivo [J]. Chin Med, 2021, 16(1):41-42.
- [15] LIU S, CHU B, CAI C, et al. DGCR5 promotes gallbladder cancer by sponging MiR-3619-5p via MEK/ERK1/2 and JNK/p38 MAPK pathways [J]. J Cancer, 2020, 11(18):5466-5477.
- [16] ZHOU B, LI T, XIE R, et al. CircFAT1 facilitates cervical cancer malignant progression by regulating ERK1/2 and p38 MAPK pathway through miR-409-3p/CDK8 axis [J]. Drug Dev Res, 2021, 82(8):1131-1143.
- [17] HAN Z, ZHAO X, ZHANG E, et al. Resistomycin induced apoptosis and cycle arrest in human hepatocellular carcinoma cells by activating p38 MAPK pathway in vitro and in vivo [J]. Pharmaceuticals (Basel), 2021, 14(10):958-959.
- [18] ZHANG C, LI C, JIA X, et al. In vitro and in vivo anti-inflammatory effects of polyphyllin Ⅶ through downregulating MAPK and NF- κ B pathways [J]. Molecules, 2019, 24(5):875.

(收稿日期:2022-08-12,修回日期:2022-12-15)