

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research

人参皂苷 Rh2 影响结肠癌发展的研究

Research of ginsenoside Rh2 affecting the development
of colon cancer

易建中, 刘云庚, 刘传渊,
肖荷芳, 张 磊, 刘红权,
方传发

(赣州市人民医院 胃肠疝外科, 江西 赣州
341000)

YI Jian - zhong, LIU Yun - geng,
LIU Chuan - yuan, XIAO He - fang,
ZHANG Lei, LIU Hong - quan,
FANG Chuan - fa

(Department of Gastrointestinal Hernia
Surgery, Ganzhou People's Hospital,
Ganzhou 341000, Jiangxi Province,
China)

基金项目: 江西省卫生健康委科技计划基金资助项目(20204628)

作者简介: 易建中(1973-), 男, 副主任医师, 主要从事胃肠道恶性肿瘤方向的基础及临床方面的研究

通信作者: 易建中

MP: 13576665678

E-mail: yi_jian_zhong@126.com

摘要:目的 探究人参皂苷 Rh2 通过微小核糖核酸 - 128 - 3p(miR - 128 - 3p)/生长分化因子 15(GDF15)介导无翅型 MMTV 整合位点家族成员/ β - 连环素(Wnt/ β - catenin)信号通路影响结肠癌发展的作用机制。方法 将结肠癌细胞 SW620 细胞随机分为对照组(常规培养)、实验组(人参皂苷 Rh2 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、NC inhibitor 组(转染 NC inhibitor)、miR - 128 - 3p inhibitor 组(转染 miR - 128 - 3p inhibitor)、人参皂苷 Rh2 + miR - 128 - 3p inhibitor 组($20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 人参皂苷 Rh2/转染 miR - 128 - 3p inhibitor)和人参皂苷 Rh2 + miR - 128 - 3p inhibitor + si - GDF15 组($20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 人参皂苷 Rh2/转染 miR - 128 - 3p inhibitor、si - GDF15)。用实时荧光定量聚合酶链反应检测 miR - 128 - 3p 和 GDF15 mRNA 相对表达水平,用 5' - 乙炔基 - 2' - 脱氧尿苷检测细胞增殖情况,用蛋白质印迹法检测骨髓细胞瘤癌基因(Myc)和 β - catenin 蛋白相对表达水平。**结果** 对照组和实验组的 miR - 128 - 3p 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.16 和 1.56 ± 0.25 , GDF15 mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.12 和 0.43 ± 0.05 , 增殖率分别为 $(88.76 \pm 8.56)\%$ 和 $(35.89 \pm 4.05)\%$, 骨髓细胞瘤癌基因(Myc)蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.21 和 0.45 ± 0.06 , β - 连环素(β - catenin)蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.23 和 0.52 ± 0.07 , 实验组的上述指标与对照组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。人参皂苷 Rh2 + miR - 128 - 3p inhibitor 组和人参皂苷 Rh2 + miR - 128 - 3p inhibitor + si - GDF15 组的细胞增殖率分别为 $(68.56 \pm 7.12)\%$ 和 $(50.56 \pm 5.18)\%$, Myc 蛋白相对表达水平分别为 0.86 ± 0.12 和 0.61 ± 0.08 , β - catenin 蛋白相对表达水平分别为 0.71 ± 0.09 和 0.58 ± 0.08 , 人参皂苷 Rh2 + miR - 128 - 3p inhibitor 组的上述指标与实验组比较、人参皂苷 Rh2 + miR - 128 - 3p inhibitor + si - GDF15 组的上述指标与人参皂苷 Rh2 + miR - 128 - 3p inhibitor 组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。**结论** 人参皂苷 Rh2 可以抑制结肠癌细胞增殖、迁移,促进凋亡,这可能与调控 miR - 128 - 3p/GDF15 抑制 Wnt/ β - catenin 信号通路有关。

关键词: 人参皂苷 Rh2; 微小核糖核酸 - 128 - 3p; 结肠癌; 增殖; 迁移; 凋亡; β - 连环素; 生长分化因子 15

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.09.008

中图分类号: R28 文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)09-1242-06

Abstract: Objective To explore the effects of ginsenoside Rh2 on the development of colon cancer through microRNA - 128 - 3p(miR - 128 - 3p)/growth differentiation factor 15(GDF15) mediated wingless - type MMTV integration site family member (Wnt)/ β - catenin signaling pathway. **Methods** SW620 colorectal cancer cells were randomly divided into the following groups: Control group (standard culture), experimental group (treated with ginsenoside Rh2 at $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), NC inhibitor group (transfected with NC inhibitor), miR - 128 - 3p inhibitor group

(transfected with miR - 128 - 3p inhibitor), ginsenoside Rh2 + miR - 128 - 3p inhibitor group (treated with ginsenoside Rh2 at $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ and transfected with miR - 128 - 3p inhibitor), and ginsenoside Rh2 + miR - 128 - 3p inhibitor + si - GDF15 group (treated with ginsenoside Rh2 at $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, transfected with miR - 128 - 3p inhibitor and si - GDF15). Quantitative real - time polymerase chain reaction (qRT - PCR) was used to detect the relative expression levels of miR - 128 - 3p and GDF15 mRNA. Cell proliferation was assessed using 5 - ethynyl - 2' - deoxyuridine (EdU) incorporation assay. Western blotting was employed to detect the protein relative levels of myelocytomatosis oncogene (Myc) and β - catenin. **Results** The relative expression levels of miR - 128 - 3p in the control group and experimental group were 1.00 ± 0.16 and 1.56 ± 0.25 , respectively; the relative expression relative levels of GDF15 mRNA were 1.00 ± 0.12 and 0.43 ± 0.05 , respectively; the proliferation rates were $(88.76 \pm 8.56)\%$ and $(35.89 \pm 4.05)\%$, respectively; the v - myc avian myelocytomatosis viral oncogene homolog (Myc) protein levels were 1.00 ± 0.21 and 0.45 ± 0.06 , respectively; and the β - catenin protein relative levels were 1.00 ± 0.23 and 0.52 ± 0.07 , respectively. Compared with the control group, the above indicators in the experimental group showed statistically significant differences (all $P < 0.05$). In the ginsenoside Rh2 + miR - 128 - 3p inhibitor group and ginsenoside Rh2 + miR - 128 - 3p inhibitor + si - GDF15 group, the cell proliferation rates were $(68.56 \pm 7.12)\%$ and $(50.56 \pm 5.18)\%$, respectively; the Myc protein relative levels were 0.86 ± 0.12 and 0.61 ± 0.08 , respectively; and the β - catenin protein relative levels were 0.71 ± 0.09 and 0.58 ± 0.08 , respectively. The above indicators in the ginsenoside Rh2 + miR - 128 - 3p inhibitor group compared with the experimental group, and those in the ginsenoside Rh2 + miR - 128 - 3p inhibitor + si - GDF15 group compared with the ginsenoside Rh2 + miR - 128 - 3p inhibitor group, all showed statistically significant differences (all $P < 0.05$).

Conclusion Ginsenoside Rh2 can inhibit the proliferation and migration of colon cancer SW620 cells, and promote the apoptosis, which may be related to the regulation of ginsenoside Rh2 on the miR - 128 - 3p/GDF15 to inhibit Wnt/ β - catenin signaling pathway.

Key words: ginsenoside Rh2; microRNA - 128 - 3p; colon cancer; proliferation; migration; apoptosis; β - catenin; growth differentiation factor 15

结肠癌是常见的消化道恶性肿瘤,发病率和死亡率高,现有的治疗方式(如手术切除和化疗)预后不佳。中医药治疗在降低药物不良反应和保守治疗等方面具有优势,是抗结肠癌药物的研究热点^[1]。人参皂苷 Rh2 是中国传统中草药人参的有效生物成分,是一种安全有效的抗肿瘤药物。有研究报道,人参皂苷 Rh2 可以抑制结肠癌的生长^[2]。微小 RNA - 128 - 3p (microRNA - 128 - 3p, miR - 128 - 3p) 被报道与多种肿瘤发生发展相关。miR - 128 - 3p 低表达与胃癌细胞免疫逃逸有关^[3]。生长分化因子 15 (growth differentiation factor 15, GDF15) 也被广泛报道与消化系统肿瘤有关,在临床研究中,血清 GDF15 水平有助于结肠癌的早期预警和预后评估^[4]。本研究用人参皂苷 Rh2 干预结肠癌细胞 SW620,研究其对该细胞增殖、迁移、凋亡的影响,并探究其作用机制。

材料与方法

1 材料

细胞 人正常肠上皮细胞(NCM460 细胞)、结肠

癌细胞系(HCT116 细胞、SW620 细胞、CaCo - 2 细胞)、人胚肾细胞(293T 细胞),均购自武汉尚恩生物技术有限公司。

药品与试剂 人参皂苷 Rh2,规格:每瓶 20 mg,纯度:98%,批号:J2217496,上海阿拉丁生化科技股份有限公司生产。磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffered solution, PBS)、放射免疫沉淀测定(radio immunoprecipitation assay, RIPA)裂解液、多聚甲醛,均为上海碧云天生物技术有限公司生产;曲拉通(Triton X - 100),德国 Merck 公司生产;4',6 - 二脒基 - 2 - 苯基吲哚(4',6 - diamidino - 2 - phenylindole, DAPI)试剂,美国 Thermo 生产;增强型化学发光(enhanced chemiluminescence, ECL)发光液,新赛美生物科技有限公司生产;聚偏二氟乙烯(polyvinylidene difluoride, PVDF),美国 Millipore 公司生产;TRIzolTM 试剂、蛋白酶 K,均为美国 Thermo 公司生产;逆转录试剂盒,美国 Thermo 公司生产;5 - 乙炔基 - 2' - 脱氧尿苷(5 - acetylidene - 2' - deoxyuridine, EdU)细胞增殖检测试剂盒、原位末端转移酶标记(terminal deoxynucleotidyl transferase -

mediated dUTP nick end labeling, TUNEL) 细胞凋亡检测试剂盒、聚氰基丙烯酸正丁酯(bicinchoninic acid, BCA)蛋白定量试剂盒,均为上海碧云天生物技术有限公司生产;鼠抗地高辛抗体、异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)标记山羊抗鼠抗体、兔抗人 GDF15 抗体、Alexa Fluor® 647 标记山羊抗兔抗体、兔抗人骨髓细胞瘤癌基因(v-myc avian myelocytomatosis viral oncogene homolog, Myc)抗体、兔抗人 β -连环素(β -catenin)抗体、辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记山羊抗兔抗体,均为英国 Abcam 公司产品。引物,均由上海生工生物工程有限公司设计合成。

仪器 Eclipse Ti-SR 荧光显微镜,日本尼康公司产品;7300 实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real time polymerase chain reaction, qRT-PCR)仪,美国 ABI 公司产品。

2 实验方法

2.1 细胞培养^[5]

NCM460 细胞、293T 细胞、CaCo-2 细胞、HCT116 细胞、SW620 细胞均用杜氏改良伊戈尔培养基(Dulbecco's modified eagle medium, DMEM)高糖培养基(含 1% 双抗、10% 胎牛血清)培养,并置于 37℃、5% 二氧化碳培养箱中。常规消化、传代培养,取对数生长期的细胞进行后续实验。

2.2 细胞分组与给药方法

取对数生长期 SW620 细胞,随机分为对照组、实验组、NC inhibitor 组、miR-128-3p inhibitor 组、人参皂苷 Rh2 + miR-128-3p inhibitor 组、人参皂苷 Rh2 + miR-128-3p inhibitor + si-GDF15 组。对照组:细胞正常培养;实验组:20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 人参皂苷 Rh2 处理细胞;NC inhibitor 组:在细胞中转染 NC inhibitor;miR-128-3p inhibitor 组:在细胞中转染 miR-128-3p inhibitor;人参皂苷 Rh2 + miR-128-3p inhibitor 组:在实验组基础之上转染 miR-128-3p inhibitor;人参皂苷 Rh2 + miR-128-3p inhibitor + si-GDF15 组:在人参皂苷 Rh2 + miR-128-3p inhibitor 组基础之上敲低 GDF15 表达水平。

取对数生长期的 293T 细胞,随机分为 293T-NC inhibitor 组(转染 NC inhibitor)和 293T-miR-128-3p inhibitor 组(转染 miR-128-3p inhibitor),分别与 GDF15 MUT 和 GDF15 WT 质粒共转染。

2.3 qRT-PCR 检测各组细胞 miR-128-3p 和 GDF15 mRNA 相对表达水平^[6]

按“2.2”分组和给药处理,待结束后,吸出培养液,用常温 PBS 清洗细胞,用 TRIzol™ 试剂提取各组细

胞的总 RNA,用逆转录试剂盒进行逆转录,然后进行荧光定量,以 U6 小核 RNA(U6 small nuclear RNA, U6)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)为内参,用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析 mRNA 相对表达水平。

2.4 EdU 试剂盒检测细胞增殖能力^[6]

按“2.2”进行分组和给药处理,然后严格按照 EdU 试剂盒说明书进行 EdU 标记、固定、核染,在荧光显微镜下观察并拍照。

2.5 蛋白质印迹实验检测各组细胞 Myc 和 β -catenin 蛋白相对表达水平^[6]

将各组细胞均匀铺板并培养至密度 80%,按“2.2”给药,结束后用 PBS 清洗 2 次,胰蛋白酶消化后 PBS 清洗并离心,加入 RIPA 裂解液,提取总蛋白,用 BCA 蛋白定量法,检测样品蛋白质浓度。取上述样品 10 μg 进行电泳分离后转至 PVDF 膜上,8% 牛血清白蛋白封闭 2 h。加入 Myc、 β -catenin 一抗 4℃ 孵育过夜,洗膜,加入 HRP 标记山羊抗兔二抗室温避光孵育 2 h,洗膜,发光液显影,拍照,用 Image J 软件读取灰度值并分析。

2.6 双荧光素酶活性检测验证 miR-128-3p 和 GDF15 的靶向关系^[3]

通过 TargetScanHuman 8.0 在线网站(https://www.targetscan.org/vert_80/)预测 miR-128-3p 和 GDF15 的结合位点。取对数生长期的 293T 细胞,培养至 80% 汇合度,构建 GDF15 MUT 和 GDF15 WT 质粒,并分别与 NC inhibitor 和 miR-128-3p inhibitor 共转染至 293T 细胞中,检测荧光素酶活性。

2.7 荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)检测 miR-128-3p 表达情况^[7]

用 6 孔板制备细胞爬片,每孔细胞量不少于 2×10^6 ,按照“2.2”给药处理,结束后弃上清液,用多聚甲醛固定,蛋白酶 K 通透,用 miR-128-3p 探针 5'-DIG-AAAGAGACCGGTTCACTGTGA-DIG-3' 杂交,洗脱,添加鼠抗地高辛抗体(1:1 000)孵育,洗脱,添加 FITC 标记山羊抗鼠二抗(1:1 000)孵育,洗脱,抗淬灭封片剂封片,荧光显微镜下观察。

2.8 免疫荧光检测 GDF15 表达情况^[7]

各组细胞取对数生长细胞,按照“2.2”给药处理,结束后弃上清液,用 4% 多聚甲醛固定,通透,兔抗人 GDF15 一抗(1:100)孵育,洗脱,Alexa Fluor® 647 标记山羊抗兔二抗(1:500)孵育,洗脱,复染,封片,显微镜下拍照观察。

2.9 细胞划痕实验检测细胞迁移情况^[7]

将各组细胞消化、离心、无血清重悬挂、调整浓度

至 $1 \times 10^5 \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$, 孔板底面画好直线, 确保每孔能通过 3 条平行线, 待细胞增殖至 80 % ~ 90 % 时, 吸除培养基, 添加丝裂霉素溶液 1 mL, 培养箱放 1 h, 加入 PBS 1 mL, 10 μL 枪头垂直于板面以及背侧横线划竖线, PBS 冲洗 3 次, 添加 5 % 胎牛血清完全培养基 600 μL , 按照“2.2”给药, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养, 镜下观察并拍照, 再次培养箱内培养 2 d 后, 通过标记背侧面平行线位置, 确保拍照在相同位置, 用 Image J 软件分析细胞划痕面积, 计算 2 d 后划痕愈合的百分比。

2.10 TUNEL 实验检测细胞凋亡情况^[8]

按照“2.2”给药处理, 结束后收集各组细胞, 用多聚甲醛固定 30 min, 用含 0.3 % Triton X-100 的 PBS 室温孵育 5 min, 加入 TUNEL 检测液 50 μL , 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 1 h, 并用 DAPI 进行复染, 在荧光显微镜下观察并拍照。

3 统计学方法

用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用独立样本 t 检验。

结 果

1 *miR-128-3p* 和 *GDF15* 在结肠癌细胞系中表达水平

NCM460、HCT116、SW620 和 CaCo-2 细胞中 *miR-128-3p* 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.15 、 0.66 ± 0.07 、 0.41 ± 0.05 和 0.79 ± 0.08 , *GDF15* mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.13 、 1.56 ± 0.19 、 1.70 ± 0.20 和 1.28 ± 0.18 , HCT116、SW620、CaCo-21 细胞的 *miR-128-3p*、*GDF15* mRNA 相对表达水平与 NCM460 细胞比较, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。其中, SW620 细胞中 *miR-128-3p*、*GDF15* mRNA 相对表达水平较 NCM460 细胞变化差异更为明显, 故选择 SW620 细胞进行后续实验。

2 体外验证 *miR-128-3p* 与 *GDF15* 靶向互作关系

对照组给予常规培养; 实验组给予人参皂苷 Rh2 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; NC inhibitor 组转染 NC inhibitor; *miR-128-3p* inhibitor 组转染 *miR-128-3p* inhibitor; 人参皂苷 Rh2 + *miR-128-3p* inhibitor 组给予 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 人参皂苷 Rh2 + 转染 *miR-128-3p* inhibitor; 人参皂苷 Rh2 + *miR-128-3p* inhibitor + si-*GDF15* 组给予 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 人参皂苷 Rh2 + 转染 *miR-128-3p* inhibitor 和 si-*GDF15*。

TargetScanHuman 8.0 在线网站预测分析发现, *miR-128-3p* 与 *GDF15* 存在结合位点 (见图 1)。双荧光素酶活性检测结果显示, 293T-NC inhibitor 组和

293T-*miR-128-3p* inhibitor 组与 *GDF15* WT 共转染荧光活性分别为 1.00 ± 0.12 和 1.76 ± 0.18 , 与 *GDF15* MUT 共转染荧光活性分别为 1.00 ± 0.13 和 1.03 ± 0.12 , 293T-*miR-128-3p* inhibitor 组与 *GDF15* WT 共转染的荧光活性与 293T-NC inhibitor 组相比, 在统计学上差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 293T-*miR-128-3p* inhibitor 组与 *GDF15* MUT 共转染的荧光活性与 293T-NC inhibitor 组相比, 在统计学上差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。*miR-128-3p* inhibitor 组和 NC inhibitor 组的 *miR-128-3p* 相对表达水平分别为 0.42 ± 0.05 和 1.00 ± 0.15 , *GDF15* mRNA 相对表达水平分别为 1.85 ± 0.19 和 1.00 ± 0.14 , *miR-128-3p* inhibitor 组的 *miR-128-3p*、*GDF15* mRNA 相对表达水平与 NC inhibitor 组比较, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。

3 人参皂苷 Rh2 对 *miR-128-3p*/*GDF15* 表达的影响

如图 2 所示: 实验组和对照组的 *miR-128-3p* 相对

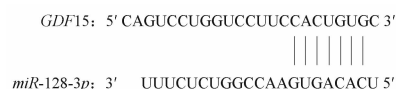


图 1 生长分化因子 15 (*GDF15*) 和微小核糖核酸 -128-3p (*miR-128-3p*) 的靶向关系及结合位点关系图

Figure 1 Targeting relationship and binding site relationship between growth differentiation factor 15 (*GDF15*) and microRNA-128-3p (*miR-128-3p*)

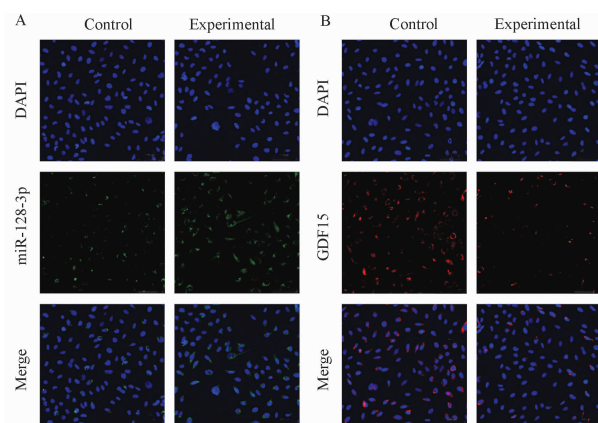


图 2 各组细胞中 *miR-128-3p* 和 *GDF15* 荧光水平

Figure 2 Fluorescence levels of *miR-128-3p* and *GDF15* in cells of each group

A: The level of *miR-128-3p* was detected by fluorescence in situ hybridization ($\times 100$); B: The level of *GDF15* protein was detected by immunofluorescence ($\times 100$); Control group: SW620 cells were cultured normally; Experimental group: SW620 cells were treated with 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ginsenoside Rh2.

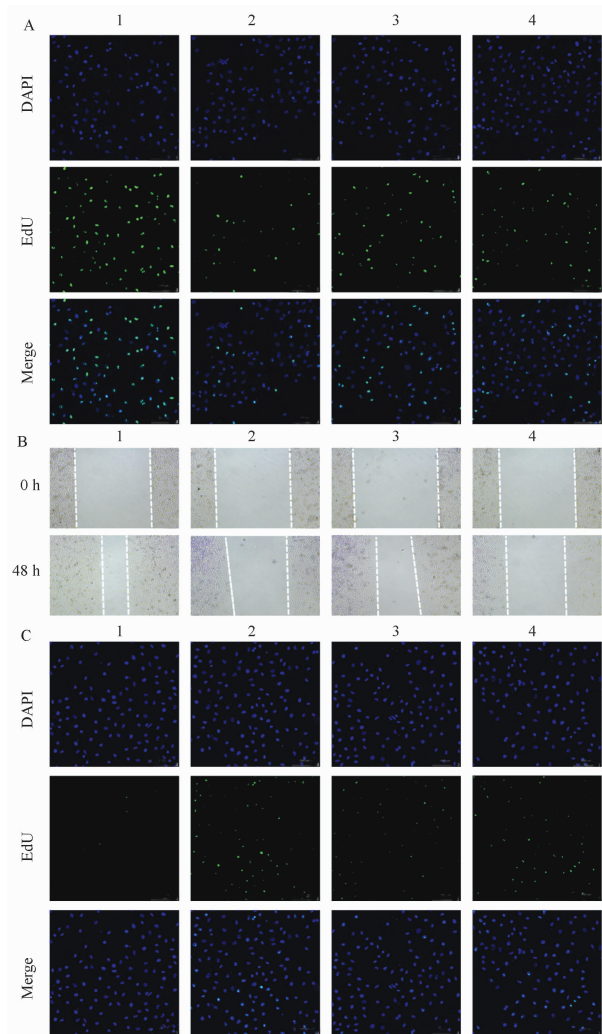


图3 各组细胞的增殖、迁移及凋亡情况

Figure 3 Cell proliferation, migration and apoptosis in each group

A: 5-acetyliden-2'-deoxyuridine (EdU) was used to detect cell proliferation rate in each group; B: Cell scratch assay was used to detect cell migration ability in each group; C: Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) was used to detect apoptosis in each group ($\times 100$); 1: Control group; 2: experimental group; 3: Ginsenoside Rh2 + miR-128-3p inhibitor group; 4: Ginsenoside Rh2 + miR-128-3p inhibitor + si-GDF15 group. The expression level of GDF15 was inhibited on the basis of ginsenoside Rh2 + miR-128-3p inhibitor group.

表达水平分别为 1.56 ± 0.25 和 1.00 ± 0.16 , miR-128-3p 相对荧光水平分别为 1.70 ± 0.21 和 1.00 ± 0.19 , GDF15 mRNA 相对表达水平分别为 0.43 ± 0.05 和 1.00 ± 0.12 , GDF15 相对荧光水平分别为 0.58 ± 0.08 和 1.00 ± 0.18 , 实验组的 miR-128-3p、GDF15 mRNA 相对表达水平以及 GDF15 相对荧光水平与对照组比较,在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。

4 人参皂苷 Rh2 通过 miR-128-3p/GDF15 抑制 SW620 细胞增殖、迁移,促进 SW620 细胞凋亡

如图3所示:对照组、实验组、人参皂苷 Rh2 + miR-128-3p inhibitor 组和人参皂苷 Rh2 + miR-128-3p inhibitor + si-GDF15 组的增殖率分别为 $(88.76 \pm 8.56)\%$ 、 $(35.89 \pm 4.05)\%$ 、 $(68.56 \pm 7.12)\%$ 和 $(50.56 \pm 5.18)\%$, 迁移率分别为 $(76.52 \pm 7.85)\%$ 、 $(35.28 \pm 3.86)\%$ 、 $(61.25 \pm 6.62)\%$ 和 $(38.23 \pm 4.00)\%$, 凋亡率分别为 $(8.62 \pm 0.96)\%$ 、 $(40.25 \pm 4.65)\%$ 、 $(28.65 \pm 3.33)\%$ 和 $(35.89 \pm 3.87)\%$ 。实验组与对照组比较、人参皂苷 Rh2 + miR-128-3p inhibitor 组与实验组比较、人参皂苷 Rh2 + miR-128-3p inhibitor + si-GDF15 组与人参皂苷 Rh2 + miR-128-3p inhibitor 组比较,细胞增殖率、迁移率和凋亡率,在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。

5 人参皂苷 Rh2 通过 miR-128-3p/GDF15 影响 Wnt/ β -catenin 信号通路

如图4所示:对照组、实验组、人参皂苷 Rh2 + miR-128-3p inhibitor 组、人参皂苷 Rh2 + miR-128-3p inhibitor + si-GDF15 组的 Myc 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.21 、 0.45 ± 0.06 、 0.86 ± 0.12 和 0.61 ± 0.08 , β -catenin 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.23 、 0.52 ± 0.07 、 0.71 ± 0.09 和 0.58 ± 0.08 , 实验组与对照组比较、人参皂苷 Rh2 + miR-128-3p inhibitor 组与实验组比较、人参皂苷 Rh2 + miR-128-3p inhibitor + si-GDF15 组与人参皂苷 Rh2 + miR-128-3p inhibitor 组比较, Myc、 β -catenin 蛋白相对表达水平在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。

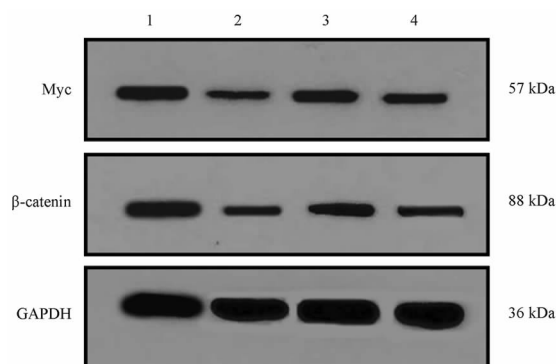


图4 用蛋白质印迹检测各组骨髓细胞瘤癌基因 (Myc) 和 β -连环素蛋白的表达情况

Figure 4 Western blot analysis of v-myc avian myelocytomatosis viral oncogene homolog (Myc) and β -catenin protein levels in each group

1-4 refer to figure 3.

讨 论

结肠癌是常见的消化系统癌症之一,患者早期没有明显症状,且易发生转移,死亡率高,现有治疗方式预后差^[9]。新药物研发应用及作用机制探究有助于解决结肠癌治疗难题,对提高肿瘤患者治疗效果具有重要意义。人参皂苷 Rh2 是人参中的主要生物活性成分,大量的研究证明其具有抑制肿瘤细胞增殖、促进肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞侵袭和迁移等作用,对肺癌、胃癌、肝癌、直肠癌和乳腺癌等均具有良好的预防及治疗效果^[10-11]。本研究发现,人参皂苷 Rh2 能抑制结肠癌细胞 SW620 增殖、迁移,促进细胞凋亡。有研究报道,*miR-128-3p* 通过靶向调控 E 盒结合锌指蛋白 1 抑制结直肠癌细胞的侵袭和迁移^[12], GDF15 在癌组织中异常高表达,可作为评估癌症发生的标志物^[4]。在本研究中,人参皂苷 Rh2 可以使 SW620 的 *miR-128-3p* 表达上升, GDF15 表达下降,这提示人参皂苷 Rh2 可能通过调控 *miR-128-3p* 和 GDF15 发挥抑癌作用。进一步研究发现, *miR-128-3p* 靶向负调控 GDF15 表达,在加入人参皂苷 Rh2 的同时加入 *miR-128-3p* 抑制药, SW620 细胞增殖、迁移能力升高,细胞凋亡减少,而在此基础上抑制 GDF15 表达,会使细胞增殖、迁移能力降低,细胞凋亡增多,这表明人参皂苷 Rh2 通过 *miR-128-3p*/GDF15 抑制 SW620 细胞增殖、迁移,诱导 SW620 细胞凋亡。

Wnt/ β -catenin 信号通路与结肠癌发生发展密切相关。多种药物可以通过干预 Wnt/ β -catenin 信号通路影响结肠癌细胞行为,达到治疗结肠癌作用。王旭等^[13]研究表明,黄芪总皂苷可能通过调控 Wnt3a/ β -catenin 通路发挥抑制结肠癌肝转移的作用。蒋义芳等^[14]研究表明,半夏泻心汤可能通过调控 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制炎症相关性结肠癌,改善炎症症状。本研究中,人参皂苷 Rh2 使 SW620 细胞 Myc/ β -catenin 蛋白表达水平平均明显降低,说明人参皂苷 Rh2 对结肠癌的治疗作用可能与 Wnt/ β -catenin 通路信号抑制有关。据研究报道, Wnt/ β -catenin 信号通路可能受到微小核糖核酸调控,比如 *miR-155* 过表达会导致 Wnt/ β -catenin 信号通路中 Wnt7/ β -catenin 和转录因子 4 表达下调,进而抑制胃癌细胞增殖^[15]。本研究中,同时用人参皂苷 Rh2 和 *miR-128-3p* 抑制药处理使 SW620 细胞 Myc/ β -catenin 蛋白水平升高,当抑制 GDF15 表达后,

Myc/ β -catenin 蛋白表达水平降低,这表明人参皂苷 Rh2 通过 *miR-128-3p*/GDF15 抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路。

本研究提示:人参皂苷 Rh2 可以抑制结肠癌细胞 SW620 细胞增殖、迁移,促进 SW620 细胞凋亡,这可能与人参皂苷 Rh2 调控 *miR-128-3p*/GDF15 抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路有关。

参考文献:

- [1] 阿丽亚·依拉木,白姣姣,阿布都艾则孜·艾尔肯,等. 没食子体外抗结肠癌活性提取物的筛选研究[J]. 世界中医药,2023,18(13):1862—1866.
- [2] 李诗鹏. 人参皂苷 Rh2 通过 *miR-150-3p*/SRCIN1/Wnt 轴抑制结肠癌增殖的机制研究[D]. 甘肃 兰州:兰州大学,2023.
- [3] 方炜丹. *miR-128-3p* 通过靶向 IL-16 影响胃癌中 CD4⁺ Treg 细胞的分化[D]. 江西 南昌:南昌大学,2020.
- [4] 毕晓峰,张超,李荣,等. 血清 GDF15 诊断及筛查结直肠癌的临床价值[J]. 中国肿瘤,2020,29(12):970—975.
- [5] 贾琳琳,汪红平,池华博文,等. 蟾毒灵通过抑制缺氧状态下的乳酸生成调节 M2 型巨噬细胞极化逆转结肠癌耐药[J]. 中国临床药理学杂志,2023,39(17):2492—2496.
- [6] 廖薇薇,傅祥炜,温必盛,等. *lncRNA CASC11* 靶向调控 *miR-146a-3p* 对结肠癌细胞增殖、侵袭的影响[J]. 华中科技大学学报(医学版),2023,52(6):803—809.
- [7] 王倩倩. 非编码 RNA 在小脑神经元及睾丸癌中的功能机制研究[D]. 安徽 合肥:中国科学技术大学,2023.
- [8] 张洁. 番茄碱通过 AMPK/COX-2 通路调控食管癌细胞凋亡的机制研究[J]. 中国临床药理学杂志,2023,39(16):2348—2352.
- [9] 朱雨,姜京植,金雪梅,等. 银莲花素 A 对结肠癌 HCT116 细胞增殖和凋亡的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2024,40(6):830—833.
- [10] 王露,权利娜. 人参皂苷 Rh2 对乳腺癌耐药细胞 MCF-7/ADM 凋亡和微小核糖核酸表达的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2019,35(16):1794—1797.
- [11] 李铭莹,林霖,王岩,等. 人参皂苷抗肿瘤机制及其纳米药物递送系统的研究进展[J]. 中草药,2024,55(2):688—696.
- [12] 马静,滕圣敏,李苓. *miR-128-3p* 靶向调控 ZEB1 表达对结肠癌细胞侵袭和迁移能力的影响[J]. 实用医学杂志,2021,37(17):2187—2193.
- [13] 王旭,万林鹭,殷启航,等. 黄芪总皂苷调控 Wnt3a/ β -catenin/EMT 通路抑制结肠癌肝转移的作用机制[J]. 中华中医药杂志,2024,39(4):1763—1768.
- [14] 蒋义芳,黄渝清,胡艳娥,等. 半夏泻心汤调控 Wnt/ β -catenin 通路抑制具核梭杆菌感染的炎症相关性结肠癌研究[J]. 中国中药杂志,2024,49(5):1266—1274.
- [15] 尹硕鑫,敖先伟,李博,等. 清热化湿方通过上调 *miRNA-155* 抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路治疗胃癌的作用机制研究[J]. 中国药房,2023,34(19):2339—2343.

(收稿日期 2024-10-30)