

人参皂苷 Rh2 调节转化生长因子 β 活化的长链非编码 RNA 对胶质瘤细胞侵袭和迁移的影响

571700 海南儋州 海南西部中心医院神经内科

林 影, 李建红¹, 卢宏全², 陈俊玲³

【摘要】目的 探讨人参皂苷 Rh2(G-Rh2)调控转化生长因子 β 活化的长链非编码 RNA(LncRNA-ATB)对胶质瘤细胞增殖、迁移和侵袭的影响。**方法** 采用实时荧光定量 PCR(qPCR)检测人星形胶质细胞 NHA 和胶质瘤细胞(SHG-44、A172、Ln229、U87、U251)的 LncRNA-ATB 水平。培养 U251 细胞,将细胞分为 si-NC 组(阴性对照)和 si-ATB 组(干扰 LncRNA-ATB),采用 CCK-8、Transwell 小室实验和划痕实验分别评价细胞增殖、迁移和侵袭能力。不同浓度 G-Rh2 处理 U251 细胞以计算 G-Rh2 的半数抑制浓度(IC₅₀)值。将细胞分为对照组、G-Rh2 组(20 μ g/ml G-Rh2)和 G-Rh2+ATB 组(20 μ g/ml G-Rh2+过表达 LncRNA-ATB),检测细胞增殖、迁移和侵袭情况,qPCR 和 Western blotting 检测基质金属蛋白酶(MMP)-9 和 Snail 的水平。**结果** LncRNA-ATB 在胶质瘤细胞的水平低于 NHA 细胞($P<0.05$)。与 si-NC 组相比,si-ATB 组 U251 细胞增殖、迁移和侵袭能力均受抑制($P<0.05$)。G-Rh2 的 IC₅₀ 值为 20.992 μ g/ml,并能够抑制 U251 细胞中 LncRNA-ATB 的表达($P<0.05$)。G-Rh2 组 U251 细胞增殖活力、迁移和侵袭能力低于对照组;G-Rh2+ATB 组 U251 细胞增殖活力、迁移和侵袭能力明显高于 G-Rh2 组。G-Rh2 组 MMP-9 和 Snail 的水平低于对照组($P<0.05$),G-Rh2+ATB 组 MMP-9 和 Snail 水平高于 G-Rh2 组($P<0.05$)。**结论** 干扰 LncRNA-ATB 表达抑制 U251 细胞的增殖、迁移和侵袭过程,G-Rh2 可能下调 LncRNA-ATB 表达来抑制 U251 细胞的增殖、迁移和侵袭,发挥抗肿瘤功效。

【关键词】 胶质瘤; 人参皂苷 Rh2; 转化生长因子 β 活化的长链非编码 RNA; 增殖; 侵袭; 迁移

中图分类号:R739.41 文献标识码:A 文章编号:1009-0460(2022)04-0323-08

Effects of ginsenoside Rh2 on proliferation, migration and invasion of glioma cells through regulating long non-coding RNA-activated by transforming growth factor-beta

LIN Ying, LI Jianhong, LU Hongquan, CHEN Junling. Department of Neurology, Hainan Western Central Hospital, Danzhou 571700, China

【Abstract】 Objective To explore the effects of ginsenoside Rh2 (G-Rh2) on proliferation, migration and invasion of glioma cells through regulating long non-coding RNA-activated by transforming growth factor-beta (LncRNA-ATB). **Methods** Real-time quantitative polymerase chain reaction (qPCR) was performed to detect the level of LncRNA-ATB in human astrocytes NHA cell and glioma cells (SHG-44, A172, Ln229, U87 and U251). U251 cells were cultured and divided into si-NC group (negative control) and si-ATB group (downregulation of LncRNA-ATB). The proliferation, migration and invasion abilities of U251 cells were assessed by CCK-8, wound-healing and Transwell assays. U251 cells were treated with G-Rh2, and half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀) value of G-Rh2 was calculated. U251 cells were divided into Control group, G-Rh2 group (20 μ g/ml G-Rh2) and G-Rh2+ATB group (20 μ g/ml G-Rh2 plus overexpression of LncRNA-ATB). The cell proliferation, migration and invasion were measured. QPCR and Western blotting were used to examine the levels of matrix metalloproteinase (MMP)-9 and Snail. **Results** The levels of LncRNA-ATB in glioma cells were higher than NHA cells ($P<0.05$). The cell proliferation, migration and invasion of si-ATB group were inhibited compared with si-NC group. The IC₅₀ value of G-Rh2 in U251 cells was 20.992 μ g/ml. G-Rh2 inhibited LncRNA-ATB expression in U251 cells ($P<0.05$). The cell proliferation, migration and invasion of G-Rh2 group were decreased compared with Control group ($P<0.05$). While the cell proliferation, migration and invasion of G-Rh2+ATB group were increased compared with G-

1 570100 海南医学院第二附属医院神经内科

2 571700 海南西部中心医院肿瘤内科

3 570100 海口市人民医院神经内科

Rh2 group. Moreover, the levels of MMP-9 and Snail were lower in G-Rh2 group than those in Control group ($P < 0.05$). Levels of MMP-9 and Snail were higher in G-Rh2+ATB group than those in G-Rh2 group ($P < 0.05$). **Conclusion** Silence of LncRNA-ATB inhibited proliferation, migration and invasion of glioma cell U251. G-Rh2 might suppresses the proliferation, migratory and invasive abilities of U251 cells possibly by downregulating LncRNA-ATB, exerting anti-tumor effects in glioma.

【Key Words】 Glioma; Ginsenoside Rh2; Long non-coding RNA-activated by transforming growth factor-beta; Proliferation; Invasion; Migration

胶质瘤是最常见、侵袭性最强的恶性脑肿瘤, 占有中枢神经系统肿瘤的 30%, 所有原发性恶性脑肿瘤的 80%^[1]。尽管早期诊断和包括手术、化疗和放疗在内的治疗方法不断发展, 但其有效性和预后通常不佳, 导致高复发率和死亡率^[2]。近年来靶向分子治疗发展迅速, 越来越多的研究专注于探索胶质瘤分子治疗的新靶点^[3-4]。长链非编码 RNAs (long non-coding RNAs, LncRNAs) 是一类长度超过 200 个核苷酸的 RNA 分子, 蛋白编码能力十分有限, 已被发现参与调节多种生物过程^[5]。转化生长因子 β 活化的长链非编码 RNA (long non-coding RNA-activated by transforming growth factor-beta, LncRNA-ATB) 位于 14 号染色体, 是重要的肿瘤相关候选 lncRNA, 在许多人类癌症中异常表达, 已被证实能够加速胶质瘤的恶性发展^[6]。人参皂苷是人参根中发现的主要活性化学成分, 具有多种药理活性, 包括抗炎、抗过敏、抗疲劳、抗应激和抗癌^[7-10]。人参皂苷 Rh2 (ginsenoside Rh2, G-Rh2) 属于原人参皂二酯家族, 具有不同生物活性, 特别针对各种癌细胞 (胶质瘤、结肠癌、乳腺癌、肺癌和宫颈癌等) 具有高效的抗癌活性^[10-15]。然而, G-Rh2 是否能够通过调控 LncRNA-ATB 来参与胶质瘤恶性发展尚不清楚。因此, 本研究以胶质瘤细胞 U251 为研究对象, 探讨 LncRNA-ATB 对胶质瘤细胞表型的影响, 以及 G-Rh2 调控 LncRNA-ATB 表达对胶质瘤细胞表型的影响, 现将研究结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 细胞和主要试剂 人星形胶质细胞 NHA 和胶质瘤细胞 (SHG-44, A172, Ln229, U87, U251) 购自中国科学院上海生物化学与细胞生物研究所, 胎牛血清、RPMI 1640 培养基和胰蛋白酶购自美国 Gibco 公司, 青霉素-链霉素双抗混合液购自美国 Sigma 公司, 脂质体转染试剂 Lipofectamine 3000 购自美国 Thermo Fisher 公司, CCK-8 试剂盒和 BCA 蛋白浓度检测试剂盒购自碧云天科技有限公司, TRIzol 试剂、

逆转录试剂盒 PrimeScript[®] RT Master Mix 和荧光定量 PCR (qPCR) 试剂盒 SYBR[®] Premix Ex Taq[™] 购自大连宝生物有限公司, qPCR 引物购自苏州金唯智生物科技有限公司, 兔源多克隆 GAPDH、Snail 和基质金属蛋白酶 (MMP)-9 一抗以及 HRP 标记的二抗均购自美国 Abcam 公司, LncRNA-ATB 干扰序列 si-ATB (si-ATB-1: 5'-GGTCTTTATCTTGATGTT-3', si-ATB-2: 5'-CCAUGAGGAGUACUGCCAATT-3') 和阴性对照序列 si-NC 购自上海吉玛生物技术有限公司, lncRNA-ATB 过表达质粒购自赛默飞有限公司, G-Rh2 购自成都乐美天医药科技公司。

1.2 细胞培养、转染和分组 复苏细胞后加入培养液 (含 10% 胎牛血清和 100 U/ml 双抗), 置于 37 °C、5% CO₂ 的恒温培养箱中进行孵育培养。取对数生长期的 U251 细胞, 用 0.25% 胰蛋白酶进行消化传代。待细胞生长至融合度约 50%~60%, 更换为无血清培养基进行培养。按照 Lipofectamine 3000 转染说明书向 U251 细胞转染 si-ATB (si-ATB 组) 和 si-NC (si-NC 组), 评估 LncRNA-ATB 对 U251 细胞的影响。另外, 向 U251 细胞中分别加入 0、1、5、10、15、20、30、40 和 50 $\mu\text{g/ml}$ G-Rh2, 计算 G-Rh2 的半数抑制浓度 (IC₅₀), 确定 G-Rh2 最适处理浓度。转染 LncRNA-ATB 过表达质粒后将 U251 细胞分为对照组 (未处理组)、G-Rh2 组 (20 $\mu\text{g/ml}$ G-Rh2) 和 G-Rh2+ATB 组 (20 $\mu\text{g/ml}$ G-Rh2+过表达 LncRNA-ATB), 评估 G-Rh2 调控 LncRNA-ATB 表达对 U251 细胞的影响。

1.3 CCK-8 法 细胞处理后 0、24、48 和 72 h 接种至 96 孔板中, 随后向各组细胞加入 10 μl CCK-8 溶液, 继续培养 4 h 终止反应。利用酶标仪检测 450 nm 波长下细胞吸光度值, 以空白孔测定值作为校准值, 评估各组细胞活力。

1.4 细胞划痕实验 常规培养 U251 细胞形成单层细胞, 用枪头垂直细胞培养板划一条直线, 控制划痕宽度约为 500 μm , PBS 缓冲液洗涤脱落细胞, 显微镜下观察拍照。随后将细胞置于恒温培养箱

中培养 24 h, PBS 缓冲液洗涤脱落细胞, 显微镜下观察拍照, 根据划痕距离计算细胞划痕愈合率, 每组 3 个重复。细胞划痕愈合率 (%) = (0 h 细胞划痕宽度 - 24 h 细胞划痕宽度) / 0 h 细胞划痕宽度 × 100%。

1.5 Transwell 小室实验 取基质胶工作液 100 μ l 均匀加入包被小室底部基底膜, 4 $^{\circ}$ C 环境中风干; 向 Transwell 小室加入 RPMI 1640 培养液水化基底膜, 37 $^{\circ}$ C 静置 1 h 后用含 1% 血清的培养液重悬细胞, 向小室内接种细胞数约 1×10^5 个。小室外加入 RPMI 1640 培养液 (含 10% 血清) 900 μ l, 常规培养 24 h 后经多聚甲醛固定和结晶紫染色, 光学显微镜下 100 倍放大倍数拍照, 每组设 3 个重复。

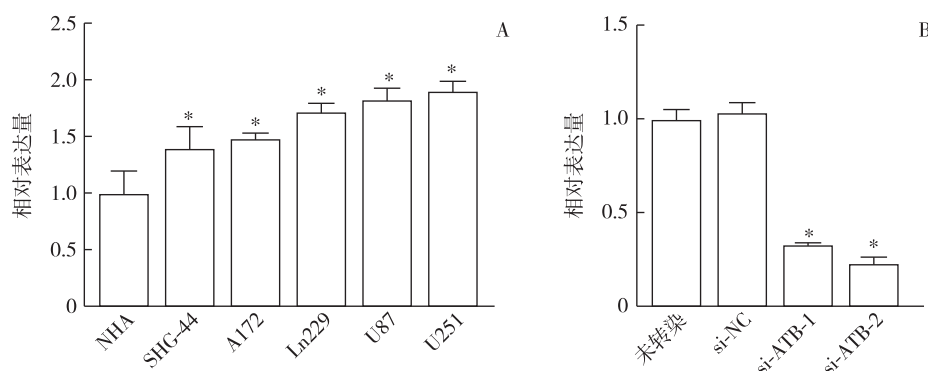
1.6 总 RNA 提取和 qPCR U251 细胞转染处理 48 h 后, 去除旧培养基, 随后加入 TRIzol 试剂充分裂解细胞提取总 RNA, 根据逆转录试剂盒说明书步骤合成 cDNA, 反应条件为: 37 $^{\circ}$ C 15 min、85 $^{\circ}$ C 5 s。随后用合成的 cDNA 为模板行 qPCR, 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 30 s; 40 个循环的 95 $^{\circ}$ C 5 s、60 $^{\circ}$ C 30 s。目标基因的表达以 GAPDH 为内参, 定量结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示。LncRNA-ATB 上游引物: 5'-ACAAGCTGTGCACTCTCAGG-3', 下游引物: 5'-CTAGGCCCAAAGACAATGGA-3'; Snail 上游引物: 5'-CAACCCACTCAGATGTCAA-3', 下游引物: 5'-CATAGTTAGTCACACCTCGT-3'; MMP-9 上游引物: 5'-TGACAGCGACAAGAAGTGGG-3', 下游引物: 5'-TTCAGGGCGAGGACCATAGA-3'; GAPDH 上游引物: 5'-AGCAAGAGCACAAGAGGAAG-3', 下游引物: 5'-GGTTGAGCACAGGGTACTTT-3'。

1.7 Western blotting U251 细胞转染处理 48 h 后, 向每孔细胞中加入蛋白裂解液, 冰上裂解 30 min 后离心提取总蛋白。按比例混匀样本与 SDS 上样缓冲液, 沸水煮 10 min 使蛋白质变性。每孔蛋白上样 30 μ g, SDS-PAGE 电泳凝胶混合液恒压电泳, 湿转法将蛋白从凝胶转移至 PVDF 膜, 将膜置于 5% 牛血清白蛋白溶液脱色摇床封闭 2 h, 4 $^{\circ}$ C 环境孵育一抗 (1:2000) 过夜。TBST 溶液洗涤 3 次, 室温环境孵育二抗 (1:4000) 1 h。TBST 溶液洗涤 3 次, 避光环境进行 ECL 显影, 利用化学发光仪曝光拍照。最终结果表示为目标条带与内参 GAPDH 的光密度比值。

1.8 统计学分析 采用 SPSS 21.0 版统计学软件进行统计分析。本研究数据以均数 \pm 标准误表示, 两组间差异比较采用 *t* 检验, 多组间差异比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胶质瘤细胞的 LncRNA-ATB 水平 qPCR 结果显示: (1) 与 NHA 细胞相比, 胶质瘤细胞 SHG-44、A172、Ln229 和 U251 中 LncRNA-ATB 水平升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 选取 LncRNA-ATB 水平最高的 U251 细胞进行后续实验; (2) 与未转染和转染 si-NC 的 U251 细胞相比, 转染 si-ATB-1 ~ 2 后的 LncRNA-ATB 水平降低 ($P < 0.05$), 选取下调水平最显著的 si-ATB-2 序列进行后续实验。未转染和转染 si-NC 的 U251 细胞在 LncRNA-ATB 水平的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 1。



A: NHA 细胞和胶质瘤细胞 (与 NHA 细胞比较, * $P < 0.05$); B: U251 细胞 (与未转染和转染 si-NC 的细胞比较, * $P < 0.05$)

图 1 胶质瘤细胞的 LncRNA-ATB 水平

2.2 下调 si-ATB 对 U251 细胞增殖的影响 CCK-8 结果显示,转染处理 48、72 h 后,si-ATB 组 U251 细胞活力较 si-NC 组降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 2。

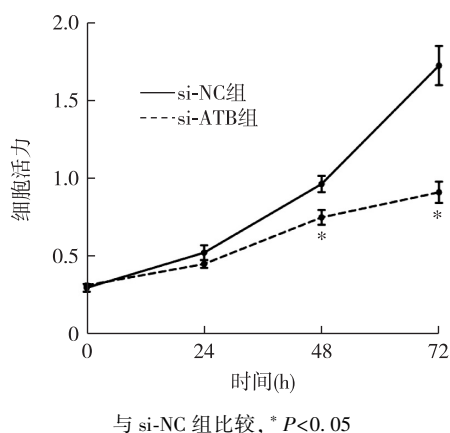


图 2 两组 U251 细胞的增殖曲线

2.3 下调 si-ATB 对 U251 细胞迁移的影响 划痕实验结果显示,si-ATB 组 U251 细胞的划痕愈合率为 $(22.667 \pm 2.728)\%$, 低于 si-NC 组的 $(72.333 \pm 3.844)\%$, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 3。

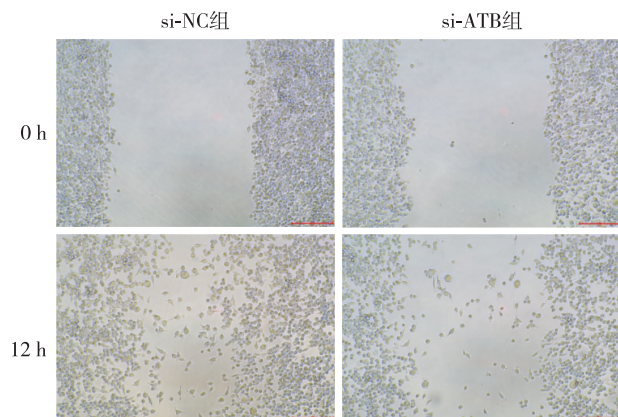
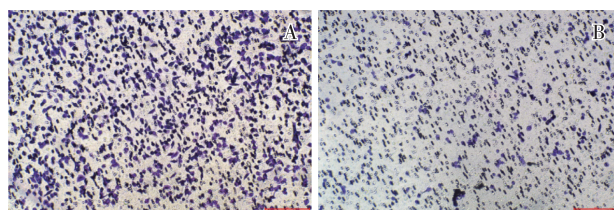


图 3 两组 U251 细胞迁移能力检测的划痕实验记录图($\times 100$)

2.4 下调 si-ATB 对 U251 细胞侵袭的影响 Transwell 小室结果显示,si-ATB 组转染 U251 细胞的穿膜数量为 (53.667 ± 4.055) 个, 少于 si-NC 组的 (103.333 ± 4.055) 个, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 4。

2.5 G-Rh2 对 U251 细胞活性的影响 CCK-8 结果显示,与未处理组相比,不同浓度 G-Rh2 处理 U251 细胞 48 h 后的增殖活力降低 ($P < 0.05$), 且 IC_{50} 值为



A: si-NC 组; B: si-ATB 组

图 4 两组 U251 细胞侵袭能力检测的 Transwell 小室实验记录图($\times 100$)

20.992 $\mu\text{g/ml}$, 故选择 20 $\mu\text{g/ml}$ G-Rh2 处理 U251 细胞。见图 5。

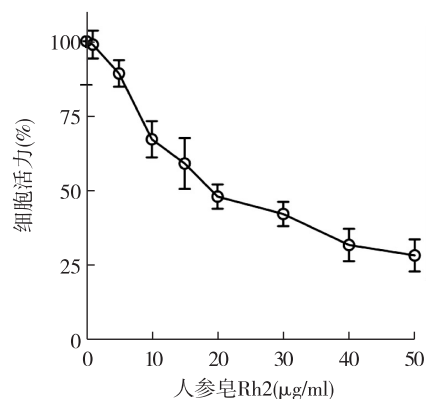


图 5 U251 细胞经不同浓度 G-Rh2 处理后的增殖曲线

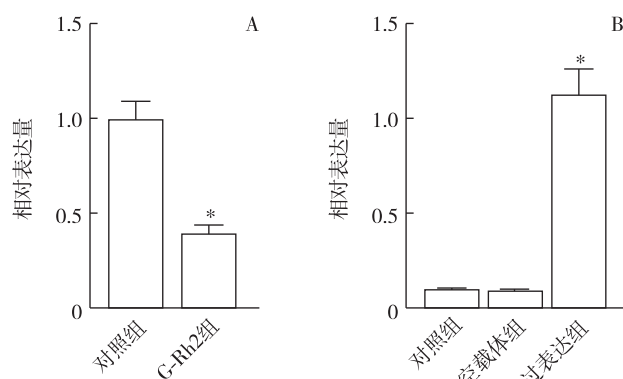
2.6 G-Rh2 对 U251 细胞 LncRNA-ATB 水平的影响 qPCR 结果显示:(1)与对照组细胞相比,G-Rh2 组的 LncRNA-ATB 水平降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);(2)与对照组和空载体组相比,ATB 过表达组的 LncRNA-ATB 水平升高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),而对照组和空载体组 LncRNA-ATB 水平的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 6。

2.7 G-Rh2 通过 LncRNA-ATB 对 U251 细胞增殖的影响 U251 细胞加入 20 $\mu\text{g/ml}$ G-Rh2 同时增强 LncRNA-ATB 表达,CCK-8 结果显示,G-Rh2 组处理 48、72 h 后的 U251 细胞活力低于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);G-Rh2+ATB 组处理 48、72 h 后的 U251 细胞活力高于 G-Rh2 组 ($P < 0.05$),且与对照组相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 7。

2.8 G-Rh2 通过 LncRNA-ATB 对 U251 细胞迁移的影响 细胞划痕实验结果显示,G-Rh2 组 U251 细胞的划痕愈合率为 $(39.667 \pm 1.764)\%$, 低于对照组的 $(79.667 \pm 2.906)\%$, 差异有统计学意义 ($P <$

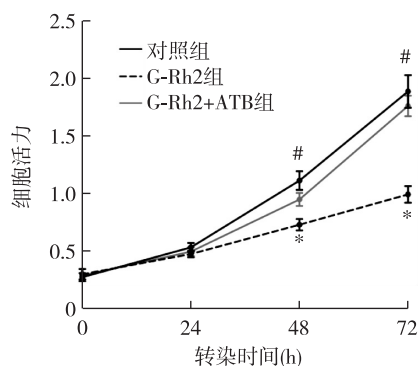
0.05); G-Rh2+ATB 组 U251 细胞的划痕愈合率为 $(77.333 \pm 3.844)\%$, 高于 G-Rh2 组 ($P < 0.05$), 且与

对照组的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 8。



A: G-Rh2 处理 (与对照组细胞比较, $*P < 0.05$); B: LncRNA-ATB 过表达载体转染 (与其余两组细胞比较, $*P < 0.05$)

图 6 U251 细胞经 G-Rh2 或 LncRNA-ATB 过表达处理后的 LncRNA-ATB 水平



与对照组比较, $\#P < 0.05$; 与 G-Rh2 组比较, $*P < 0.05$

图 7 三组 U251 细胞的增殖曲线

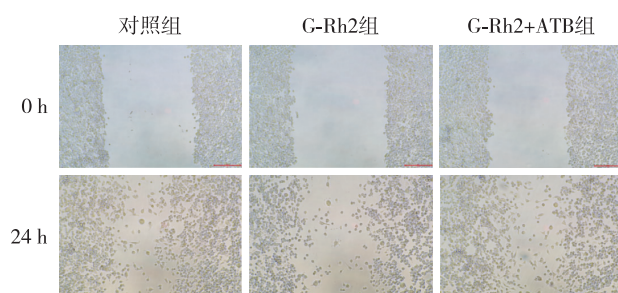
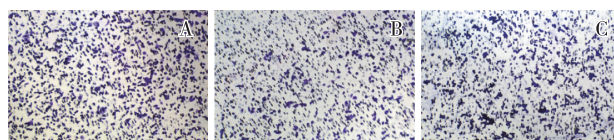


图 8 三组 U251 细胞迁移能力检测的划痕实验记录图 ($\times 100$)

2.9 G-Rh2 通过 LncRNA-ATB 对 U251 细胞侵袭的影响 Transwell 小室实验结果显示, G-Rh2 组 U251 细胞的穿膜数量为 (32.627 ± 2.315) 个, 低于对照组的 (70.083 ± 2.963) 个, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); G-Rh2+ATB 组 U251 细胞的穿膜数量为 $(69.716 \pm 2.603)\%$, 高于 G-Rh2 组 ($P < 0.05$), 且与

对照组的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 9。



A: 对照组; B: G-Rh2 组; C: G-Rh2+ATB 组

图 9 三组 U251 细胞侵袭能力检测的 Transwell 小室实验记录图 ($\times 100$)

2.10 G-Rh2 通过 LncRNA-ATB 对 U251 细胞 Snail 和 MMP-9 表达的影响 qPCR 和 Western blotting 结果显示, G-Rh2 组 Snail 和 MMP-9 的 mRNA 和蛋白水平低于对照组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); G-Rh2+ATB 组 MMP-9 和 Snail 的 mRNA 和蛋白水平高于 G-Rh2 组 ($P < 0.05$), 且与对照组的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 10、图 11。

3 讨论

越来越多的 lncRNAs 被证明在肿瘤进展中发挥重要作用, 影响肿瘤细胞生物学过程^[5,16]。LncRNA-ATB 是一种由转化生长因子信号调控的 lncRNA 转录本, 已被证实参与多种病理过程。本研究检测了 LncRNA-ATB 在人星形胶质细胞 NHA 和不同胶质瘤细胞 (SHG-44、A172、Ln229、U87 和 U251) 中的水平, 结果显示 LncRNA-ATB 在胶质瘤细胞中异常高表达, 并且 U251 细胞中的水平约为 NHA 细胞的 2 倍。随后在 U251 细胞中转染 si-ATB 片段进行功能验证实验, 检测发现干扰 LncRNA-

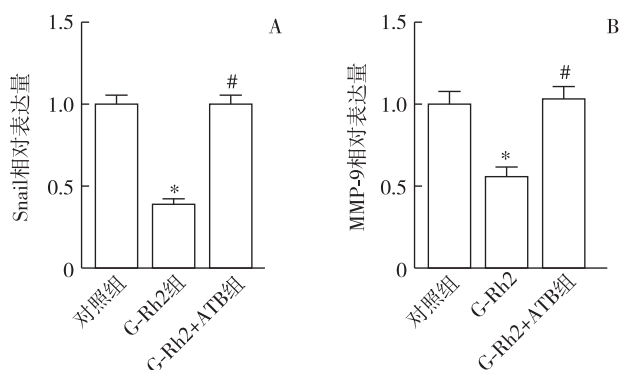
A: Snail; B: MMP-9; 与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 G-Rh2 组比较, # $P < 0.05$

图 10 三组 U251 细胞的 Snail 和 MMP-9 mRNA 水平

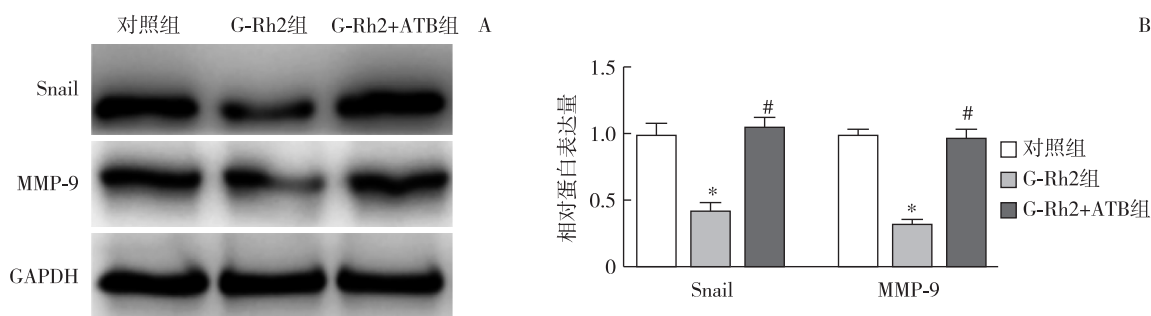
A: Western blotting 记录图; B: 相对表达量; 与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 G-Rh2 组比较, # $P < 0.05$

图 11 三组 U251 细胞的 Snail 和 MMP-9 蛋白水平

ATB 表达后 U251 细胞的增殖、迁移和侵袭过程明显受到抑制,抑制了胶质瘤细胞恶性表型的发展。在以往的研究中,LncRNA-ATB 在多种肿瘤中过表达,作为一种促癌因子发挥作用,如肝癌、卵巢癌、乳腺癌、肾癌、胶质瘤等^[17-22]。Wang 等^[17]发现 LncRNA-ATB 水平与患者肿瘤大小、TNM 分期和较差的生存期呈显著正相关;过表达 LncRNA-ATB 促进了体外肝癌细胞的增殖和克隆能力。另外,LncRNA-ATB 通过激活 Yes 相关蛋白并与自噬相关蛋白 5 相互作用来促进自噬。在胶质瘤中,Tang 等^[21]研究发现 LncRNA-ATB 激活核转录因子 κ B 通路并刺激 P65 入核,同时激活 P38/MAPK 通路,明显增强 TGF- β 介导的胶质瘤细胞侵袭。此外,LncRNA-ATB 还被报道通过负调控 miR-200a 表达来加速胶质瘤恶性发展^[22]。本研究结果显示下调 LncRNA-ATB 表达明显抑制了胶质瘤的增殖和转移,说明 LncRNA-ATB 能够充当促癌因子在胶质瘤发展中发挥作用。

人参作为历史悠久的珍贵传统中药在人类疾

病治疗和保健中应用广泛。随着现代提取工艺技术的提高,目前从人参中已鉴定出 100 多种人参皂苷活性成分。G-Rh2 因具有诱导多种肿瘤细胞凋亡能力而被列为一种新型天然抗癌药物,与 Rb1、Rb2、Rg1 等相比,具有更强的抗肿瘤活性^[10]。近年来,人们注意到 G-Rh2 在抑制肿瘤细胞增殖、阻滞细胞转移方面具有更多功能。本研究采用不同浓度(0~50 μ g/ml) G-Rh2 处理后,细胞的增殖活性明显受到抑制,且 G-Rh2 的 IC_{50} 为 20.992 μ g/ml;另外,本研究还发现 G-Rh2 (20 μ g/ml) 处理明显抑制了 U251 细胞中 LncRNA-ATB 的表达,推测 G-Rh2 可能通过负调控 LncRNA-ATB 来影响 U251 细胞恶性表型。本研究在 U251 细胞中进行 G-Rh2 处理,同时增强 LncRNA-ATB 表达,检测发现 G-Rh2 处理明显减弱了 U251 细胞的增殖、迁移和侵袭能力,说明 G-Rh2 具有抗肿瘤活性;而上调 LncRNA-ATB 表达明显缓解了 G-Rh2 对 U251 细胞增殖和转移的抑制作用。

另外, G-Rh2 处理明显下调了 U251 细胞的

MMP-9 和 Snail 表达,而 G-Rh2 与 LncRNA-ATB 共处理后 MMP-9 和 Snail 表达得到缓解,以上结果说明 G-Rh2 能够明显抑制 U251 细胞的增殖和迁移能力,并且这种抑制作用可以通过 LncRNA-ATB 得以实现。此前有研究表明,在营养缺乏条件下,G-Rh2 通过释放凋亡诱导因子,降低溶酶体活性并负调控自噬体与溶酶体融合,抑制宫颈癌细胞自噬并促进细胞凋亡^[12]。G-Rh2 通过调节 NF- κ B、MAPK、PI3K/Akt/mTOR 信号通路抑制骨肉瘤 U2OS 细胞的增殖和迁移,发挥抗癌作用^[23]。G-Rh2 还被证实通过调节 Akt 信号通路抑制胶质瘤细胞增殖并诱导细胞周期阻滞^[11]。近期,有学者研究发现 G-Rh2 能够与特殊小分子作用来参与肿瘤的恶性发展。例如,Jeong 等^[24]研究表明 G-Rh2 诱导 LncRNA C3orf67-AS1 的启动子 CpG 位点高甲基化,通过表观遗传学调控介导抗乳腺癌细胞增殖作用。本研究数据表明 G-Rh2 可能抑制 LncRNA-ATB 表达,同时下调 Snail 和 MMP-9 水平,抑制 U251 细胞增殖和迁移侵袭,显示出显著的抗肿瘤活性。

综上所述,G-Rh2 能够下调 LncRNA-ATB 表达,抑制 U251 细胞的增殖、迁移与侵袭,减轻胶质瘤细胞的恶性行为,为 G-Rh2 结合 LncRNA-ATB 在胶质瘤靶向治疗的临床推广中提供一定实验依据。

参考文献

- [1] Sonoda Y. Clinical impact of revisions to the WHO classification of diffuse gliomas and associated future problems [J]. *Int J Clin Oncol*, 2020, 25(6): 1004-1009.
- [2] Gusyatiner O, Hegi ME. Glioma epigenetics: From subclassification to novel treatment options [J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 51: 50-58.
- [3] Ruff M, Kizilbash S, Buckner J. Further understanding of glioma mechanisms of pathogenesis: implications for therapeutic development [J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2020, 20(5): 355-363.
- [4] Cheng J, Meng J, Zhu L, et al. Exosomal noncoding RNAs in glioma: biological functions and potential clinical applications [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 66.
- [5] Kopp F, Mendell JT. Functional classification and experimental dissection of long noncoding RNAs [J]. *Cell*, 2018, 172(3): 393-407.
- [6] Ma CC, Xiong Z, Zhu GN, et al. Long non-coding RNA ATB promotes glioma malignancy by negatively regulating miR-200a [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, 35(1): 90.
- [7] Xia T, Zhang B, Li Y, et al. New insight into 20(S)-ginsenoside Rh2 against T-cell acute lymphoblastic leukemia associated with the gut microbiota and the immune system [J]. *Eur J Med Chem*, 2020, 203: 112582.
- [8] Sun M, Zhu C, Long J, et al. PLGA microsphere-based composite hydrogel for dual delivery of ciprofloxacin and ginsenoside Rh2 to treat *Staphylococcus aureus*-induced skin infections [J]. *Drug Deliv*, 2020, 27(1): 632-641.
- [9] Chen XY, Qian F, Wang YY, et al. Ginsenoside 20(S)-Rh2 promotes cellular pharmacokinetics and intracellular antibacterial activity of levofloxacin against *Staphylococcus aureus* through drug efflux inhibition and subcellular stabilization [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42(11): 12.
- [10] Li X, Chu S, Lin M, et al. Anticancer property of ginsenoside Rh2 from ginseng [J]. *Eur J Med Chem*, 2020, 203: 112627.
- [11] Li KF, Kang CM, Yin XF, et al. Ginsenoside Rh2 inhibits human A172 glioma cell proliferation and induces cell cycle arrest status via modulating Akt signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(2): 3062-3068.
- [12] Wang J, Bian S, Wang S, et al. Ginsenoside Rh2 represses autophagy to promote cervical cancer cell apoptosis during starvation [J]. *Chin Med*, 2020, 15(1): 118.
- [13] Lee H, Lee S, Jeong D, et al. Ginsenoside Rh2 epigenetically regulates cell-mediated immune pathway to inhibit proliferation of MCF-7 breast cancer cells [J]. *J Ginseng Res*, 2018, 42(4): 455-462.
- [14] Li H, Huang N, Zhu W, et al. Modulation the crosstalk between tumor-associated macrophages and non-small cell lung cancer to inhibit tumor migration and invasion by ginsenoside Rh2 [J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 579.
- [15] Wei W, Guo Q, Guo C, et al. Ginsenoside Rh2 suppresses metastasis and growth of colon cancer via miR-491 [J]. *J Oncol*, 2021, 2021: 6815713.
- [16] Nandwani A, Rathore S, Datta M. LncRNAs in cancer: Regulatory and therapeutic implications [J]. *Cancer Lett*, 2021, 501: 162-171.
- [17] Wang CZ, Yan GX, Dong DS, et al. LncRNA-ATB promotes autophagy by activating Yes-associated protein and inducing autophagy-related protein 5 expression in hepatocellular carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(35): 5310-5322.
- [18] Song C, Xiong Y, Liao W, et al. Long noncoding RNA ATB participates in the development of renal cell carcinoma by downregulating p53 via binding to DNMT1 [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(8): 12910-12917.
- [19] Chen XJ, An N. Long noncoding RNA ATB promotes ovarian cancer tumorigenesis by mediating histone H3 lysine 27 trimethylation through binding to EZH2 [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(1): 37-46.
- [20] Zhu L, Jiang S, Yu S, et al. Increased SIX-1 expression promotes breast cancer metastasis by regulating LncATB-miR-200s-ZEB1 axis [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(9): 5290-5303.
- [21] Tang F, Wang H, Chen E, et al. LncRNA-ATB promotes TGF- β -induced glioma cells invasion through NF- κ B and P38/MAPK

- pathway [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(12): 23302-23314.
- [22] Ma CC, Xiong Z, Zhu GN, et al. Long non-coding RNA ATB promotes glioma malignancy by negatively regulating miR-200a [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2016, 35(1): 90.
- [23] Li C, Gao H, Feng X, et al. Ginsenoside Rh2 impedes proliferation and migration and induces apoptosis by regulating NF- κ B, MAPK, and PI3K/Akt/mTOR signaling pathways in osteosarcoma cells [J/OL]. J Biochem Mol Toxicol, 2020[2021-11-16]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbt.22597>.
- [24] Jeong D, Ham J, Park S, et al. Ginsenoside Rh2 suppresses breast cancer cell proliferation by epigenetically regulating the long noncoding RNA C3orf67-AS1 [J]. Am J Chin Med, 2019, 47(7): 1643-1658.

收稿日期:2021-10-25; 修回日期:2022-01-18

关于参考文献的引用要求

参考文献应以作者亲自阅读过的近 5 年内公开发表的文献为主,随着科技信息的迅速更新和传播,最好为近 2 年内发表的新文献,一般不应采用内部资料(重要的学术会议论文集除外)。

参考文献依次用阿拉伯数字排列于文末;在文中则依照其顺序用阿拉伯数字加方括号以右上角码形式标出,宜标在所引文献的作者的右上角,如李明^[1]、陈山等^[2],不标在所引文献的文末,但如果引用一段内容,而未标出引文作者,则可标在文末,如^[3]、^[4-5];文中与文末标注序号须一致。参考文献中的作者,第 1~3 名须全部列出,3 名以上只列前 3 名,后跟“等”(英文用“et al”)。中文期刊用全名,外文期刊名称用缩写,以《Index Medicus》中的格式为准。每条参考文献均须著录刊名、文题、年份、卷(期)、起止页。在“文题”后面,根据不同文献类型,分别用[]号标注出文献类型标识符号:“J”(期刊)、“M”(专著)、“C”(论文集)、“D”(学位论文)、“R”(报告)、“N”(报纸)、“S”(标准)、“P”(专利)和“EB”(电子公告);如系电子文献,应同时标注电子文献载体类型标识符号:“DK”(磁盘)、“CD”(光盘)和“OL”(联机网络),与文献类型标识之间用“/”隔开,如[J/OL],同时需提供作者引用日期和获取或访问路径。如引用书籍内容,除表明作者(1~3 名须全部列出)、书名(包括卷、册次)、出版社、出版年份、起止页外,尚须注明版次(第 1 版可省略)、出版地。如系论文集,按序号、作者、题目、论文集名、出版地、出版者、年及起止页著录。

作者必须对所引用的参考文献逐一核对其原文以及摘要,对于引用摘要性文献(尤其外文文献),需向编辑部提供文献摘要的全部资料。

《临床肿瘤学杂志》编辑部

二〇二二年四月十日