

张永海. 汉黄芩素体外对胃癌 SGC-7901 细胞增殖、迁移和侵袭的实验性研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(2): 89-95.
Zhang YH. Inhibitory effects of wogobin on proliferation, migration, and invasion of gastric cancer SGC-7901 cells in vitro [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(2): 89-95.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.02.015

汉黄芩素体外对胃癌 SGC-7901 细胞增殖、迁移和侵袭的实验性研究

张永海

(信阳职业技术学院检验技术学院,河南 信阳 464000)

【摘要】 目的 探讨汉黄芩素对胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响以及可能分子机制。**方法** 不同浓度 (20、50、100 $\mu\text{mol/L}$) 汉黄芩素分别作用于人胃癌 SGC7901 细胞 24、48、72 h,空白对照不进行任何处理。采用 MTT 法检测细胞增殖能力;采用划痕实验观察细胞迁移能力;采用 Transwell 法观察细胞侵袭能力;采用流式细胞仪检测细胞周期与凋亡情况;RT-qPCR 和 Western blot 分别对细胞基质金属蛋白酶 2、9 (MMP2、MMP9)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)以及金属蛋白酶抑制剂 2(TIMP2)的 mRNA 和蛋白表达水平进行检测。**结果** MTT 实验结果显示,不同浓度的汉黄芩素抑制人胃癌 SGC7901 细胞呈浓度和时间依赖性;作用 48 h 后,汉黄芩素 S 期比例上升,诱导细胞凋亡 ($P<0.05$);Transwell 实验结果显示,汉黄芩素呈浓度依赖性抑制人胃癌 SGC7901 细胞侵袭;RT-qPCR 和 Western blot 检测结果显示,汉黄芩素能够抑制 SGC7901 细胞中 ICAM-1、MMP9、MMP2 的 mRNA 和蛋白表达水平,但上调 TIMP2 mRNA 和蛋白表达 ($P<0.05$)。**结论** 汉黄芩素能够抑制人胃癌 SGC7901 细胞增殖、迁移和侵袭,阻滞细胞在 S 周期,诱导其凋亡。

【关键词】 汉黄芩素;胃癌;细胞周期;增殖;迁移;侵袭

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 02-0089-07

Inhibitory effects of wogobin on proliferation, migration, and invasion of gastric cancer SGC-7901 cells in vitro

ZHANG Yonghai

(Inspection Technology College of Xinyang Vocational and Technical College,Xinyang 464000,China)

【Abstract】 Objective To investigate the effects of wogobin on the proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells and their molecular mechanisms. **Methods** Different concentrations (20, 50, and 100 mol/L) of wogobin were used to treat the hepatoma cell line SGC7901 cells for 24, 48, and 72 h. In the blank control, no treatment was performed. MTT assay was used to determine the cell proliferation. The migration ability of cells was observed by a scratch test. The Transwell method was used to observe cell invasiveness. Cell cycle and apoptosis were determined by flow cytometry. The mRNA and protein expression levels of cellular MMP2, MMP9, ICAM-1, and TIMP2 were determined by RT-qPCR and western blotting, respectively. **Results** MTT assay showed that the different concentrations of wogobin inhibited the hepatoma cell line SGC7901 in a concentration- and time-dependent manner. After 48 h, wogobin arrested the cell cycle at S-phase and induced the apoptosis in gastric cancer cells ($P<0.05$). Transwell assay showed that wogobin

[作者简介]张永海(1968—),男,副教授,研究方向:医学检验技术。E-mail: sanss0055@163.com

inhibited the invasion of the SGC7901 cells in a concentration-dependent manner. The RT-qPCR and western blotting analyses showed that wogobin inhibited the mRNA and protein expression of MMP9, MMP2, and ICAM-1 in SGC7901 cells, but upregulated TIMP2 ($P < 0.05$). **Conclusions** Wogobin inhibits the proliferation, migration, and invasion of the hepatoma cell line SGC7901 cells and induces its apoptosis.

[Keywords] Wogobin; gastric cancer; cell cycle; proliferation; migration; invasion

研究报道,中国胃癌(gastric cancer, GC)的新发病例数约占全球总数的 46.8%,而死亡人数占全球胃癌死亡总数的 47.8%,胃癌严重威胁人们的健康^[1]。这种疾病早期症状并不明显,而当确诊时常已为晚期,常伴有转移和侵袭症状,术后统计 5 年生存率不到 20%^[2]。目前胃癌主要是以手术结合化疗为主要治疗手段,但缺点是复发率比较高,且化疗药物对自身伤害大,易引起并发症。

汉黄芩素属于黄酮类化合物,分子式为 $C_{16}H_{12}O_5$,是植物黄芩的主要活性成分之一,能够从植物黄芩、滇黄芩等的根部提取。汉黄芩素被证实具有广泛的生物活性,如抗炎、神经保护、抗肿瘤等^[3],其抗肿瘤活性已成为国内外的一个研究热点。文献报道,汉黄芩素具有逆转肿瘤细胞抗药性、抑制肿瘤血管生成、促进肿瘤细胞死亡以及诱导肿瘤细胞凋亡等作用^[4-6]。目前研究汉黄芩素抗肿瘤活性较多,但深度、广度不够,其主要作用机制并不清楚。本实验采用不同浓度汉黄芩素观察对胃癌细胞 SGC7901 增殖、迁移和侵袭的影响,并进一步探讨了汉黄芩素可能作用机制,为治疗胃癌提供实验依据,报道如下。

1 材料和方法

1.1 实验材料

胃癌 SGC-7901 细胞使用含有 10% 胎牛血清和双抗(100 mg/L 链霉素和 100 U/L 青霉素)的 RPMI-1640 培养液,在 37℃、5% CO_2 的饱和湿度恒温培养箱中培养。24 h 首次后换液,以后每 3 d 换液一次,当细胞融合度为 70%~80% 时进行传代及后续实验。

1.2 主要试剂与仪器

逆转录试剂盒为 Promega 公司产品;电泳和转膜系统为 Bio-Rad 公司产品;引物由上海生工生物技术公司合成;TRIzol 试剂为美国 Invitrogen 公司产品;Real-time PCR 试剂盒为 Fermentas 公司产品;人胃癌细胞株 SGC-7901 购自中国科学院上海细胞研究所。BCA 试剂盒购自碧云天公司;汉黄芩素购自成都曼思特生物科技有限公司(质量分数 >

98%); ICAM-1、MMP-9、MMP-2、TIMP-2 抗体购自 Santa Cruz 公司;实时荧光定量 PCR 仪为美国 ABI 公司产品。

1.3 实验方法

1.3.1 MTT 法检测

将对数生长期的 SGC-7901 胃癌细胞采用胰蛋白酶进行消化,接种于 96 孔培养板(1×10^5 /mL),置于 37℃、5% CO_2 的培养箱内 24 h 后,对照组加入 0.1% DMSO,用汉黄芩素(20、50、100 $\mu\text{mol/L}$)处理 SGC-7901 胃癌细胞,分别培养 24、48、72 h。每组设 6 个复孔。在各组实验结束前,加入 20 μL MTT 培养 4 h 后弃去培养液,于室温加入 DMSO 振荡 10 min 溶解结晶,采用酶标仪检测波长 570 nm 吸光度值(A 值),实验重复 3 次。

1.3.2 划痕实验

将 SGC7901 细胞种入 6 孔板内(密度 4×10^5 /mL),等待细胞长满后采用 PBS 清洗,沿孔板底部划一条直线,PBS 清洗并去除细胞碎片后,对照组加入等量的 0.1% 二甲基亚砷培养基,而将含不同浓度汉黄芩素(20、50、100 $\mu\text{mol/L}$)的培养基加入至 6 孔板中,倒置显微镜下拍摄并确定划痕边缘区域及相对距离。实验重复 3 次。

1.3.3 Transwell 实验

将 Matrigel 胶稀释后铺于 Transwell 小室上层内(冰上操作),室温过夜。取在对数生长期的胃癌细胞按照每孔 1×10^5 种入 24 孔板 Transwell 中,孵育过夜,待细胞贴壁后,Transwell 小室的上室加入 200 μL 含不同浓度汉黄芩素(0、20、50、100 $\mu\text{mol/L}$)的无血清培养基,而将 600 μL 含 15% 胎牛血清的 RPMI1640 培养基加入至 Transwell 下室内。常规培养 48 h 后,4% 多聚甲醛固定 Transwell 小室底面细胞。结晶紫染色 10 min, PBS 漂洗 5 min 共 3 次,在倒置显微镜下随机取 3 个视野观察并计数。

1.3.4 流式细胞仪检测细胞周期

取对数生长期的 SGC-7901 胃癌细胞,以每孔 3×10^5 接种于 6 孔板,用不同浓度汉黄芩素(0、20、50、100 $\mu\text{mol/L}$)作用于胃癌细胞 48 h,胰酶消化收集细胞, PBS 洗涤后制备成细胞悬

液,4℃过夜(加入预冷 75%乙醇),PBS 清洗 2 次后弃上清,加入 PI 工作液冰浴避光染色,流式细胞仪检测细胞周期。

1.3.5 流式细胞仪检测细胞凋亡

不同浓度汉黄芩素(0、20、50、100 μmol/L)孵育胃癌细胞(每孔 3×10⁵) 48 h 后,用预冷的 PBS 洗涤 2 次,按照 FITC Annexin V 凋亡检测试剂盒说明书进行操作,依次加入 5 μL PE Annexin V 和 5 μL 7-AAD,混匀后避光孵育 15 min,进行流式细胞仪检测,重复 3 次。

1.3.6 RT-qPCR 检测 MMP9、MMP2、ICAM-1 表达水平

收集不同浓度汉黄芩素(0、20、50、100 μmol/L)处理 SGC7901 细胞 48 h 后,按照 Trizol 试剂盒说明书分别提取细胞总 RNA,并测定浓度,利用逆转录试剂盒进行反转录 cDNA 合成,反应条件如下:预变性 95℃ 5 min,95℃ 变性 30 s,56℃ 退火 30 s,74℃ 延伸 30 s,循环 40 次。实时荧光使用 ABI PRISM 7500 Sequence Detector 检测。引物由上海生物工程技术有限公司设计并合成,ICAM-1 上游引物序列:5'-AGTCTG GCCCACGGACCAT-3',下游引物:5'-CCAGTTTGTCTCTCCCTG -3'。MMP2 上游引物:5'-TCAGTCGATCACTAGCGTCAAT-3';下游引物:5'-CTAACTTCTCCCCACAGGGA-3'。MMP9 上游引物:5'-GCCGTGT ATGT GTCTA CTCC T-3';下游引物:5'-GCTCTCTCCCAATCTTCTGG-3'。TIMP-2 上游引物序列:5'-AGCCATTGTGCGAGCCCAC-3',下游引物:5'-CCTCTCTTGCCTGCAGTT-3'。以 GAPDH 蛋白为内参,上游引物:5'-GGATCCCTCCAGAGCG AAAAT-3',下游引物:5'-GTCATACTTCTGCTGTTC CATGG-3'。用系统软件进行结果分析:样品的相对表达用 2^{-ΔΔCt}表示。

1.3.7 Western blot 检测

收集不同浓度汉黄芩素(0、20、50、100 μmol/L)

处理 SGC7901 细胞 48 h 后,用预冷 PBS 溶液清洗,加入蛋白酶抑制剂和 RIPA 裂解液后冰浴,高速离心,对上清液采用 BCA 法测定蛋白浓度。将蛋白样品和加样缓冲液混合煮沸变性,进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,电泳条件:浓缩胶恒压 60 V 约 30 min,分离胶 120 V 约 90 min。转至 PVDF 膜,2.5%脱脂奶粉封闭 2 h,加适量一抗 MMP9、MMP2、ICAM-1 在 4℃孵育过夜后,加入二抗室温震荡孵育 2 h,经 ECL 显色后胶片曝光显影。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计学处理。数据以平均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。组间比较采用 *t* 检验,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MTT 法检测胃癌细胞增殖

用汉黄芩素(20、50、100 μmol/L)分别刺激 SGC-7901 细胞 24、48、72 h 后,与对照组比较,不同浓度汉黄芩素可显著抑制 SGC-7901 细胞的增殖,且抑制率呈浓度和时间依赖性 (*P*<0.05),见表 1。

2.2 肝癌细胞划痕实验比较

处理 48 h 后,不同浓度汉黄芩素(0、20、50、100 μmol/L)对 SGC-7901 细胞迁移距离(mm)影响分别为(1.44±0.46)、(1.24±0.33)、(0.90±0.25)、(0.78±0.24)。与对照组比较,各浓度汉黄芩素组 48 h 后 SGC-7901 细胞迁移距离明显下降 (*P*<0.05)。见图 2。

2.3 Transwell 实验结果

Transwell 侵袭实验结果显示,0、20、50、100 μmol/L 的汉黄芩素作用于 SGC-7901 细胞 48 h 后穿膜细胞数分别为(350±42)、(287±30)、(210±27)、(164±31)。与 0 μmol/L 的汉黄芩素组相比,各浓度汉黄芩素组均降低了穿膜细胞数 (*P*<0.05),且呈一定的浓度依赖性。见图 3。

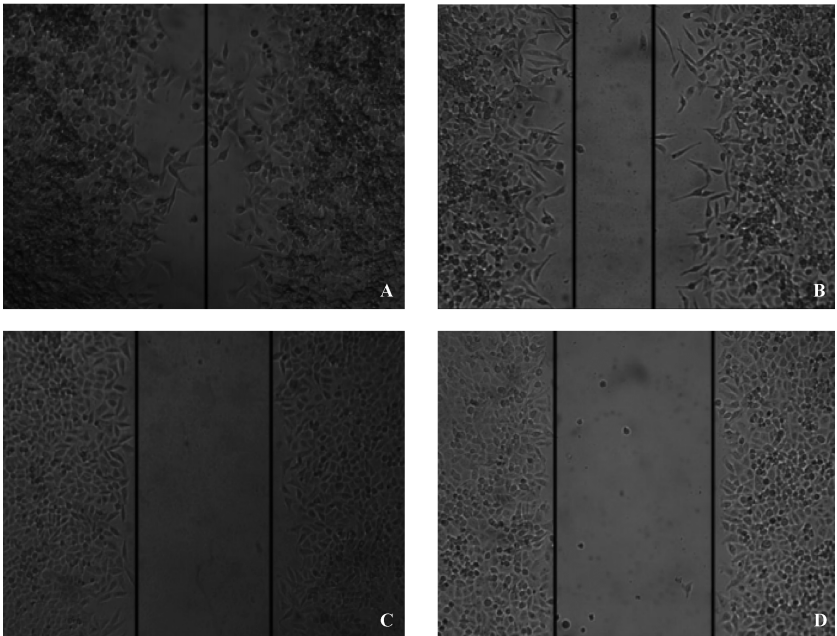
表 1 汉黄芩素对 SGC-7901 细胞增殖的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Effects of wogobin on proliferation of the SGC-7901 cells in vitro

分组 Groups	24 h	48 h	72 h
对照组 Control group	1.04±0.11	1.05±0.12	1.02±0.10
20 μmol/L 汉黄芩素组 20 μmol/Lwogobin group	0.70±0.15 *	0.61±0.13 *	0.57±0.08 * [#]
50 μmol/L 汉黄芩素组 50 μmol/Lwogobin group	0.64±0.09 *	0.52±0.08 * [#]	0.45±0.07 * [#]
100 μmol/L 汉黄芩素组 100 μmol/Lwogobin group	0.52±0.08 *	0.44±0.06 * [#]	0.34±0.06 * ^{#Δ}

注:与对照组比较,**P*<0.05;与同组 24 h 比较,[#]*P*<0.05;与同组 48 h 比较,^Δ*P*<0.05。

Note. Compared with the control group, **P*<0.05. Compared with the same group at 24 h,[#]*P*<0.05. Compared with the same group at 48 h,^Δ*P*<0.05.

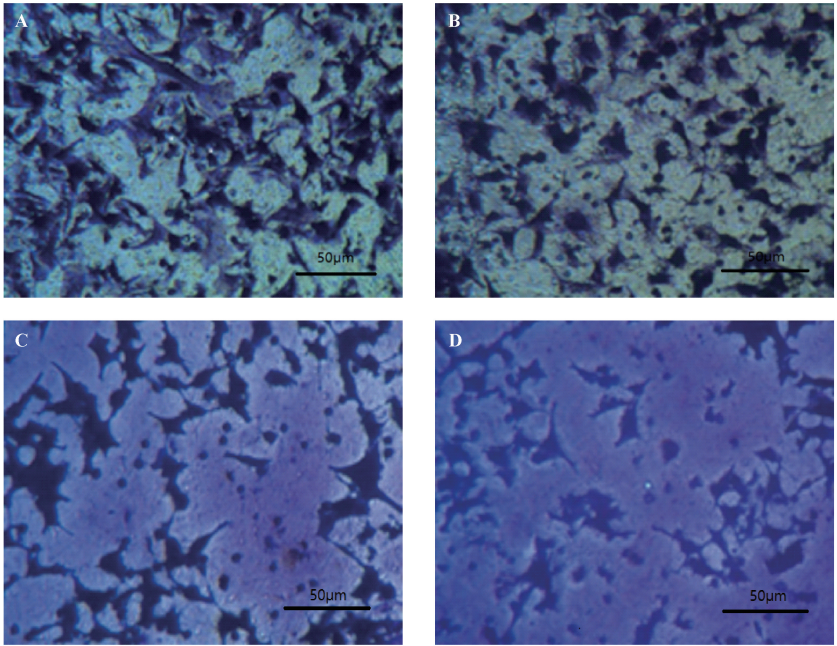


注：A-D 为处理 48 h 时，A：对照组；B：20 $\mu\text{mol/L}$ 汉黄芩素组；C：50 $\mu\text{mol/L}$ 汉黄芩素组；D：100 $\mu\text{mol/L}$ 汉黄芩素组。

图 1 胃癌细胞划痕实验比较($\times 100$)

Note. A-D for 48 h treatment; A. control group; B. 20 $\mu\text{mol/L}$ wogobin group; C. 50 $\mu\text{mol/L}$ wogobin group; D. 100 $\mu\text{mol/L}$ wogobin group.

Figure 1 Comparison of the scratch test results for gastric cancer cells



注：A. 对照组；B. 20 $\mu\text{mol/L}$ 汉黄芩素组；C. 50 $\mu\text{mol/L}$ 汉黄芩素组；D. 100 $\mu\text{mol/L}$ 汉黄芩素组

图 2 不同浓度汉黄芩素处理后胃癌细胞 Transwell 实验结果($\times 400$)

Note. A. control group, B. 20 $\mu\text{mol/L}$ wogobin group, C. 50 $\mu\text{mol/L}$ wogobin group, D. 100 $\mu\text{mol/L}$ wogobin group.

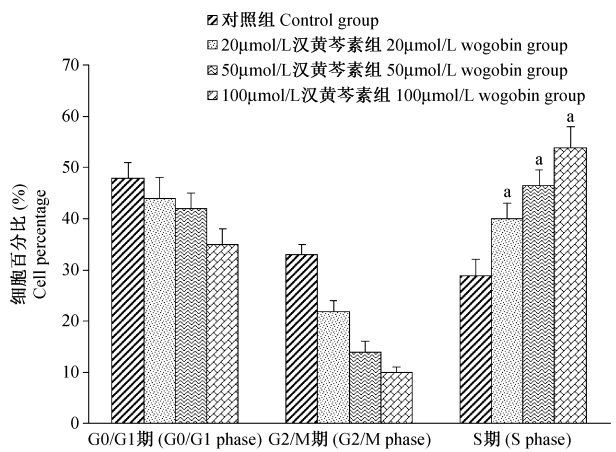
Figure 2 Results of transwell assay of gastric cancer cells treated with different concentrations of wogobin

2.4 汉黄芩素对胃癌细胞周期影响

与空白对照组比较,汉黄芩素能够增加 S 期细胞比例,减少 G₂/M 期细胞比例($P<0.05$)。这提示汉黄芩素可将 SGC-7901 细胞阻滞在 S 期。

2.5 流式细胞仪检测细胞凋亡

不同剂量的汉黄芩素能明显促进人胃癌 SGC-7901 细胞的凋亡。与对照组比较,汉黄芩素随着剂量的增加,细胞凋亡率也明显增加($P<0.05$),说明

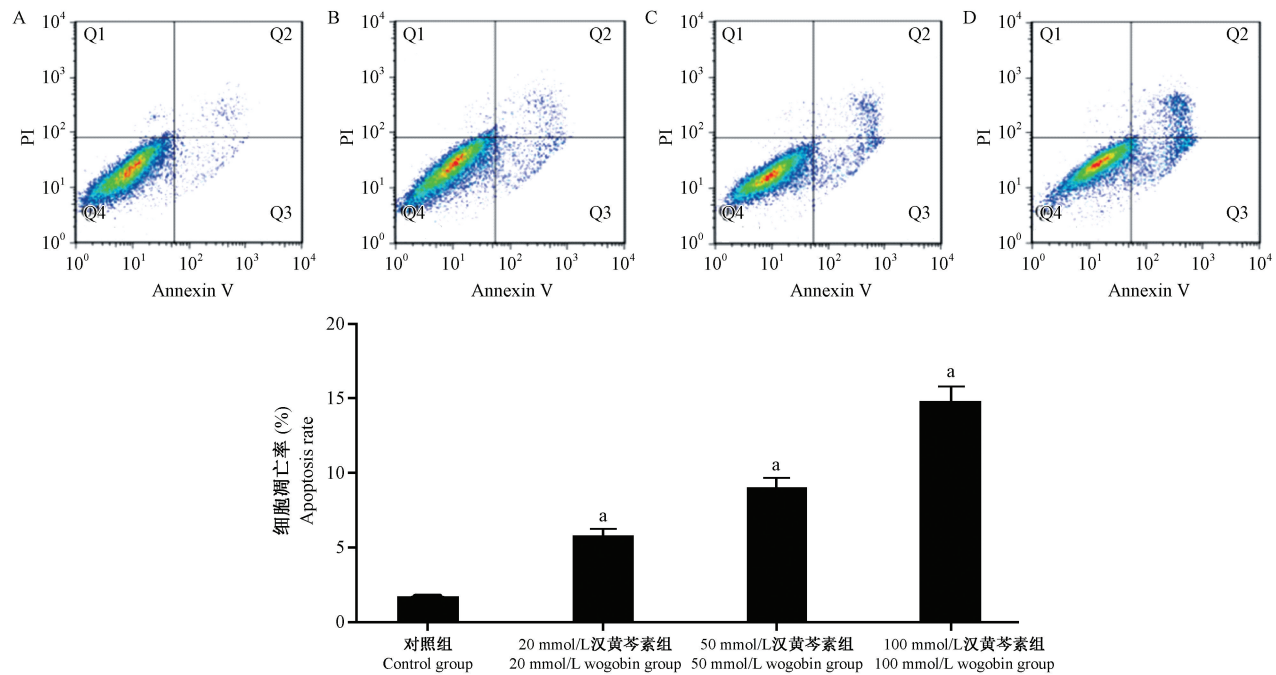


注:与对照组比较, ^a $P<0.05$

图3 汉黄芩素对 SGC-7901 细胞周期的影响

Note. Compared with the control group, ^a $P < 0.05$.

Figure 3 Effect of wogonin on cell cycle of the SGC-7901 cells



注:A. 对照组;B. 20 μmol/L 汉黄芩素组; C. 50 μmol/L 汉黄芩素组; D.100 μmol/L 汉黄芩素组;与对照组比较, ^a $P<0.05$ 。

图4 汉黄芩素对 SGC-7901 细胞凋亡的影响

Note. A. control group, B. 20 μmol/L wogonin group, C. 50 μmol/L wogonin group, D. 100 μmol/L wogonin group. Compared with the blank control group, ^a $P < 0.05$.

Figure 4 Effect of wogonin on apoptosis in the SGC-7901 cells

其作用呈浓度依赖性。

2.6 汉黄芩素对 SGC-7901 细胞 ICAM-1、TIMP-2、MMP-2 和 MMP-9 mRNA 和蛋白表达水平的影响

RT-qPCR 分析结果显示:与对照组相比,汉黄芩素组 (20、50、100 μg/mL) 细胞内 ICAM-1、MMP-2、MMP-9 的 mRNA 表达水平均下降 ($P<0.05$),而 TIMP-2 mRNA 表达水平上升 ($P<0.05$);Western blot 检测结果显示:汉黄芩素组 (20、50、100 μg/mL) 细胞内 ICAM-1、MMP-2、MMP-9 的蛋白表达水平与对照组相比明显下降,有显著性差异 ($P<0.05$),而与 TIMP-2 相比蛋白表达水平上升 ($P<0.05$),Western blot 和 RT-qPCR 检测结果基本一致。

3 讨论

恶性肿瘤具有的重要特征是转移,肿瘤转移导致超过 90% 癌症患者死亡^[8]。癌转移的关键因素是恶性细胞的侵袭和迁移,与此同时,恶性细胞不断增殖、分离、转移,黏附于血管壁上,建立一个新的微环境,最终转移扩散至其他部位^[9]。近 50% 胃癌患者会发生肿瘤转移,结果导致预后不良,而且死亡率较高^[10]。因此在胃癌的治疗中抑制癌细胞转移活力具有十分重要的作用。

表 2 汉黄芩素对 SGC7901 细胞 TIMP-2、ICAM-1、MMP-2 和 MMP-9 mRNA 的影响($\bar{x}\pm s$)
Table 2 Effects of wogobin on TIMP-2, ICAM-1, MMP-2, and MMP-9 mRNA in the SGC7901 cells

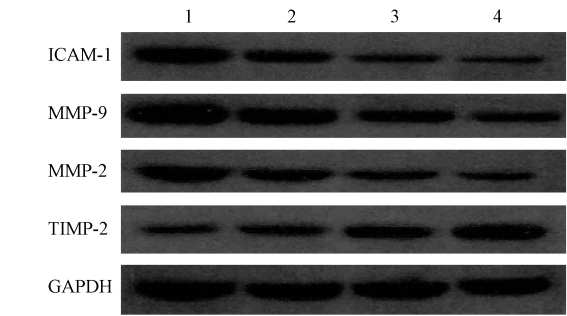
分组 Groups	TIMP-2	MMP-2	MMP-9	ICAM-1
对照组 Control group	1.04±0.11	1.03±0.26	0.99±0.18	1.12±0.13
20 μmol/L 汉黄芩素组 20 μmol/Lwogobin group	1.59±0.15 *	0.65±0.10	0.83±0.12	0.76±0.17 *
50 μmol/L 汉黄芩素组 50 μmol/Lwogobin group	3.12±0.44 *	0.57±0.06 *	0.58±0.11 *	0.49±0.14 *
100 μmol/L 汉黄芩素组 100 μmol/Lwogobin group	4.49±0.52 *	0.38±0.05 *	0.34±0.04 *	0.33±0.04 *

注:与对照组相比, * $P<0.05$ 。
Note. Compared with the control group, * $P<0.05$.

表 3 汉黄芩素对 SGC7901 细胞 TIMP-2、ICAM-1、MMP-2 和 MMP-9 蛋白的影响($\bar{x}\pm s$)
Table 3 Effects of wogobin on TIMP-2, ICAM-1, MMP-2, and MMP-9 proteins in the SGC7901 cells

分组 Groups	TIMP-2	MMP-2	MMP-9	ICAM-1
对照组 Control group	0.35±0.07	0.85±0.13	1.14±0.22	1.11±0.17
20 μmol/L 汉黄芩素组 20 μmol/Lwogobin group	0.44±0.08	0.62±0.09 *	0.79±0.18	0.62±0.14 *
50 μmol/L 汉黄芩素组 50 μmol/Lwogobin group	0.76±0.14 *	0.43±0.04 *	0.60±0.10 *	0.45±0.06 *
100 μmol/L 汉黄芩素组 100 μmol/Lwogobin group	0.92±0.13 *	0.30±0.05 *	0.42±0.07 *	0.34±0.04 *

注:与对照组相比, * $P<0.05$ 。
Note. Compared with the control group, * $P<0.05$.



注:1: 对照组, 2: 20 μmol/L 汉黄芩素组 3: 50 μmol/L 汉黄芩素组
4: 100 μmol/L 汉黄芩素组。

图 5 汉黄芩素对 SGC7901 细胞 ICAM-1、TIMP-2、MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达水平影响

Note. 1. Control group, 2. 20 μmol/L wogobin group, 3. 50 μmol/L wogobin group, 4. 100 μmol/L wogobin group.

Figure 5 Effects of wogobin on TIMP-2, ICAM-1, MMP-2 and MMP-9 proteins in the SGC7901 cells

从中药黄芪中提取的汉黄芩素是一种黄酮类化合物,能够通过多种方式协同抗癌剂促进肿瘤细胞死亡、抑制肿瘤血管生成及诱导肿瘤细胞凋亡等作用。汉黄芩素对肺癌细胞、骨肉瘤细胞、及乳腺癌^[11-12]等肿瘤细胞均能促进凋亡、抑制生长等作用。肿瘤恶性程度及发病的主因与肿瘤细胞的增殖、迁移及转移等能力密切相关,其相关作用机制复杂包括各种生长因子、肿瘤细胞微环境、及细胞外信号转导通路等^[13-14]。

本研究观察汉黄芩素作用 SGC7901 胃癌细胞是否有抗胃癌作用,结果显示汉黄芩素能抑制 SGC7901 胃癌细胞的增殖,且呈浓度和时间依赖性;恶性肿瘤具有的重要特征是迁移及侵袭能力,这也

是恶性肿瘤患者主要死因及影响化疗效果的主要因素。本研究通过划痕实验及 Transwell 实验观察汉黄芩素对 SGC7901 胃癌细胞迁移和侵袭能力的影响,结果显示汉黄芩素能够抑制 SGC7901 胃癌细胞的迁移和侵袭,呈浓度依赖性;在肿瘤发生过程中会产生细胞周期变化及凋亡异常,本实验采用流式细胞仪分析汉黄芩素对 SGC7901 细胞的抑制作用,结果显示,与空白对照组比较,汉黄芩素能够增加 S 期细胞比例,减少 G₂/M 期细胞比例,这提示汉黄芩素可将 SGC-7901 细胞阻滞在 S 期。同时汉黄芩素处理后,SGC7901 细胞凋亡率显著升高,且呈浓度依赖性,提示汉黄芩素具有诱导肿瘤细胞凋亡的作用。

移动、蛋白降解和细胞黏附是肿瘤侵袭转移主要过程,而细胞黏附作用一般认为是其始动因素,细胞间黏附分子-1(ICAM-1)能够在胞外基质间、细胞与细胞间介导产生黏附的作用,同时文献报道 ICAM-1 在癌转移与胃癌细胞中高表达具有相关性^[15]。Western blot 和 RT-qPCR 结果发现,与对照组相比,汉黄芩素(20、50、100 μg/mL)作用 SGC7901 胃癌细胞后,ICAM-1 表达明显下调;癌细胞的侵袭、迁移与转移相关蛋白密切联系,这些转移相关蛋白具有降解、破坏细胞外基质的作用。基质金属蛋白酶(MMPs)具有调控肿瘤细胞增殖和转移的作用,是降解细胞外基质的锌依赖蛋白水解酶,其中 MMP-2、MMP-9 与肿瘤细胞的生长、转移密切相关^[16-17]。金属蛋白酶抑制剂(TIMPS)是在体内分布广泛的 MMPs 的抑制剂。研究显示,金属蛋白酶抑制剂能以非共价稳定结合处于活化状态的

MMPs, 抑制 MMPs 对基底膜的降解^[18]。在本研究中,汉黄芩素 (20、50、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 作用 SGC7901 胃癌细胞后,Western blot 和 RT-qPCR 检测结果显示细胞内 MMP-2 和 MMP-9 mRNA 和蛋白逐渐表达下降,而 TIMP-2 mRNA 和蛋白表达逐渐上升,这说明汉黄芩素具有浓度依赖性抑制 SGC7901 胃癌细胞侵袭和转移。

实验结果表明,汉黄芩素不仅具有抑制 SGC7901 胃癌细胞增殖、迁移和侵袭能力,还能诱导其凋亡。而 RT-qPCR 和 Western blot 检测结果表明,汉黄芩素能够抑制 ICAM-1、MMP-2 和 MMP-9 mRNA 和蛋白表达,同时 TIMP-2 mRNA 和蛋白表达逐渐上升,这些说明汉黄芩素具有抑制胃癌细胞转移的能力。汉黄芩素具有广泛抗肿瘤活性,毒副作用小,有可能成为治疗胃癌的临床药物,本实验为进一步的新药研发提供基础研究。

参考文献:

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2):87-108.
- [2] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. Int J Cancer, 2015, 136(5):359-386.
- [3] 任晓东, 符伟, 张晓芸, 等. 天然产物汉黄芩素的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2011(9):777-784.
- [4] Yao J, Pan D, Zhao Y, et al. Wogonin prevents lipopolysaccharide-induced acute lung injury and inflammation in mice via peroxisome proliferator-activated receptor γ mediated attenuation of the nuclear factor- κ B pathway [J]. Immunol, 2014, 143(2):241-257.
- [5] Bak E, Kim J, Choi YH, et al. Wogonin ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia via PPAR α activation in db/db mice [J]. Clin Nutr (Edinburgh, Scotland), 2014, 33(1):156-163.
- [6] Guo Z, Hu X, Xing Z, et al. Baicalein inhibits prostate cancer cell growth and metastasis via the caveolin-1/AKT/mTOR pathway [J]. Mol Cell Biochem, 2015, 406(1-2):111-119.

- [7] Enomoto R, Koshiba C, Suzuki C, et al. Wogonin potentiates the antitumor action of etoposide and ameliorates its adverse effects [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2011, 67(5):1063-1072.
- [8] Canel M, Serrels A, Frame MC, et al. E-cadherin-integrin crosstalk in cancer invasion and metastasis [J]. J Cell Sci, 2013, 126(Pt 2):393-401.
- [9] Smyth EC, Sclafani F, Cunningham D. Emerging molecular targets in oncology: clinical potential of MET/hepatocyte growth-factor inhibitors [J]. Onco Targets Ther, 2014, 7:1001-1014.
- [10] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation [J]. Cell, 2011, 144(5):646-674.
- [11] 屈中玉, 王文康, 王启船, 等. 汉黄芩素对肺癌肿瘤细胞生长和转移抑制作用机制的研究 [J]. 中药药理与临床, 2017, 33(1):81-85.
- [12] Parmar M, Abdel-Rebeem M, Rao V, et al. Ameliorative effects of wogonin on liver damage in streptozotocin-induced diabetes in rats [J]. Life Sci, 2013, 10(3):1885-1893.
- [13] Saha SK, Choi HY, Kim BW, et al. KRT19 directly interacts with β -catenin/RAC1 complex to regulate NUMB-dependent NOTCH signaling pathway and breast cancer properties [J]. Oncogene, 2017, 36(3):332-349.
- [14] 张慧峰, 余海波. 白藜芦醇对肝癌细胞增殖及凋亡的影响 [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2013, 27(4):364-367.
- [15] Jung WC, Jang YJ, Kim JH, et al. Expression of intercellular adhesion molecule-1 and e-selectin in gastric cancer and their clinical significance [J]. J Gastric Cancer, 2012, 12(3):140-148.
- [16] 崔若凡, 张宝刚, 姬静, 等. ARK5、MMP-2 和 MMP-9 在胃癌中的表达及与侵袭转移的关系 [J]. 实用医学杂志, 2012, 28(7):1073-1076.
- [17] 张景洲, 冯相伟, 孟繁平. 扶正解毒通络方对人肝癌 HepG2 细胞 MMP-2、MMP-9 表达及细胞侵袭作用的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2017, 33(4):542-544.
- [18] Jackson HW, Defamie V, Waterhouse P, et al. TIMPs: versatile extracellular regulators in cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2017, 17(1):38-53.

[收稿日期] 2018-08-06