

- 22 Nowinski SM, Solmonson A, Rundhaug JE, et al. Mitochondrial uncoupling links lipid catabolism to Akt inhibition and resistance to tumorigenesis (J). Nat Commun 2015; 6(1): 8137.
- 23 韦立群, 李婉婷, 李通, 等. 金雀异黄酮对三阴乳腺癌 MDA-MB-231 细胞凋亡及 EGFR 3K/Akt 通路的影响 (J). 中国药理学通报 2017; 33(10): 1376-81.
- 24 曹煜嫻, 孙达权, 夏庆, 等. PI3K/Akt 通路在肝癌细胞迁移和侵袭中的作用 (J). 山东医药 2018; 58(26): 14-7.
- 25 Deng B, Fang J, Zhang X, et al. Role of gelsolin in cell proliferation and invasion of human hepatocellular carcinoma cells (J). Gene, 2015; 571(2): 292-7.
- (2021-10-25 修回)
- (编辑 王一涵)

## 人参皂苷对人宫颈癌细胞相关生物学功能的影响

余瑛 张群贵 崔华子 廖振蓉 王琪 彭涛 (赣州市肿瘤医院, 江西 赣州 341000)

**(摘要)** 目的 研究人参皂苷对人宫颈癌细胞相关生物学功能的影响。方法 试验组使用不同浓度人参皂苷 Rg3 培养人宫颈癌 HeLa 细胞, 基础培养作为对照。噻唑蓝 (MTT) 法检测癌细胞增殖; 利用流式细胞法检测各组处于各细胞周期的细胞数量了解细胞凋亡情况; Transwell 及 Boyden 试验检测肿瘤细胞迁移、侵袭情况。结果 试验组宫颈癌细胞增殖抑制率较对照组均显著上升, 且试验组对宫颈癌细胞的增殖抑制率随药物浓度增大而升高 ( $P < 0.05$ ); 人参皂苷 Rg3 处理宫颈癌细胞 48 h 的 IC50 值为  $(84.32 \pm 0.05) \mu\text{g/ml}$ ; 试验组 G2/M 期宫颈癌细胞比例  $[(2.01 \pm 0.79)\%]$  较对照组  $[(35.44 \pm 3.10)\%]$  显著下降 ( $P < 0.05$ ), 癌细胞凋亡率  $[(53.76 \pm 4.03)\%]$  较对照组  $[(0.19 \pm 0.22)\%]$  显著上升 ( $P < 0.05$ ); Transwell 结果表明试验组癌细胞过膜个数  $[(35.23 \pm 7.34) \text{ 个}]$  较对照组  $[(115.33 \pm 21.56) \text{ 个}]$  显著降低 ( $P < 0.05$ ); Boyden 试验结果表明试验组宫颈癌细胞穿膜个数  $[(29.37 \pm 6.45) \text{ 个}]$  较对照组  $[(90.37 \pm 12.59) \text{ 个}]$  显著降低 ( $P < 0.05$ )。结论 人参皂苷 Rg3 能够通过抑制人宫颈癌细胞的增殖, 影响肿瘤细胞周期促进细胞凋亡, 抑制人宫颈癌细胞的迁移和侵袭等恶性生物学功能来阻止人宫颈癌细胞的持续发展。

**(关键词)** 人参皂苷; 宫颈癌细胞; 生物学功能

**(中图分类号)** R737.33 **(文献标识码)** A **(文章编号)** 1005-9202(2022)23-5836-04; doi: 10.3969/j.issn.1005-9202.2022.23.043

宫颈癌病灶发生于子宫颈鳞柱上皮的交界处, 该病是当今女性最常患的妇科肿瘤性疾病, 也是临床数据统计总结出的危害女性生命安全的前列危险因素<sup>[1]</sup>。临床数据提示: 宫颈癌在中国的发病率有逐渐升高的趋势, 且伴有大概率的不良预后事件发生<sup>[2-4]</sup>。癌细胞的共同特点在于增殖失控及侵袭迁移能力较机体正常细胞显著增强, 而细胞凋亡与其增殖的相互配合关系到机体微环境稳态<sup>[5]</sup>。癌细胞周期不仅影响到癌细胞增殖, 对癌细胞凋亡也有重要意义。人参为传统名贵中草药, 古来有滋补元气、安神益智及养生之功效<sup>[6-8]</sup>。研究证明人参皂苷 Rg3 是中药人参中的主要活性成分, 且其养生功效与抗肿瘤作用关系密切<sup>[9-11]</sup>。本研究从肿瘤细胞角度分析人参皂苷 Rg3 对宫颈癌细胞的杀伤抑制作用。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验材料 人宫颈癌 HeLa 细胞株 (武汉博士

德生物工程有限公司)、胎牛血清 (澳洲 Gibco)、青霉素、链霉素 (华北制药股份有限公司)、人参皂苷 Rg3 (天津阿尔塔科技有限公司)、二甲基亚砜 (美国 OriGen)、Bio-red550 酶标仪、流式细胞仪 (上海达迈生物科技有限公司)、Transwell 聚碳酸酯微孔膜、苏木精染液 (厦门研科生物科技有限公司)、电子显微镜 (上海苍茂实业有限公司) 等。

**1.2 细胞培养及药品配制** 将宫颈癌 HeLa 细胞培养于室温条件下的基础培养液 (含 10% 胎牛血清、适量青霉素、链霉素) 中, 培养箱 5% 的 CO<sub>2</sub> 浓度及饱和湿度。人参皂苷 Rg3 首先进行甘醇溶解, 试验时通过基础培养液稀释至甘醇浓度低于 0.01%。

**1.3 噻唑蓝 (MTT) 检测细胞增殖** 对数生长期宫颈癌 HeLa 细胞加入 96 孔板, 试验组分别加入稀释后的人参皂苷 Rg3, 并使药物终浓度至 20、40、50、160、320、400  $\mu\text{g/ml}$ , 每组设置平行孔 3 个, 对照组不加药物培养。培养 48 h 后, 各组加入 MTT 溶液继续培养 4 h。结束培养后, 移除上清液, 每孔分别加入二甲基亚砜 (DMSO) 震荡至沉淀溶解, 酶标仪测 490 nm 处 OD 值, 计算肿瘤细胞生长抑制率, 取 3 次重复试验均值。以抑制率和人参皂苷 Rg3 浓度做

基金项目: 江西省卫生计生委科技计划 (20157201); 赣州市指导性科技计划项目 (GZ2017ZSF332); 赣州市科技计划项目 (赣市财教字 (2017) 8 号)

第一作者: 余瑛 (1972-) 女, 副主任医师, 主要从事妇科肿瘤研究。

曲线算 IC<sub>50</sub>。生长抑制率(%)=(对照组 OD 值-试验组 OD 值)/对照组 OD 值×100%。

**1.4 流式细胞术分析细胞周期变化** 通过 MTT 法检测出人参皂苷 Rg3 抑制 HeLa 细胞生长有效浓度,将对应组 HeLa 细胞用浓度为 65%的乙醇进行固定并保存。检测前用磷酸盐缓冲液(PBS)进行洗涤,滴入 PI 染液避光保存 30 min 于流式细胞仪检测癌细胞的周期变化。

**1.5 Transwell 检测细胞迁移能力** 培养 48 h 后,收集各组肿瘤细胞于无血清培养液多次洗涤计数,每孔 110 个细胞接种 Transwell 聚碳酸酯微孔膜,下室以完全培养基为趋化因子,显微镜观察进入下室的癌细胞数,PBS 洗涤后甲醇溶液进行固定再进行苏木素染色,显微镜下观察,取随机 3 个视野穿过细胞数的均值评估癌细胞迁移能力。

**1.6 Boyden 检测细胞侵袭能力** 将液态基质胶与无血清培养基混合后加入 Transwell 聚碳酸酯微孔膜,37℃放置 5 h 成为固态。各组细胞通过无血清培养液洗涤后以每孔 110 个细胞接种于固态基质胶上,余下步骤同 1.5。

**1.7 统计学方法** 采用 SPSS19.0 统计学软件进行直线回归及 Pearson 分析、*q* 检验和  $\chi^2$  检验。

2 结果

**2.1 人参皂苷对宫颈癌细胞增殖的影响** 试验组宫颈癌细胞增殖抑制率较对照组均显著上升( $P <$

0.05);试验组宫颈癌细胞的增殖抑制率随人参皂苷 Rg3 浓度增大而升高,药物浓度与癌细胞增殖抑制率正向相关性( $R > 0$ ,  $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 各组宫颈癌细胞生长抑制情况( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

组别	人参皂苷 Rg3 浓度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	OD 值	抑制率(%)
对照组	0	0.139 $\pm$ 0.002 7	—
人参皂苷 Rg3 组	20	0.124 $\pm$ 0.002 8 <sup>1)</sup>	10.42
	40	0.099 $\pm$ 0.004 9 <sup>1)</sup>	28.35
	50	0.071 $\pm$ 0.001 2 <sup>1)</sup>	48.72
	160	0.034 $\pm$ 0.001 5 <sup>1)</sup>	75.38
	320	0.015 $\pm$ 0.000 6 <sup>1)</sup>	89.16
	400	0.007 $\pm$ 0.004 5 <sup>1)</sup>	94.55

与对照组比较: 1)  $P < 0.05$ ; 表 2 同

**2.2 人参皂苷对宫颈癌细胞周期的影响** 160  $\mu\text{g/ml}$  人参皂苷 Rg3 组和对照组 G0-G1 期宫颈癌细胞比例无明显差异( $P > 0.05$ ); 160  $\mu\text{g/ml}$  人参皂苷 Rg3 组 S 期宫颈癌细胞比例较对照组显著上升( $P < 0.05$ ); 160  $\mu\text{g/ml}$  人参皂苷 Rg3 组 G2/M 期宫颈癌细胞比较对照组显著下降( $P < 0.05$ )。两组癌细胞凋亡率差异显著( $P < 0.05$ )。见表 2、图 1。

表 2 人参皂苷 Rg3 对宫颈癌细胞周期的影响( $\bar{x} \pm s$ , %  $n=3$ )

组别	G0-G1 期	S 期	G2/M 期	癌细胞凋亡率
对照组	63.20 $\pm$ 3.11	0.71 $\pm$ 1.31	35.44 $\pm$ 3.10	0.19 $\pm$ 0.22
试验组	60.20 $\pm$ 3.98	39.34 $\pm$ 3.56 <sup>1)</sup>	2.01 $\pm$ 0.79 <sup>1)</sup>	53.76 $\pm$ 4.03 <sup>1)</sup>

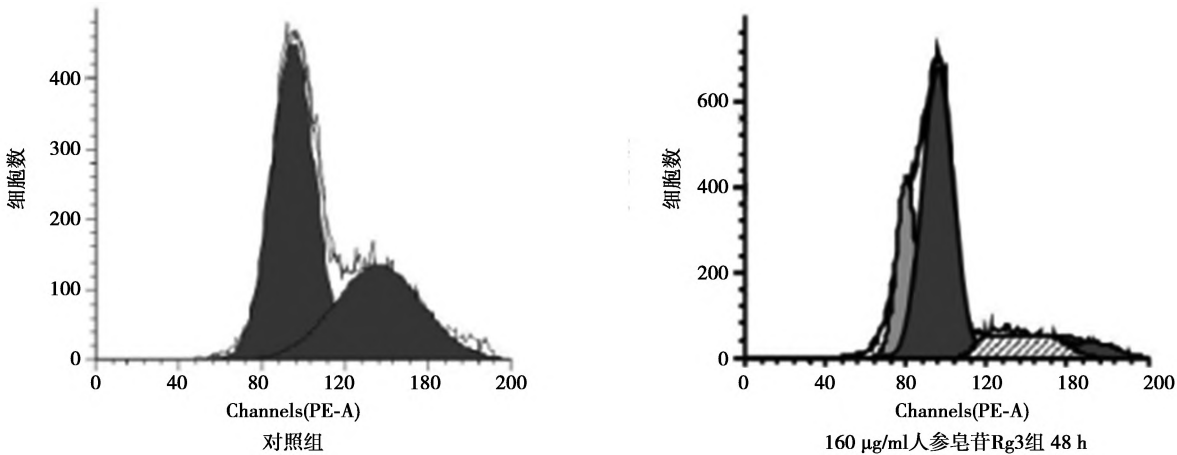


图 1 两组宫颈癌细胞周期和凋亡

**2.3 人参皂苷对宫颈癌细胞迁移能力的影响** 对照组癌细胞过膜个数 [(115.33 $\pm$ 21.56) 个] 较 160  $\mu\text{g/ml}$  人参皂苷 Rg3 组 [(35.23 $\pm$ 7.34) 个] 显著升高( $P < 0.05$ )。见图 2。

**2.4 人参皂苷对宫颈癌细胞侵袭能力的影响** 对照组宫颈癌细胞穿膜个数 [(90.37 $\pm$ 12.59) 个] 显著高于 160  $\mu\text{g/ml}$  人参皂苷 Rg3 组 [(29.37 $\pm$ 6.45) 个;  $P < 0.05$ ]。见图 3。

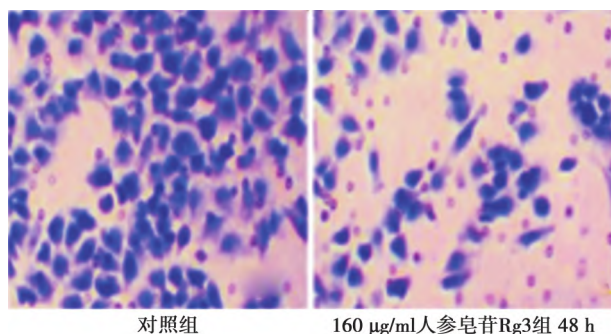


图2 两组宫颈癌细胞迁移能力(苏木素染色, ×200)

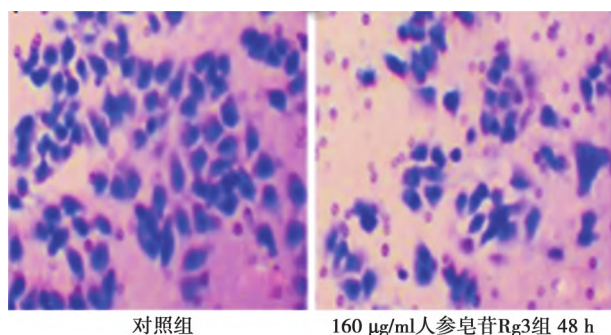


图3 两组宫颈癌细胞侵袭能力(苏木素染色, ×200)

### 3 讨论

我国宫颈癌高发年龄为 50 岁左右<sup>(12)</sup>。就当前情况而言,临床多采用手术及放化疗的治疗手段来应对该类疾病,由于肿瘤疾病的发生发展过程迅速,一旦宫颈癌进入晚期确诊,这对临床治疗方案的制定和实施都是一个挑战<sup>(13)</sup>。因为肿瘤疾病的晚期化疗方案需要加大放射的剂量,这一举措在有效杀伤肿瘤细胞的同时,对机体正常细胞也会带来巨大损害,使患者预后情况不佳<sup>(14~16)</sup>。天然中药材富含的各种有效成分被投入临床的研究和用药,其优势于治疗宫颈癌中日益突出<sup>(17~19)</sup>。人参皂苷作为中药人参的有效成分有缓解机体疲劳、抑制肿瘤疾病及增强人体免疫力的功效,研究表明,人参皂苷 Rg3 是中药人参中抗肿瘤作用效果较佳的单体成分<sup>(20,21)</sup>。

本试验提示人参皂苷 Rg3 是通过阻碍宫颈癌细胞的 DNA 合成使癌细胞滞留在分裂期之前,促进癌细胞凋亡。人参皂苷 Rg3 能够通过阻碍癌细胞侵袭其他正常体细胞控制宫颈癌疾病。

综上,人参皂苷 Rg3 能够通过抑制人宫颈癌细胞的增殖,影响肿瘤细胞周期促进细胞凋亡,抑制人宫颈癌细胞的迁移和侵袭等恶性生物学功能来阻止宫颈癌发展。

### 4 参考文献

- 邹萍,陈万瑛,张婷. 人参皂苷 Rg3 抗宫颈癌作用机制的研究进展[J]. 环球中医药, 2016; 7(4): 304-7.
- 李向东,田新梅,刘楼. 20S-人参皂苷 Rg3 对人宫颈癌 Hela 细胞增殖及凋亡的作用[J]. 国际检验医学杂志, 2016; 34(21): 2801-2, 2805.
- 张艳丽,李蕾,陈明芳. 黄芩素联合吉西他滨对宫颈癌细胞凋亡的影响及机制研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2020; 19(1): 65-9.
- 张群群,陈媛媛,侯腾飞. 8 味临床常用中药抗宫颈癌的作用机制研究进展[J]. 中国药房, 2019; 30(10): 1436-40.
- 吴汉,敖梅英,陈雪丽. 龙胆泻肝汤对阴道加德纳菌的体外抑制作用[J]. 中成药, 2020; 42(1): 75-80.
- 苏嘉文,卜亚丽,李瑄. 黄芩苷对 Hela 细胞凋亡的影响[J]. 中成药, 2020; 42(1): 209-12.
- 吕银凤,文惠方,魏丽. 大戟苷诱导人宫颈癌 Hela 细胞凋亡及其作用机制研究[J]. 中国药房, 2018; 29(20): 2773-6.
- 符婕,王红,孙红梅. CXC 趋化因子配体 8 对宫颈癌细胞增殖与迁移的影响及作用机制[J]. 中国老年学杂志, 2020; 40(3): 624-6.
- He H, Yim M, Liu KH, et al. Involvement of G proteins of the Rho family in the regulation of Bcl-2-like protein expression and caspase 3 activation by gastrins[J]. Cell Signalling, 2018; 20(1): 83-93.
- Chwilkowska A, Kulbacka J, Saczko J. Death of tumor cells Phorbol-12-myristate-13-acetate reaction in apoptosis induction in cancer cells[J]. Pol Merkuriusz Lekarski, 2017; 30(175): 45-8.
- Napolitano U, Imperato F, Mossa B, et al. The role of neoadjuvant chemotherapy for squamous cell cervical cancer (I b-III b): a long-term randomized trial[J]. European J Gynaecol Oncol, 2016; 24(1): 51-9.
- Keum YS, Han SS, Chun KS, et al. Inhibitory effects of the ginsenoside Rg3 on phorbol ester-induced cyclooxygenase-2 expression, NF-κB activation and tumor promotion[J]. Mutat Res Fundamental Molec Mechan Mutagen, 2018; 523(2): 75-85.
- Chen MW, Yang L, Ni L, et al. The effect of 20R-ginsenoside Rg3 on the differential expression of cell signaling genes and other related genes in human lung adenocarcinoma cell line A549[J]. Chin J Tuberc Respir Dis, 2017; 28(1): 37-40.
- 秦恩杰,孟沙,熊敏涵,等. Twist 过表达与正常宫颈组织向宫颈癌病变发展关系的 Meta 分析[J]. 中国医药生物技术, 2020; 15(1): 74-8.
- 朱姗姗,徐福霞,赵国霞. lncRNA HEIG 对宫颈癌细胞增殖、凋亡和迁移侵袭的影响及其分子机制[J]. 现代肿瘤医学, 2020; 12(6): 902-6.
- 贺传勇,吴小莉,解为全,等. miR-21 调控程序性细胞死亡 4 基因的表达对宫颈癌细胞增殖和侵袭能力的影响[J]. 现代肿瘤医学, 2020; 23(5): 724-8.
- 于森,孙峥嵘. 人乳头瘤病毒致癌关键因素的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2020; 22(5): 851-4.
- 刘媛媛. 人参皂苷组合转化组分抗肿瘤活性的研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2015.
- 陈道桢,王常在,陈万瑛,等. 载 20S-人参皂苷白蛋白纳米微球对人宫颈癌 Hela 细胞生长抑制作用研究[J]. 中国实验诊断学, 2017; 17(8): 1394-7.

- 20 陈迪,崔俊生,刘学峡,等. 20S-人皂甙 Rg3 诱导宫颈癌 Hela 细胞凋亡的研究(J).中国实验诊断学,2018;11(4):463-6.
- 21 蒋晓蓉,李万平,熊林. 吉西他滨结合放、化疗对宫颈癌血管生

成及侵袭能力的影响(J).中国药房,2017;28(11):1551-4.

(2021-12-17 修回)

(编辑 苑云杰)

## miR-455 对 Omi/HtrA2 介导的人涎腺腺样囊性癌细胞株线粒体凋亡的影响

李立恒<sup>1</sup> 周军<sup>2</sup> 张敏<sup>3</sup> 王芹<sup>1</sup> 安峰<sup>1</sup> 张丽娟<sup>4</sup> 汪佳<sup>1</sup> 张凡<sup>5</sup>

(1 河北北方学院附属第一医院口腔科,河北 张家口 075000; 2 张家口市第一医院口腔科; 3 张家口学院临床学院; 河北北方学院附属第一医院 4 小儿外科; 5 病理科)

**〔摘要〕** 目的 探讨过表达微小 RNA-455(miR-455)对线粒体促凋亡分子丝氨酸蛋白酶(Omi/HtrA2)介导的人涎腺腺样囊性癌细胞株线粒体凋亡的影响。方法 收集 70 例因原发病手术切除并经病理诊断为涎腺腺样囊性癌患者的癌组织为人涎腺腺样囊性癌组,选取正常涎腺组织 65 例为对照组,无菌操作下取得的新鲜组织放入无菌冻存管后迅速投入液氮中快速冷冻,再转至-80℃冰箱长期保存,采用 qRT-PCR 法检测两组组织 miR-455 表达情况。体外培养人涎腺腺样囊性癌患者 ACC-M 细胞,利用 miR-455 mimics 转染 ACC-M 细胞为 miR-455 mimics 组,采用国际通用的与所有基因无同源性序列的 miR-455-NC 转染为阴性对照组,以未经处理的 ACC-M 细胞为空白对照组,48 h 后收集各组细胞。利用 qRT-PCR 法检测 miR-455 表达情况;MTT 法检测 ACC-M 细胞增殖能力;利用流式细胞仪检测细胞凋亡情况;免疫荧光检测细胞色素 C 释放情况;利用 Western 印迹检测抗人增殖细胞核抗原(ki67)、Omi/HtrA2、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(caspase-3、caspase-6)蛋白表达情况。结果 与对照组相比,涎腺腺样囊性癌组 miR-455 表达显著降低( $P<0.05$ );与空白对照组、阴性对照组比较,miR-455 mimics 组 ACC-M 细胞中 miR-455 表达水平、细胞凋亡显著升高( $P<0.05$ );miR-455 mimics 组转染后 48 h、72 h 后 OD 值显著降低( $P<0.05$ );与空白对照组、阴性对照组比较,miR-455 mimics 组细胞色素 C 呈弥散性分布于细胞质中,围绕在细胞核周围且细胞色素 C、线粒体平均光密度显著升高( $P<0.05$ );miR-455 mimics 组 ACC-M 细胞中 ki67 蛋白相对表达量显著降低( $P<0.05$ ),Omi/HtrA2、caspase-3、caspase-6 蛋白相对表达量显著升高( $P<0.05$ )。结论 过表达 miR-455 可促进人涎腺腺样囊性癌 ACC-M 细胞凋亡,可能是通过激活 Omi/HtrA2 介导的线粒体凋亡途径而实现的。

**〔关键词〕** 微小 RNA-455;线粒体促凋亡分子丝氨酸蛋白酶;涎腺腺样囊性癌细胞;线粒体凋亡

**〔中图分类号〕** R739.87 **〔文献标识码〕** A **〔文章编号〕** 1005-9202(2022)23-5839-06;doi:10.3969/j.issn.1005-9202.2022.23.044

涎腺腺样囊性癌是最常见的涎腺恶性肿瘤之一,占涎腺上皮性肿瘤的 8%~10%,可发生于任何年龄,易发生于腮腺、颌下腺、舌下腺等,具有神经周围浸润特征,容易侵入神经而发生远处转移<sup>〔1~4〕</sup>。目前,涎腺腺样囊性癌的治疗方式主要是手术,但疗效不太理想且复发率及患者不良预后率较高。微小 RNA(miRNA)可作为癌基因或抑癌基因发挥功能、调控细胞增殖和凋亡等生物学行为,与肿瘤的发生发展密切相关<sup>〔5〕</sup>。研究发现,miR-455 在胃癌<sup>〔6〕</sup>、宫颈癌<sup>〔7〕</sup>、结肠癌<sup>〔8〕</sup>等肿瘤细胞中异常降低。线粒体促凋亡分子丝氨酸蛋白酶(Omi/HtrA2)是新发现的线粒体促凋亡因子,在调节细胞凋亡中发挥重要作用<sup>〔9,10〕</sup>。高凤兰等<sup>〔11〕</sup>研究发现,Omi/HtrA2 基因过表达对食管癌细胞有明显抑制作用,且可明显提

高癌细胞凋亡率。以往关于 miR-455、Omi/HtrA2 单独在宫颈癌、胃癌、食管癌等肿瘤中研究较多,而在涎腺腺样囊性癌中鲜有报道,因此,本研究以涎腺腺样囊性癌高转移细胞株(ACC-M)为研究对象,分析 miR-455 对 Omi/HtrA2 介导的人涎腺腺样囊性癌细胞株线粒体凋亡的影响。

### 1 材料与方法

**1.1 材料** 收集 2017 年 8 月至 2019 年 3 月在河北北方学院附属第一医院 70 例因原发病手术切除并经病理诊断为涎腺腺样囊性癌患者的癌组织(其中腮腺 39 例,颌下腺 20 例,舌下腺 11 例)为涎腺腺样囊性癌组,男 33 例,女 37 例,年龄 23~75 岁,平均年龄(52.19±12.36)岁;选取正常涎腺组织 65 例(来源于同期医院颌面部骨折手术患者)为对照组,男 29 例,女 36 例,年龄 25~73 岁,平均年龄(50.68±10.59)岁。两组性别、年龄差异无统计学意义( $P=0.449$ ),具有可比性。无菌操作下取得

基金项目:张家口市科学技术和地震局课题(1821056D)

第一作者:李立恒(1982-),男,主治医师,主要从事颌面外科肿瘤研究。