麦冬皂苷 B 调节 Shh/Gli1 通路对肝细胞癌上皮间质转化及耐药性的影响

安　琪，齐光照，韩　超
（郑州大学第一附属医院药学部，河南郑州 450052）

摘要：目的　探讨麦冬皂苷 B 对肝细胞癌上皮间质转化（epithelial mesenchymal transformation，EMT）和化疗耐药性及音猬因子（sonic hedgehog，Shh）/ 胶质瘤相关癌基因同源物（glioma associated oncogene homolog，Gli）1 通路的影响。**方法**　筛选麦冬皂苷 B 合适浓度。将 HepG2 细胞分为对照组、麦冬皂苷 B 低（A 组）、中（B 组）、高浓度组（C 组）、麦冬皂苷 B 高浓度＋ Shh 激动剂组（D 组），将 HepG2/ADM 细胞分为 HepG2/ADM 组、ADM 组、麦冬皂苷 B 组及 ADM ＋麦冬皂苷 B 组。检测细胞增殖、凋亡、EMT、Shh/Gli1 通路及相关蛋白表达；检测 HepG2/ADM 细胞增殖、凋亡及 Shh、Gli1 蛋白。**结果**　与对照组相比，A、B 及 C 组 5- 乙炔基 -2' 脱氧尿嘧啶核苷（5-ethynyl-2'-deoxyuridine，EdU）阳性率、Ki67、B 细胞淋巴瘤（B cell lymphoma，Bcl）-2、神经性钙黏蛋白、波形蛋白、Shh 及 Gli1 表达依次下降，细胞凋亡率、Bcl-2 相关 X 蛋白（Bcl-2 associated X protein，Bax）及上皮细胞钙黏蛋白表达依次上升（$P < 0.05$）；与 C 组相比，D 组 Edu 阳性率、Ki67、Bcl-2、神经性钙黏附蛋白、波形蛋白、Shh 以及 Gli1 表达上升，细胞凋亡率、Bax、上皮细胞钙黏蛋白表达下降（$P < 0.05$）；与 HepG2/ADM 组相比，ADM、麦冬皂苷 B 组 EdU 阳性率、Shh 及 Gli1 表达下降，细胞凋亡率上升（$P < 0.05$）；与 ADM 及麦冬皂苷 B 组相比，ADM ＋麦冬皂苷 B 组 Edu 阳性率、Shh 及 Gli1 表达下降，细胞凋亡率上升（$P < 0.05$）。**结论**　麦冬皂苷 B 通过抑制 Shh/Gli1 通路抑制 HepG2 细胞 EMT，降低其化疗耐药性。

关键词：麦冬皂苷 B；音猬因子 / 胶质瘤相关癌基因同源物 1 通路；肝细胞癌；上皮间质转化；化疗耐药性
中图分类号：R285　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1672-9188（2024）03-0285-09
DOI：10.13683/j.wph.2024.03.008

Effects of ophiopogonin B on regulation of sonic hedgehog/glioma associated oncogene homolog 1 pathway on epithelial mesenchymal transformation and drug resistance in hepatocellular carcinoma

AN Qi, QI Guangzhao, HAN Chao
(*Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China*)

Abstract: ***Objective*** To investigate the effects of ophiopogonin B on epithelial mesenchymal transformation (EMT), chemotherapy resistance and sonic hedgehog (Shh) /glioma associated oncogene homolog (Gli) 1 pathway in hepatocellular carcinoma. ***Methods*** Screening suitable concentration of ophiopogonin B. The HepG2 cells were divided into control group, ophiopogonin B low (group A), medium (group B), high concentration group (group C) and ophiopogonin B high concentration＋Shh agonist group (group D). The HepG2/adriamycin (ADM) cells were divided into HepG2/ADM group, ADM group, ophiopogonin B group and ADM＋ophiopogonin B group. HepG2 cell proliferation, apoptosis, EMT, Shh/Gli1 pathways and related protein expression were detected. HepG2/ADM cells were treated to detect cell proliferation, apoptosis, Shh and Gli1 proteins. ***Results*** Compared with the control group, 5-ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU) positive rate, the expressions of Ki67, B cell lymphoma (Bcl)-2, neural cadherin, vimentin, Shh and Gli1 in groups A, B and C decreased successively, while the apoptosis rate, Bcl-2 associated X protein (Bax) and cadherin expression in epithelial cells increased successively ($P<0.05$). Compared with group C, Edu positive rate, Ki67, Bcl-2, neural cadherin, vimentin,

收稿日期：2023-09-26
作者简介：安琪，副主任药师，研究方向：主要从事临床药理学的研究工作。
基金项目：河南省医学科技攻关计划项目（LHGJ20190270）

Shh and Gli1 expressions in group D were increased, while apoptosis rate, Bax and cadherin expression in epithelial cells were decreased ($P<0.05$). Compared with HepG2/ADM group, EdU positive rate, Shh and Gli1 expressions in ADM and ophiopogonin B group decreased, and apoptosis rate increased ($P<0.05$). Compared with ADM and ophiopogonin B groups, Edu positive rate, Shh and Gli1 expressions were decreased in ADM+ophiopogonin B group, and apoptosis rate was increased ($P<0.05$). ***Conclusion*** Ophiopogonin B inhibits EMT of HepG2 cells by inhibiting Shh/Gli1 pathway and reducing chemotherapy resistance.

Key words: ophiopogonin B; sonic hedgehog/glioma-associated oncogene homolog 1 pathway; liver cancer; epithelial mesenchymal transformation; chemotherapy resistance

肝癌是消化系统中常见恶性肿瘤之一，其易发生转移、扩散，且恶性程度高，具有高发病率、高病死率特点[1—3]。我国每年新增发病人数约占全球45%[4]。目前肝癌主要通过手术、肝移植以及放化疗等治疗，虽病死率有所下降，但术后5年复发率仍较高，严重影响患者生存健康[5]。寻找有效且不良反应较少的抗肿瘤药物已成为研究重点。音猬因子（sonic hedgehog，Shh）/胶质瘤相关癌基因同源物（glioma associated oncogene homolog，Gli）1的表达水平与肝癌进展程度相关[6]。麦冬皂苷B是中药麦冬中提取的一种生物活性成分，具有抑制肿瘤细胞增殖、迁移、侵袭、促凋亡及自噬等作用[7]。麦冬皂苷B可抑制人肝癌HepG2细胞的增殖[8]，但其是否可通过调控Shh/Gli1信号通路抑制肝癌的上皮间质转化（epithelial mesenchymal transformation，EMT）尚不明确。本文主要探索麦冬皂苷B对肝癌EMT和化疗耐药性及Shh/Gli1信号通路的影响，为肝癌的治疗提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

HepG2细胞购于中科院上海生命科学院细胞库；阿霉素（adriamycin，ADM）耐药肝癌细胞株HepG2/ADM购于广州吉妮欧生物公司；麦冬皂苷B（N1025）购于四川恒诚致远公司；Shh激活剂（LM6822-5mg）购于广东维通利华实验动物公司；细胞计数试剂盒-8（cell counting kit-8，CCK-8，CA1210）购于北京Solarbio公司；5-乙炔基-2'脱氧尿嘧啶核苷（5-ethynyl-2'-deoxyuridine，EdU）细胞增殖试剂盒（E-CK-A375）购于武汉伊莱瑞特生物公司；Annexin V-荧光素异硫氰酸酯（fluorescein isothiocyanate，FITC）/碘化丙啶（propidium iodide，PI）细胞凋亡试剂盒（SB-F6012）购于上海Share-Bio公司；B细胞淋巴瘤-2（B cell lymphoma-2，Bcl-2，3498）、Bcl-2相关X蛋白（Bcl-2 associated X protein，Bax，41162）一抗购自美国Cell Signaling Technology公司；上皮细胞钙黏蛋白（AF0138）、神经性钙黏附蛋白（AF0243）以及波形蛋白（AF0318）一抗购于上海碧云天公司；Ki67（sc-23900）、Shh（sc-365112）、Gli1（sc-515781）一抗购于美国Santa Cruz Biotechnology公司；辣根过氧化物酶（horseradish peroxidase，HRP）标记的山羊抗兔IgG（ab6721）二抗购于英国Abcam公司；流式细胞仪（EXFLOW-206）购于北京达科为生物公司；光照培养箱（MGC-250BP-2）购于上海净信实业公司；发光成像系统（solo6S/7S）购于武汉核成科技公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

将HepG2细胞接种于10%磷酸盐缓冲液（phosphate buffered solution，PBS）的Dulbecco改良Eagle培养基（Dulbecco's modified eagle medium，DMEM）中，HepG2/ADM细胞接种于含1 μg/ml ADM的DMEM培养基中[9]，并置于含5%二氧化碳、37 ℃培养箱中培养。后将HepG2/ADM细胞接种于不含ADM的DMEM培养基中，1周后进行后续试验。

1.2.2 细胞活性检测

将生长至对数期HepG2细胞接种于96孔板，

随后用浓度 5、10、20、40 及 80 μmol/L 麦冬皂苷 B 处理 24 h[10]，加入 CCK-8 试剂，于 5% 二氧化碳、37 ℃条件下培养 4 h，酶标仪在 450 nm 波长处测量光度值，检测细胞活性，筛选出合适的麦冬皂苷 B 浓度进行后续试验。

1.2.3 分组与处理

将 HepG2 细胞分为对照组、麦冬皂苷 B 低（A 组）、中（B 组）、高浓度处理组（C 组）、麦冬皂苷 B 高浓度＋ Shh 激活剂组（D 组）[11]，以筛选出的高浓度麦冬皂苷 B 及 1 μmol/L Shh 激活剂共同处理 HepG2 细胞 24 h。

将 HepG2/ADM 细胞分为 HepG2/ADM 组、ADM 组、麦冬皂苷 B 组及 ADM ＋麦冬皂苷 B 组[12]。HepG2/ADM 组不做任何处理；ADM 组：24 μg/ml ADM 处理 24 h；麦冬皂苷 B 组：40 μmol/L 麦冬皂苷 B 处理 24 h；ADM ＋麦冬皂苷 B 组：24 μg/ml ADM ＋ 40 μmol/L 麦冬皂苷 B 处理 24 h。

1.2.4 细胞增殖试验

将各组 HepG2 及 HepG2/ADM 细胞在 24 孔板中培养 24 h，然后加入 Edu 孵育 2 h，4% 多聚甲醛固定 30 min，孵育 30 min，4',6- 二脒基 -2- 苯基吲哚（4',6-diamidino-2-phenylindole，DAPI）染色 10 min。荧光显微镜下观察 Edu 阳性细胞，红色即阳性细胞。阳性率＝ Edu 阳性细胞 /DAPI 阳性细胞 ×100%，检测细胞增殖情况。

1.2.5 流式细胞仪检测细胞凋亡

将各组 HepG2 及 HepG2/ADM 细胞制成细胞悬液，离心后收集细胞，PBS 洗涤后离心弃上清，加入细胞缓冲液重悬细胞，随后加入 Annexin V-FITC 吹打混匀，再加入 PI 吹打混匀室温避光孵育，流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.2.6 免疫印迹法（western blotting，WB）检测蛋白表达情况

将各组 HepG2 及 HepG2/ADM 细胞培养至对数生长期，提取总蛋白并测定浓度。各组抽取部分蛋白进行电泳分离，转膜封闭，随后加入 Ki67、Bcl-2、Bax、上皮细胞钙黏蛋白、神经性钙黏附蛋白、波形蛋白、Shh、Gli1 一抗及 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗进行孵育，加入增强化学发光曝光，发光成像系统进行扫描分析，以 3- 磷酸甘油醛脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）为内参。

1.3 统计学方法

采用 SPSS25.0 软件分析数据，计量资料用（$\bar{x}\pm s$）表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 SNK-q 检验。以 $P<0.05$ 差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 麦冬皂苷 B 浓度筛选

与 0 μmol/L 麦冬皂苷 B 相比，10、20、40 及 80 μmol/L 麦冬皂苷 B 处理 HepG2 细胞存活率显著降低（$P<0.05$）；与 40 μmol/L 麦冬皂苷 B 相比，80 μmol/L 麦冬皂苷 B 处理 HepG2 细胞活性差异无统计学意义（$P>0.05$）。故选择 10、20 及 40 μmol/L 麦冬皂苷 B 处理 HepG2 进行后续试验，见表 1。

表 1 麦冬皂苷 B 浓度筛选（$\bar{x}\pm s$）

Table 1 Concentration screening of ophiopogon saponin B（$\bar{x}\pm s$）

麦冬皂苷B/μmol·L^{-1}	细胞存活率/%
0	100.00±0.00
5	97.34±3.22
10	86.47±2.75*
20	78.52±2.38*
40	67.59±1.96*
80	64.41±1.53*
*F*值	267.797
*P*值	＜0.001

注：与对照组比较，*P＜0.05。

Note: *vs* control group, *P＜0.05.

2.2 麦冬皂苷 B 对 HepG2 细胞增殖影响

与对照组相比，A、B 及 C 组 Edu 阳性率、Ki67 表达水平均依次下降（$P<0.05$）；与 C 组相比，D 组 Edu 阳性率、Ki67 表达水平均上升（$P<0.05$）；

见图 1、2 及表 2。

2.3 麦冬皂苷 B 对 HepG2 细胞凋亡影响

与对照组相比，A、B 及 C 组细胞凋亡率、Bax 表达水平均依次上升，Bcl-2 表达水平依次下降（$P < 0.05$）；与 C 组相比，D 组细胞凋亡率、Bax 表达水平均下降，Bcl-2 表达水平上升（$P < 0.05$），见图 3、4 及表 3。

2.4 麦冬皂苷 B 对 HepG2 细胞 EMT 的影响

与对照组相比，A、B 及 C 组上皮细胞钙黏蛋白表达水平依次上升，神经性钙黏附蛋白、波形蛋白表达水平依次下降（$P < 0.05$）；与 C 组相比，D 组上皮细胞钙黏蛋白表达水平下降，神经性钙黏附

表 2 麦冬皂苷 B 对 HepG2 细胞增殖及相关蛋白的影响（$\bar{x} \pm s$）

Table 2 Effects of Ophiopogonin B on proliferation and related proteins of HepG2 cells（$\bar{x} \pm s$）

组别	Edu阳性率/%	Ki67
对照组	45.63±2.26	0.91±0.09
A组	38.76±1.93*	0.78±0.08*
B组	31.24±1.58*#	0.65±0.07*#
C组	23.71±1.17*#▲	0.48±0.05*#▲
D组	29.35±1.46△	0.61±0.06△
*F*值	148.031	31.918
*P*值	＜0.001	＜0.001

注：与对照组比较，*$P < 0.05$；与 A 组比较，#$P < 0.05$；与 B 组比较，▲$P < 0.05$；与 C 组比较，△$P < 0.05$。

Note: *vs* control group, *$P < 0.05$; *vs* group A, #$P < 0.05$; *vs* group B, ▲$P < 0.05$; *vs* group C, △$P < 0.05$.

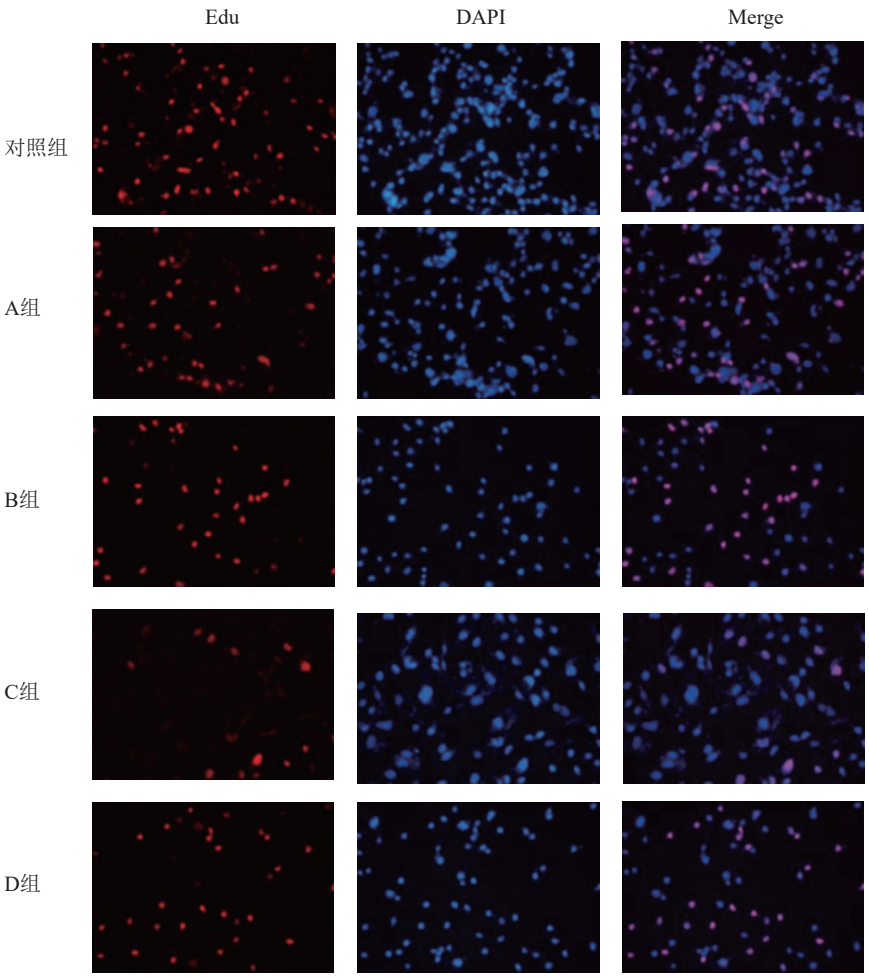


图 1 观察各组 HepG2 细胞增殖（Edu，×100）

Figure 1 HepG2 cell proliferation was observed in each group（Edu, ×100）

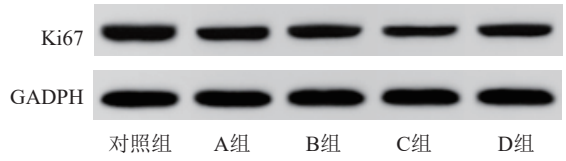


图 2　WB 法检测 Ki67 蛋白表达

Figure 2　WB method detection of Ki67 protein expression

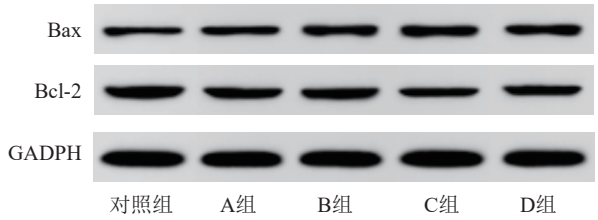


图 4　WB 法检测 Bax、Bcl-2 蛋白表达

Figure 4　WB method analysis of Bax and Bcl-2 protein expression

表 3　麦冬皂苷 B 对 HepG2 细胞凋亡及相关蛋白的影响 $(\bar{x}\pm s)$

Table 3　Effects of Ophiopogonin B on apoptosis and related proteins of HepG2 cells $(\bar{x}\pm s)$

组别	细胞凋亡率/%	Bax	Bcl-2
对照组	5.76±0.28	0.36±0.04	0.81±0.08
A组	12.35±0.61*	0.48±0.05*	0.68±0.07*
B组	21.58±1.07*$^{\#}$	0.59±0.06*$^{\#}$	0.57±0.06*$^{\#}$
C组	33.67±1.68*$^{\#\blacktriangle}$	0.75±0.08*$^{\#\blacktriangle}$	0.43±0.04*$^{\#\blacktriangle}$
D组	24.73±1.22$^{\triangle}$	0.62±0.06$^{\triangle}$	0.55±0.06$^{\triangle}$
*F*值	599.762	36.864	30.776
*P*值	＜0.001	＜0.001	＜0.001

注：与对照组比较，*$P<0.05$；与 A 组比较，$^{\#}P<0.05$；与 B 组比较，$^{\blacktriangle}P<0.05$；与 C 组比较，$^{\triangle}P<0.05$。

Note: *vs* control group, *$P<0.05$; *vs* group A, $^{\#}P<0.05$; *vs* group B, $^{\blacktriangle}P<0.05$; *vs* group C, $^{\triangle}P<0.05$.

蛋白、波形蛋白表达水平上升（$P<0.05$），见图 5、表 4。

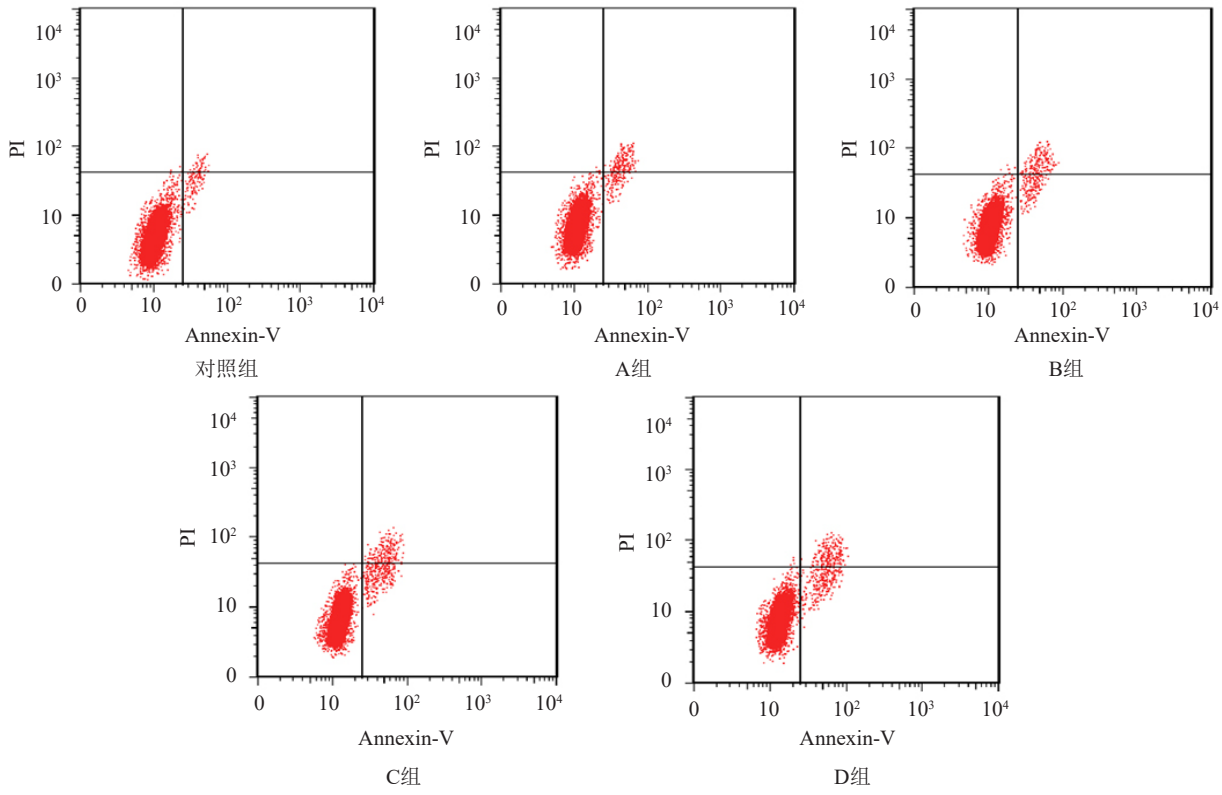


图 3　各组 HepG2 细胞凋亡情况

Figure 3　Apoptosis of HepG2 cells in each group

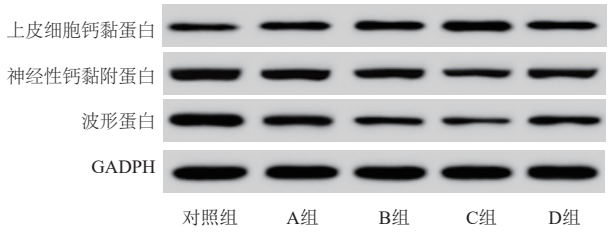


图 5 WB 法检测上皮细胞钙黏蛋白、神经性钙黏附蛋白及波形蛋白蛋白表达

Figure 5 WB method detection of E-cadherin, N-cadherin and Vimentin protein expression

表 4 麦冬皂苷 B 对 HepG2 细胞 EMT 的影响（$\bar{x}\pm s$）

Table 4 Effects of ophiopogonin B on EMT of HepG2 cells（$\bar{x}\pm s$）

组别	上皮细胞钙黏蛋白	神经性钙黏附蛋白	波形蛋白
对照组	0.33±0.03	0.94±0.09	1.03±0.08
A组	0.49±0.05*	0.81±0.08*	0.69±0.07*
B组	0.64±0.06*#	0.67±0.07*#	0.46±0.06*#
C组	0.79±0.08*#▲	0.45±0.05*#▲	0.31±0.05*#▲
D组	0.61±0.06△	0.63±0.06△	0.51±0.05△
*F*值	52.447	40.588	114.874
*P*值	＜0.001	＜0.001	＜0.001

注：与对照组比较，*$P<0.05$；与 A 组比较，#$P<0.05$；与 B 组比较，▲$P<0.05$；与 C 组比较，△$P<0.05$。

Note: *vs* control group, *$P<0.05$; *vs* group A, #$P<0.05$; *vs* group B, ▲$P<0.05$; *vs* group C, △$P<0.05$.

2.5 麦冬皂苷 B 对 Shh/Gli1 信号通路的影响

与对照组相比，A、B 及 C 组 Shh/Gli1 表达水平依次下降（$P<0.05$）；与 C 组相比，D 组 Shh/Gli1 表达水平上升（$P<0.05$），见图 6、表 5。

2.6 麦冬皂苷 B 对 HepG2/ADM 细胞的影响

与 HepG2/ADM 组相比，ADM 组、麦冬皂苷 B 组 Edu 阳性率、Shh/Gli1 表达水平均下降，细胞凋亡率上升（$P<0.05$）；与 ADM ＋麦冬皂苷 B 组相比，ADM 组及麦冬皂苷 B 组 Edu 阳性率、Shh/Gli1 表达水平均上升，细胞凋亡率下降（$P<0.05$），见图 7 ～ 9 及表 6。

3 讨论

肝癌是常见恶性肿瘤之一，具有强侵袭性，且病死率高，患者 5 年生存率较低[13]。中医治疗可预防肿瘤复发、延缓生命[14—15]。中医药具有抑制肿瘤生长、降低肿瘤细胞耐药性以及促进肿瘤细胞死亡作用[16]。麦冬皂苷 B 可有效抑制胶质瘤细胞的增殖、转移[17]，亦可抑制肺癌细胞的增殖、迁移及侵袭[18]。但麦冬皂苷 B 是否可抑制肝细胞癌的增殖及 EMT，促进肝癌细胞凋亡，有待进一步验证。

Ki67 可用于评价细胞增殖活性，抑制 Ki67 的表达可抑制肝癌细胞的增殖，从而抑制肿瘤生长[19—20]。促进 Bax 表达、降低 Bcl-2 表达水平，可促进肝癌细胞凋亡，从而抑制肿瘤细胞增长[21—22]。EMT 是肿瘤细胞发生迁移、侵袭的重要步骤，而上皮细胞钙黏蛋白、神经性钙黏附蛋白及波形蛋白是 EMT 标志物。促进上皮细胞钙黏蛋白表达、抑制神经性钙黏附蛋白及波形蛋白表达，有利于肝癌细胞进行 EMT，

表 5 麦冬皂苷 B 对 Shh/Gli1 蛋白表达的影响（$\bar{x}\pm s$）

Table 5 Effects of ophiopogon saponin B on Shh/Gli1 protein expression（$\bar{x}\pm s$）

组别	Shh	Gli1
对照组	0.92±0.09	0.83±0.08
A组	0.67±0.07*	0.62±0.06*
B组	0.49±0.05*#	0.45±0.05*#
C组	0.32±0.03*#▲	0.28±0.03*#▲
D组	0.45±0.05△	0.41±0.04△
*F*值	85.635	70.540
*P*值	＜0.001	＜0.001

注：与对照组比较，*$P<0.05$；与 A 组比较，#$P<0.05$；与 B 组比较，▲$P<0.05$；与 C 组比较，△$P<0.05$。

Note: *vs* control group, *$P<0.05$; *vs* group A, #$P<0.05$; *vs* group B, ▲$P<0.05$; *vs* group C, △$P<0.05$.

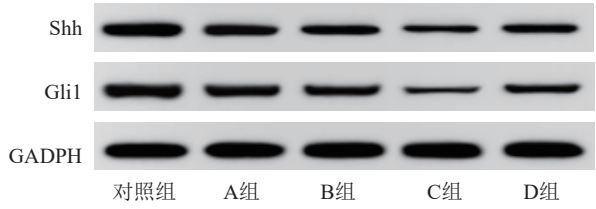


图 6 WB 法检测 Shh、Gli1 蛋白表达

Figure 6 WB method analysis of Shh and Gli1 protein expression

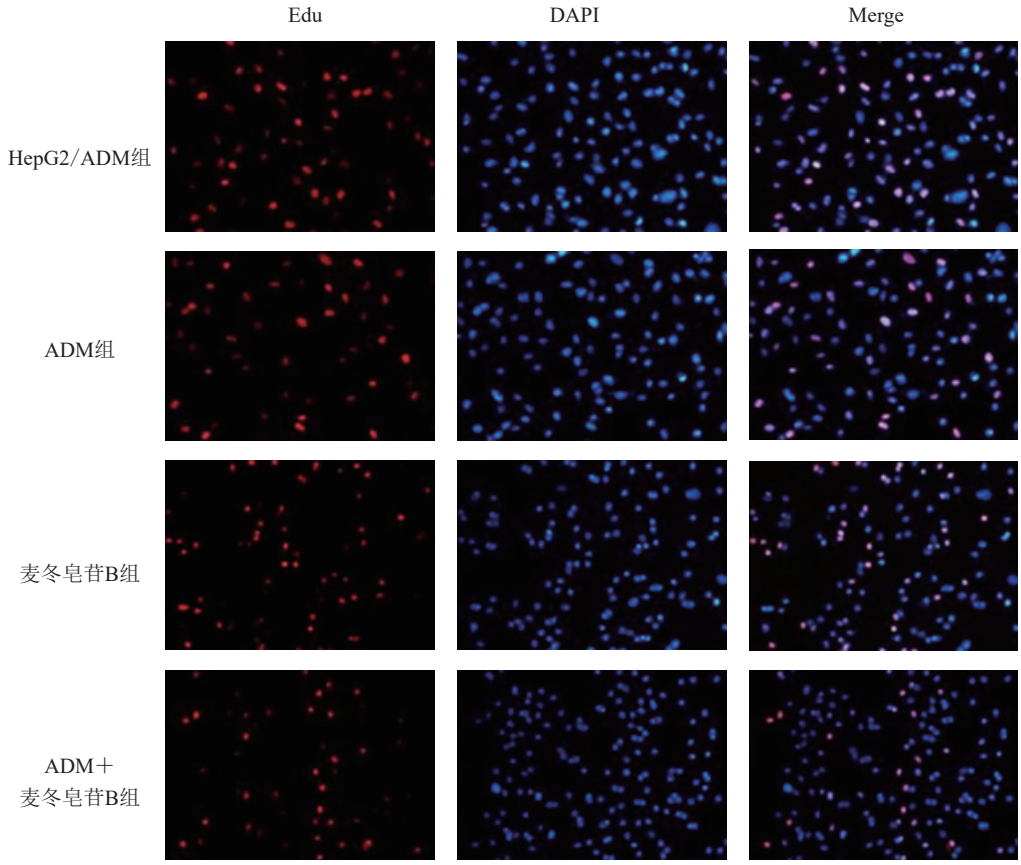


图 7　观察各组 HepG2/ADM 细胞增殖情况（Edu，×100）
Figure 7　The proliferation of HepG2/ADM cells in each group was observed（Edu, ×100）

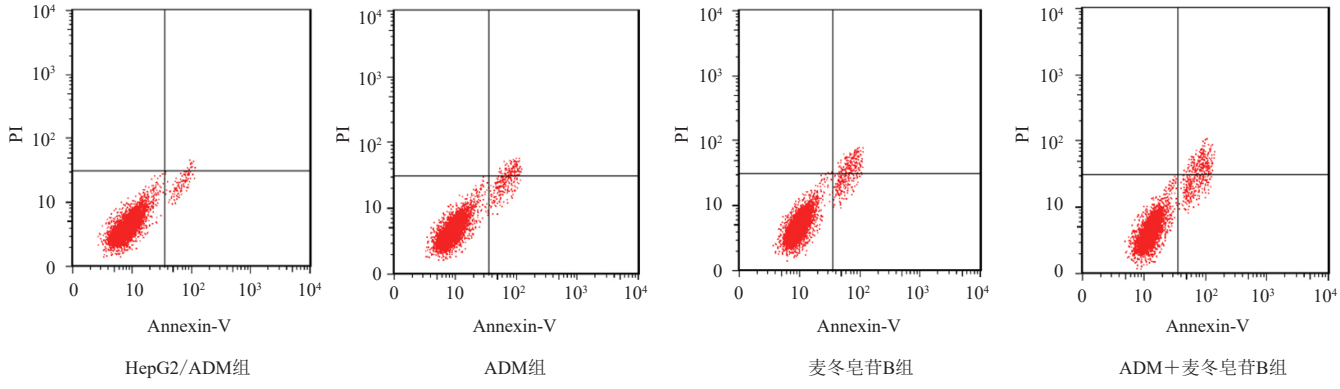


图 8　各组 HepG2/ADM 细胞凋亡情况
Figure 8　Apoptosis of HepG2/ADM cells in each group

促进肝癌细胞的迁移、侵袭[23—24]。本研究显示，麦冬皂苷 B 可降低 Ki67、Bcl-2、神经性钙黏附蛋白以及波形蛋白的表达水平，升高 Bax、上皮细胞钙黏蛋白的表达水平，说明麦冬皂苷 B 可抑制肝细胞癌的增殖及 EMT，促进癌细胞凋亡。

Shh/Gli1 信号通路参与多种细胞发展进程，其

表 6 麦冬皂苷 B 对 HepG2/ADM 细胞化疗耐药性的影响（$\bar{x}\pm s$）

Table 6 Effect of ophiopogon B on chemotherapy resistance of HepG2/ADM cells（$\bar{x}\pm s$）

组别	Edu/%	细胞凋亡率/%	Shh	Gli1
HepG2/ADM组	42.57±2.18	2.24±0.45	0.88±0.09	0.82±0.08
ADM组	35.76±1.74*#	19.62±1.54*#	0.66±0.07*#	0.59±0.06*#
麦冬皂苷B组	33.48±1.61*#	21.53±1.71*#	0.63±0.06*#	0.55±0.06*#
ADM＋麦冬皂苷B组	25.31±1.23	34.78±2.69	0.41±0.05	0.32±0.04
*F*值	102.324	336.423	46.450	66.211
*P*值	＜0.001	＜0.001	＜0.001	＜0.001

注：与 HepG2/ADM 组比较，*P ＜ 0.05；与 ADM ＋麦冬皂苷 B 组比较，#P ＜ 0.05。

Note: *vs* HepG2/ADM group, *P ＜ 0.05; *vs* ADM ＋ ophiopogonin B group, #P ＜ 0.05.



图 9 WB 法检测 Shh、Gli1 蛋白表达

Figure 9 WB method analysis of Shh and Gli1 protein expression

中包括调节细胞的生长发育、增殖及组织修复等。Shh 参与胚胎发育及细胞增殖分化、存活等功能调控，Shh 配体与其受体的结合引发 Shh 通路异常激活，参与多种恶性肿瘤的转移、迁徙过程[25]。Gli1 是 Shh 下游激活相关恶性肿瘤基因的转录因子，激活 Shh 通路从而激活 Gli 家族转录因子 Gli1、细胞周期及血管生成等相关因子，从而参与细胞增殖、生长[26]。研究显示，Shh/Gli1 在肝癌进展过程中呈高表达，抑制 Shh、Gli1 的表达可抑制肝癌细胞的增殖、迁移与侵袭，促进肝癌细胞凋亡[27—28]。本研究显示，麦冬皂苷 B 可降低 Shh、Gli1 表达水平，而 Shh 激活剂可逆转麦冬皂苷 B 对 Shh、Gli1 的抑制作用，说明麦冬皂苷 B 可通过抑制 Shh/Gli1 信号通路抑制肝癌细胞的增殖、迁移与侵袭，促进肝癌细胞凋亡。

ADM 因其广谱抗肿瘤特性被广泛用于恶性肿瘤的治疗，耐药性限制其临床应用。有研究显示，麦冬皂苷 B 可抑制耐药肺癌细胞的增殖，提高治疗敏感性[29]。本研究显示，麦冬皂苷 B ＋ ADM 组可抑制 HepG2/ADM 细胞的增殖，促进 HepG2/ADM 细胞凋亡，且降低 Shh、Gli1 的表达水平，说明麦冬皂苷 B 可通过抑制 Shh/Gli1 信号通路抑制 HepG2/ADM 细胞的增殖，提高 HepG2/ADM 细胞对 ADM 的敏感性。

4 结论

综上所述，麦冬皂苷 B 通过抑制 Shh/Gli1 信号通路抑制 EMT，降低化疗耐药性。但本研究仍存在不足之处，麦冬皂苷 B 作用于 Shh/Gli1 信号通路的机制尚不明确，麦冬皂苷 B 是否可通过调控其他信号通路参与抑制肝细胞癌的 EMT 有待进一步验证。

参考文献：

[1] Xia C, Dong X, Li H, *et al*. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants[J]. Chin Med J (Engl), 2022, 135(5): 584-590.

[2] Yilma M, Saxena V, Mehta N. Models to predict development or recurence of hepatocellular carcinoma (HCC) in patients with advanced hepatic fibrosis[J]. Curr Gastroenterol Rep, 2022, 24(1): 1-9.

[3] Wang J, He H, Jiang Q, *et al*. *CBX6* promotes HCC metastasis via transcription factors Snail/Zeb1-mediated EMT mechanism[J]. Onco Targets Ther, 2020, 13: 12489-12500.

[4] 安澜, 曾红梅, 郑荣寿, 等. 2015年中国肝癌流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(10): 721-727.

[5] 刘宗超, 李哲轩, 张阳, 等. 2020全球癌症统计报告解读[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2021, 7(2): 1-13.

[6] 陈斌, 李博飞, 胡志强. Gli1与p-AKT在肝癌组织中的表达及其与肝癌侵袭转移的关系[J]. 中华普通外科杂志, 2019, 34(6): 540-541.

[7] 何冰倩, 周小杰, 史冬玲, 等. 麦冬皂苷B抗肿瘤作用机制研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(12): 2911-2914.

[8] 周志红. 麦冬皂苷B诱导人肝癌HepG2细胞自噬的分子机制研究[J]. 北方药学, 2017, 14(9): 156-157.

[9] Huang C, Huang S, Li H, *et al*. The effects of ultrasound exposure on p-glycoprotein-mediated multidrug resistance *in vitro* and *in vivo*[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1): 232.

[10] 闫江涛, 高立伟, 左一凡. 麦冬皂苷B对结肠癌细胞增殖、凋亡的影响及其机制研究[J]. 食品与药品, 2020, 22(6): 476-480.

[11] 马俊, 向梅. 利多卡因通过SHH/GLI信号通路对胶质瘤细胞恶性生物学行为的影响[J]. 实用医学杂志, 2023, 39(11): 1403-1408.

[12] 曹聪, 黄桂柳, 黄赞松, 等. 姜黄素对肝癌耐药细胞HepG2/ADM的增殖和阿霉素耐药性的影响[J]. 广西医学, 2020, 42(8): 976-980.

[13] Yang JD, Hainaut P, Gores GJ, *et al*. A global view of hepatocellular carcinoma: trends, risk, prevention and management[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019, 16(10): 589-604.

[14] 王倩倩, 邱华, 朱玟霜, 等. 中医药联合靶向药物治疗原发性肝癌研究进展[J]. 医学理论与实践, 2023, 36(14): 2374-2377.

[15] 王雅欢, 黄晓桃, 吴云霞. 原发性肝癌的发生机制及中西医治疗研究进展[J]. 中西医结合研究, 2019, 11(3): 151-155.

[16] 刘强, 李健和. 中草药作为细胞凋亡诱导剂用于癌症治疗的研究进展[J]. 中南药学, 2017, 15(6): 803-806.

[17] 蒋为, 董韬, 陆宇, 等. 麦冬皂苷B对胶质瘤细胞增长与迁移抑制作用研究[J]. 创伤与急危重病医学, 2020, 8(1): 51-53.

[18] 李丽秋, 高倩, 顾玲, 等. 麦冬皂苷B通过调控miR-432-5p抑制A549细胞增殖、迁移和侵袭[J]. 中国药理学通报, 2021, 37(7): 1035-1036.

[19] 张春瑞, 卞艳丽, 张体鹏, 等. 千里光总黄酮上调miR-520e对肝癌细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭的影响[J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(18): 4564-4569.

[20] 冯鑫, 段永强, 梁建庆, 等. 基于糖原合成酶激酶3β/核因子-κB通路探讨参芪抑瘤方联合顺铂对H22肝癌荷瘤小鼠的抑瘤作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(9): 1277-1281.

[21] 杨玉萍, 段永强, 梁建庆, 等. 参芪抑瘤方联合顺铂对H22肝癌荷瘤小鼠抑瘤作用的研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(14): 2069-2073.

[22] 武铭, 李梅, 周中凯. 发酵灵芝主要活性物质变化及对HepG2细胞的抑制作用[J]. 中国食品学报, 2023, 23(4): 12-21.

[23] 虞璐, 张怡莹, 叶佳琪, 等. 毛兰素对人肝癌细胞系HEPG2增殖、迁移、凋亡和上皮间质转化的影响及其机制[J]. 山东医药, 2023, 63(9): 17-21.

[24] 赵慧咏, 魏昇, 杨茗皓, 等. 肿瘤相关巨噬细胞及其分泌的CXCL1对肝癌细胞系Huh7生物学行为的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2023, 58(3): 398-404.

[25] Skoda AM, Simovic D, Karin V, *et al*. The role of the hedgehog signaling pathway in cancer: a comprehensive review[J]. Bosn J Basic Med Sci, 2018, 18(1): 8-20.

[26] Fang F, Sup M, Luzzi A, *et al*. Hedgehog signaling underlying tendon and enthesis development and pathology[J]. Matrix Biol, 2022, 105: 87-103.

[27] 陈斌, 戴正宽, 李博飞, 等. 柠檬酸镧对肝癌SMCC-7721细胞增殖凋亡的影响及其机制[J]. 中华肝胆外科杂志, 2018, 24(1): 49-53.

[28] 岳伦莉, 钟国成, 江恒, 等. MiR-195-5p通过靶向VEGFA调控Shh-Gli1和IGF信号通路影响肝癌细胞的增殖、迁移和侵袭[J]. 武警后勤学院学报(医学版), 2021, 30(3): 1-6.

[29] Cheng Z, Li Z, Gu L, *et al*. Ophiopogonin B alleviates cisplatin resistance of lung cancer cells by inducing caspase-1/GSDMD dependent pyroptosis[J]. J Cancer, 2022, 13(2): 715-727.

(编辑：沈佳婕)