

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.12.004

人参皂苷 Rh1 对人结肠癌细胞侵袭和转移的影响^{*}魏 然,肖玉红,徐维,曾 飞[△]

(南昌大学第二附属医院普外科,南昌 330006)

[摘要] **目的** 研究人参皂苷 Rh1 对于人结直肠癌细胞 SW480 侵袭和迁移的影响及其机制。**方法** 对结肠癌 SW480 细胞株进行不同干预并分为对照组、50 ng/mL PMA 处理组、30 μ mol/L 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组、100 μ mol/L 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组、300 μ mol/L 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组。利用细胞划痕实验检测 SW480 细胞在不同浓度人参皂苷 Rh1 影响下体外迁移能力差异;用 Transwell 细胞侵袭法检测不同浓度 Rh1 对 SW480 细胞体外侵袭能力的影响;用酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒检测 5 组处理后 SW480 细胞上清液中基质金属蛋白酶-9(MMP-9)蛋白水平;Western blot 检测各组中 MMP-9 蛋白表达量的差异。**结果** 30 μ mol/L 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组、100 μ mol/L 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组、300 μ mol/L 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组的 SW480 细胞的迁移距离比分别为 50 ng/mL PMA 处理组的(0.76 $\pm$ 0.03)、(0.60 $\pm$ 0.04)、(0.29 $\pm$ 0.08)倍($P<0.05$),MMP-9 蛋白表达分别为 50 ng/mL PMA 处理组的(0.80 $\pm$ 0.04)、(0.47 $\pm$ 0.03)、(0.06 $\pm$ 0.00)倍($P<0.05$)。对照组、50 ng/mL PMA 处理组、30 μ mol/L 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组、100 μ mol/L 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组、300 μ mol/L 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组细胞穿过基质胶的数量分别为 261.6 $\pm$ 29.7、729.7 $\pm$ 36.5、581.7 $\pm$ 49.9、359.0 $\pm$ 34.4、265.0 $\pm$ 34.1,细胞培养液中 MMP-9 蛋白水平分别为(86.67 $\pm$ 8.81)、(293.33 $\pm$ 31.02)、(196.00 $\pm$ 41.51)、(166.33 $\pm$ 30.14)、(110.33 $\pm$ 26.50) pg/mL。对照组与 300 μ mol/L 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组比较差异无统计意义($P>0.05$),其余组两两比较差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 人参皂苷 Rh1 可通过抑制 MMP-9 的表达抑制 PMA 诱导的 SW480 细胞迁移和侵袭。

[关键词] 结肠肿瘤;人参皂苷 Rh1;侵袭;转移**[中图法分类号]** R735.35**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2019)12-1996-05Effect of ginsenoside Rh1 on invasion and migration of human colon cancer cells^{*}WEI Ran, XIAO Yuhong, XU Wei, ZENG Fei[△]

(Department of General Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330006, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of ginsenoside Rh1 on migration and invasion of human colon cancer cells SW480 and its mechanism. **Methods** The colon cancer cells SW480 were conducted different interventions and divided into the control group, the 50 ng/mL PMA treatment group, the 30 μ mol/L ginsenoside Rh1+50 ng/mL PMA treatment group, the 100 μ mol/L ginsenoside Rh1+50 ng/mL PMA treatment group and the 300 μ mol/L ginsenoside Rh1+50 ng/mL PMA treatment group. The influence of ginsenoside Rh1 at different concentrations on the migration ability of SW480 cells in vitro was detected by cell scratch assay. The influence of ginsenoside Rh1 at different concentrations on the invasion ability of SW480 cells in vitro was detected by Transwell cell invasion assay. The expression of MMP-9 protein in SW480 cells supernatant after treatment in 5 groups was detected by ELISA kit. The difference in MMP-9 protein expression after treatment in various groups was detected by Western blot. **Results** The migration distance ratio in the 30 μ mol/L ginsenoside Rh1+50 ng/mL PMA treatment group, the 100 μ mol/L ginsenoside Rh1+50 ng/mL PMA treatment group and the 300 μ mol/L ginsenoside Rh1+50 ng/mL PMA treatment group was (0.76 $\pm$ 0.03), (0.60 $\pm$ 0.04) and (0.29 $\pm$ 0.08) times of the 50 ng/mL PMA treatment group, respectively. The protein expression of MMP-9 was (0.80 $\pm$ 0.04), (0.47 $\pm$ 0.03) and (0.06 $\pm$ 0.00) times of the 50 ng/mL PMA

^{*} 基金项目:江西省科技厅自然科学基金项目(20151BAB205086)。 作者简介:魏然(1996—),在读本科,主要从事结直肠肿瘤方面的研究。[△] 通信作者, E-mail: zengfei1970@126.com。

treatment group, respectively. The number of cells passing through the matrix was (261.6 ± 29.7) , (729.7 ± 36.5) , (581.7 ± 49.9) , (359.0 ± 34.4) and (265.0 ± 34.1) in the blank group, the 50 ng/mL PMA treatment group, the 30 $\mu\text{mol/L}$ ginsenoside Rh1+50 ng/mL PMA treatment group, the 100 $\mu\text{mol/L}$ ginsenoside Rh1+50 ng/mL PMA treatment group and the 300 $\mu\text{mol/L}$ ginsenoside Rh1+50 ng/mL PMA treatment group, respectively. The MMP-9 protein level in the cell culture medium was (86.67 ± 8.81) , (293.33 ± 31.02) , (196.00 ± 41.51) , (166.33 ± 30.14) and (110.33 ± 26.50) pg/mL, respectively. There was no statistical difference between the control group and the 300 $\mu\text{mol/L}$ ginsenoside Rh1+50 ng/mL PMA treatment group ($P>0.05$), and there were statistical differences between the other groups ($P<0.05$). **Conclusion** Ginsenoside Rh1 inhibits the migration and invasion of SW480 cells induced by PMA through inhibiting MMP-9 expression.

[Key words] colonic neoplasms; ginsenosides Rh1; invasion; migration

结直肠癌是一种常见的人类恶性肿瘤,据统计每年有 100 万患者受到结直肠癌的影响。在我国,结直肠癌在癌症相关死因中已跃居第 3 位,成为男性第三大常见肿瘤和女性第二大常见肿瘤^[1]。结直肠癌早期不易诊断,往往直至手术时才发现多数肿瘤已经穿过浆膜,且多有淋巴结转移,这为结直肠癌的治疗增加了难度^[2]。影响结直肠癌的侵袭和迁移的原因及影响因素较多^[3]。有研究表明,细胞外基质(ECM)的被动酶解是结直肠癌侵袭、迁移过程中的重要环节。其中,基质金属蛋白酶类(MMPs)是参与破坏细胞外基质的一种重要的蛋白水解酶,尤其是 MMP-9,其表达产物在癌细胞侵袭、迁移过程中能使基底膜的主要成分 IV 型胶原酶解,还可以酶解细胞间基质成分^[4-7]。MARSHALL 等^[8]经研究发现, MMP-9 的选择性抑制剂可减慢原位移植结直肠癌模型小鼠肿瘤细胞的生长速度,降低肿瘤转移率。目前有研究提示,人参皂苷 Rh1 对人肝癌、恶性胶质瘤的发生、发展产生影响,并可以抑制肿瘤的侵袭和迁移^[9-10]。而人参皂苷 Rh1 是通过抑制丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路相关蛋白的磷酸化和转录,从而激活活化蛋白-1(AP-1),进而抑制了 MMP-9 及其他 MMP 蛋白的表达。同时有研究证明,人参皂苷 Rh1 抑制 MAPK 信号通路的方式不完全相同,这种差异可能来自肿瘤细胞本身的影响,但是都可以在转录水平抑制 AP-1^[10-11]。本研究的目的是探究人参皂苷 Rh1 对人结肠癌细胞 SW480 侵袭和迁移的影响,初步探索其分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料 从中国科学院上海生科院细胞资源中心购得人结肠癌细胞株 SW480。人参皂苷 Rh1 浓度为 98.76%, 购自海永恒生物科技有限公司; 佛波酯(PMA)购自 Gibcol 公司; ELISA 检测试剂盒购自 Sigma 公司; 双抗购自 Cellsignal 公司; Transwell BD 胶购自 Osmonic 公司; Western blot 及提取蛋白质的相关试剂材料购自上海锐赛生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 实验分组 将细胞分为对照组, 50 ng/mL

PMA 处理组, 30 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组, 100 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组, 300 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组。

1.2.2 细胞划痕实验 SW480 细胞在普通培养瓶中培养换液, 当细胞浓度达到 80% 时, 用胰蛋白酶消化并计数。调整细胞浓度为 $5 \times 10^5/\text{mL}$, 按照细胞 $1 \times 10^6/\text{孔}$ 的密度接种于 6 孔板中, 6 孔板底部用黑色标记笔做好标记线, 每孔 3 条平行线, 间距 0.5 cm 左右。按在 37 $^{\circ}\text{C}$ 及 5% CO_2 条件下孵育, 24 h 后细胞面积至少达到 90%。第 2 天, 用高压灭菌 100 μL 黄枪头垂直且快速地进行细胞划痕, 与标记线垂直划出 3 条线, 建立损伤模型。后用无菌磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤细胞 2 次, 除去划下的细胞。板上 6 个孔分为 6 组, 每孔分别加入含或不含 PMA 和人参皂苷 Rh1(0、30、100、300 $\mu\text{mol/L}$) 无血清培养基(人参皂苷 Rh1 预先处理细胞 1 h, PMA 后处理), 继续孵育。此后通过光学显微镜每 24 小时记录细胞划痕进程。无菌 PBS 洗涤 2 次, 光学显微镜低倍($\times 10$)观察并拍照, 每孔选取 4 个划痕区视野拍摄划痕宽度, 应用 Image-Pro plus 6.0 软件进行处理, 划痕宽度=测量空隙的面积/长度。

1.2.3 细胞侵袭实验(Transwell 小室法) 使用 Boyden 室(Millicell Millipore, 美国)评估细胞侵袭和迁移。实验前无血清 DMEM 培养基(不含双抗)、Transwell 小室、24 孔板、枪头等实验用品放入 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜进行预冷, 将小量分装好的 Matrigel 胶从 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱移入 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱进行解冻。(1)包被基底膜: 冰浴操作, 将丙酸倍氯米松(BD)胶用基础培养基 1:8 稀释。均匀铺开且不能产生气泡。每孔 50 μL Matrigel 注入 Transwell 小室中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 Transwell 孔板 4~5 h。(2)水化基底膜: 用 1 $\times$ PBS 轻轻润洗 1~2 次, 去掉未凝的胶。贴壁 SW480 细胞与各组 DMEM 完全培养基作用 48 h 后(人参皂苷 Rh1 预先处理细胞 1 h, PMA 后处理), 制备 SW480 细胞悬液, 即胰酶消化将细胞分散成单个制备细胞悬液, 离心 1 000 r/min 5 min, 用无血清 DMEM 培养液重悬 1 次细胞, 除去培养基中的血清, 调整细胞密度至 $5 \times$

$10^5/\text{mL}$ 。往已包被好 BD 凝胶的上室加入 $200\ \mu\text{L}$ 无血清培养基细胞重悬液,下层的培养液中加入 $500\ \mu\text{L}$ 含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基(含 $500\ \mu\text{L}$ 肿瘤细胞趋化因子)。将接种完毕的 24 孔板移入 $37\ ^\circ\text{C}$, 5% CO_2 细胞培养箱培养 48 h。孵育结束后用棉签擦去上室未穿过的细胞。将小室下端提起,浸润于 95% 乙醇中固定 10 min。0.1% 结晶紫染液染色 10 min,清洗掉多余染液,室温晾干后拍照记录。计数每孔中 6 个不同视野,计数穿膜细胞数,取平均数以评估细胞的侵袭能力。每组设 3 个重复孔。

1.2.4 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 MMP-9 蛋白水平 取生长良好的对数期 SW480 细胞,常规胰酶消化后进行细胞计数,调整细胞浓度为 $1\times 10^5/\text{mL}$,每孔 $150\ \mu\text{L}$ 接种于 96 孔板,每组设 3 个复孔,孵箱孵育 24 h。移液管吸净培养基,加入各组无血清 DMEM 培养基,24 h 后终止培养,用 $0.22\ \mu\text{mol/L}$ 孔径的滤过膜过滤培养基上清液,以除去悬浮的死细胞及部分代谢物,离心使上清液浓缩 25 倍,根据 MMP-9 ELISA 试剂盒说明书检测其中 MMP-9 的蛋白水平,最小检出量为 $7.3\ \text{pg/mL}$ 。

1.2.5 Western blot 检测 MMP-9 蛋白表达灰度值 细胞处理同 ELISA,待 SW480 生长至 90%,消化离心后,再清洗 1 次后离心,提取沉积物。用中等细胞裂解液和 PMSF 100 : 1,冰上裂解提取细胞的总蛋白,使用 BCA 蛋白质分析盒确定蛋白水平。蛋白以 10% 的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)

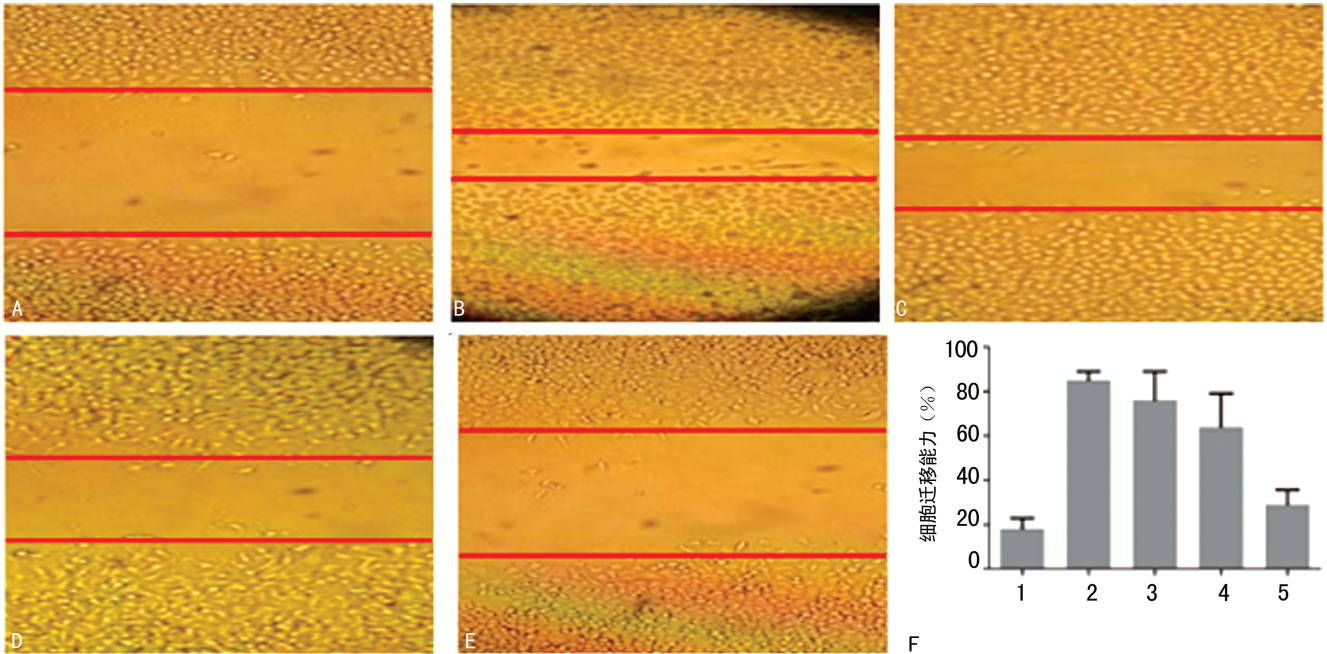
电泳,再将蛋白转到硝酸纤维素(PVDF)膜上。常规 5% 脱脂牛奶封闭, TBST 3 次 5 min 洗膜后,加一抗 $4\ ^\circ\text{C}$ 孵育过夜。后继续 TBST 洗膜,加入对应抗兔二抗室温孵育 1 h。二抗孵育结束后,用 ECL 法显色,X 射线曝光条带,洗膜。用 ImageJ 检测蛋白表达灰度值。

1.3 统计学处理 应用 SPSS20.0 及 Prism 5 统计学软件对实验结果进行统计分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多个样本均数之间的比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

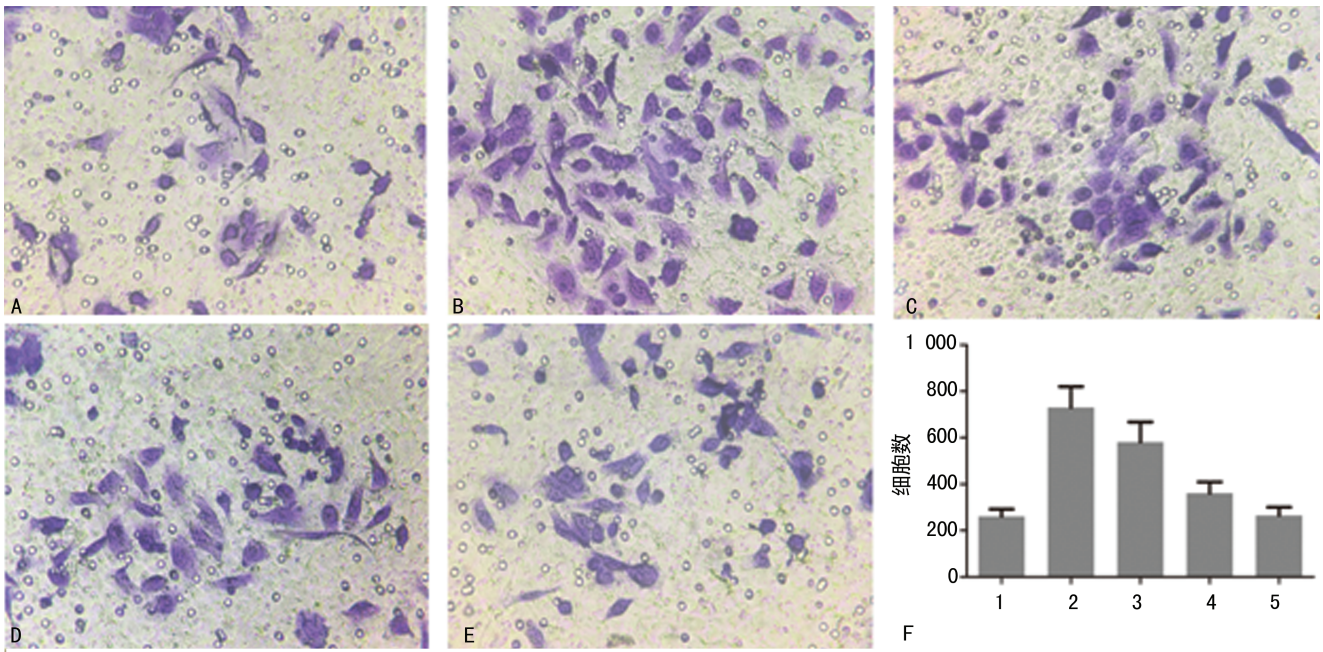
2.1 划痕愈合实验 $30\ \mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组、 $100\ \mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组、 $300\ \mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组的 SW480 细胞的迁移距离比分别为 50 ng/mL PMA 处理组的 (0.76 ± 0.03)、(0.60 ± 0.04)、(0.29 ± 0.08)倍($P<0.05$),见图 1。

2.2 细胞侵袭实验 对照组、50 ng/mL PMA 处理组、 $30\ \mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组、 $100\ \mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组、 $300\ \mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组细胞穿过基质胶的数量分别为 261.6 ± 29.7 、 729.7 ± 36.5 、 581.7 ± 49.9 、 359.0 ± 34.4 、 265.0 ± 34.1 。对照组与 $300\ \mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组比较差异无统计意义($P=0.907$),其余组两两比较差异有统计学意义($P<0.05$),见图 2。



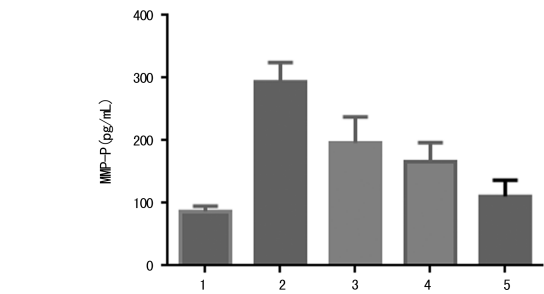
A: 对照组划痕愈合实验; B: 50 ng/mL PMA 处理组划痕愈合实验; C: $30\ \mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组划痕愈合实验; D: $100\ \mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL 处理组划痕愈合实验; E: $300\ \mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组划痕愈合实验; F: 各组细胞迁移能力柱状图。1: 对照组; 2: 50 ng/mL PMA 处理组; 3: $30\ \mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组; 4: $100\ \mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL 处理组; 5: $300\ \mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组

图 1 人参皂苷 Rh1 抑制人结肠癌 SW480 细胞的迁移能力($\times 100$)



A:对照组细胞侵袭实验; B:50 ng/mL PMA 处理组细胞侵袭实验; C:30 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组细胞侵袭实验; D:100 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL 处理组细胞侵袭实验;E:300 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组细胞侵袭实验;F:各组细胞迁移能力柱状图。1:对照组;2:50 ng/mL PMA 处理组;3:30 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组;4:100 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL处理组;5:300 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组

图 2 人参皂苷 Rh1 抑制人结肠癌 SW480 细胞的侵袭能力(姬姆萨染色, $\times 100$)



1:对照组;2:50 ng/mL PMA 处理组;3:30 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组;4:100 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL处理组;5:300 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组

图 3 ELISA 检测细胞培养上清液中的 MMP-9 蛋白水平

2.3 ELISA 检测 MMP-9 蛋白水平 对照组、50 ng/mL PMA 处理组、30 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组、100 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组、300 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组细胞培养液中 MMP-9 蛋白水平分别为(86.67 $\pm$ 8.80)、(293.33 $\pm$ 31.02)、(196.00 $\pm$ 41.51)、(166.33 $\pm$ 30.14)、(110.33 $\pm$ 26.50) pg/mL。对照组与 300 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组比较差异无统计意义($P=0.350$)。其余组两两比较差异有统计学意义($P<0.05$),见图 3。

2.4 Western blot 检测结肠癌细胞 MMP-9 的蛋白表达水平 30 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组、100 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组、300 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 Rh1+50 ng/mL PMA 处理组的 MMP-9 蛋白表达分别为 50 ng/mL PMA 处理组的(0.80 $\pm$ 0.04)、(0.47 $\pm$ 0.03)、(0.06 $\pm$

0.00)倍($P<0.05$),见图 4。

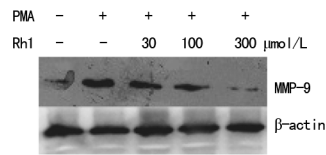


图 4 Western blot 检测结肠癌细胞 MMP-9 的蛋白表达水平

3 讨 论

近年来,越来越多的研究团队开始研究人参皂苷 Rh1 在肿瘤治疗中的作用。孙倩^[12]研究发现人参皂苷 Rh1 在人宫颈癌 Hela 细胞系及白血病 K56 细胞中发挥了重要的作用,可以抑制 B 细胞淋巴瘤 2(Bcl-2)的表达及促进 Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)的表达增强,进而促进肿瘤细胞的凋亡,同时其作用和药物浓度有密切的关系。CHOI 等^[11]证明人参皂苷 Rh1 可以在人单核白血病细胞中通过抑制细胞外信号调节蛋白激酶(ERK)1/2,JNK 和 p38 MAPK 的磷酸化进而抑制 MAPK 信号通路,从而抑制肿瘤的侵袭迁移。YOON 等^[9]证明人参皂苷 Rh1 可以抑制 AP-1 二聚体 C-fos 和 C-Jun 的表达,而 AP-1 被认为在 MMP 启动子转录激活中起主导作用,因而人参皂苷 Rh1 可以下调 MMP-1 的表达,进而抑制肝癌细胞侵袭转移。JUNG 等^[10]发现,人参皂苷 Rh1 可以抑制 MAPK 和磷酸肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B(P13K/Akt)信号通路和下游的转录因子核因子 κ B(NF- κ B)、AP-1 的活性及表达,进而下调 MMP-1、MMP-3、MMP-9,从而抑制人恶性胶质瘤细胞侵袭转移。

MMP 的表达水平与结肠癌分期及预后密切相关,然而大部分 MMP 抑制剂因为不良反应大导致作用效果欠佳。因此,研发新的、不良反应小的 MMP 选择性抑制剂用于结肠癌临床治疗具有重要意义。有一些天然药物表现出 MMP 抑制特性。芒果苷就是通过 PI3K/Akt 和 MAPK 通路,抑制转录因子 AP-1、NF- κ B 与 MMP-9 的结合,从而抑制 MMP-9 基因的表达^[13]。另外青蒿素等也能抑制 MMPs 的表达,此类天然药物具有毒副作用少、毒性低的特点^[14]。本实验利用 Transwell 小室内 Matrigel 胶重建基底膜实验研究人参皂苷 Rh1 对 SW480 细胞侵袭能力的影响。结果表明,PMA 能显著地促进肿瘤细胞侵袭,当 Rh1 水平为 30 μ mol/L 时发挥拮抗 PMA 的作用,并呈浓度依赖性,在人参皂苷 Rh1 浓度为 300 μ mol/L 时,可以基本上抑制 PMA 促肿瘤侵袭的作用。细胞侵袭的数量随药物浓度的增加明显降低,因此说明 Rh1 能明显抑制 SW480 细胞的突破基底膜、胞外基质的能力。基底膜是肿瘤细胞侵袭转移的第一道屏障的重要部分,当肿瘤细胞发生侵袭时,通过膜表面受体与基底膜成分进行黏附,然后释放并激活蛋白酶降解基底膜,定向运动穿越基底膜形成的缺损部位。人参皂苷 Rh1 可抑制 SW480 细胞突破基底膜的能力,降低发生远处转移的概率。本研究使用细胞划痕模拟这一环节,实验结果显示 PMA 能促进 SW480 细胞迁移,30 μ mol/L Rh1 开始拮抗 PMA 的作用,并呈浓度依赖性,在人参皂苷 Rh1 浓度为 300 μ mol/L 时,PMA 促肿瘤侵袭作用基本上完全被抑制。因此 Rh1 可以有效降低 SW480 细胞的运动能力而降低远处转移的风险。本实验采用 ELISA、Western blot 检测各组细胞内、外 MMP-9 蛋白表达,结果显示,50 ng/mL PMA 组 MMP-9 蛋白表达量明显提高,当人参皂苷 Rh1 浓度为 30 μ mol/L 时,MMP-9 蛋白表达量较 50 μ mol/L PMA 组明显下降。本研究结果进一步说明了人参皂苷 Rh1 在结肠癌细胞侵袭和转移中发挥了重要作用,作用机制可能是抑制了 MMP-9 的表达,但其更为详细的作用机制还不清楚,因此,人参皂苷 Rh1 在结肠癌细胞侵袭和转移的作用机制还需进一步研究。

参考文献

- [1] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] TU H C, SCHWITALLA S, QIAN Z R, et al. LIN28 co-operates with WNT signaling to drive invasive intestinal and colorectal adenocarcinoma in mice and humans[J]. Genes Dev, 2015, 29(10): 1074-1086.
- [3] TAN S H, BARKER N. Stemming colorectal cancer growth and metastasis; HOXA5 forces cancer stem cells to differentiate[J]. Cancer Cell, 2015, 28(6): 683-685.
- [4] QIN G, LUO M, CHEN J, et al. Reciprocal activation between MMP-8 and TGF- β 1 stimulates EMT and malignant progression of hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Lett, 2016, 374(1): 85-95.
- [5] BOTKJAER K A, KWOK H F, TERP M G, et al. Development of a specific affinity-matured exosite inhibitor to MT1-MMP that efficiently inhibits tumor cell invasion in vitro and metastasis in vivo[J]. Oncotarget, 2016, 7(13): 16773-16792.
- [6] ZENG Y, YAO X, CHEN L, et al. Sphingosine-1-phosphate induced epithelial-mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma via an MMP-7/syndecan-1/TGF- β autocrine loop[J]. Oncotarget, 2016, 7(39): 63324-63337.
- [7] DESMEULES P, TRUDEL D, TURCOTTE S, et al. Prognostic significance of TIMP-2, MMP-2, and MMP-9 on high-grade serous ovarian carcinoma using digital image analysis[J]. Hum Pathol, 2015, 46(5): 739-745.
- [8] MARSHALL D C, LYMAN S K, MCCAULEY S A, et al. Selective allosteric inhibition of MMP9 is efficacious in preclinical models of ulcerative colitis and colorectal cancer[J]. PLoS One, 2015, 10(5): e0127063.
- [9] YOON J H, CHOI Y J, LEE S G. Ginsenoside Rh1 suppresses matrix metalloproteinase-1 expression through inhibition of activator protein-1 and mitogen-activated protein kinase signaling pathway in human hepatocellular carcinoma cells[J]. Eur J Pharmacol, 2012, 679(1/3): 24-33.
- [10] JUNG J S, AHN J H, LE T K, et al. Protopanaxatriol ginsenoside Rh1 inhibits the expression of matrix metalloproteinases and the in vitro invasion/migration of human astrogloma cells[J]. Neurochem Int, 2013, 63(2): 80-86.
- [11] CHOI Y J, YOON J H, CHA S W, et al. Ginsenoside Rh1 inhibits the invasion and migration of THP-1 acute monocytic leukemia cells via inactivation of the MAPK signaling pathway[J]. Fitoterapia, 2011, 82(6): 911-919.
- [12] 孙倩. 人参皂苷 Rh1 诱导 Hela 和 K562 细胞凋亡[J]. 肿瘤药, 2011, 1(5): 434-438.
- [13] JUNG J S, JUNG K, KIM D H, et al. Selective inhibition of MMP-9 gene expression by mangiferin in PMA-stimulated human astrogloma cells: involvement of PI3K/Akt and MAPK signaling pathways[J]. Pharmacol Res, 2012, 66(1): 95-103.
- [14] MAGENTA D, SANGIOVANNI E, BASILICO N A, et al. Inhibition of metalloproteinase-9 secretion and gene expression by artemisinin derivatives[J]. Acta Trop, 2014(140): 77-83.

(收稿日期: 2018-12-26 修回日期: 2019-02-23)