

- testinal immunity mediated by tryptophan metabolism [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2018, 8:13-24.
- [7] LABADIE BW, BAO R, LUKE JJ. Reimagining IDO pathway inhibition in cancer immunotherapy via downstream focus on the tryptophan-kynurenine-aryl hydrocarbon axis [J]. Clin Cancer Res, 2019, 25(5):1462-1471.
- [8] 苏旭. 色氨酸/犬尿氨酸代谢途径在ST段抬高型心肌梗死患者中的预后研究[D]. 锦州: 锦州医科大学, 2019: 1-61.
- [9] 李云鹏, 杨玉丹, 郭胜存, 等. 萝卜硫素对脓毒症小鼠心肌损伤的保护作用及机制研究[J]. 中国药理学通报, 2020, 36(8): 1106-1110.
- [10] 刘俊宏, 王昌权, 夏涛, 等. 荳蔻花提取物对心肌缺血再灌注损伤模型大鼠的保护作用研究[J]. 中国药房, 2019, 30(1): 68-72.
- [11] LUO T, ZENG X, YANG W, et al. Treatment with metformin prevents myocardial ischemia-reperfusion injury via STEAP4 signaling pathway [J]. Anatol J Cardiol, 2019, 21(5):261-271.
- [12] WANG HW, LIU HJ, CAO H, et al. Diosgenin protects rats from myocardial inflammatory injury induced by ischemia-reperfusion [J]. Med Sci Monit, 2018, 12(24):246-253.
- [13] 申震, 朱付平, 刘天举, 等. 桃红四物液对大鼠肢体缺血-再灌注损伤TNF- α 、IL-1 β 、IL-6表达的影响研究[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(4):790-793.
- [14] BONETTO JH, FERNANDES RO, SEOLIN BG, et al. Sulforaphane improves oxidative status without attenuating the inflammatory response or cardiac impairment induced by ischemia-reperfusion in rats [J]. Can J Physiol Pharmacol, 2016, 94(5):508-516.
- [15] 李兵. 丹参多酚酸盐对大鼠心肌缺血再灌注后心肌细胞凋亡的抑制作用及机制研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2019, 17(2):192-195.
- [16] YE B, CHEN X, DAI S, et al. Emodin alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury by inhibiting gasdermin D-mediated pyroptosis in cardiomyocytes [J]. Drug Des Devel Ther, 2019, 25(13):975-990.
- [17] PENG N, JIN L, HE A, et al. Effect of sulphoraphane on newborn mouse cardiomyocytes undergoing ischaemia/reperfusion injury [J]. Pharm Biol, 2019, 57(1):753-759.
- [18] LEBLHUBER F, STEINER K, SCHUETZ B, et al. Probiotic supplementation in patients with alzheimer's dementia - an explorative intervention study [J]. Curr Alzheimer Res, 2018, 15(12): 1106-1113.
- [19] 唐悦恒, 董慧. 犬尿氨酸途径与2型糖尿病的相关性研究进展 [J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(10):1909-1914.
- [20] WANG Y, HU GF, WANG ZH. The status of immunosuppression in patients with stage III B or IV non-small-cell lung cancer correlates with the clinical characteristics and response to chemotherapy [J]. Onco Targets Ther, 2017, 19(10):3557-3566.
- [21] SONG P, RAMPRASATH, WANG H, et al. Abnormal kynurenine pathway of tryptophan catabolism in cardiovascular diseases [J]. Cell Mol Life Sci, 2017, 74(16):2899-2916.
- [22] 杨梦, 胡志希, 李琳, 等. 参麦注射液对高血压心力衰竭模型大鼠尿液代谢组学的影响 [J]. 中医杂志, 2020, 61(4): 334-339.
- [23] BAUMGARTNER R, BERG M, MATIC L, et al. Evidence that a deviation in the kynurenine pathway aggravates atherosclerotic disease in humans [J]. J Intern Med, 2020, 289(1):53-68.

(收稿日期:2020-10-22, 修回日期:2020-11-13)

引用本文:杨晓玲, 赖丽金, 谭桂兰. 千金藤素调控肝癌细胞 HepG2 增殖和凋亡的实验研究[J]. 安徽医药, 2023, 27(1):64-68. DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2023.01.014.

◇ 药学研究 ◇



千金藤素调控肝癌细胞 HepG2 增殖和凋亡的实验研究

杨晓玲, 赖丽金, 谭桂兰

作者单位: 深圳市龙华区人民医院全科医学, 广东 深圳 518000

摘要: **目的** 探讨千金藤素对肝癌细胞 HepG2 增殖、凋亡的影响和机制。**方法** 2020 年 1—6 月, 从上海通派生物科技有限公司购入肝癌细胞 HepG2, 用千金藤素 (20 $\mu\text{mol/L}$) 处理肝癌细胞 HepG2, MTT 方法测定增殖活性, PI 单染法检测细胞周期, Annexin V-FITC/PI 双染法检测细胞凋亡, 蛋白质印迹法 (Western blotting) 检测细胞周期蛋白 D1 (cyclin D1)、p21、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax)、活化胱天蛋白酶 3 (cleaved caspase-3)、核因子 κB p65 (NF- κB p65) 蛋白表达。用 NF- κB 信号激活剂和千金藤素联合处理肝癌细胞, 检测细胞增殖、周期、凋亡变化。**结果** 千金藤素处理后的肝癌细胞增殖活性下降, 细胞 G_0/G_1 期比例 [(65.81 $\pm$ 3.73)% 比 (50.61 $\pm$ 4.17)%] 升高, 细胞凋亡率 [(13.47 $\pm$ 1.58)% 比 (2.18 $\pm$ 0.12)%] 升高, 细胞中 p21、Bax、cleaved-caspase-3 蛋白水平升高, cyclin D1 蛋白水平下降, NF- κB p65 蛋白水平 (0.19 $\pm$ 0.02 比 0.36 $\pm$ 0.05) 降低。NF- κB 信号激活剂处理可以提高千金藤素条件下肝癌细胞增殖活性 (0.46 $\pm$ 0.03 比 0.35 $\pm$ 0.04), 减少 G_0/G_1 期比例, 降低细胞凋亡率, 降低细胞中 p21、Bax、cleaved-caspase-3 蛋白表达水平, 提高细胞中 cyclin D1 和 NF- κB p65 蛋白水平。**结论** 千金藤素抑制肝癌细胞增殖, 阻滞细胞周期, 诱导细胞凋亡, 作用机制与抑制 NF- κB 信号激活有关。

关键词: 肝肿瘤; HepG2 细胞; 癌基因蛋白质 p65 (gag-jun); 千金藤素; NF- κB 信号; 凋亡

Effect of cepharanthine on proliferation and apoptosis of HepG2 cells

YANG Xiaoling, LAI Lijin, TAN Guilan

Author Affiliation: Department of General Practice, Shenzhen Longhua People's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518000, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect and mechanism of cepharanthine on proliferation and apoptosis of hepatocellular carcinoma cell line HepG2. **Methods** From January 2020 to June 2020, HepG2 cells were purchased from Shanghai Tongpai Biotechnology Co., Ltd. HepG2 cells were treated with cepharanthine (20 $\mu\text{mol/L}$). MTT assay was used to determine the proliferation activity. Cell cycle was detected by PI monochrome staining. Annexin V-FITC/PI double staining was used to detect apoptosis. Western blotting was used to detect the expressions of cyclin D1, p21, Bcl-2-associated X protein (Bax), activated caspase 3 (cleaved caspase-3) and nuclear factor- κB p65 (NF- κB p65). Hepatocellular carcinoma cells were treated with NF- κB signal activator and cepharanthine to detect the changes of cell proliferation, cycle and apoptosis. **Results** The proliferative activity of hepatoma cells treated with cepharanthine decreased, the percentage of G0/G1 phase [(65.81 $\pm$ 3.73) % vs. (50.61 $\pm$ 4.17) %] increased, the apoptotic rate [(13.47 $\pm$ 1.58) % vs. (2.18 $\pm$ 0.12) %] increased, the levels of p21, Bax and cleaved-caspase-3 protein in cells increased, Cyclin D1 protein level decreased, and the level of NF- κB p65 protein (0.19 $\pm$ 0.02 vs. 0.36 $\pm$ 0.05) decreased. NF- κB signal activator treatment could improve the proliferation (0.46 $\pm$ 0.03 vs. 0.35 $\pm$ 0.04) of hepatocellular carcinoma cells under the condition of cepharanthine, reduced the proportion of cells in G0/G1 phase, decreased the apoptotic rate, decreased the expression levels of p21, Bax and cleaved-caspase-3 protein in cells, and increased the levels of cyclin D1 and NF- κB p65 in cells. **Conclusion** Cepharanthine inhibits the proliferation of hepatocellular carcinoma cells, blocks cell cycle and induces apoptosis, the mechanism of which is related to down-regulation of activation of NF- κB signaling.

Key words: Liver neoplasms; Hep G2 cells; Oncogene protein p65(gag-jun); Cepharanthine; NF- κB signal; Apoptosis

肝癌是一种严重威胁人类生命健康和影响人类生活质量的恶性肿瘤,其发生是一个多因素、多步骤的复杂过程,目前肝癌的发生机制还未完全阐明^[1]。手术切除、放射治疗和化疗等是常见的肝癌治疗手段,这些治疗方法取得了显著成果,但仍然不能满足需求^[2]。千金藤素是从传统中药千金藤中提取出来的活性成分,具有抗炎、提高免疫力等功效^[3]。很多研究显示,千金藤素还具有抗肿瘤作用,对于肿瘤细胞的增殖具有抑制作用,并且可以在体外诱导细胞凋亡发生^[4]。子宫内膜癌细胞经过千金藤素处理以后,细胞凋亡增多,细胞增殖能力下降^[5]。在研究千金藤素对结肠癌生长影响的研究中发现,千金藤素可以有效下调肿瘤中核因子 κB (nuclear factor κB , NF- κB)信号通路的激活程度^[6]。NF- κB 是在肿瘤组织中异常激活的信号通路,抑制其激活可以阻碍肿瘤进展^[7]。目前对于千金藤素对肝癌细胞增殖凋亡的影响和机制还不清楚。本研究于2020年1—6月,以肝癌细胞 HepG2 作为实验对象,探讨千金藤素处理后肝癌细胞增殖和凋亡变化,以期千金藤素治疗肝癌提供参考资料。

1 材料与方法

1.1 材料 Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)抗体、p21 抗体购自美国 Proteintech Group 公司;千金藤素(BP0334)购自上海纪宁生物科研有限公司;活化胱天蛋白酶 3 (cleaved-caspase-3) 抗体购自美国 Abcam;细胞周期蛋白 D1(cyclin D1)抗体、核因子 κB

p65(NF- κB p65)抗体购自美国 Santa Cruz Biotechnology;NF- κB 信号激活剂肿瘤坏死因子- α (TNF- α)购自美国 Sigma;肝癌细胞 HepG2 购自通派(上海)生物科技有限公司。

1.2 MTT 方法检测细胞增殖活性 取对数期的肝癌细胞,将细胞种植于 96 孔板,接种的细胞悬浮液浓度为 3×10^3 个细胞/100 μL ,将细胞放在培养箱中过夜培养,然后把上清吸弃,将细胞分成对照组和 CEP 组(5、10、20、40、80 $\mu\text{mol/L}$ 共 5 个浓度梯度),对照组细胞用不添加千金藤素的培养液培养,CEP 组细胞中添加 5、10、20、40、80 $\mu\text{mol/L}$ 千金藤素培养液。在培养箱中培养 2 d 以后,分别在每个孔内添加 MTT 各 15 μL (浓度为 5 g/L),放在 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱内继续培养 4 h,用移液枪小心吸尽孔内的上清,继续添加 150 μL 的 DMSO 溶液,震荡孵育结合 10 min,在酶标仪上分别测定每个孔的 A 值,检测波长设置为 490 nm。

1.3 PI 单染检测细胞周期 将对照组和 CEP 组细胞按照常规方法培养 2 d 以后,以 0.25% 的胰蛋白酶消化,收集细胞,添加冰预冷的乙醇(浓度为 75%)溶液固定后,添加 PI 染液孵育结合 20 min。放在流式细胞仪中测定细胞周期变化。

1.4 Annexin V-FITC/PI 双染检测细胞凋亡 将对照组和 CEP 组细胞按照常规方法培养 2 d 以后,以 0.25% 的胰蛋白酶消化,收集细胞,用 PBS 溶液将细胞洗涤 2 次,然后添加 PI 以及 Annexin V-FITC 染色液混合,加入 300 μL 的结合缓冲液,在使用流式

细胞仪检测之前添加 200 μ L 的结合缓冲液混合。

1.5 蛋白质印迹法检测细胞中 cyclin D1、p21、Bax、cleaved-caspase-3、NF- κ B p65 蛋白表达 将对照组和 CEP 组细胞按照常规方法培养 2 d 以后,以 0.25% 的胰蛋白酶消化,收集细胞,在细胞沉淀中加入蛋白裂解试剂,置于冰水混合物上孵育 20 min,转移到 4 $^{\circ}$ C 离心机中,以 12 000 g 高速离心 10 min。移液枪把离心后的上清溶液转移到离心管中,使用二辛可宁酸 (BCA) 法检测蛋白浓度。在蛋白上清中添加 5 $\times$ 上样缓冲液 (loading buffer) 均匀混合以后,放在沸水浴中孵育 5 min,变性后的蛋白在 -20 $^{\circ}$ C 保存。十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 凝胶配制用 10% 分离胶以及 5% 浓缩胶。按照每个孔中 50 μ g 蛋白上样,首先以 90 V 的电压在浓缩胶中电泳,等到溴酚蓝染料快要进入到浓缩胶以后,把电压调整到 120 V 继续电泳,溴酚蓝进入到底部以后停止电泳。取出凝胶,把 NC 膜裁剪成合适大小,在 80 V 电压条件下电转膜,转膜在冰上进行,转膜进行 60 min。把 NC 膜放在封闭液 (5% 牛血清白蛋白溶液) 中孵育 2 h,然后将 NC 膜放在含有一抗的平皿内,在 4 $^{\circ}$ C 过夜。NC 膜置于含有二抗孵育液的平皿内,在 37 $^{\circ}$ C 孵育 2 h。ECL 方法发光。内参设置为 GAPDH,分析目的蛋白表达水平。cyclin D1、p21、Bax、cleaved-caspase-3、NF- κ B p65 一抗稀释倍数为 1:600、1:600、1:600、1:400、1:600,二抗稀释倍数为 1:4 000。

1.6 NF- κ B 信号激活剂对千金藤素调控肝癌细胞增殖、周期和凋亡影响 肝癌细胞用 20 μ g/L NF- κ B 信号激活剂 TNF- α 和 20 μ mol/L 的千金藤素共同处理记为 CEP+TNF- α 组,按照 MTT、PI 单染和 Annexin V-FITC/PI 双染法检测细胞增殖活性、周期和凋亡变化,蛋白质印迹法检测细胞中 cyclin D1、p21、Bax、cleaved-caspase-3、NF- κ B p65 蛋白水平,步骤同上。

1.7 统计学方法 用 SPSS 21.0 软件分析本研究数据,按照 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组数据间比较用 t 检验和 Dunnett- t 检验,多组差异比较用单因素方差, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 千金藤素对肝癌细胞增殖活性影响 10、20、40、

80 μ mol/L 的千金藤素处理后的肝癌细胞增殖活性降低 (表 1)。20 μ mol/L 的千金藤素对肝癌细胞增殖抑制率约为 50%,选用 20 μ mol/L 的千金藤素做后续研究。

表 1 千金藤素 (CEP) 处理后肝癌细胞吸光度 (A 值) 变化/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	A 值
对照组	3	0.68 $\pm$ 0.05
CEP 5 μ mol/L 组	3	0.63 $\pm$ 0.06
CEP 10 μ mol/L 组	3	0.50 $\pm$ 0.03 ^①
CEP 20 μ mol/L 组	3	0.36 $\pm$ 0.03 ^①
CEP 40 μ mol/L 组	3	0.28 $\pm$ 0.02 ^①
CEP 80 μ mol/L 组	3	0.21 $\pm$ 0.01 ^①
F 值		77.20
P 值		<0.001

注:①与 0 μ mol/L 比,均 $P < 0.05$ 。

2.2 千金藤素对肝癌细胞周期和凋亡影响 千金藤素处理后的肝癌细胞 G_0/G_1 期细胞比例升高,细胞凋亡率升高,细胞中周期促进因子 cyclin D1 蛋白水平下降,周期抑制因子 p21 蛋白水平升高,凋亡促进蛋白 Bax、cleaved-caspase-3 水平升高 (表 2)。千金藤素阻滞肝癌细胞周期并诱导细胞凋亡。

2.3 千金藤素对肝癌细胞中 NF- κ B 信号的影响 千金藤素处理后的肝癌细胞中 NF- κ B 关键蛋白 NF- κ Bp65 水平 [(0.19 $\pm$ 0.02) 比 (0.36 $\pm$ 0.05), $t = 5.41$, $P < 0.05$] 下降 (图 1)。千金藤素抑制肝癌细胞中 NF- κ B 信号激活。

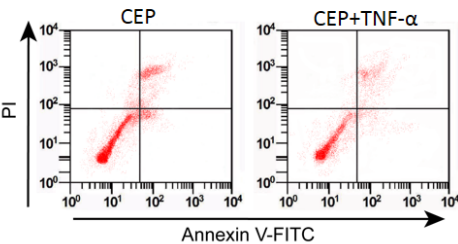
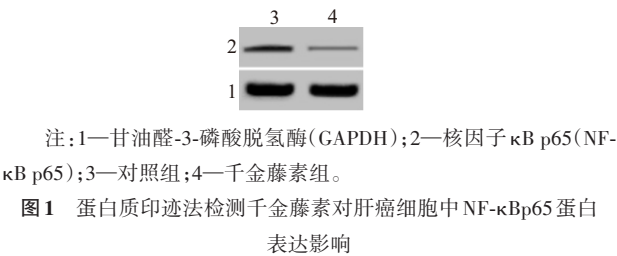
2.4 NF- κ B 信号激活剂对千金藤素影响肝癌细胞增殖活性、周期和凋亡的作用 与单纯经过千金藤素处理的细胞比较,NF- κ B 信号激活剂 TNF- α 和千金藤素共同处理后的肝癌细胞增殖活性升高, G_0/G_1 期比例降低,凋亡率降低 (图 2, 表 3)。NF- κ B 信号激活剂逆转千金藤素对肝癌细胞增殖抑制、周期阻滞和凋亡促进作用。

2.5 NF- κ B 信号激活剂对千金藤素影响肝癌细胞中 cyclin D1、p21、Bax、cleaved-caspase-3、NF- κ Bp65 蛋白表达作用 与单纯经过千金藤素处理的细胞比较,NF- κ B 信号激活剂 TNF- α 和千金藤素共同处理后的肝癌细胞中 cyclin D1 蛋白水平升高,p21、Bax、cleaved-caspase-3 蛋白水平降低,NF-

表 2 千金藤素处理后肝癌细胞周期分布比例、凋亡率和 cyclin D1、p21、Bax、cleaved-caspase-3 水平/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	细胞周期比例/%			凋亡率/%	cyclin D1	p21	Bax	cleaved caspase-3
		G_0/G_1	S	G_2/M					
对照组	3	50.61 $\pm$ 4.17	18.35 $\pm$ 1.16	31.04 $\pm$ 2.81	2.18 $\pm$ 0.12	0.68 $\pm$ 0.07	0.20 $\pm$ 0.03	0.32 $\pm$ 0.03	0.15 $\pm$ 0.02
CEP 组	3	65.81 $\pm$ 3.73	10.54 $\pm$ 1.09	23.65 $\pm$ 1.50	13.47 $\pm$ 1.58	0.39 $\pm$ 0.04	0.41 $\pm$ 0.05	0.66 $\pm$ 0.06	0.31 $\pm$ 0.04
t 值		4.71	8.50	4.02	12.34	6.20	6.18	8.71	6.10
P 值		0.009	0.001	0.016	<0.001	0.003	0.003	0.001	0.004

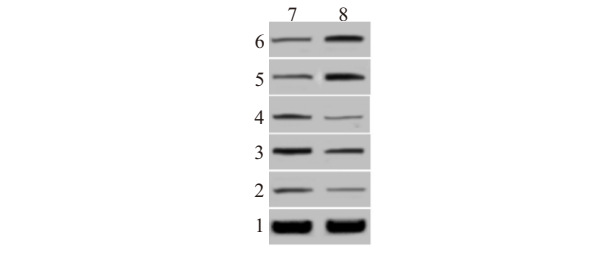
注:CEP 为千金藤素,cyclin D1 为细胞周期蛋白 D1,Bax 为 Bcl-2 相关 X 蛋白,cleaved caspase-3 为活化胱天蛋白酶 3。



κBp65蛋白水平升高(图3,表4)。NF-κB信号激活剂逆转千金藤素对肝癌细胞中 cyclin D1、p21、Bax、cleaved-caspase-3、NF-κBp65蛋白表达影响。

3 讨论

本研究表明,千金藤素处理后的肝癌细胞增殖能力下降,千金藤素具有抑制肝癌细胞生长的作用。千金藤素是一种双亲性、带有正电荷的生物碱,能够增加质膜的稳定性,提高机体免疫力、抑制炎症发生^[8]。千金藤素还具有抗肿瘤生长的作用,单独使用千金藤素能够抑制肿瘤细胞的生长并提高机体免疫力^[9]。研究显示,千金藤素可以在体外抑制口腔鳞癌、结肠癌等肿瘤细胞增殖^[10-11]。本研究结果与上述研究报道相符合,均提示千金藤素具有体外抗肿瘤细胞生长的作用。



研究表明,千金藤素抑制肿瘤细胞生长与影响细胞周期进程有关^[12]。细胞周期进展是细胞增殖的关键,细胞从上一次有丝分裂结束到下一次有丝分裂结束称为一个细胞周期,在这一过程中,细胞周期调控因子扮演重要角色^[13]。cyclin D1是细胞周期的正调控因子,其可以促进细胞从G₀/G₁期向S期转变^[14]。p21是细胞周期的负调控因子,其表达水平升高后可以抑制肿瘤细胞有序进展^[15]。细胞凋亡减少是肿瘤发生的重要特征,细胞凋亡与细胞内凋亡相关蛋白的表达有关,其中 Bcl-2 和 caspase 蛋白家族是目前研究最多的与细胞凋亡有关的调节因子^[16]。Bax 是 Bcl-2 蛋白家族成员,其在细胞凋亡过程中发挥促进作用^[17]。caspase-3 是 caspase 凋亡级联反应的下游执行因子,其活化后形成 cleaved-caspase-3 被认为是细胞凋亡发生的标志^[18]。本研究显示,千金藤素处理后的肝癌细胞 G₀/G₁期比例升高,细胞中 cyclin D1 蛋白水平降低,p21 蛋白水平升高,细胞凋亡率升高,细胞中 Bax 和 cleaved-caspase-3 蛋白表达增多,提示千金藤素可以抑制肝癌细胞

表3 NF-κB信号激活剂和千金藤素(CEP)处理后肝癌细胞A值、细胞周期分布比例和凋亡率/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	A值	细胞周期比例/%			凋亡率/%
			G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M	
CEP	3	0.35±0.04	66.38±5.80	11.94±1.21	21.68±2.37	14.17±1.28
CEP+TNF-α	3	0.46±0.03	53.27±4.12	22.65±1.27	22.08±2.15	8.12±0.96
t值		3.76	3.19	10.58	0.22	6.55
P值		0.020	0.033	0.001	0.837	0.003

注:CEP为千金藤素,TNF-α为肿瘤坏死因子-α。

表4 NF-κB信号激活剂和千金藤素处理后肝癌细胞中 cyclin D1、p21、Bax、cleaved-caspase-3、NF-κBp65蛋白水平/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	cyclin D1	p21	Bax	cleaved-caspase-3	NF-κBp65
CEP	3	0.36±0.03	0.43±0.05	0.59±0.07	0.34±0.03	0.35±0.05
CEP+TNF-α	3	0.54±0.06	0.20±0.02	0.39±0.04	0.18±0.02	0.52±0.04
t值		4.72	7.31	4.28	7.50	4.56
P值		0.009	0.002	0.013	0.002	0.010

注:CEP为千金藤素,TNF-α为肿瘤坏死因子-α,cyclin D1为细胞周期蛋白D1,Bax为Bcl-2相关X蛋白,cleaved caspase-3为活化胱天蛋白酶3,NF-κB p65为核因子κB p65。

周期进展并诱导细胞凋亡发生。

NF- κ B是在B细胞中发现的一种核因子,其常常以二聚体的形式在细胞内存在,NF- κ B在多种类型的细胞中均有表达,并且参与细胞多种病理和生理过程^[19]。NF- κ Bp65是NF- κ B信号转导的必需因子,也是NF- κ B信号激活程度的标志^[20]。NF- κ B与人类肿瘤进展有关,其在肿瘤发生中过度激活,通过靶向抑制NF- κ B的激活可以降低肿瘤的恶性程度^[21]。本研究显示,千金藤素处理以后的肝癌细胞中NF- κ B信号激活程度降低,提示千金藤素可能通过抑制NF- κ B信号通路调控肝癌细胞增殖和凋亡。之前的研究报道表明,千金藤素在抵抗结直肠癌等肿瘤细胞恶性生长的同时可以下调细胞内NF- κ B信号通路的激活水平,千金藤素作用机制与NF- κ B信号有关^[6]。本研究表明,NF- κ B信号激活剂可以逆转千金藤素对肝癌细胞增殖抑制和凋亡促进作用,提示千金藤素通过抑制NF- κ B调控肝癌细胞增殖和凋亡。

以上表明,千金藤素具有体外抑制肝癌细胞增殖、阻滞细胞周期和诱导细胞凋亡的作用,其作用机制与抑制NF- κ B信号有关。本研究结果为研究千金藤素抗肿瘤作用机制提供了参考,为千金藤素治疗肝癌的临床应用提供了理论资料。在以后的实验中会对千金藤素的具体作用机制进行探讨和验证。

参考文献

- [1] CAI MJ, SUN X, WANG WC, et al. Disruption of peroxisome function leads to metabolic stress, mTOR inhibition, and lethality in liver cancer cells[J]. *Cancer Lett*, 2018, 421:82-93.
- [2] WANG GN, FANG XS, HAN M, et al. MicroRNA-493-5p promotes apoptosis and suppresses proliferation and invasion in liver cancer cells by targeting VAMP2[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(3):1740-1748.
- [3] GOTO K, TANAKA R. Cepharanthine protection of Na⁺, K⁺-activated adenosinetriphosphatase of plasma membranes from rat cerebral synaptosomes against inhibition by ascorbate[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2018, 33(23):3912-3914.
- [4] GAO S, LI X, DING X, et al. Cepharanthine induces autophagy, apoptosis and cell cycle arrest in breast cancer cells[J]. *Cellular Physiology & Biochemistry*, 2017, 41(4):1633-1648.
- [5] 李美霞, 张菡菡. 千金藤素通过调节 eIF4E 相关 miR-215 促进 RL-952 细胞凋亡[J]. *中国病理生理杂志*, 2018, 34(9):1586-1592.
- [6] 高建莉, 何通川, 吕圭源. 千金藤素对人结肠癌细胞 HCT116 裸鼠异体移植肿瘤模型肿瘤增殖的影响及机制初探[J]. *浙江中医药大学学报*, 2013, 39(9):1055-1059, 1072.
- [7] MA DQ, ZHANG YH, DING DP, et al. Effect of Bmi-1-mediated NF- κ B signaling pathway on the stem-like properties of CD133+ human liver cancer cells[J]. *Cancer Biomarkers*, 2018, 22(3):575-585.
- [8] ZHOU CH, MENG JH, YANG YT, et al. Cepharanthine prevents estrogen deficiency-induced bone loss by inhibiting bone resorption[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 27(9):210-232.
- [9] 郝瑞敏, 谢书阳, 韩婉虹, 等. 千金藤素通过调节 miR-150 和 miR-182 促进 A549 细胞凋亡[J]. *中国病理生理杂志*, 2017, 33(11):1987-1992.
- [10] ZHOU P, RONG Z, YING W, et al. Cepharanthine hydrochloride reverses the mdrl (P-glycoprotein)-mediated esophageal squamous cell carcinoma cell cisplatin resistance through JNK and p53 signals[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(67):111144-111160. DOI:10.18632/oncotarget.22676.
- [11] RATTANAWONG A, PAYON V, LIMPANASITTIKUL W, et al. Cepharanthine exhibits a potent anticancer activity in p53-mutated colorectal cancer cells through upregulation of p21Waf1/Cip1[J]. *Oncology Reports*, 2017, 39(1):227-238.
- [12] LYU J, YANG EJ, HEAD SA, et al. Pharmacological blockade of cholesterol trafficking by cepharanthine in endothelial cells suppresses angiogenesis and tumor growth[J]. *Cancer Letters*, 2017, 409(28):91-103.
- [13] SHI X, RAN L, LIU Y, et al. Knockdown of hnRNP A2/B1 inhibits cell proliferation, invasion and cell cycle triggering apoptosis in cervical cancer via PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Oncology Reports*, 2018, 39(3):939-950.
- [14] HERMOSILLA V, SALGADO G, RIFFO E, et al. SALL2 represses cyclins D1 and E1 expression and restrains G1/S cell cycle transition and cancer-related phenotypes[J]. *Molecular Oncology*, 2018, 12(7):1026-1046.
- [15] LIU Z, LIU H, YUAN X, et al. Downregulation of Pim-2 induces cell cycle arrest in the G0/G1 phase via the p53-non-dependent p21 signaling pathway[J]. *Oncology Letters*, 2018, 15(4):4079-4086.
- [16] XIAO S, CHEN F, GAO C. Antitumor activity of 4-O-Methylhonokiol in human oral cancer cells is mediated via ROS generation, disruption of mitochondrial potential, cell cycle arrest and modulation of Bcl-2/Bax proteins[J]. *Journal of Buon*, 2017, 22(6):1577-1581.
- [17] YE J, YE J, LI J, et al. Medicinal supplement genipin induces p53 and Bax-dependent apoptosis in colon cancer cells[J]. *Oncology Letters*, 2018, 16(3):2957-2964.
- [18] HWANG N L, KANG Y J, SUNG B, et al. MHY451 induces cell cycle arrest and apoptosis by ROS generation in HCT116 human colorectal cancer cells[J]. *Oncology Reports*, 2017, 38(3):1783-1789.
- [19] LONG L, PANG XX, LEI F, et al. SLC_{52A3} expression is activated by NF- κ B p65/Rel-B and serves as a prognostic biomarker in esophageal cancer[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75(14):2643-2661.
- [20] TANIGUCHI K, KARIN M. NF- κ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age[J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(5):309-324.
- [21] REN L, LI ZP, DAI CM, et al. Chrysophanol inhibits proliferation and induces apoptosis through NF- κ B/cyclin D1 and NF- κ B/Bcl-2 signaling cascade in breast cancer cell lines[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2018, 17(3):4376-4382.

(收稿日期:2020-09-27,修回日期:2020-10-26)