【基础研究】

大叶茜草素对人肝癌细胞生物学行为的影响及作用机制

陈博婷，郭小艳*
（西安市第九医院老年病一科，陕西西安 710054）

摘要：目的 探讨大叶茜草素对人肝癌细胞生物学行为的影响及作用机制。**方法** 将 HepG2 细胞分为对照组、大叶茜草素低、中、高浓度（40、60 及 80 mmol/L）组、SN50（36 μmol/L）组、大叶茜草素高浓度（80 mmol/L）＋ LPS（2.5 μmol/L）组。采用细胞计数 -8 法、克隆形成实验、流式细胞术以及 Transwell 染色法检测 HepG2 细胞的增殖、凋亡及侵袭迁移情况；蛋白质印迹法检测 HepG2 细胞中蛋白表达情况。**结果** 与对照组相比，大叶茜草素低、中、高浓度组及 SN50 组的细胞增殖抑制率、凋亡率、兔抗半胱天冬酶 -3（Caspase-3）、B 淋巴细胞瘤 2 相关 X 蛋白（B-cell lymphoma 2 associated x protein，Bax）、核因子 κB 抑制蛋白 -α（inhibition of nuclear factor-κB，IκB-α）以及 Bax/B 淋巴细胞瘤 2（B-cell lymphoma 2，Bcl-2）均升高（$P<0.05$）；克隆细胞数、侵袭和迁移细胞数、Bcl-2、基质金属蛋白酶（ma-trix metalloproteinase，MMP）-2、MMP-9、核因子（nuclear factor，NF）-κB 以及 p-IκB-α 均降低（$P<0.05$）；与大叶茜草素高浓度组相比，大叶茜草素高浓度＋ LPS 组细胞增殖抑制率、凋亡率、Caspase-3、Bax、IκB-α 以及 Bax/Bcl-2 均降低，克隆细胞数、侵袭和迁移细胞数、MMP-2、MMP-9、NF-κB、Bcl-2 以及 p-IκB-α 均升高（$P<0.05$）。**结论** 大叶茜草素可能通过抑制 NF-κB 通路，抑制 HepG2 细胞增殖、侵袭以及迁移，并促进细胞凋亡，有望成为治疗肝癌的靶向药物。

关键词：大叶茜草素；HepG2；增殖；凋亡；迁移；侵袭
中图分类号：R-33　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1672-9188（2023）08-0783-08
DOI：10.13683/j.wph.2023.08.004

Effect and mechanism of mollugin on biological behavior of human hepatocellular carcinoma cells

CHEN Boting, GUO Xiaoyan*
(*Department of Geriatric Diseases, Xi'an No.9 Hospital, Xi'an 710054, Shaanxi Province, China*)

Abstract: ***Objective*** To investigate the effect of mollugin on the biological behavior of human hepatocellular carcinoma cells and its mechanism. ***Methods*** HepG2 cells were divided into control group, low, medium and high concentration of mollugin（40, 60 and 80 mmol/L）group, SN50（36 μmol/L）group and high concentration of mollugin（80 mmol/L）＋ LPS（2.5 μmol/L）group. Cell counting kit-8 assay, clonal formation assay, flow cytometry and Transwell staining were used to detect the proliferation, apoptosis, invasion and migration of HepG2 cells. Western blotting was used to detect the protein expression in HepG2 cells. ***Results*** Compared with the control group, the cell proliferation inhibition rate, apoptosis rate, rabbit anti-Caspase-3（Caspase-3）, B-cell lymphoma 2 associated X protein（Bax）, inhibitor of nuclear factor-κB (IκB-α) and Bax/B-cell lymphoma 2 (Bcl-2) in the low, medium, and high concentration of mollugin groups and SN50 group were increased（$P<0.05$）. The number of clone cells, invasion and migration cells, Bcl-2, matrix metalloproteinase（MMP）-2, MMP-9, nuclear factor（NF）-κB and p-IκB-α were all decreased（$P<0.05$）. Compared with the high concentration of mollugin group, the cell proliferation inhibition rate, apoptosis rate, Caspase-3, Bax, IκB-α and Bax/Bcl-2 in high

收稿日期：2022-09-07；**修回日期：**2023-07-06
作者简介：陈博婷，副主任医师，研究方向：老年消化内科方面疾病诊断与治疗。
通信作者：郭小艳，副主任医师，研究方向：肿瘤内科方面疾病诊断与治疗。
基金项目：西安市第九医院科研项目（2022yb16）

concentration of mollugin＋LPS group were decreased, the number of cloned cells, invasive and migratory cells, and the expression of MMP-2, MMP-9, NF-κB, Bcl-2 and p-IκB-α were all increased（$P<0.05$）. ***Conclusion*** Mollugin may inhibit cell proliferation, invasion, migration and promote apoptosis of HepG2 cells by inhibiting NF-κB pathway, which is expected to become a targeted drug for the treatment of liver cancer.

Key words: mollugin; HepG2; proliferation; apoptosis; migration; invasion

肝癌在消化系统恶性肿瘤中发病率较高、恶性程度较高，且早期不易被察觉，一经发现大多已进入中晚期，5 年期生存率较低[1]。肝硬化、病毒感染、酗酒以及非酒精性脂肪性肝病均是肝癌发生的危险因素，手术、化疗和免疫疗法是常用的肝癌治疗方法，但效果并不十分理想，因此，开发有效的治疗药物至关重要[2—3]。大叶茜草素是一种来源于茜草的醌类化合物，具有抗炎及抗肿瘤活性等功效[4]。研究显示，大叶茜草素具有抑制人乳腺癌细胞 SK-BR-3 和卵巢癌细胞 SK-OV-3 恶性增殖的能力[5]，但是否对肝癌细胞株具有相同作用仍未可知。核因子（nuclear factor，NF）-κB 可调节多种基因的转录激活，与细胞增殖、肿瘤转移及细胞凋亡的抑制密切相关，是 NF-κB 促进肿瘤生成和肿瘤细胞耐药的重要环节[6—8]。本研究拟分析大叶茜草素对 HepG2 恶性生物学的影响以及与 NF-κB 通路的关系。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

肝癌细胞株 HepG2（CBP60199）购自南京科佰生物科技有限公司；大叶茜草素（B20253）购自上海源叶公司；NF-κB 抑制剂 SN50（HY-P0151）和 NF-κB 激活剂脂多糖（lipopolysaccharide，LPS，HY-D1056）均购自美国 Medchemexpress 公司；磷酸缓冲盐溶液（phosphate buffer saline，PBS，C0221A，500 ml）、细胞计数（cell counting kit，CCK）-8 试剂盒（C0037）、BCA 试剂盒（P0012S）及 Annexin V-FITC/ 碘化丙啶（propidium iodide，PI）细胞凋亡检测试剂盒（C1062S）均购自上海碧云天公司；兔抗半胱氨酸蛋白酶 -3（Caspase-3，ab32351）、B 淋巴细胞瘤 2（B-cell lymphoma 2，Bcl-2，ab32124）、Bcl-2 相关 X 蛋白（Bcl-2 associated X protein，Bax，ab32503）、基质金属蛋白酶（ma-trix metalloproteinase，MMP）-2（ab92536）、MMP-9（ab283575）、NF-κB 抑制蛋白 -α（inhibition of NF-κB，IκB-α，ab32518）、p-IκB-α（ab133462）、NF-κB（220803）、3- 磷酸甘油醛脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH，ab181602）及羊抗兔二抗（ab6721）购自美国 abcam 公司。FACSLyric 流式细胞仪购自美国 BD 公司；Infinite 200 Pro 酶标仪购自上海帝肯公司；Midi 40 细胞培养箱购自美国 Thermo Fisher 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养以及大叶茜草素浓度筛选

将 HepG2 细胞在 37 ℃的 5% 二氧化碳的 DMEM 培养基内培养，隔天换液，常规传代。将对数期的 HepG2 细胞分别添加 0、20、40、60、80 及 100 mmol/L 的大叶茜草素培养 48 h[5]，添加 10 μl/ 孔 CCK-8 试剂，继续培养 4 h，采用酶标仪测定 450 nm 处的光密度（optical density，OD）。细胞增殖抑制率＝（1 － $OD_{给药组}/OD_{对照组}$）×100%。选取大叶茜草素的半数抑制浓度（half inhibitory concentration，IC_{50}）以下的浓度作为本研究的大叶茜草素浓度。实验重复 3 次取平均值。

1.2.2 分组

将对数生长期 HepG2 细胞分为对照组（常规培养）、大叶茜草素低浓度组、大叶茜草素中浓度组、大叶茜草素高浓度组、NF-κB 抑制剂 SN50 组[9]、大叶茜草素高浓度＋ NF-κB 激活剂 LPS 组[10]。对照组常规培养，大叶茜草素低、中、高浓度组根据大叶茜草素 IC_{50} 以下浓度值分别进行培养，SN50 组添加 36 μmol/L SN50 进行培养[9]，大叶茜草素高浓

度＋ LPS 组除添加 80 mmol/L 浓度的大叶茜草素外再加入 2.5 μmol/L 的 LPS[10]，培养 48 h 后，收集细胞进行后续实验。

1.2.3 CCK-8 法测定各组细胞增殖抑制率

将各组 HepG2 细胞 5×10^4 个 / 孔密度接种于 96 孔板，添加 DMEM 培养基。培养 48 h 后，弃培养液，洗涤 2 次，更换新鲜培养基，然后添加 10 μl/ 孔 CCK-8，培养箱中培养 4 h 后，酶标仪测量 450 nm 处的 OD。细胞增殖抑制率 ＝（1 － $OD_{给药组}$ / $OD_{对照组}$）×100%。

1.2.4 克隆形成实验测定各组细胞增殖情况

将各组 HepG2 细胞，5×10^2 个 / 孔接种于 6 孔板，培养至肉眼可见细胞后弃上清，多聚甲醛固定 15 min，用 1% 结晶紫染色 20 min，流水冲洗后，在显微镜低倍镜下计数＞ 10 个细胞的克隆数。

1.2.5 流式细胞术检测各组细胞凋亡情况

将各组 HepG2 细胞，胰酶消化，PBS 洗涤，5×10^5/ 孔调整细胞浓度，加入 5 μl Annexin V-FITC 及 10 μl PI 避光孵育 15 min，使用流式细胞仪检测 HepG2 细胞凋亡。

1.2.6 Transwell 染色法检测各组细胞侵袭和迁移情况

侵袭实验：Transwell 小室中加入 Matrigel 固化 3 h，添加 5×10^4 个 HepG2 细胞。下室中加入 500 μl DMEM 培养基，孵育 48 h，4% 多聚甲醛固定，0.1% 结晶紫染色，在光学显微镜下观察并随机挑选 5 个视野进行计数。

迁移实验：除不加入 Matrigel 胶外其余步骤均与侵袭实验相同。

1.2.7 蛋白质印迹法（western blotting，WB）检测 HepG2 细胞中蛋白表达

RIPA 裂解液裂解 HepG2 细胞，BCA 蛋白试剂盒对各组 HepG2 细胞定量，行 SDS-PAGE 凝胶电泳，低温转移蛋白至 PVDF 膜，脱脂奶粉封闭 1 h，加入兔抗 Caspase-3、Bax、Bcl-2、MMP-2、MMP-9、p-IκB-α、IκB-α、NF-κB 及甘油醛 -3- 磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）一抗，4 ℃孵育过夜，PBS 清洗 3 次后，加入二抗孵育 2 h，最后用蛋白凝胶成像仪定量分析各蛋白含量。

1.3 统计学方法

采用 SPSS25.0 软件进行统计学分析，计量资料经检验符合正态分布，采用（$\bar{x}\pm s$）描述，多组间比较采用单因素方差分析，多组间的两两比较采用 Bonferroni 法，校正检验水准 α，以 $P<0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大叶茜草素浓度筛选

经 0、20、40、60、80 及 100 mmol/L 的大叶茜草素处理后，HepG2 细胞的增殖抑制率分别为 0%、(13.52±1.69)%、(20.17±2.52)%、(23.58± 2.94)%、(34.71±4.33)% 及 (52.35±6.51)%。可见，随大叶茜草素浓度增加，HepG2 细胞增殖抑制率升高（$F=147.601$，$P<0.01$）。计算大叶茜草素对 HepG2 细胞的 IC_{50} 值为 93.325 mmol/L，故选取低于 IC_{50} 值的 40、60 及 80 mmol/L 的大叶茜草素分别作为本研究的低、中及高浓度组。

2.2 各组 HepG2 细胞增殖抑制率情况

与对照组相比，大叶茜草素低、中、高浓度组以及 SN50 组细胞增殖抑制率升高（$P<0.05$），且大叶茜草素高浓度组与 SN50 组细胞增殖抑制率比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）；与大叶茜草素高浓度组相比，大叶茜草素高浓度＋ LPS 组细胞增殖抑制率降低（$P<0.05$），见表 1。

2.3 各组 HepG2 细胞克隆形成情况

与对照组［(135.28±15.26) 个］相比，大叶茜草素低、中、高浓度组及 SN50 组克隆细胞数均降低［(102.76±11.34) 个、(85.30±8.52) 个、(64.93±5.35) 个及 (65.28±5.71) 个，$P<0.01$］，且大叶茜草素高浓度组与 SN50 组克隆细胞数比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）；与大叶茜草素高浓度组［(64.93±5.35) 个］相比，大叶茜草素高浓度＋ LPS 组克隆细胞数增多［(80.34±7.03) 个，$P<0.01$］，见图 1。

表 1 各组 HepG2 细胞增殖抑制率（$\bar{x}\pm s$，单位：%）

Table 1 Proliferation inhibition rate of HepG2 cells in each group ($\bar{x}\pm s$, unit: %)

组别	增殖抑制率/%
对照组	0
大叶茜草素低浓度组	20.08±2.51*
大叶茜草素中浓度组	28.71±3.58*
大叶茜草素高浓度组	35.26±4.40*
SN50组	32.15±4.03*
大叶茜草素高浓度+LPS组	22.52±2.80#
*F*值	92.571
*P*值	＜0.001

注：与对照组相比，*P＜0.05；与大叶茜草素高浓度组相比，#P＜0.05。

Note: *vs* control group, *P＜0.05; *vs* mollugin high dose group, #P＜0.05.

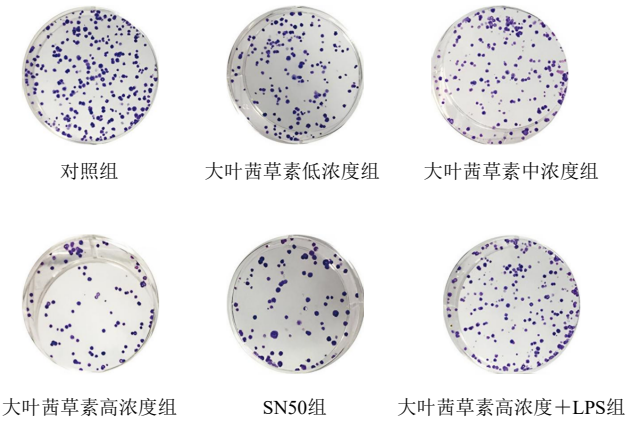


图 1 各组 HepG2 细胞克隆形成

Figure 1 The clonal formation of HepG2 cells in each group

2.4 各组 HepG2 细胞凋亡情况

与对照组［(8.22±0.91)%］相比，大叶茜草素低、中、高浓度组以及 SN50 组细胞凋亡率升高［(13.16±1.46)%、(19.53±2.17)%、(28.60±3.18)%和 (27.52±3.44)%，P ＜ 0.01］，且大叶茜草素高浓度组与 SN50 组比较细胞凋亡率，差异无统计学意义（P ＞ 0.05）；与大叶茜草素高浓度组［(28.60±3.18)%］相比，大叶茜草素高浓度＋ LPS 组细胞凋亡率降低［(15.39±1.91)%，P ＜ 0.01］，见图 2。

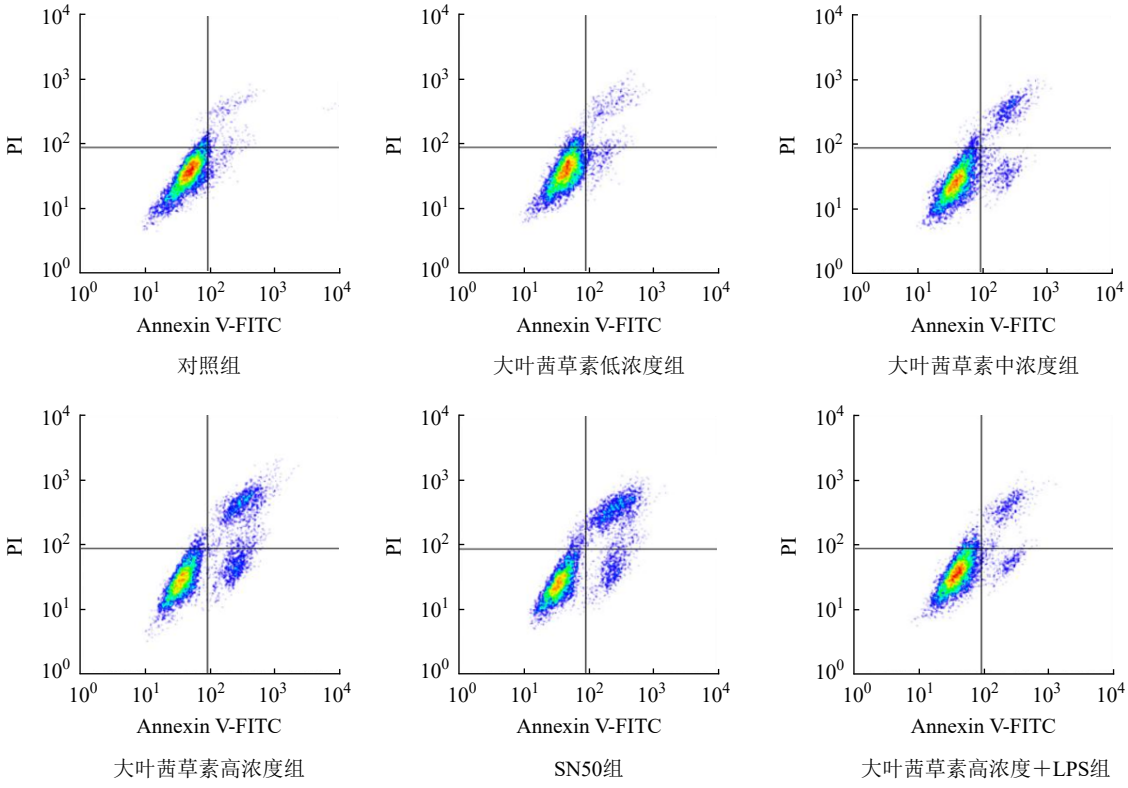


图 2 各组 HepG2 细胞凋亡流式细胞图

Figure 2 Flow cytogram of apoptosis of HepG2 cells in each group

2.5 各组 HepG2 细胞侵袭、迁移情况

与对照组相比，大叶茜草素低、中、高浓度组和 SN50 组侵袭细胞数及迁移细胞数均降低（$P<0.05$），且大叶茜草素高浓度组与 SN50 组比较，细胞侵袭、迁移细胞数差异均无统计学意义（$P>0.05$）；与大叶茜草素高浓度组相比，大叶茜草素高浓度＋LPS 组细胞侵袭细胞数、迁移细胞数均升高（$P<0.05$），见表 2、图 3。

2.6 WB 检测 HepG2 细胞中蛋白表达

与对照组相比，大叶茜草素低、中、高浓度组及 SN50 组 Caspase-3、Bax 及 Bax/Bcl-2 蛋白水平均升高，而 Bcl-2、MMP-2 及 MMP-9 蛋白水平均降低（$P<0.05$），且大叶茜草素高浓度组与 SN50 组比

表 2 各组 HepG2 细胞侵袭细胞数、迁移细胞数情况（$\bar{x}\pm s$，单位：个）

Table 2 The number of invasive cells and migrating cells of HepG2 cells in each group（$\bar{x}\pm s$, unit: piece）

组别	侵袭细胞数	迁移细胞数
对照组	333.82±37.09	382.70±47.82
大叶茜草素低浓度组	306.58±34.06*	350.37±43.82*
大叶茜草素中浓度组	249.17±27.62*	288.26±36.06*
大叶茜草素高浓度组	186.54±20.60*	200.06±25.04*
SN50组	190.52±23.80*	203.40±25.41*
大叶茜草素高浓度＋LPS组	299.75±37.29#	342.98±42.90#
*F*值	24.761	25.481
*P*值	＜0.001	＜0.001

注：与对照组相比，*$P<0.05$；与大叶茜草素高浓度组相比，#$P<0.05$。

Note: *vs* control group, *$P<0.05$; *vs* mollugin high dose group, #$P<0.05$.

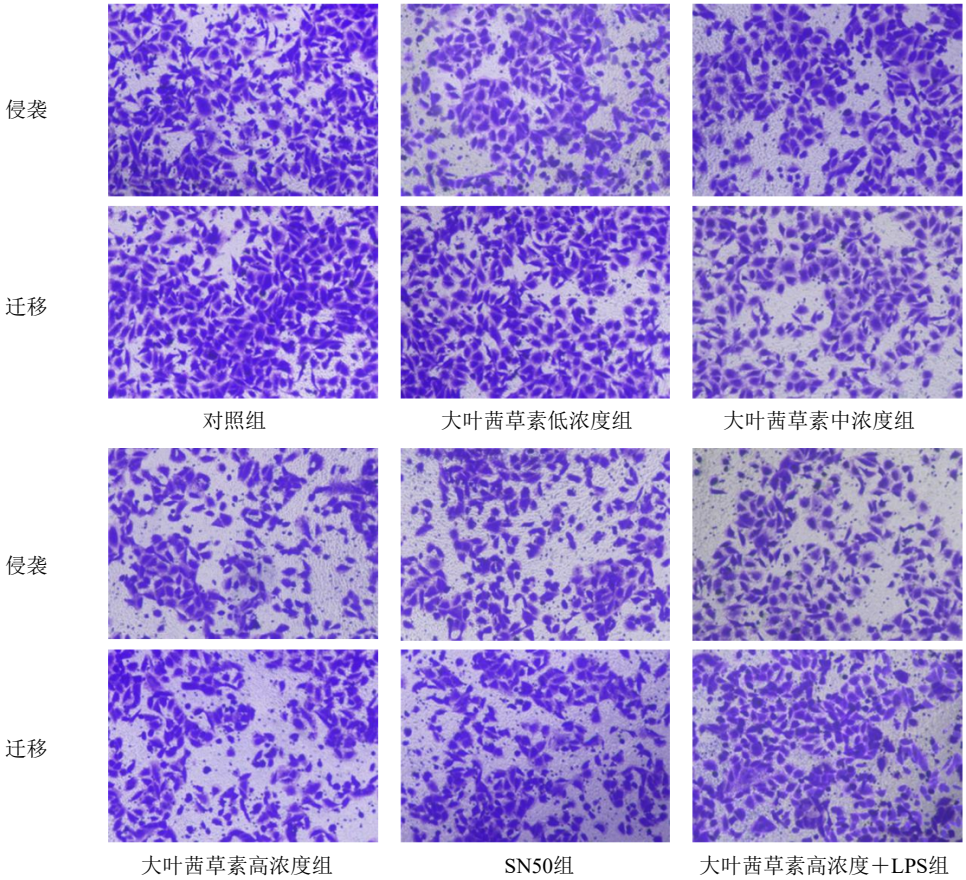


图 3 各组 HepG2 细胞侵袭、迁移（×200）

Figure 3 Invasion and migration of HepG2 cells in each group（×200）

较 Caspase-3、Bax、Bcl-2、MMP-2 及 MMP-9 表达差异无统计学意义（$P > 0.05$）；与大叶茜草素高浓度组相比，大叶茜草素高浓度＋ LPS 组 Caspase-3、Bax、Bax/Bcl-2 蛋白表达降低，Bcl-2、MMP-2 及 MMP-9 均升高（$P < 0.05$），见表 3，图 4、5。

2.7 各组 HepG2 细胞 NF-κB 通路激活情况

与对照组相比，大叶茜草素低、中、高浓度组及 SN50 组细胞 NF-κB、p-IκB-α 表达降低（$P < 0.05$），IκB-α 表达升高（$P < 0.05$），且大叶茜草素高浓度组与 SN50 组 NF-κB、p-IκB-α、IκB-α 比较，差异无统计学意义（$P > 0.05$）；与大叶茜草素高浓度组相比，大叶茜草素高浓度＋ LPS 组细胞 NF-κB、p-IκB-α 表达升高（$P < 0.05$），IκB-α 表达降低（$P < 0.05$），见表 4、图 6。

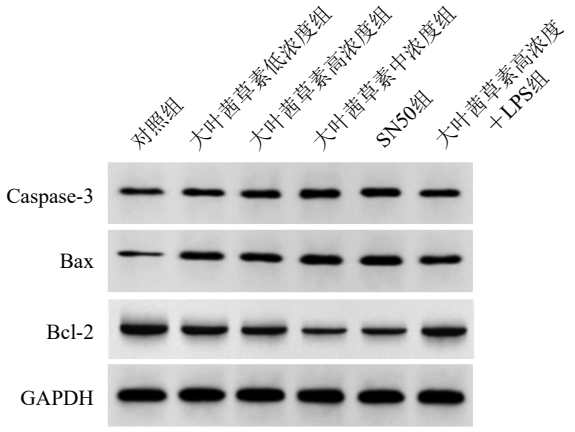


图 4 WB 检测各组 HepG2 细胞 Caspase-3、Bax、Bcl-2 蛋白表达

Figure 4 Caspase-3, Bax and Bcl-2 protein expression in each group of HepG2 cells by WB

表 3 各组 HepG2 细胞中 Caspase-3、Bax、Bcl-2、MMP-2 以及 MMP-9 蛋白表达情况（$\bar{x}\pm s$）

Table 3 Protein expression of Caspase-3, Bax, Bcl-2, MMP-2 and MMP-9 in HepG2 cells in each group（$\bar{x}\pm s$）

组别	Caspase-3	Bax	Bcl-2	Bax/Bcl-2	MMP-2	MMP-9
对照组	0.28±0.03	0.10±0.01	0.86±0.09	0.13±0.01	1.35±0.18	1.24±0.17
大叶茜草素低浓度组	0.39±0.04*	0.35±0.04*	0.61±0.07*	0.54±0.05*	1.03±0.14*	0.95±0.13*
大叶茜草素中浓度组	0.45±0.05*	0.44±0.05*	0.45±0.04*	0.92±0.10*	0.72±0.10*	0.82±0.11*
大叶茜草素高浓度组	0.51±0.06*	0.58±0.07*	0.31±0.02*	1.86±0.15*	0.64±0.09*	0.74±0.10*
SN50组	0.51±0.06*	0.57±0.07*	0.28±0.02*	1.92±0.17*	0.63±0.09*	0.73±0.10*
大叶茜草素高浓度＋LPS组	0.40±0.05#	0.36±0.04#	0.58±0.05#	0.59±0.06#	1.01±0.14#	0.94±0.13#
*F*值	18.580	72.462	94.022	290.634	29.638	13.711
*P*值	＜0.001	＜0.001	＜0.001	＜0.001	＜0.001	＜0.001

注：与对照组相比，*$P < 0.05$；与大叶茜草素高浓度组相比，#$P < 0.05$。

Note: *vs* control group, *$P < 0.05$; *vs* mollugin high dose group, #$P < 0.05$.

表 4 各组 HepG2 细胞 NF-κB、p-IκB-α 及 IκB-α 表达情况（$\bar{x}\pm s$）

Table 4 NF-κB, p-IκB-α and IκB-α protein expression of HepG2 cells in each group（$\bar{x}\pm s$）

组别	IκB-α	p-IκB-α	NF-κB
对照组	0.17±0.02	0.96±0.11	0.94±0.11
大叶茜草素低浓度组	0.35±0.04*	0.83±0.10*	0.80±0.10*
大叶茜草素中浓度组	0.69±0.08*	0.60±0.08*	0.62±0.07*
大叶茜草素高浓度组	0.98±0.11*	0.38±0.06*	0.41±0.05*
SN50组	0.99±0.11*	0.35±0.06*	0.42±0.05*
大叶茜草素高浓度＋LPS组	0.32±0.04#	0.72±0.09#	0.78±0.09#
*F*值	132.365	49.019	42.030
*P*值	＜0.001	＜0.001	＜0.001

注：与对照组相比，*$P < 0.05$；与大叶茜草素高浓度组相比，#$P < 0.05$。

Note: *vs* control group, *$P < 0.05$; *vs* mollugin high dose group, #$P < 0.05$.

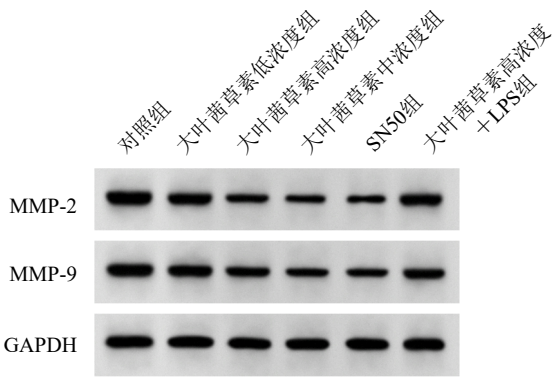


图 5 WB 检测各组 HepG2 细胞 MMP-2、MMP-9 蛋白表达

Figure 5 MMP-2 and MMP-9 protein expression in each group of HepG2 cells by WB

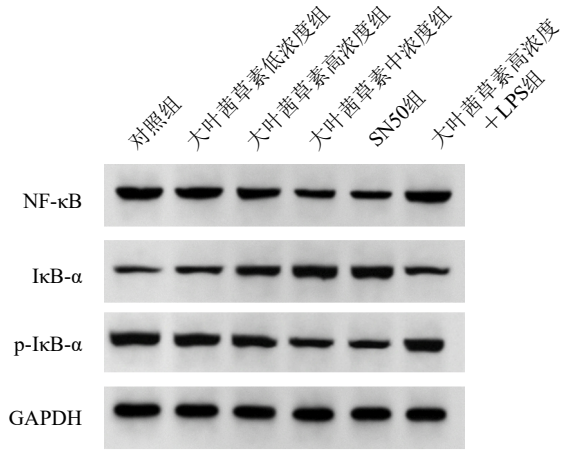


图 6 WB 检测各组 HepG2 细胞 NF-κB、IκB-α、p-IκB-α 表达

Figure 6 NF-κB, p-IκB-α and IκB-α protein expression in each group of HepG2 cells by WB

3 讨论

肝癌在我国发病率高、危害大，且受环境与遗传因素的影响。早期研究显示，可通过手术切除治疗，但中国肝癌晚期患者 5 年生存率低于 12.5%[11]。目前用于治疗肝癌的方法包括手术、化疗以及放射治疗等，但化疗药物不良反应较大，开发治疗新药为手术切除赢取机会是研究热点之一。

应用传统中药提取物治疗恶性肿瘤的治疗策略有广泛研究[12]。许多具有抗氧化、抗炎作用的植物化学物质可阻滞细胞周期、抑制细胞凋亡，从而具有防治恶性肿瘤的潜能[13]。有研究表明，大叶茜草素可抑制大鼠肺部炎症[14]；大叶茜草素的主要成分可发挥调控 HCT116 和 HeLa 细胞增殖、凋亡及血管生成等生物作用[15]；Do 等[5] 研究发现，大叶茜草素可呈剂量时间依赖性降低人表皮生长因子受体 -2 过表达的 SK-BR-3 人乳腺癌细胞和 SK-OV-3 人卵巢癌细胞恶性增殖能力，并诱导细胞凋亡，而不影响永生化正常乳腺上皮细胞系 MCF-10A；Wang 等[16] 研究显示，大叶茜草素可通过抑制肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor，TNF）-α 诱导的 NF-κB 发挥抗 Hela 细胞恶性增殖，并进行体内验证。本研究中，不同浓度大叶茜草素处理的 HepG2 细胞增殖抑制率由低到高依次增加，与 Ke 等[17] 报道一致，说明大叶茜草素可抑制 HepG2 细胞增殖。此外，本研究显示，大叶茜草素处理 HepG2 细胞后，凋亡率增加，侵袭、迁移细胞数、克隆细胞数降低，同时伴随着 Caspase-3、Bax 促凋亡蛋白表达升高，MMP-2、MMP-9 蛋白表达降低，这与大叶茜草素在乳腺癌中的促凋亡作用和前列腺癌中的抗迁移侵袭作用一致[18—19]，表明大叶茜草素可有效抑制 HepG2 的恶性化增殖、迁移和侵袭，并促进其凋亡，这一过程可能是通过调控凋亡、迁移侵袭相关蛋白表达实现的，提示大叶茜草素有作为肝癌治疗药物新型靶向的潜能。

NF-κB 可选择性结合在 B 细胞 κ 轻链增强子上调控多种基因表达，广泛存在于多种细胞、组织中，在细胞的炎症反应、免疫应答中发挥主要作用，是细胞增殖、凋亡等多种细胞活动的中心环节。静息状态下 NF-κB 与 IκB 结合，遭受外界刺激后 IκB 磷酸化并降解，NF-κB 激活，而 IκB-α 磷酸化是 NF-κB 激活的重要步骤，前期研究显示，HepG2 细胞核 NF-κB 表达升高[20]。郑凯威等[21] 研究显示，活化 NF-κB 可促进肝癌细胞的凋亡抵抗。吴思等[22] 研究显示，NF-κB 轴参与肝癌细胞迁移、侵袭；Gu 等[23] 研究显示，*Otubain 2* 基因敲除可通过抑制 NF-κB 信

号传导抑制肝癌细胞生长。还有研究表明，大叶茜草素可通过抑制 TNF-α 诱导的 NF-κB 活化而具备抗肿瘤活性[16]。与上述研究一致的是，本研究结果显示，大叶茜草素各浓度组的 HepG2 细胞中 NF-κB、p-IκB-α 表达降低，而 IκB-α 升高，且经 NF-κB 抑制剂 SN50 处理的 HepG2 细胞中 NF-κB、p-IκB-α 及 IκB-α 的表达趋势与大叶茜草素各浓度处理的趋势相同，提示大叶茜草素可能是通过抑制 NF-κB 活化，抑制 HepG2 细胞恶性化增殖、侵袭及迁移，并诱导凋亡。为进一步证明此猜想，本研究在高浓度大叶茜草素处理 HepG2 基础上添加 NF-κB 激活剂 LPS，发现 LPS 可逆转大叶茜草素对 HepG2 的抗增殖、侵袭、迁移及促凋亡作用，进一步提示大叶茜草素可通过抑制 NF-κB 通路，抑制 HepG2 细胞增殖、侵袭及迁移，并促进细胞凋亡。

4 结论

综上所述，大叶茜草素可能通过抑制 NF-κB 通路，抑制 HepG2 细胞增殖、侵袭及迁移，并促进细胞凋亡，有望成为治疗肝癌的靶向药物。本研究的创新性在于发现大叶茜草素可抑制 HepG2 细胞迁移、侵袭，并诱导凋亡；此外，大叶茜草素对 NF-κB 通路的抑制作用也是本研究的一大创新。但本研究也存在一定不足，未对此进行体内验证，下一步将对此展开研究。

参考文献：

[1] Yu XC, Liu JB, Tang QH, *et al*. Recent trends in the incidence and survival of stage Ⅰ liver cancer: a surveillance, epidemiology, and end results analysis[J]. Ann Med, 2022, 54(1): 2785-2795.

[2] Xing QQ, Li JM, Dong X, *et al*. Socioeconomics and attributable etiology of primary liver cancer, 1990—2019[J]. World J Gastroenterol, 2022, 28(21): 2361-2382.

[3] Anwanwan D, Singh SK, Singh S, *et al*. Challenges in liver cancer and possible treatment approaches[J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2020, 1873(1): 188314.

[4] Jeong GS, Lee DS, Kim DC, *et al*. Neuroprotective and anti-inflammatory effects of mollugin via up-regulation of heme oxygenase-1 in mouse hippocampal and microglial cells[J]. Eur J Pharmacol, 2011, 654(3): 226-234.

[5] Do MT, Hwang YP, Kim HG, *et al*. Mollugin inhibits proliferation and induces apoptosis by suppressing fatty acid synthase in HER2-overexpressing cancer cells[J]. J Cell Physiol, 2013, 228(5): 1087-1097.

[6] 魏利超, 吴旻. 过表达NF-κB对血管平滑肌细胞增殖与凋亡的影响[J]. 医学研究杂志, 2020, 49(8): 132-136.

[7] 周倩, 饶凤琴, 霍花,等. 蜡样芽孢杆菌调控NF-κB信号通路以抑制口腔鳞状細胞癌细胞增殖,迁移及侵袭[J]. 实用医学杂志, 2021, 37(6): 735-739.

[8] 苏韫, 李春波, 龚红霞, 等. 归芪白术方含药血清对胃癌MKN-45细胞增殖和IL-17, NF-κB表达的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(15): 1824-1829.

[9] 雷巧丽, 饶奇斌, 林泽文. 牛磺酸联合SN50协同抑制人肝癌细胞系HepG2的增殖[J]. 基础医学与临床, 2020, 40(3): 340-345.

[10] 于宇, 李晓宁. 蓝萼乙素通过NF-κB信号通路调控舌鳞状细胞癌细胞的增殖与凋亡[J]. 中国药师, 2020, 23(9): 1686-1690.

[11] Wang W, Wei C. Advances in the early diagnosis of hepatocellular carcinoma[J]. Genes Dis, 2020, 7(3): 308-319.

[12] 何立丽, 吕文良, 孙桂芝. 中药提取物抗原发性肝癌的研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(4): 1175-1178.

[13] Zhao Y, Hu X, Zuo X, *et al*. Chemopreventive effects of some popular phytochemicals on human colon cancer: a review[J]. Food Funct, 2018, 9(9): 4548-4568.

[14] Zhang Y, Zhou S, Zhou J, *et al*. Regulation of NF-κB/MAPK signaling pathway attenuates the acute lung inflammation in Klebsiella pneumonia rats by mollugin treatment[J]. Microb Pathog, 2019, 132: 369-373.

[15] 王喆. 长白山药用植物活性成分人参二醇和大叶茜草素抗肿瘤作用机制研究[D]. 延边: 延边大学, 2020.

[16] Wang Z, Li MY, Mi C, *et al*. Mollugin has an anti-cancer therapeutic effect by inhibiting TNF-α-induced NF-κB activation[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(8):1619.

[17] Ke XG, Xiong YY, Yu B, *et al*. Mollugin induced oxidative DNA damage via up-regulating ROS that caused cell cycle arrest in hepatoma cells[J]. Chem Biol Interact, 2022, 353: 109805.

（下转第 864 页）

inhibits cellular growth of vascular endothelial cells through suppression of G2/M transition[J]. Cancer Sci, 2010, 101(6): 1403-1408.

[57] Herrmann J, Wohlert C, Saguner AM, *et al*. Primary proteasome inhibition results in cardiac dysfunction[J]. Eur J Heart Fail, 2013, 15(6): 614-623.

[58] Guglielmi V, Nowis D, Tinelli M, *et al*. Bortezomib-induced muscle toxicity in multiple myeloma[J]. Neuropathol Exp Neurol, 2017, 76(7): 620-630.

[59] Pancheri E, Guglielmi V, Wilczynski GM, *et al*. Non-hematologic toxicity of bortezomib in multiple myeloma: the neuromuscular and cardiovascular adverse effects[J]. Cancers(Basel), 2020, 12(9): 2540.

[60] Moreau P, Attal M, Hulin C, *et al*. Bortezomib, thalidomide, and dexamethasone with or without daratumumab before and after autologous stem-cell transplantation for newly diagnosed multiple myeloma(CASSIOPEIA): a randomised, open-label, phase 3 study[J]. Lancet, 2019, 394(10192): 29-38.

(编辑：虞 瑛)

(上接第790页)

[18] Siwei Z, Zhen W, Zhi Z, *et al*. Rubimaillin decreases the viability of human ovarian cancer cells via mitochondria-dependent apoptosis[J]. Cell Mol Biol(Noisy-le-grand), 2019, 65(7): 72-76.

[19] Cai F, Guo S, Huang S, *et al*. Rubimaillin suppresses proliferation, migration and invasion of prostate cancer cells via the Notch-1/MMP signaling pathway[J]. Cell Mol Biol(Noisy-le-grand), 2020, 66(2): 130-134.

[20] Nan S, Wang Y, Xu C, *et al*. Interfering microRNA-410 attenuates atherosclerosis via the HDAC1/KLF5/IKBα/NF-κB axis[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2021, 24: 646-657.

[21] 郑凯威, 周烨, 李振洋, 等. CARD10通过活化NF-κB信号进而促进肝癌细胞凋亡抵抗[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2020, 27(3): 289-294.

[22] 吴思, 艾芬, 朱聚, 等. HIF-1α/IL-8/NF-κB轴介导缺氧诱导肝癌细胞迁移,侵袭的实验研究[J]. 临床肿瘤学杂志, 2018, 23(9): 780-784.

[23] Gu ZL, Huang J, Zhen LL. Knockdown of otubain 2 inhibits liver cancer cell growth by suppressing NF-κB signaling[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2020, 36(6): 399-404.

(编辑：沈佳婕)