甲基硒酸调控胃癌MGC-803细胞的作用机制研究

付晓霞，李 洵*，樊丽伟，张东姣，汪景坤，张 磊，赵彦焕
（中国人民解放军陆军第八十二集团军医院消化内科，河北保定 071000）

摘要：目的 探讨甲基硒酸（methylseleninic acid，MSA）对胃癌 MGC-803 细胞增殖、侵袭迁移和凋亡的影响及其相关机制。**方法** 将对数生长期的胃癌 MGC-803 细胞随机分为对照组、不同浓度（5、10、15 μmol/L）MSA 组、抑制剂 XAV939 组和激活剂 SKL2001 ＋ MSA 组。采用 MTT 法检测 MSA 干预 MGC-803 细胞 24、48 和 72 h 后的细胞活力；Transwell 小室法检测细胞侵袭、迁移能力；流式细胞术检测细胞凋亡率与周期分布；采用免疫印迹法检测 β- 联蛋白（β-catenin）、糖原合成酶激酶 -3β（glycogen synthase kinase 3β，Gsk-3β）、轴抑制蛋白 2（axis inhibition protein 2，Axin2）的表达水平。**结果** 与对照组相比，不同浓度（5、10、15 μmol/L）MSA 组 MGC-803 细胞活力、S 期细胞比例、细胞侵袭、迁移数目和 β- 联蛋白表达水平均降低（$P < 0.05$）；MGC-803 细胞凋亡率、G0/G1 期细胞比例、Gsk-3β、Axin2 蛋白表达量均增高（$P < 0.05$），且均呈浓度依赖性；与对照组相比，XAV939 组 MGC-803 细胞活力、S 期细胞比例、细胞侵袭、迁移数目和 β- 联蛋白表达水平均显著降低（$P < 0.05$），MGC-803 细胞凋亡率、G0/G1 期细胞比例、Gsk-3β、Axin2 蛋白表达水平均显著增高（$P < 0.05$）；与 MSA 组相比，激活剂 SKL2001 ＋ MSA 组 MGC-803 细胞活力、S 期细胞比例、细胞侵袭、迁移数目和 β- 联蛋白表达水平均增高（$P < 0.05$），MGC-803 细胞凋亡率、G0/G1 期细胞比例、Gsk-3β 和 Axin2 蛋白表达水平均降低（$P < 0.05$）。**结论** MSA 可通过 Wnt/β-catenin 信号通路抑制胃癌细胞增殖、侵袭和迁移，并诱导其凋亡。

关键词：甲基硒酸；Wnt/β-catenin；胃癌；增殖；凋亡
中图分类号：R735.2 **文献标志码**：A **文章编号**：1672-9188（2022）04-0394-09
DOI：10.13683/j.wph.2022.04.007

Mechanism of methylselenic acid regulating the gastric cancer MGC-803 cells

FU Xiaoxia, LI Xun*, FAN Liwei, ZHANG Dongjiao, WANG Jingkun, ZHANG Lei, ZHAO Yanhuan
(*Department of Gastroenterology, the 82nd Group Army Hospital of the Chinese People's Liberation Army, Baoding 071000, Hebei Province, China*)

Abstract ***Objective*** To explore the effects of methylseleninic acid (MSA) on proliferation, invasion, migration and apoptosis of gastric cancer MGC-803 cells and the related mechanisms. ***Methods*** Gastric cancer MGC-803 cells in logarithmic growth phase were randomly divided into control group, different concentrations (5, 10, 15 μmol/L) MSA group, inhibitor XAV939 group, activator SKL2001＋MSA group. MTT colorimetric assay was used to detect the cell viability of MGC-803 cells after treated with MSA for 24 h, 48 h and 72 h. Transwell Chambers method was used to detect the cell invasion and migration ability. Flow cytometry was applied to detect cell apoptosis rate and cell cycle distribution. Western blot was adopted to analyse the protein expression levels of β-catenin, Glycogen synthase kinase-3β (Gsk-3β), Axis inhibition protein 2 (Axin2). ***Results*** Compared with the control group, different concentrations of (5, 10, 15 μmol/L) MSA group significantly inhibited the proliferation of MGC-803 cells, decreased the proportion of S-phase cells, the number of cell invasion, migration and the protein expression levels of β-catenin of gastric cancer MGC-803 cells ($P<0.05$), but promoted the G0/G1 phase cell ratio, apoptosis rate, Gsk-3β and Axin2 protein expression ($P<0.05$) in a dose-dependent manner. Compared with the control group, MGC-803 cell viability, S-phase cell ratio, cell invasions number, migration

收稿日期：2021-11-16
作者简介：付晓霞，副主任医师，研究方向：消化道肿瘤的防治。
通信作者：李洵，副主任医师，研究方向：消化道肿瘤的防治。
基金项目：河北省保定市科技计划项目（18ZF181）

number and expression levels of β-catenin protein in XAV939 group were significantly decreased ($P<0.05$), and G0/G1 phase cell ratio, apoptosis rate and expression levels of Gsk-3β and Axin2 protein were greatly increased ($P<0.05$). Compared with the MSA group, the SKL2001＋MSA group improved cell viability, S-phase cell ratio, number of cell invasion and migration, expression of β-catenin protein ($P<0.05$), and decreased G0/G1 phase cell ratio, apoptosis rate, Gsk-3β and Axin2 protein levels ($P<0.05$). ***Conclusion*** MSA inhibits cell proliferation, invasion and migration of gastric cancer cells and induces cell apoptosis by Wnt/β-catenin signal pathway.

Key words: methylseleninic acid; Wnt/β-catenin; gastric cancer; proliferation; apoptosis

胃癌是全球第 5 大常见的恶性肿瘤，在癌症相关死亡率中排第 3 位 [1]。据统计，2020 年全球新增胃癌病例数已超 100 万例，死亡人数约 76.9 万，对人类健康产生了严重威胁 [2]。因大部分早期胃癌患者无症状，故出现不适时常常已进展到了中晚期 [3]。目前胃癌治疗的主要方法是手术和化学治疗 [4]，但由于胃癌细胞具有高度增殖、侵袭和迁移能力 [5]，常引起肿瘤病灶的转移或复发，加剧了临床治疗难度，患者预后较差。因此，寻找新的胃癌治疗方法来改善患者预后仍是现阶段研究的热点之一。

近年来，一种单甲基硒化合物，甲基硒酸 (methylseleninic acid，MSA) 的抗肿瘤特性越来越受到关注 [6]。有研究发现，MSA 在口腔鳞癌 [7]、食管鳞癌 [8]、结肠癌 [9] 及胰腺癌 [10] 等多种肿瘤中均具有良好的抗肿瘤活性，并可抑制小鼠乳腺肿瘤病毒多瘤中间 T 抗原转基因雄性小鼠乳腺肿瘤的发生及肺转移 [11]。但关于 MSA 对胃癌细胞增殖、侵袭、迁移与凋亡的作用研究却鲜有报道。故本研究通过体外试验，观察 MSA 对胃癌细胞 MGC-803 增殖、侵袭、迁移及凋亡的影响，并结合 Wnt/β-catenin 信号通路，进一步探讨其可能的抑瘤作用机制，以期为 MSA 在胃癌中的治疗提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料和试剂

胃癌细胞 MGC-803 购自美国 ATCC 细胞库。RPMI-1640 培养基、胎牛血清、胰酶 -EDTA 消化液均购自美国 Gibco 公司。MSA、MTT 购自美国 Sigma-Aldrich 公司。抑制剂 XAV939、激活剂 SKL2001 均购自上海 MedChemExpress 公司。RIPA 裂解液购自北京索莱宝公司。Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒购自上海碧云天生物技术研究所。Transwell 小室购自美国 Corning 公司。Matrigel 基质胶购自美国 BD Bioscience 公司。细胞周期蛋白 D1(CyclinD1)、基质金属蛋白酶 -2(matrix metalloproteinase 2，MMP-2)、活化含半胱氨酸的门冬氨酸蛋白水解酶 -3(cleaved cysteinyl aspartate-specific proteinase-3，Cleaved Caspase-3)、β- 联蛋白 (β-catenin)、糖原合成酶激酶 -3β(glycogen synthase kinase-3β，Gsk-3β)、轴抑制蛋白 2(axis inhibition protein 2，Axin2) 抗体均购自美国 Cellular Signaling Technology 公司。β- 肌动蛋白 (β-actin) 抗体购自 Santa Cruz 公司。辣根过氧化物酶标记二抗购自武汉博士德生物有限公司。

1.2 细胞培养与分组

胃癌细胞 MGC-803 加入 RPMI-1640 培养基 (含 10% 胎牛血清)，置 37 ℃、5% 二氧化碳培养箱常规培养。观察细胞生长状态，待细胞密度 70% ～ 80% 时，加入 0.25% 胰酶 -EDTA 消化 1 ～ 3 min，按 1 ∶ 3 比例传代。将对数生长期的 MGC-803 细胞随机分为对照组、不同浓度 (5、10、15 μmol/L)MSA 组、抑制剂 XAV939 组 (10 μmol/L)、激活剂 SKL2001 (20 μmol/L) ＋ MSA(10 μmol/L) 组。培养 48 h 后，收集 MGC-803 细胞用于后续研究。

1.3 细胞增殖检测

将细胞密度为 1×10^5 个 /ml 的各组胃癌细胞 MGC-803 接种于 96 孔细胞板，每组设 3 个复孔，分别培养 24、48 和 72 h 后 (抑制剂 XAV939 组、激活剂 SKL2001 ＋ MSA 组培养 48 h)，每孔加入 20 μl

5 mg/ml 的 MTT 溶液，37 ℃培养 4 h，弃去培养液，加入 150 μl 二甲亚砜，室温摇床振荡孵育 10 min，充分溶解结晶，用酶标仪检测各孔在 490 nm 波长处的吸光度（optical density，OD）。以时间为横坐标，OD_{490} 值为纵坐标，绘制细胞增殖曲线。其中，OD_{490} 值越大，表示细胞活性越强。

1.4 细胞侵袭、迁移检测

检测胃癌细胞 MGC-803 侵袭能力时，将 Matrigel 胶与无血清 RPMI-1640 培养基混匀，加入 Transwell 小室的上室，于 37 ℃静置 3 ～ 4 h。收集各组 MGC-803 细胞，制成 5×10^5 个 /ml 的细胞悬液，吸取 100 μl 接种于上室。下室加入含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基。37 ℃培养 48 h，用无菌棉签擦除多余细胞和 Matrigel 胶，甲醛固定 15 min，结晶紫染色 20 min，于显微镜下观察，记录细胞侵袭数目。

检测胃癌细胞 MGC-803 迁移能力时，Transwell 上室不铺 Matrigel 胶，其余步骤同上。

1.5 细胞凋亡与周期检测

收集各组 MGC-803 细胞，将细胞密度调整为 1×10^6 个 /ml，严格按照细胞凋亡试剂盒说明书进行操作，用 195 μl Annexin V-FITC 结合液重悬细胞，加入 5 μl Annexin V-FITC，轻轻混匀，再加入 10 μl 碘化丙啶（propidium iodide，PI）染液，轻轻混匀，室温条件下避光孵育 20 min，于流式细胞仪评估细胞凋亡率（早期细胞凋亡率＋晚期细胞凋亡率）。

各组 MGC-803 细胞用 75% 乙醇固定，过夜，用 4 ℃的 PBS 洗涤 2 次，将细胞悬浮于 100 μl 5 mg/ml RNase 溶液中，室温避光孵育 30 min，后于 4 ℃用 0.05 mg/ml PI 溶液避光染色 20 min。收集染色细胞，于流式细胞仪进行细胞周期分析。

1.6 目的蛋白表达检测

使用免疫印迹法（western blot，WB）检测目的蛋白表达，在各组胃癌细胞 MGC-803 中加入 RIPA 裂解液，冰上裂解 30 min，离心吸取上清液，加入蛋白上样缓冲液混合均匀，煮沸 10 min，使蛋白变性，后进行 10% SDS-PAGE，将蛋白转移到聚偏二氟乙烯（PVDF）膜上，5% 脱脂奶粉常温封闭 1 h，加一抗（1 ∶ 1 000），4 ℃孵育过夜，次日用 Tris-HCl-Tween 缓冲盐溶液（tris buffered saline with Tween，TBST）洗膜 3 次，每次 10 min，加二抗（1 ∶ 2 000），室温孵育 1 h，TBST 洗膜 3 次，每次 10 min，加入化学发光液，显色、曝光，以 β-actin 作为内参蛋白，Image J 软件分析蛋白条带灰度值。

1.7 统计学分析

采用软件 SPSS22.0 对数据进行统计学分析，结果以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示。两组间比较采用独立样本 t 检验，以 $P<0.05$ 认为差异具有统计学意义。多组多时间点计量资料采用重复测量数据的方差分析，以 $P<0.05/n$ 为检验水准，n 为比较次数。

2 结果

2.1 MSA 对胃癌细胞 MGC-803 增殖和周期的影响

MTT 检测结果显示，不同浓度的 MSA 分别作用于 MGC-803 细胞 24、48 和 72 h 后，细胞活性较对照组显著降低（$P<0.05$），且呈剂量、时间依赖性，见图 1A。WB 检测 MSA 对 MGC-803 细胞中 CyclinD1 蛋白表达的影响，结果显示，与对照组相比，不同浓度的 MSA 组 CyclinD1 蛋白表达量显著降低（$P<0.05$），且呈剂量依赖性，见图 1B。流式细胞仪检测 MSA 对胃癌细胞 MGC-803 周期的影响，结果表明，与对照组相比，不同浓度的 MSA 组 G0/G1 期细胞比例显著提高，S 期细胞比例降低（$P<0.05$），且呈剂量依赖性，见图 1C。

2.2 MSA 对胃癌细胞 MGC-803 侵袭和迁移的影响

Transwell 小室法检测结果显示，与对照组相比，不同浓度的 MSA 组胃癌细胞 MGC-803 的侵袭数目与迁移数目显著减少（$P<0.05$），且呈剂量依赖性，见图 2A、B。与对照组相比，不同浓度 MSA 组 MMP-2 蛋白表达显著降低（$P<0.05$），且呈剂量依赖性，见图 2C。

2.3 MSA 对胃癌细胞 MGC-803 凋亡的影响

结果显示，相比于对照组，不同浓度 MSA 组

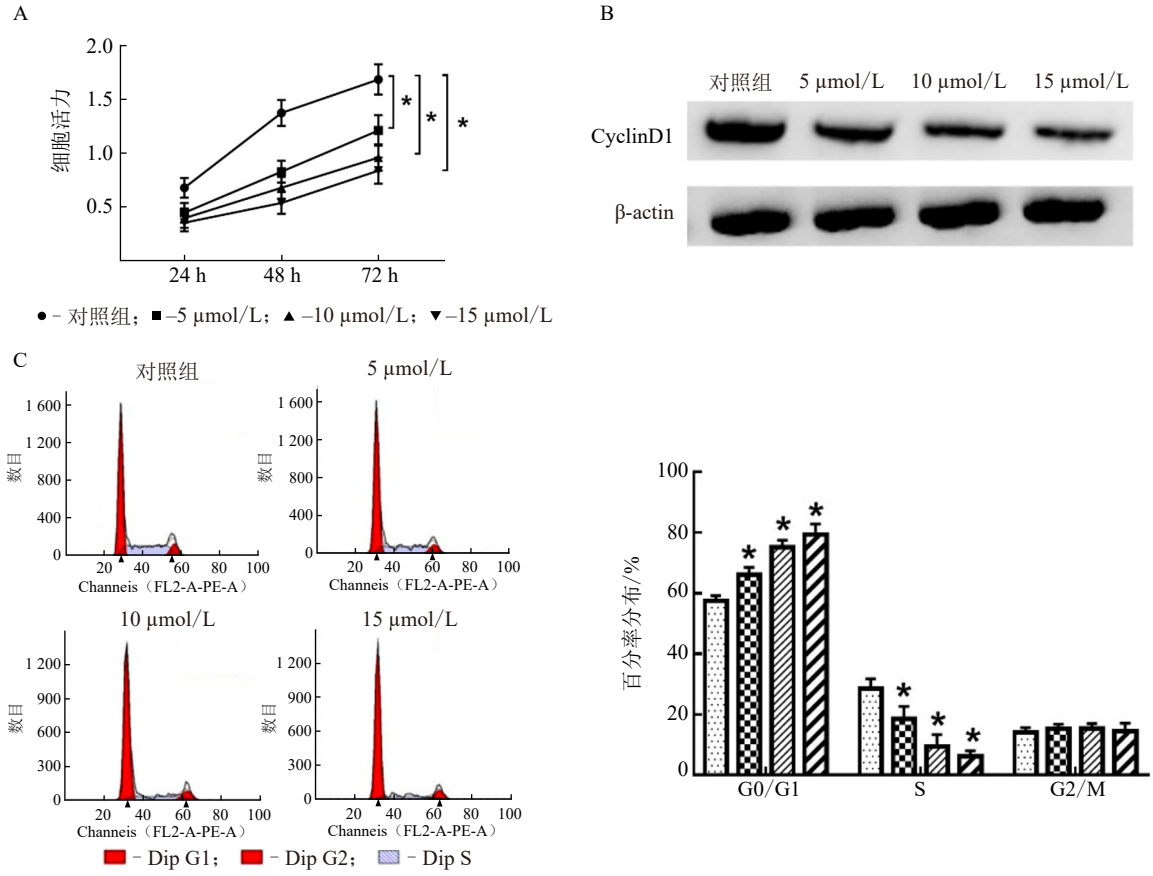
MGC-803 细胞凋亡率以剂量依赖方式显著增加（$P < 0.05$），见图 3A。Cleaved Caspase-3 蛋白在不同浓度 MSA 组处理后 MGC-803 细胞中的表达量显著高于对照组（$P < 0.05$），并表现出剂量依赖性，见图 3B。

2.4 MSA 对胃癌细胞 MGC-803 中 β-catenin、Gsk-3β、Axin2 蛋白表达的影响

WB 检测 MSA 干预胃癌细胞 MGC-803 后 Wnt/β-catenin 信号通路相关蛋白的表达情况，结果显示不同浓度 MSA 组较对照组 β-catenin 蛋白表达水平降低，Gsk-3β、Axin2 蛋白表达水平提高，差异具有统计学意义（$P < 0.05$），且均表现出一定的剂量依赖性，见图 4。

2.5 信号通路抑制剂 XAV939 对胃癌细胞 MGC-803 增殖、侵袭迁移和凋亡的影响

胃癌细胞 MGC-803 加入 Wnt/β-catenin 信号通路抑制剂 XAV939 后，相比于对照组，MGC-803 细胞活性、S 期细胞比例、细胞侵袭数目及迁移数目骤降，G0/G1 期细胞比例和细胞凋亡率大幅提升，差异均具有统计学意义（$P < 0.05$），见图 5A ～ E。对 CyclinD1、MMP-2、β-catenin、Gsk-3β 及 Axin2 蛋白表达量的检测结果显示，抑制剂 XAV939 组 CyclinD1、MMP-2 和 β-catenin 蛋白表达水平较对照组显著降低，Gsk-3β 和 Axin2 蛋白表达量显著升高

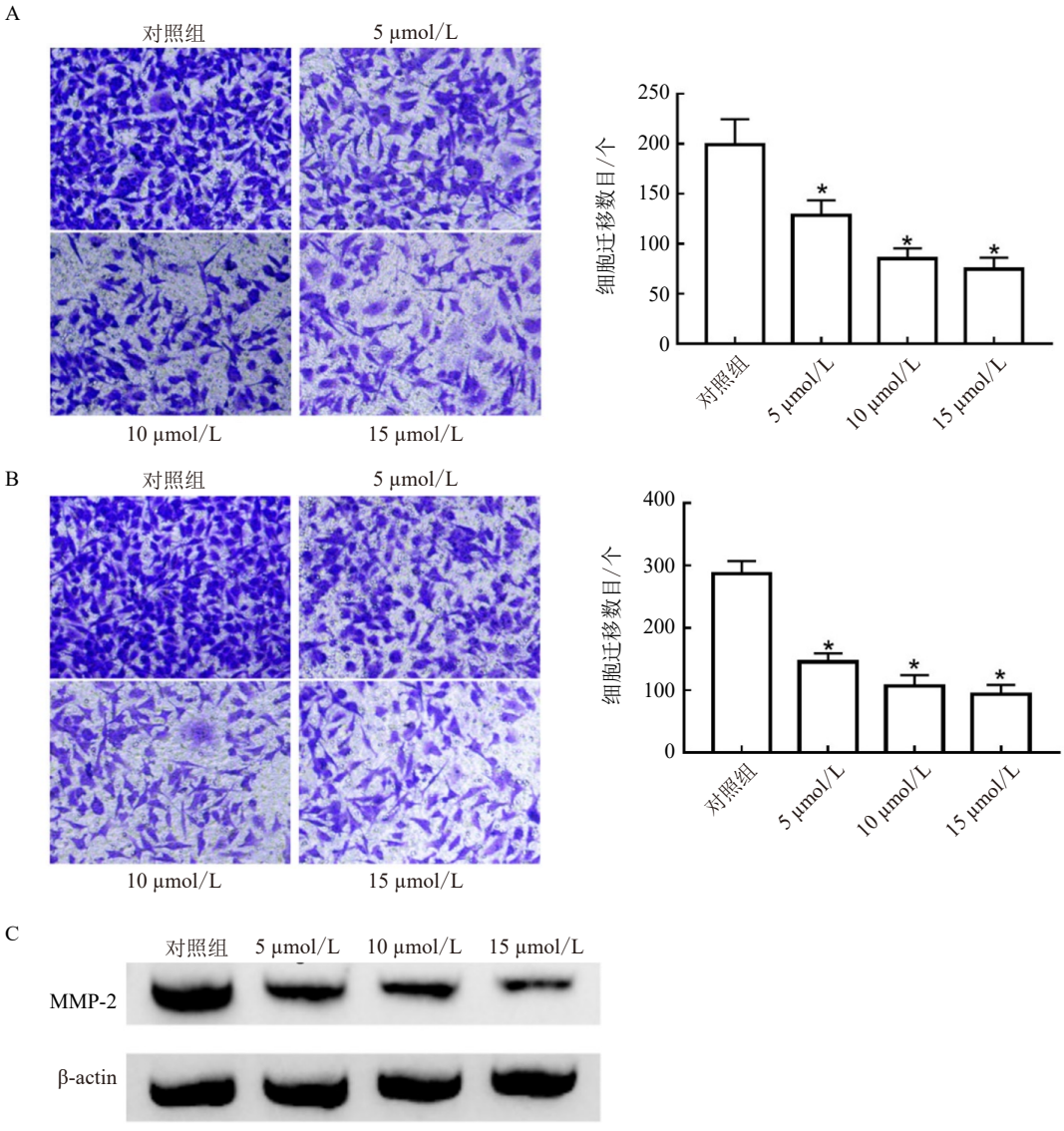


注：与对照组比较，*$P < 0.05$

Note: *vs* the control group, *$P < 0.05$

图 1 不同浓度 MSA 对胃癌细胞 MGC-803 增殖和周期的影响（$n = 9$）

Figure 1 Effects of different concentrations of MSA on the proliferation and cycle of gastric cancer cell MGC-803（$n = 9$）



注：与对照组比较，*$P < 0.05$

Note: *vs* the control group, *$P < 0.05$

图 2　不同浓度 MSA 对胃癌细胞 MGC-803 侵袭和迁移的影响（$n = 9$）

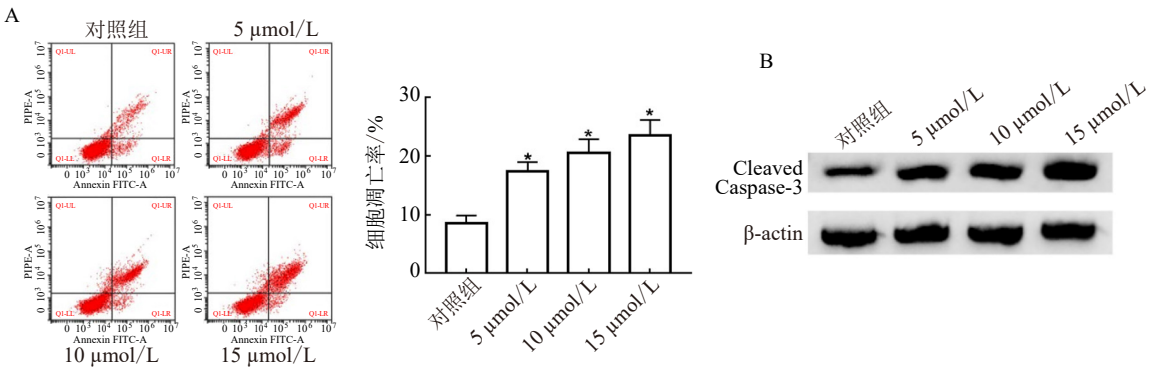
Figure 2　Effects of different concentrations of MSA on the invasion and migration of gastric cancer cells MGC-803（$n = 9$）

（$P < 0.05$），见图 5F ～ G。

2.6　信号通路激活剂 SKL2001 ＋ MSA 对胃癌细胞 MGC-803 增殖、侵袭迁移和凋亡的影响

MSA 干预胃癌细胞 MGC-803 后，相比于对照组，MGC-803 细胞活性、S 期细胞比例、细胞侵袭数目和迁移数目降低，G0/G1 期细胞比例和细胞凋亡率增加（$P < 0.05$）；相比于 MSA 组，激活剂 SKL2001 ＋ MSA 组细胞活性、S 期细胞比例、细胞侵袭数目和迁移数目升高，而 G0/G1 期细胞比例和细胞凋亡率减少，差异均具有统计学意义（$P < 0.05$），见图 6A ～ E。

与对照组比较，MSA 作用于胃癌细胞 MGC-803

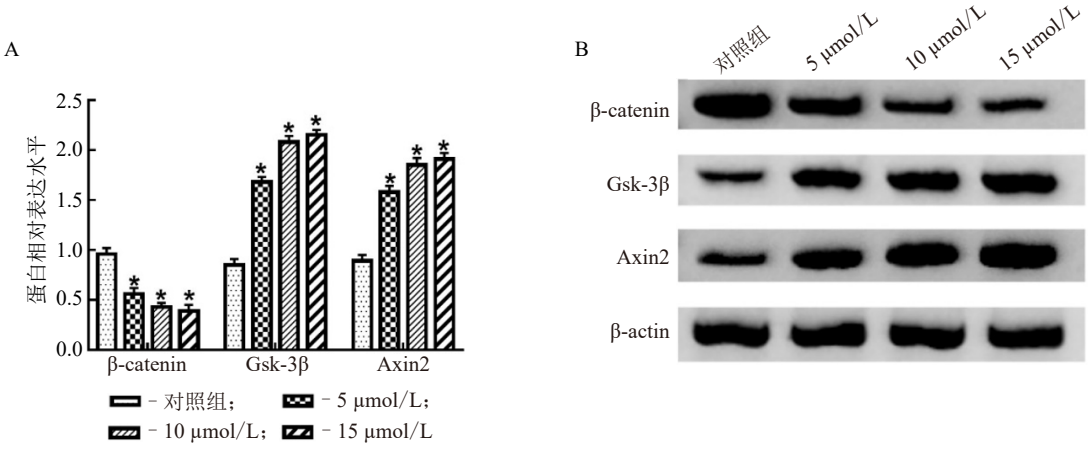


注：与对照组比较，*$P < 0.05$

Note: *vs* the control group, *$P < 0.05$

图 3　不同浓度 MSA 对胃癌细胞 MGC-803 凋亡的影响（$n = 9$）

Figure 3　Effects of different concentrations of MSA on apoptosis of gastric cancer cell MGC-803 ($n = 9$)



注：与对照组比较，*$P < 0.05$

Note: *vs* the control group, *$P < 0.05$

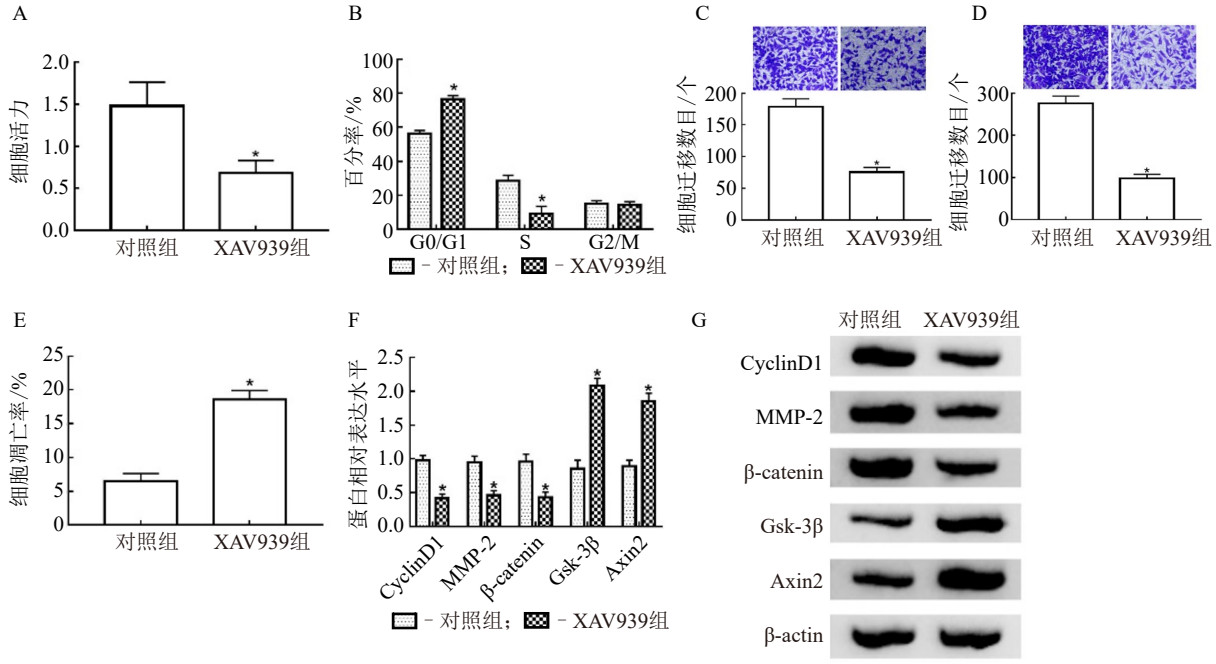
图 4　不同浓度 MSA 对胃癌细胞 MGC-803 中 β-catenin、Gsk-3β、Axin2 蛋白表达的影响（$n = 9$）

Figure 4　Effects of different concentrations of MSA on protein expression of β-catenin, Gsk-3β and Axin2 in gastric cancer cells MGC-803 ($n = 9$)

后，CyclinD1、MMP-2 及 β-catenin 蛋白表达水平显著降低，Gsk-3β 和 Axin2 蛋白表达水平提高，差异具有统计学意义（$P < 0.05$）；与 MSA 组相比，激活剂 SKL2001 ＋ MSA 组的 CyclinD1、MMP-2、β-catenin 蛋白表达水平显著提高，Gsk-3β 和 Axin2 蛋白表达水平降低，差异具有统计学意义（$P < 0.05$），见图 6F ～ G。

3　讨论

MSA 作为人类最常见的有机硒衍生物，可通过与游离硫醇（如谷胱甘肽）自发反应生成甲基硒醇，由于 MSA 的活性不依赖于裂解酶的表达，故其是一种比其他有机硒化合物更有效的抗肿瘤药物[12]。以往研究表明，MSA 在多种癌细胞中具有特定的细胞毒性作用。其可抑制宫颈癌 HeLa 细胞的增殖和迁



注：与对照组比较，*$P < 0.05$

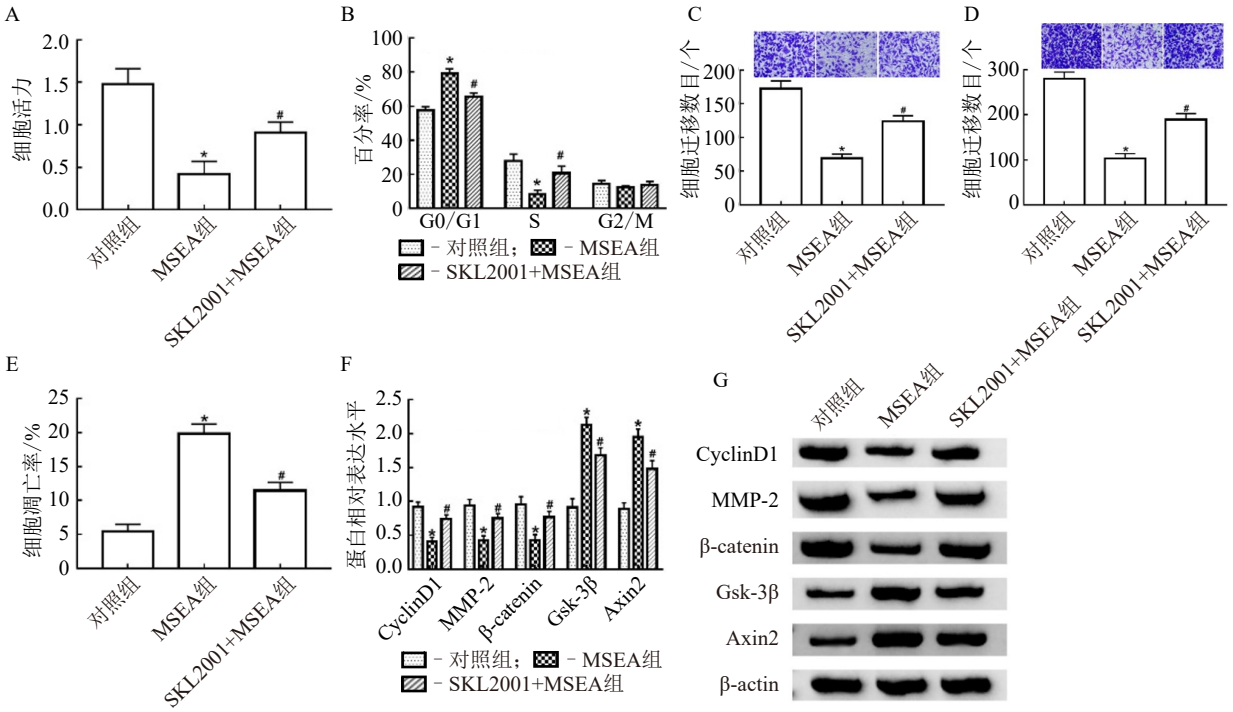
Note: *vs* the control group, *$P < 0.05$

图 5 抑制剂 XAV939 对胃癌细胞 MGC-803 增殖、侵袭迁移和凋亡的影响（$n = 9$）

Figure 5 Effects of inhibitor XAV939 on proliferation, invasion, migration and apoptosis of gastric cancer cells MGC-803（$n = 9$）

移[13]、黑色素瘤细胞的迁移[14]及小鼠乳腺移植瘤细胞生长，并通过介导 JAK/STAT 信号通路中 JAK2、STAT3 的活化，下调下游靶基因 *MMP-2* 和 *MMP-9*，促进细胞凋亡[15]。本研究中，不同浓度（5、10、15 μmol/L）MSA 组分别作用于胃癌细胞 MGC-803，结果发现 MSA 不仅以剂量依赖方式，还和每个浓度以时间依赖方式抑制 MGC-803 细胞活性。同时 MSA 以剂量依赖方式降低 MGC-803 细胞 S 期细胞比例、侵袭数目、迁移数目及 CyclinD1 和 MMP-2 蛋白表达，但以剂量依赖方式促进 MGC-803 细胞 G0/G1 期细胞比例、凋亡、Cleaved Caspase-3 蛋白表达。表明 MSA 具有抗胃癌作用，同时能够有效抑制胃癌细胞的增殖、侵袭和迁移，并诱导细胞凋亡。

Wnt/β-catenin 信号通路在人类多种癌症中的异常激活已有诸多报道[16-20]。Wnt/β-catenin 信号通路包括 Wnt 蛋白、Wnt 受体 Frizzled、β-catenin 及下游蛋白。其中，β-catenin 是 Wnt/β-catenin 途径的中枢信号蛋白[21]，CyclinD1、MMP-2、β-catenin、Gsk-3β、Axin2 是 Wnt/β-catenin 信号通路中的关键因子[22]。在有 Wnt 活化信号的情况下，Wnt 蛋白与膜受体 Frizzled 结合，并将信号传导至细胞内，由一部分 β-catenin 与抗原提呈细胞（antigen presenting cell，APC）、轴蛋白、Gsk-3β 形成的四联复合物可抑制磷酸化 β-catenin 降解，提高细胞内 β-catenin 浓度。当 β-catenin 积累到一定程度时，进入细胞核，与 Tcf/Lef 结合，开启 CyclinD1、MMP-2、原癌蛋白（c-Myc）等下游靶基因的转录[23-24]。本研究中，不同浓度的 MSA 组 Wnt/β-catenin 信号通路中 β-catenin 蛋白表达水平显著降低，而 Gsk-3β、Axin2 蛋白表达水平提高，三者均呈一定的剂量依赖性。提示 MSA 可能抑制 Wnt/β-catenin 信号通路。在 MGC-803 细胞中加入 Wnt/β-catenin 信号通路抑制剂 XAV939，结



注：与对照组比较，*$P < 0.05$；与 MSA 比较，$^{\#}P < 0.05$

Note: *vs* the control group, *$P < 0.05$ *vs* the MSA group, $^{\#}P < 0.05$

图 6　激活剂 SKL2001 ＋ MSA 对胃癌细胞 MGC-803 增殖、侵袭迁移和凋亡的影响（$n = 9$）

Figure 6　Effects of activator SKL2001 ＋ MSA on proliferation, invasion, migration and apoptosis of gastric cancer cells MGC-803（$n = 9$）

果发现 XAV939 干预后的 MGC-803 细胞活性、S 期细胞比例、细胞侵袭数目及迁移数目与 CyclinD1、MMP-2、β-catenin 蛋白表达水平均较对照组显著降低，而 G0/G1 期细胞比例、细胞凋亡率和 Gsk-3β、Axin2 蛋白表达量显著增高，这与 MSA 对 MGC-803 细胞的作用趋势相同。当 MSA 发挥着与 Wnt/β-catenin 信号通路抑制剂相同的作用，即抑制 Wnt/β-catenin 信号通路时，则说明 MSA 可抑制胃癌细胞增殖、侵袭和迁移，并诱导细胞凋亡，且可能与 Wnt/β-catenin 信号通路有关。

为了进一步探索 MSA 对于 Wnt/β-catenin 信号通路的调控作用，使用激活剂 SKL2001 干预胃癌细胞 MGC-803，发现与 MSA 组比较，激活剂 SKL2001 ＋ MSA 组的 MGC-803 细胞活性、S 期细胞比例、细胞侵袭数目、迁移数目和 CyclinD1、MMP-2、β-catenin 蛋白表达水平均显著提高，而 G0/G1 期细胞比例、细胞凋亡率和 Gsk-3β、Axin2 蛋白表达水平则降低，表明激活剂 SKL2001 抵消了 MSA 对胃癌细胞 MGC-803 增殖、侵袭、迁移及 Wnt/β-catenin 信号通路相关蛋白的影响。由此得出，MSA 抑制胃癌细胞增殖、侵袭和迁移的同时，可促进细胞凋亡，其作用可能与阻断 Wnt/β-catenin 信号通路有关。

4　结论

综上所述，MSA 可抑制胃癌细胞的增殖、侵袭和迁移，并诱导细胞凋亡，且其发挥抗胃癌作用的重要机制之一可能是抑制 Wnt/β-catenin 信号通路的激活。

参考文献：

[1] Smyth EC, Nilsson M, Grabsch HI, *et al*. Gastric cancer[J]. Lancet, 2020, 396(10251): 635-648.

[2] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, *et al*. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.

[3] Lyu ZK, Li CL, Jin Y, *et al*. Paeonol exerts potential activities to inhibit the growth, migration and invasion of human gastric cancer BGC823 cells *via* downregulating MMP-2 and MMP-9[J]. Mol Med Rep, 2017, 16(5): 7513-7519.

[4] 刘洪伟, 梅基雄. 双氢青蒿素通过Wnt/β-catenin信号通路抑制胃癌细胞的增殖和侵袭[J]. 第三军医大学学报, 2018, 40(5): 387-394.

[5] 李沐涵, 程海波, 李黎, 等. 没食子酸通过PI3K/AKT信号通路抑制胃癌MGC-803细胞侵袭性的研究[J]. 中药新药与临床药理, 2017, 28(1): 22-27.

[6] Park JM, Kim DH, Na HK, *et al*. Methylseleninic acid induces NAD(P)H: quinone oxidoreductase-1 expression through activation of NF-E2-related factor 2 in Chang liver cells[J]. Oncotarget, 2016, 9(3): 3014-3028.

[7] 周童, 张桐菲, 张泽兵, 等. 甲基硒酸对口腔癌细胞增殖、迁移、凋亡和周期的作用研究[J]. 口腔医学研究, 2019, 35(6): 568-572.

[8] 王钰. 甲基硒酸抑制食管鳞癌细胞生长的机制研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2019.

[9] Zeng H, Wu M. The inhibitory efficacy of methylseleninic acid against colon cancer xenografts in C57BL/6 mice[J]. Nutr Cancer, 2015, 67(5): 831-838.

[10] Khalkar P, Díaz-Argelich N, Antonio Palop J, *et al*. Novel methylselenoesters induce programed cell death *via* entosis in pancreatic cancer cells[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(10): 2849.

[11] Sundaram S, Yan L. Dietary supplementation with methylseleninic acid inhibits mammary tumorigenesis and metastasis in male MMTV-PyMT mice[J]. Biol Trace Elem Res, 2018, 184(1): 186-195.

[12] Lafin JT, Sarsour EH, Kalen AL, *et al*. Methylseleninic acid induces lipid peroxidation and radiation sensitivity in head and neck cancer cells[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(1): 225.

[13] 孙丽翠, 卢佳希, 刘轶群, 等. 甲基硒酸对HeLa细胞增殖和迁移功能影响的研究[J]. 卫生研究, 2014, 43(6): 1025-1027.

[14] Lennicke C, Rahn J, Bukur J, *et al*. Modulation of MHC class Ⅰ surface expression in B16F10 melanoma cells by methylseleninic acid[J]. Oncoimmunology, 2016, 6(6): e1259049.

[15] 刘玉竹. 甲基硒酸通过JAK/STAT信号通路对小鼠乳腺肿瘤中细胞凋亡的调控研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.

[16] 陈茹, 王海燕, 苏莹, 等. 白藜芦醇通过β-catenin/TCF-4信号通路对胃癌细胞增殖活性及侵袭迁移能力的影响[J]. 肿瘤药学, 2018, 8(1): 20-25.

[17] Chen G, Gao C, Gao X, *et al*. Wnt/β-catenin pathway activation mediates adaptive resistance to BRAF inhibition in colorectal cancer[J]. Mol Cancer Ther, 2018, 17(4): 806-813.

[18] Peng Y, Zhang X, Feng X, *et al*. The crosstalk between microRNAs and the Wnt/β-catenin signaling pathway in cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(8): 14089-14106.

[19] Zhu JY, Yang X, Chen Y, *et al*. Curcumin suppresses lung cancer stem cells *via* inhibiting Wnt/β-catenin and sonic hedgehog pathways[J]. Phytother Res, 2017, 31(4): 680-688.

[20] Nusse R, Clevers H. Wnt/β-catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities[J]. Cell, 2017, 169(6): 985-999.

[21] Korbut E, Ptak-Belowska A, Brzozowski T. Inhibitory effect of selenomethionine on carcinogenesis in the model of human colorectal cancer *in vitro* and its link to the Wnt/β-catenin pathway[J]. Acta Biochim Pol, 2018, 65(3): 359-366.

[22] 王倩, 陈冬玲, 张璞方, 等. PRRX2通过调控Wnt/β-catenin信号通路促进胃癌细胞活力和迁移[J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(3): 410-416.

[23] 谭影, 冯晴, 孙信, 等. 甲基硒酸对人卵巢癌顺铂耐药细胞株SKOV3/DDP耐药的逆转作用及机制[J]. 中南大学学报(医学版), 2016, 41(12): 1305-1311.

[24] 苏坚, 赵晓红, 刘芳, 等. RORα高表达抑制人胃癌MGC803细胞Wnt/β-catenin信号通路靶基因表达[J]. 中国细胞生物学学报, 2016, 38(11): 1358-1365.

（编辑：史琦琪）