

扶正抗癌方抑制 HepG2 细胞诱导 EMT 机理探讨^{*}

方 瑜¹ 张淑珍¹ 闫平慧¹ 王相东¹ 陈光伟²

(1. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046; 2. 陕西中医药大学附属医院, 陕西 咸阳 712000)

摘 要:目的 探讨扶正抗癌方(FZKAF)对体外培养的人肝癌细胞 HepG2 迁移与侵袭能力的影响及可能的机制。方法 将细胞随机分为实验组和对照组,实验组给予 FZKAF 处理,对照组不添加任何药物,用 MTT 法测定两组 HepG2 细胞的活力,再分别采取细胞-基质黏附实验、划痕实验、Transwell 侵袭及迁移实验测定 HepG2 细胞黏附、侵袭及迁移的能力;最后通过明胶酶谱实验测定 HepG2 细胞内 TGF- β 1 的酶活性。结果 FZKAF 能抑制 HepG2 细胞的增殖,呈浓度依赖性,细胞-基质黏附实验、划痕实验、Transwell 侵袭及迁移实验表明实验组细胞的黏附、侵袭及迁移的能力明显低于对照组($P < 0.05$);明胶酶谱实验显示,随着 FZKAF 浓度的增加可以明显抑制 HepG2 细胞内 TGF- β 1 的酶活性。结论 一定剂量的 FZKAF 在体外可以抑制 HepG2 细胞的黏附、迁移和侵袭,其机制可能是通过抑制 TGF- β 1 的酶活性,抑制其表达,从而阻断肿瘤细胞的 EMT 过程有关。

关键词:扶正抗癌方;HepG2;迁移与侵袭;TGF- β 1

中图分类号: R 735.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-1340(2016)06-0121-04

DOI:10.13424/j.cnki.jsctcm.2016.06.041

肝癌(HCC)是全球最常见的,死亡率最高的恶性肿瘤之一,每年有 100 万例新确诊的病例,中国就占了约 50 %^[1]。目前,肝癌手术切除仍然是治疗肝癌最有效的方法,但是仅对早期确诊的患者有效,而转移是导致其死亡的主要原因之一^[2],因此寻求有效的治疗肝癌转移的方法来提高患者的生存率及改善患者的生存质量变得十分重要。

上皮-间质转化(EMT)能使肿瘤上皮细胞转变为具有间质特性的细胞,肿瘤细胞由此获得侵袭性和迁移性,从原发灶中逸出,进而发生转移,是肿瘤侵袭和转移过程的重要启动步骤,而转化生长因子 β (TGF- β)是肿瘤细胞 EMT 过程的重要诱导因子,在其介导下,上皮肿瘤细胞获得了更多的间充质的表型,提升了侵袭和迁移能力^[3-5]。

扶正抗癌方是陕西省名中医陈光伟主任医师集临床 40 年治癌经验所凝集的验方,临床效果显著,前期的动物实验显示该方有明确的抗肝癌复发与转移作用,本次研究预通过体外实验探讨基于 TGF- β 信号通路下扶正抗癌方抑制 HepG2 细胞诱导 EMT 的机理。

1 材料

1.1 细胞及动物 HepG2 细胞由唐都医院感染与

免疫实验室提供;Wistar 大鼠 20 只,雄性,体重 180~200g,许可证号为:SCXK(陕)2016-0003。

1.2 实验用药 扶正抗癌方(FZKAF)由陕中附院制剂研究中心提供,按成人体重 60 kg 计算,200 g 大鼠每公斤体重生药量折算为 126 g \div 60 kg \times 9.01 \times 0.2 kg=3.78 g,将 FZKAF 配置成 1.89 g/mL 混悬液,按 1 mL/100g 给药。

1.3 主要仪器及试剂 生物安全柜(Thermo)、CO₂ 孵箱(Hera Cell)、倒置显微镜(Olympus)、液氮灌(Thermo)、-80℃超低温冰柜(Thermo)、酶标仪(伯乐)、离心管(Corning)、移液器(艾本德);DMEM(Hyclone)、FBS(Hyclone)、MTT(Sigma)、胰蛋白酶溶液(北京索莱宝)、DMSO(Sigma)、Matrigel 基质胶(Corning)、Transwell 小室(Millipore)、电泳仪(Bio-Rad)、转膜仪(Bio-Rad)、荧光显微镜(OLYMPUS)、凝胶成像分析仪(Bio-Rad)、涡旋混悬仪(中国康健医疗有限公司)等。

2 实验方法

2.1 分组及给药 将动物随机分为两组,空白组:0.9 % 生理盐水,0.2 mL/只/d 灌胃;用药组:1.89 g/mL 中药煎剂,0.2 mL/只/d 灌胃;每日上下午各 1 次灌胃,连续 7 d 用药。第 6 次给药后禁食

^{*} 基金项目:陕西中医药大学校内课题资助(2015QN35)