

田璐. 扶正抗癌汤含药血清调节 EMT 进程抑制人卵巢癌 HO-8910PM 细胞转移及侵袭作用的研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(1): 43-49.

Tian L. Inhibitory effects of Fuzheng Kang-Ai decoction on migration and invasion of human ovarian carcinoma HO-8910PM cells by regulating the epithelial-mesenchymal transition process [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(1): 43-49.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2021.01.007

扶正抗癌汤含药血清调节 EMT 进程抑制人卵巢癌 HO-8910PM 细胞转移及侵袭作用的研究

田 璐*

(辽宁中医药大学附属医院妇产科, 沈阳 110032)

【摘要】 目的 研究扶正抗癌汤含药血清抑制 HO-8910PM 细胞转移及侵袭的作用及潜在机制。**方法** 将 48 只 SD 大鼠随机分为正常组及扶正抗癌汤低(4.725 g/(kg·d))、中(9.45 g/(kg·d))、高(18.9 g/(kg·d))剂量组,灌胃给药,每天 1 次,共持续 7 d;分离含药血清,用于孵育 HO-8910PM 细胞。通过划痕实验、Transwell 实验、ELISA 实验、实时定量 PCR 实验及 Western blot 实验检测相关指标变化情况。**结果** 与正常组比较,低、中、高剂量扶正抗癌汤组含药血清处理 HO-8910PM 细胞 24 h 后,迁移率及穿膜细胞数均明显降低($P<0.01$);与正常组比较,低、中、高剂量扶正抗癌汤组含药血清处理 HO-8910PM 细胞 12 h、24 h 和 48 h 后, FN 蛋白表达明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与正常组比较,低、中、高剂量扶正抗癌汤组含药血清处理 HO-8910PM 细胞 24 h 后, E-cadherin mRNA 表达增加($P<0.01$),而 vimentin、N-cadherin mRNA 表达及 TGF- β 1、p-Smad3 蛋白表达显著减少($P<0.01$)。**结论** 扶正抗癌汤具有抑制人卵巢癌 HO-8910PM 细胞转移及侵袭的作用,该作用与阻碍 TGF- β 1/Smad3 通路活化,进而调节 EMT 进程有关。

【关键词】 扶正抗癌汤含药血清;卵巢癌;转移;侵袭;EMT 进程

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2021) 01-0043-07

Inhibitory effects of Fuzheng Kang-Ai decoction on migration and invasion of human ovarian carcinoma HO-8910PM cells by regulating the epithelial-mesenchymal transition process

TIAN Lu*

(Obstetrics and Gynecology Department in Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional
Chinese Medicine, Shenyang 110032, China)

【Abstract】 Objective To study the inhibitory effects of Fuzheng Kang-Ai (FZKA) decoction on the migration and invasion of human ovarian carcinoma (HO-8910PM) cells and the underlying mechanisms. **Methods** Forty-eight SD rats were randomly divided into a control group, low-dose FZKA group (4.725 g/(kg·d)), medium-dose FZKA group (9.45 g/(kg·d)), and high-dose FZKA group (18.9 g/(kg·d)). The drug was administered by gavage once per day for 7 days. The decoction was isolated and used to incubate HO-8910PM cells, and changes in the related indices were detected by the cell scratch test, transwell assay, ELISA, real-time quantitative PCR, and Western blot. **Results** Compared with the control

[基金项目] 辽宁省教育厅科学技术研究项目(No. L201909)。

[作者简介] 田璐(1982—)女,博士,研究方向:妇科肿瘤、多囊卵巢综合征。Email:ingrid_114@163.com

group, after 24 hours of low-, medium-, and high-dose FZKA decoction treatment, HO-8910PM cell mobility and invasion were significantly lower ($P < 0.01$). Compared with the control group, after 12-, 24-, and 48 h of low-, medium-, and high-dose FZKA decoction treatment of HO-8910PM cells, FN protein expression decreased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the control group, after 24 h of low-, medium- and high-dose FZKA decoction treatment of HO-8910PM cells, E-cadherin mRNA expression increased ($P < 0.01$), while vimentin, N-cadherin mRNA, TGF- $\beta 1$, and p-Smad3 expression decreased significantly ($P < 0.01$). **Conclusions** FZKA can inhibit the migration and invasion of HO-8910PM cells, by inhibiting TGF- $\beta 1$ /Smad3 pathway activation and further regulation of the EMT process.

【Keywords】 Fuzheng Kang-Ai(FZKA) decoction; ovarian carcinoma; migration; invasion; EMT process

卵巢癌为女性生殖器官常见恶性肿瘤,发病率排在女性各类肿瘤的第 3 位,而致死率高居第 1 位,严重威胁女性生命健康^[1-2]。由于卵巢癌缺少有效准确的早期诊断方法,加之发病隐匿,导致确诊患者中约 70%~80% 已为晚期,失去了手术治疗的最佳时期^[3]。化疗为晚期卵巢癌的主要治疗手段,虽然可暂时缓解病情,但存在严重的毒副作用、耐药及高复发率等缺点^[4]。卵巢癌的转移及侵袭是导致治疗失败和死亡的首要原因,如何抑制卵巢癌的转移及侵袭对提高患者的治愈率和生存率至关重要^[5]。

传统中药由于具有多靶点、多途径、疗效确切及低毒副作用等优势,在卵巢癌的治疗领域逐渐引起了人们的关注^[6-7]。扶正抗癌汤为辽宁中医药大学附属医院院内制剂,已广泛应用于非小细胞肺癌等多种肿瘤的治疗,取得了很好的临床疗效^[8]。然而关于扶正抗癌汤对肿瘤细胞转移及侵袭作用的研究报道较少。因此,本研究以人卵巢癌 HO-8910PM 细胞为研究对象,主要观察扶正抗癌汤含药血清对 HO-8910PM 细胞转移及侵袭的作用,并进一步探讨其能否通过调节 TGF- $\beta 1$ /Smad3 通路及影响上皮间质转化(EMT)进程起到抗卵巢癌转移及侵袭的作用。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

SPF 级 SD 大鼠,雄性 48 只,体重 200~220 g,6~8 周龄,购于沈阳茂华生物科技有限公司[SCXK(辽)2017-0001]。SD 大鼠饲养于辽宁中医药大学实验动物中心[SYXK(辽)2019-0004];本实验获我校实验动物伦理委员会审批(21000092018069),按照实验动物使用的 3R 原则给予人道关怀。

1.1.2 实验细胞

人卵巢癌 HO-8910PM 细胞,购于上海美轩生

物科技公司。

1.2 主要试剂与仪器

扶正抗癌汤由红人参 25 g、白术 10 g、甘草 10 g、半夏 15 g、浙贝母 15 g、枳壳 15 g、陈皮 15 g、半枝莲 10 g、白花舌草 50 g、竹茹 20 g、茯苓 20 g 及生姜 5 g 组成;经 2 次水煎后,合并药液,并浓缩至含生药 2 g/mL 药液,过滤,分装灭菌。胎牛血清、DMEM、胰蛋白酶,美国 Mediatech 公司;Matrigel 胶,美国 BD 公司;Transwell 小室,美国康宁公司;纤维连接蛋白(FN)酶联免疫吸附法(ELISA)检测试剂盒,上海酶联生物公司;TRIzol、逆转录试剂盒及实时定量 PCR 检测试剂盒,日本 TaKaRa 公司;转移生长因子- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)、磷酸化 Smad 同源物蛋白 3(p-Smad3)多克隆抗体,美国 Cell Signaling 公司;甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)多克隆抗体,北京金杉中桥生物公司。超净工作台(型号:SW-CJ1FD,苏州净化设备公司);CO₂ 培养箱(型号:3111,美国 Thermo 公司);倒置相差显微镜(型号:DFC259,德国 Leica 公司);多功能酶标仪(型号:ELX808,美国 BioTek 公司);实时定量 PCR 系统(型号:7500,美国 ABI 公司);蛋白电泳仪(型号:DYCZ-24EN,北京六一仪器厂)。

1.3 实验方法

1.3.1 制备含药血清

将 48 只 SD 大鼠随机分为正常组及扶正抗癌汤低、中、高剂量组,12 只/组;依据人与大鼠剂量换算方法,以标准质量/人的体重 $\times 6.3$ 为高剂量(18.9 g/(kg·d))组,在此基础上稀释 1 倍(9.45 g/(kg·d))为中剂量组,稀释 2 倍为低剂量(4.725 g/(kg·d))组,灌胃给药,每天 1 次;正常组灌胃等体积蒸馏水,给药体积为 1 mL/100 g,共持续 7 d。末次灌胃给药后 2 h,经后股动脉采血,分离血清;在 56℃ 条件下将补体灭活,用 0.22 μ m 无菌滤膜过滤,分装于离心管中在低温冰箱中保存备用。

1.3.2 细胞培养

用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基对 HO-8910PM 细胞进行培养,培养条件为 5% CO₂、37℃;使用胰蛋白酶(0.25%)消化细胞及传代,至对数生长期时用于后续实验研究。

1.3.3 划痕实验检测 HO-8910PM 细胞转移能力

在 6 孔培养板中接种对数生长期的 HO-8910PM 细胞,用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基进行培养,待 24 h 细胞贴壁后,倒掉培养基;PBS 漂洗后,用无菌的移液器枪头沿中轴轻轻划线。PBS 漂洗,加入 DMEM 培养基(分别含 10% 正常组大鼠血清及 10% 低、中、高剂量扶正抗癌汤组大鼠含药血清),继续培养 24 h,拍照。通过给药前与给药后的划痕宽度,计算细胞相对迁移率,细胞相对迁移率(%)=(1~24 h 划痕宽度/0 h 划痕宽度)×100%

1.3.4 Transwell 实验检测 HO-8910PM 细胞侵袭能力

将稀释好的 Matrigel 胶加入到 Transwell 小室中,37℃ 下于 CO₂ 培养箱中放置 1 h,将多余培养基弃掉。HO-8910PM 细胞培养至对数生长期,离心后用无血清培养基重悬,并调整密度为每毫升 1×10^6 个,取 200 μL 细胞悬液加入到 Transwell 上室中;下室加入 700 μL DMEM 培养基(分别含 10% 正常组大鼠血清及 10% 低、中、高剂量扶正抗癌汤组大鼠含药血清),继续培养 24 h。将多余培养液弃掉,经 4% 多聚甲醛固定,并用结晶紫染色 0.5 h。显微镜下拍照,并计数细胞穿膜个数。

1.3.5 ELISA 实验检测 HO-8910PM 细胞上清液 FN 蛋白表达

HO-8910PM 细胞在 DMEM 培养基(分别含 10% 正常组大鼠血清及 10% 低、中、高剂量扶正抗癌汤组大鼠含药血清)培养 12 h、24 h 及 48 h 后,离心,收集各组细胞上清液。参考 FN 检测试剂盒中的操作步骤,通过 ELISA 实验检测细胞上清液 FN 蛋白表达。

1.3.6 实时定量 PCR 实验检测 HO-8910PM 细胞 E-Cadherin、vimentin 及 N-Cadherin mRNA 表达

HO-8910PM 细胞用 DMEM 培养基(分别含 10% 正常组大鼠血清及 10% 低、中、高剂量扶正抗癌汤组大鼠含药血清)培养 24 h 后,离心,收集各组细胞。TRIzol 法提取总 RNA,逆转录试剂盒逆转录为 cDNA,实时定量 PCR 引物由大连宝生物公司合成。E-cadherin 引物:上游 5'-GACACTGGTGCCATTTCCAC-3',下游 5'-AGTTCGAGGTTCTGCTATGGG-3';

vimentin 引物:上游 5'-AGGCAAAGCAGGAGTCCACT-3',下游 5'-CGTTCCAGGGACTCATTGGT-3';N-cadherin 引物:上游 5'-GCAACGACGGGTAGTCAACC-3',下游 5'-GACACGGTTGCAGTTGACTGAG-3';GAPDH 引物:上游 5'-GCACAGTCAAGGCTGAGAATG-3',下游 5'-ATGGTGGTGAAGACGCCAGTA-3'。实时定量 PCR 反应体系:上、下游引物各 1 μL,2×SYBR Green Mix 10 μL,蒸馏水 6 μL,cDNA 2 μL,总反应体积 20 μL。以 GAPDH 作为内参基因,通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法,检测各组 HO-8910PM 细胞 E-Cadherin、vimentin 及 N-Cadherin mRNA 的表达。

1.3.7 Western blot 实验检测 HO-8910PM 细胞 TGF-β1、p-Smad3 蛋白表达

HO-8910PM 细胞处理方法同“1.3.6”。细胞总蛋白使用 RIPA 裂解液提取,按照 BCA 试剂说明书检测细胞蛋白含量。每个上样孔加 20 μg 蛋白样品,10% SDS-PAGE 分离,湿法转膜,5% 脱脂奶粉封闭。分别加入 TGF-β1、p-Smad3 抗体,稀释比例为 1:2500,4℃ 孵育过夜;TBST 溶液漂洗 3 次后,加入稀释好的二抗(1:5000),4℃ 孵育 1 h。TBST 溶液漂洗,加入 ECL 发光液显色,拍照,各组细胞光密度值用 Image Lab 软件分析。

1.4 统计学方法

各组数据均以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,通过 SPSS 20.0 软件进行统计分析。若方差不齐,两两比较采用单因素方差分析 Dunnett's T3 进行;若方差齐,两两比较采用单因素方差分析 LSD-t 检验进行。 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 提示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 扶正抗癌汤含药血清抑制 HO-8910PM 细胞转移

本研究通过细胞划痕实验检测了扶正抗癌汤含药血清对 HO-8910PM 细胞迁移率的影响,结果见图 1 及表 1。与正常组比较,低、中、高剂量扶正抗癌汤组含药血清处理 HO-8910PM 细胞 24 h 后,HO-8910PM 细胞迁移率明显降低($P < 0.01$),且随着药物剂量的增加,细胞迁移率逐渐越低。

2.2 扶正抗癌汤含药血清抑制 HO-8910PM 细胞侵袭

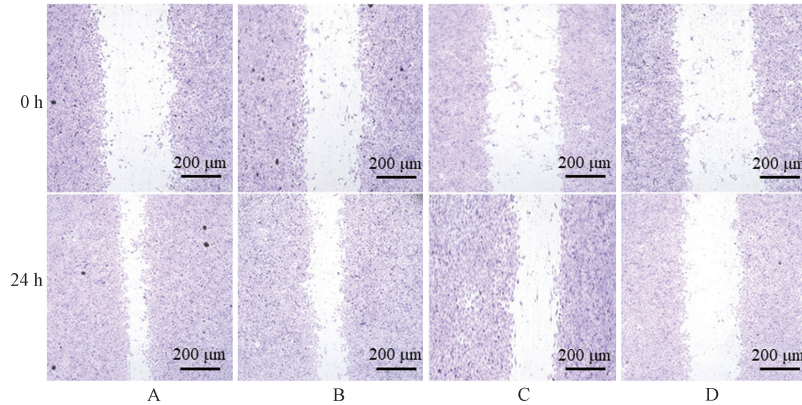
本研究通过 Transwell 实验检测了扶正抗癌汤含药血清对 HO-8910PM 细胞侵袭能力的影响,结

果见表 2 及图 2。与正常组比较,低、中、高剂量扶正抗癌汤组含药血清处理 HO-8910PM 细胞 24 h 后,HO-8910PM 细胞穿膜细胞数明显降低 ($P < 0.01$),且该作用具有剂量依赖性。

2.3 扶正抗癌汤含药血清对 HO-8910PM 细胞 FN 蛋白表达的影响

FN 蛋白参与 EMT 进程,在肿瘤细胞间的黏附、

转移及侵袭中发挥重要作用,本研究采用 ELISA 法检测了扶正抗癌汤含药血清对 HO-8910PM 细胞 FN 蛋白表达的影响,结果见表 3。与正常组比较,低、中、高剂量扶正抗癌汤组含药血清处理 HO-8910PM 细胞 12 h、24 h 和 48 h 后,HO-8910PM 细胞在三个时间点的 FN 蛋白表达均明显降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),且该作用具有时间依赖性 & 剂量依赖性。



注: A: 正常组; B~D: 4.725、9.45、18.9 g/(kg·d) 扶正抗癌汤组。

图 1 扶正抗癌汤含药血清对 HO-8910PM 细胞迁移率的影响

Note. A, Normal group. B~D, 4.725, 9.45, 18.9 g/(kg·d) FZKAT drug serum groups.

Figure 1 Effect of FZKAT drug serum on migration rate of HO-8910PM cells

表 1 扶正抗癌汤含药血清对 HO-8910PM 细胞迁移率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Table 1 Effect of FZKAT drug serum on migration rate of HO-8910PM cells

组别 Groups	剂量 (g/(kg·d)) Dose	迁移率 (%) Migration rate
正常组 Normal group	0	82.03±10.12
扶正抗癌汤低剂量组 FZKAT drug serum low dose group	4.725	67.24±7.20**
扶正抗癌汤中剂量组 FZKAT drug serum medium dose group	9.450	54.17±5.13**
扶正抗癌汤高剂量组 FZKAT drug serum high dose group	18.900	41.79±4.58**

注: 与正常组比较, ** $P < 0.01$ 。

Note. Compared with the normal group, ** $P < 0.01$.

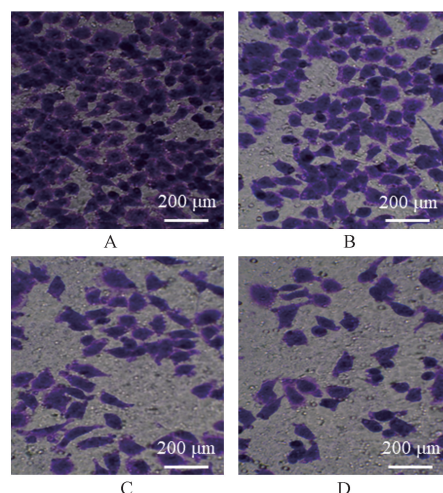
表 2 扶正抗癌汤含药血清对 HO-8910PM 细胞侵袭能力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Table 2 Effect of FZKAT drug serum on invasion of HO-8910PM cells

组别 Groups	剂量 (g/(kg·d)) Dose	穿膜细胞数 (个) Wear membrane cell count (number)
正常组 Normal group	0	154.55±18.02
扶正抗癌汤低剂量组 FZKAT drug serum low dose group	4.725	105.48±12.67**
扶正抗癌汤中剂量组 FZKAT drug serum medium dose group	9.450	67.92±8.46**
扶正抗癌汤高剂量组 FZKAT drug serum high dose group	18.900	48.37±5.13**

注: 与正常组比较, ** $P < 0.01$ 。

Note. Compared with the normal group, ** $P < 0.01$.



注: A: 正常组; B~D: 4.725、9.45、18.9 g/(kg·d) 扶正抗癌汤组。

图 2 扶正抗癌汤含药血清对 HO-8910PM 细胞侵袭能力的影响

Note. A, Normal group. B~D, 4.725, 9.45, 18.9 g/(kg·d)) FZKAT drug serum groups.

Figure 2 Effect of FZKAT drug serum on invasion of HO-8910PM cells

2.4 扶正抗癌汤含药血清对 HO-8910PM 细胞 E-Cadherin、vimentin 及 N-Cadherin mRNA 表达的影响

EMT 进程在细胞水平上以间质特性增强, 上皮特性丧失为主要特征, 在分子水平上表现为 vimentin 和 N-cadherin 表达增加, 而 E-cadherin 表达减少。本研究采用实时定量 PCR 法检测了扶正抗癌汤含药血清对 HO-8910PM 细胞 E-Cadherin、vimentin 及 N-Cadherin mRNA 表达的影响, 结果见表 4。与正常组比较, 低、中、高剂量扶正抗癌汤组含药血清处理 HO-8910PM 细胞 24 h 后, HO-8910PM 细胞 E-cadherin mRNA 表达增加 ($P < 0.01$), 而 vimentin 和 N-cadherin mRNA 表达减少 ($P < 0.01$)。

2.5 扶正抗癌汤含药血清对 HO-8910PM 细胞 TGF- β 1/Smad3 通路的影响

TGF- β 1/Smad3 通路在 EMT 发生和肿瘤细胞转移、侵袭过程起着重要调控作用, 本研究采用 Western blot 实验检测了扶正抗癌汤含药血清对 HO-

表 3 扶正抗癌汤含药血清对 HO-8910PM 细胞 FN 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 3 Effect of FZKAT drug serum on FN expression of HO-8910PM cells

组别 Groups	剂量(g/(kg·d)) Dose	纤维连接蛋白 (ng/mL) Fibronectin		
		12 h	24 h	48 h
正常组 Normal group	0	72.36 $\pm$ 8.64	73.12 $\pm$ 8.46	71.82 $\pm$ 7.23
扶正抗癌汤低剂量组 FZKAT drug serum low dose group	4.725	63.94 $\pm$ 7.20 *	59.69 $\pm$ 6.87 **	54.87 $\pm$ 6.76 **
扶正抗癌汤中剂量组 FZKAT drug serum medium dose group	9.450	61.38 $\pm$ 7.79 **	52.51 $\pm$ 5.04 **	40.23 $\pm$ 5.37 **
扶正抗癌汤高剂量组 FZKAT drug serum high dose group	18.900	55.53 $\pm$ 6.05 **	41.40 $\pm$ 6.38 **	33.41 $\pm$ 5.22 **

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note. Compared with the normal group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 4 扶正抗癌汤含药血清对 HO-8910PM 细胞 E-Cadherin、vimentin 及 N-Cadherin mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 4 Effect of FZKAT drug serum on E-Cadherin, vimentin and N-Cadherin mRNA expressions of HO-8910PM cells

组别 Groups	剂量(g/(kg·d)) Dose	E-钙黏蛋白 E-Cadherin	波形蛋白 Vimentin	N-钙黏蛋白 N-Cadherin
正常组 Normal group	0	0.30 $\pm$ 0.04	0.45 $\pm$ 0.06	0.64 $\pm$ 0.08
扶正抗癌汤低剂量组 FZKAT drug serum low dose group	4.725	0.36 $\pm$ 0.04 **	0.31 $\pm$ 0.03 **	0.43 $\pm$ 0.05 **
扶正抗癌汤中剂量组 FZKAT drug serum medium dose group	9.450	0.42 $\pm$ 0.05 **	0.27 $\pm$ 0.04 **	0.39 $\pm$ 0.04 **
扶正抗癌汤高剂量组 FZKAT drug serum high dose group	18.900	0.51 $\pm$ 0.05 **	0.22 $\pm$ 0.03 **	0.38 $\pm$ 0.05 **

注: 与正常组比较, ** $P < 0.01$ 。

Note. Compared with the normal group, ** $P < 0.01$.

8910PM 细胞 TGF- β 1 及 p-Smad3 蛋白表达的影响, 结果见图 3 及表 5。与正常组比较, 低、中、高剂量扶正抗癌汤组含药血清处理 HO-8910PM 细胞 24 h 后, HO-8910PM 细胞 TGF- β 1、p-Smad3 蛋白表达显著减少, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。

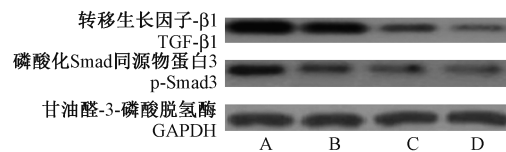
3 讨论

EMT 是指由上皮细胞向间质细胞转化的现象, 其在卵巢癌、骨肉瘤、胰腺癌、结肠癌、肺癌及乳腺癌等多种肿瘤的转移及侵袭中起着关键性作用^[9-10]。FN 蛋白广泛存在于细胞外液、细胞表面及结缔组织中, 是细胞外基质的重要组成成分, 参与细胞的粘附、迁移及分化; 在 EMT 进程中 FN 表达升高, 进而促进肿瘤细胞的转移及侵袭^[11]。E-cadherin 表达减少, vimentin 和 N-cadherin 表达增加是肿瘤细胞发生 EMT 的重要证据。E-Cadherin 参与维持上皮组织完整性和细胞极性, 广泛存在于上皮组织中, 当肿瘤细胞 E-Cadherin 表达下调时, 可引起侵袭性生长, 导致肿瘤细胞的远端转移^[12]。Vimentin 主要负责维持细胞骨架的完整性, 为间充质来源细胞中的一种中间纤维蛋白, vimentin 高表达标志着 EMT 进程及肿瘤细胞转移、侵袭的发生^[13]。N-cadherin 参与细胞黏附、细胞的信号转导、细胞识别及细胞运动等生物学过程, 其表达量与肿瘤的转移及侵袭程度呈正相关性^[14]。

TGF- β 1/Smad3 通路在肿瘤细胞的增殖、凋亡、EMT 进程及转移、侵袭中发挥着重要作用^[15]。TGF- β 1 存在于多种细胞中, 具有抑制免疫监视、刺激细胞增殖、分化、迁移及促进炎症因子表达等作用^[16]。研究发现^[17], 在恶性肿瘤细胞中 TGF- β 1 表

达量增加, 进而与 p-Smad3 形成复合物并一同进入细胞核内, 介导 EMT 进程, 引发肿瘤细胞的转移、侵袭过程。阻碍 TGF- β 1/Smad3 通路活化, 影响 EMT 进程是抑制肿瘤细胞转移、侵袭的关键^[18]。研究发现^[19], 白藜芦醇可以阻断 TGF- β 1/Smad3 信号通路转导, 抑制人肺癌 A549 细胞的增殖及 EMT 进程, 减少 A549 细胞的转移及侵袭。血根碱也可以干预 TGF- β 1/Smad 信号通路, 抑制卵巢癌 A2780/Taxol 细胞的生长及转移^[20]。

本研究结果发现, 与正常组比较, 低、中、高剂量扶正抗癌汤组含药血清处理 HO-8910PM 细胞后, 迁移率及穿膜细胞数均明显降低, 提示扶正抗癌汤具有抑制人卵巢癌 HO-8910PM 细胞转移及侵袭的作用; 同时, vimentin、N-cadherin mRNA 表达及 FN、TGF- β 1、p-Smad3 蛋白表达也明显降低, 而 E-cadherin mRNA 表达增加, 表明扶正抗癌汤抑制人卵巢癌 HO-8910PM 细胞转移及侵袭的作用与阻碍 TGF- β 1/Smad3 通路活化, 进而调节 EMT 进程有关。



注: A: 正常组; B~D: 4.725、9.45、18.9 g/(kg·d) 扶正抗癌汤组。

图 3 扶正抗癌汤含药血清对 HO-8910PM 细胞 TGF- β 1/Smad3 通路的影响

Note. A, Normal group. B~D, 4.725, 9.45, 18.9 g/(kg·d) FZKAT drug serum groups.

Figure 3 Effect of FZKAT drug serum on TGF- β 1 and p-Smad3 protein expressions of HO-8910PM cells

表 5 扶正抗癌汤含药血清对 HO-8910PM 细胞 TGF- β 1、p-Smad3 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=5$)
Table 5 Effect of FZKAT drug serum on TGF- β 1 and p-Smad3 protein expressions of HO-8910PM cells

组别 Groups	剂量 (g/(kg·d)) Dose	转移生长因子- β 1/甘油醛-3- 磷酸脱氢酶 TGF- β 1/GAPDH	磷酸化 Smad 同源物蛋白 3/甘油醛-3- 磷酸脱氢酶 p-Smad3/GAPDH
正常组 Normal group	0	1.43 $\pm$ 0.17	0.95 $\pm$ 0.11
扶正抗癌汤低剂量组 FZKAT drug serum low dose group	4.725	1.14 $\pm$ 0.12 **	0.34 $\pm$ 0.04 **
扶正抗癌汤中剂量组 FZKAT drug serum medium dose group	9.450	0.42 $\pm$ 0.05 **	0.23 $\pm$ 0.03 **
扶正抗癌汤高剂量组 FZKAT drug serum high dose group	18.900	0.30 $\pm$ 0.04 **	0.19 $\pm$ 0.02 **

注: 与正常组比较, ** $P < 0.01$ 。

Note. Compared with the normal group, ** $P < 0.01$.

参考文献:

- [1] 李佳旎, 周雪影, 李亚兰. 卵巢癌患者发病危险因素及术后康复效果影响因素分析 [J]. 中国卫生统计, 2019, 36(1): 62-64.
- [2] Ståhlberg K, Svensson T, Granath F, et al. Evaluation of prevalent and incident ovarian cancer co-morbidity [J]. Br J Cancer, 2012, 106(11): 1860-1865.
- [3] 赵婷婷, 沈国栋, 胡卫平. 卵巢癌转移相关分子标记物及靶向性治疗药物的研究进展 [J]. 国际妇产科学杂志, 2015, 42(4): 457-460.
- [4] Zheng H, Zhang M, Ma S, et al. Identification of the key genes associated with chemotherapy sensitivity in ovarian cancer patients [J]. Cancer Med, 2020, 9(14): 5200-5209.
- [5] Wang J, Hu Y, Ye C, et al. miR-1224-5p inhibits the proliferation and invasion of ovarian cancer via targeting SND1 [J]. Hum Cell, 2020, 33(3): 780-789.
- [6] 曹俊红, 姬霞, 杜文霞, 等. 青蒿鳖甲方对二甲苯基诱导雌鼠卵巢癌的影响及作用机制 [J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(9): 1573-1578.
- [7] 李航, 杨蝶, 刘慧芝. 复方丹参滴丸靶向调节 JAK2/STAT3 途径抑制卵巢癌大鼠的机制研究 [J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(9): 2269-2271, 后插 15.
- [8] 吴姗姗, 王柏山, 严峰, 等. 服用扶正抗癌方前后非小细胞肺癌患者 CD8⁺T 细胞表达 NKG2D 与其细胞毒活性的相关性分析 [J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(5): 549-554.
- [9] 袁赤亭, 雷新环, 洪盾. 上皮细胞间质转化和骨肉瘤侵袭转移相关性研究进展 [J]. 医学研究杂志, 2014, 43(10): 14-17.
- [10] 华海侠, 刘瑞吉, 于晓麟, 等. 靶向 HDAC6 信号抑制非小细胞肺癌 A549 细胞上皮-间质转化的机制 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(8): 61-67.
- [11] 崔江河, 韩光宇, 何光梅, 等. 人参皂苷 CK 联合 5-氟尿嘧啶对人胰腺癌 PANC-1 细胞的增殖、凋亡及上皮间质转化的影响 [J]. 中国药房, 2017, 28(31): 4388-4392.
- [12] 王桦影, 余文燕, 王国娟, 等. 二至丸对人结肠癌细胞的侵袭转移作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(17): 28-33.
- [13] 丁志丹, 方泽民, 王旭广, 等. 贝母素乙调控 PI3K/Akt/mTOR 通路减缓上皮-间质转化进程抑制人肺癌 A549 细胞侵袭及迁移的研究 [J]. 中草药, 2019, 50(6): 1382-1387.
- [14] 薛德冬, 李锐. 乙酰紫草素对人结肠癌 HCT116 细胞增殖、凋亡及上皮间充质转化的影响 [J]. 中成药, 2017, 39(2): 401-404.
- [15] Mo C, Liu T, Zhang S, et al. Reduced N-acetylglucosaminyltransferase III expression via Smad3 and Erk signaling in TGF- β 1-induced HCC EMT model [J]. Discov Med, 2017, 23(124): 7-17.
- [16] Liang M, Liu XC, Liu T, et al. GLI-1 facilitates the EMT induced by TGF- β 1 in gastric cancer [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(20): 6809-6815.
- [17] Wang X, Zhang G, Cheng Z, et al. Knockdown of LncRNA-XIST suppresses proliferation and TGF- β 1-induced EMT in NSCLC through the Notch-1 pathway by regulation of miR-137 [J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2018, 22(6): 333-342.
- [18] 瞿晓媛, 邵文琳, 徐益恒, 等. 桂皮醛通过 TGF- β 信号通路调控结肠癌细胞侵袭和转移研究 [J]. 现代消化及介入诊疗, 2020, 25(3): 340-344, 349.
- [19] 张云珍, 方海燕, 余红, 等. 白藜芦醇抑制 TGF- β 1/Smad3 信号通路对人肺上皮细胞 A549 EMT 调控的影响及机制 [J]. 广东医学, 2019, 40(15): 2130-2134.
- [20] 张素仙, 王妍妍, 张琴, 等. 血根碱对紫杉醇耐药卵巢癌 A2780/Taxol 细胞生长及 TGF- β 1/Smad 通路抑制的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2018, 38(6): 717-720.

[收稿日期]2020-06-10