

4) activation suppresses autophagy through inhibition of FOXO3 and impairs phagocytic capacity of microglia[J]. *Autophagy*, 2019, 15(5): 753-770.

[9] Kuter K Z, Cenci M A, Carta A R. The role of glia in Parkinson ’ s disease: Emerging concepts and therapeutic applications[J]. *Prog Brain Res*, 2020, 252: 131-168.

[10] Voet S, Srinivasan S, Lamkanfi M, *et al.* Inflammasomes in neuroinflammatory and neurodegenerative diseases[J]. *EMBO Mol Med*, 2019, 11(6): e10248.

[11] Strohm L, Behrends C. Glia-specific autophagy dysfunction in ALS[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2020, 99: 172-182.

[12] Wang K J, Zhao J P, Zhang W W, *et al.* Resveratrol attenuates aortic dissection by increasing endothelial barrier function through the SIRT1 pathway [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2020, 76(1): 86-93.

[13] Yang X D, Xu S Q, Qian Y W, *et al.* Resveratrol regulates microglia M1/M2 polarization *via* PGC-1 α in conditions of neuroinflammatory injury[J]. *Brain Behav Immun*, 2017, 64: 162-172.

[14] Liu Y, Tong L, Luo Y, *et al.* Resveratrol inhibits the proliferation and induces the apoptosis in ovarian cancer cells *via* inhibiting glycolysis and targeting AMPK/mTOR signaling pathway[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(7): 6162-6172.

[15] Breuss J M, Atanasov A G, Uhrin P. Resveratrol and its effects on the vascular system[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (7): 1523.

[16] Zeng Q, Xiong Q, Zhou M, *et al.* Resveratrol attenuates methamphetamine-induced memory impairment *via* inhibition of oxidative stress and apoptosis in mice [J]. *J Food Biochem*, 2021, 45(2): e13622.

[17] Mazgaeen L, Gurung P. Recent advances in lipopolysaccharide recognition systems[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(2): 379.

[18] Murtaza G, Khan A K, Rashid R, *et al.* FOXO transcriptional factors and long-term living[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 3494289.

[19] Tian Q Y, Fan X F, Ma J S, *et al.* Resveratrol ameliorates lipopolysaccharide-induced anxiety-like behavior by attenuating YAP-mediated neuro-inflammation and promoting hippocampal autophagy in mice [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2020, 408: 115261.

基于 PI3K/Akt 信号通路探讨槲皮素增强顺铂对人宫颈癌顺铂耐药细胞 HeLa/DDP 的作用

申昌梅， 廖振蓉*， 余 瑛
(江西省赣州市肿瘤医院，江西 赣州 341000)

摘要：**目的** 探讨槲皮素通过 PI3K/Akt 信号通路增强顺铂对人宫颈癌顺铂耐药细胞株 HeLa/DDP 的抗癌作用机制。**方法** 体外培养人宫颈癌顺铂耐药细胞株 HeLa/DDP，用不同浓度槲皮素（20、40、80 $\mu\text{mol/L}$ ）联合顺铂（DDP，10 $\mu\text{mol/L}$ ）处理，CCK8 法、克隆形成实验、Transwell 实验检测各组细胞增殖能力、克隆形成能力和迁移能力，RT-qPCR 法检测细胞 *PI3K*、*Akt*、*Survivin*、*MMP-2* mRNA 表达，Western blot 法检测细胞 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、Survivin、MMP-2 蛋白表达。**结果** 与对照组比较，药物处理组细胞增殖能力、克隆形成能力、迁移能力及 PI3K、Akt、Survivin、MMP-2 mRNA 和蛋白表达均降低（ $P<0.05$ ）；与顺铂组比较，槲皮素联合顺铂处理组细胞增殖能力、克隆形成能力、迁移能力及 PI3K、Akt、Survivin、MMP-2 mRNA 和蛋白表达均降低，并呈剂量依赖性（ $P<0.05$ ）。**结论** 槲皮素可能通过调控 PI3K/Akt 信号通路增强顺铂对人宫颈癌顺铂耐药细胞 HeLa/DDP 的抗癌作用，抑制细胞增殖和迁移能力，降低肿瘤细胞活性。

关键词：槲皮素；顺铂；人宫颈癌细胞株 HeLa/DDP；PI3K/Akt 信号通路

中图分类号：R285.5 **文献标志码：**B **文章编号：**1001-1528(2022)11-3667-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.11.048

宫颈癌是危害女性健康的恶性肿瘤之一，其发病率和死亡率高^[1]，主要危险因素包括高危人类乳头瘤病毒（hrHPV）感染、年龄、吸烟、分娩、使用口服避孕药和饮食，其中 hrHPV 持续感染是宫颈癌发展的主要因素，在早

收稿日期：2021-01-19

基金项目：江西省卫生计生委科技计划（20157201）；赣州市指导性科技计划项目（GZ2019ZSF261）

作者简介：申昌梅（1982—），女，主治医师，研究方向为妇产科。Tel：13576743978

* 通信作者：廖振蓉（1985—），硕士生，主治医师，研究方向为妇科肿瘤方向。E-mail：280896444@qq.com

期阶段，hrHPV 相关的宫颈癌并无症状^[2]。尽管在过去的几十年中，宫颈癌的预防和治疗策略得到了迅速发展，但是晚期和复发性宫颈癌患者的预后生存率仍然很低，其 1 年生存率仅为 10%~20%^[3]。化学疗法已被广泛应用于宫颈癌的临床治疗^[4]，顺铂是最常见的化学治疗药物，大多数宫颈癌患者在早期可以通过顺铂化疗获得良好的疗效，但在治疗过程中会逐渐产生耐药性，是宫颈癌长期治疗的主要限制^[5]。

槲皮素是石斛中的一种主要类黄酮，具有治疗癌症、心血管疾病和神经退行性疾病的潜力^[6]。Bishayee 等^[7]研究发现，槲皮素可以促进宫颈癌细胞凋亡，抑制细胞增殖。Che 等^[8]研究表明，抑制 PI3K/Akt 信号通路的活性可以抑制子宫颈癌细胞的增殖和上皮-间质转化（EMT），而激活 PI3K/Akt 信号通路可以促进宫颈癌细胞的生长并抑制其凋亡^[9]。本实验将探究槲皮素对人宫颈癌顺铂耐药细胞株 HeLa/DDP 顺铂耐药的影响，以及 PI3K/Akt 信号通路在其中起到的调控作用。

1 材料和方法

1.1 试剂与药物 槲皮素（纯度≥98%，货号 B20527-20 mg，上海源叶生物科技有限公司）；顺铂（纯度 98.0~102.0%，货号 MZ3502-100 mg，上海集奇生物科技有限公司）；二甲基亚砜（DMSO，山东伊维化工科技有限公司）；CCK-8 试剂盒、PI3K 抗体、p-PI3K 抗体、Akt 抗体、p-Akt 抗体、Survivin 抗体、MMP-2 抗体、二抗山羊抗兔 IgG（英国 Abcam 公司）；TRIzol（货号 15596026，美国 Invitrogen 公司）；转录试剂盒（货号 RR047A，日本 TaKaRa 公司）；Transwell 染色试剂盒（货号 BL710A，北京白鲨易科技有限公司）。

1.2 细胞株 人宫颈癌顺铂耐药细胞株 HeLa/DDP（货号 CL0677），购自湖南丰晖生物科技有限公司，培养于含 20% 牛血清（FBS）和 10% DMSO 的培养基中，胰酶常规消化、传代。

1.3 细胞分组及给药 取对数生长期的 HeLa/DDP 细胞，调整细胞密度，接种于 96 孔培养板中，在培养箱中培养 24 h，将细胞分为对照组（PBS）、顺铂组（10 μmol/L）和槲皮素低、中、高剂量（20、40、80 μmol/L）+顺铂（10 μmol/L）组，给予相应剂量药物干预处理。

1.4 CCK-8 法检测细胞增殖情况 取对数生长期 HeLa/DDP 细胞，调整密度为 1×10⁵/mL，并以每孔 100 μL 体积接种到 96 孔板中，常规培养过夜，按“1.3”项下分组处理，分别在 24、48、72 h 时加入 10 μL CCK-8 检测液，放入培养箱中继续孵育 4 h，通过酶标仪检测 450 nm 波长处的吸光度值，以吸光度值表示细胞活力。

1.5 克隆形成实验 取对数生长期 HeLa/DDP 细胞，制备成单细胞悬液并计数，每皿中接种 1 000 个细胞，于 CO₂ 培养箱内培养，每 3 d 换液 1 次，14 d 后，弃去培养基，PBS 清洗 3 次，甲醇固定 15 min，结晶紫染色 15 min，于显微镜下计数大于 50 个细胞的集落数。

1.6 Transwell 实验检测细胞迁移能力 对数生长期 HeLa/DDP 细胞饥饿 24 h，次日消化细胞，离心后重悬，调整细胞密度为 3×10⁵/mL，取 0.2 mL 悬液加入 Transwell 上室，下室加入 700 μL 含 10% FBS 的预冷 DMEM 细胞培养液，置于 5% CO₂、37 ℃ 的细胞培养箱中培养，24 h 后湿棉签拭去上室及基底膜上的细胞，甲醇固定 30 min，0.1% 结晶紫染液染色 20 min，流水冲洗，倒置，自然晾干，于倒置显微镜下观察并拍照。

1.7 RT-qPCR 法检测细胞 PI3K、Akt、Survivin、MMP-2 mRNA 表达 收集各组细胞，TRIzol 法提取总 RNA，使用逆转录试剂盒将 RNA 反转录成 cDNA，20 μL 体系，反应条件为 37 ℃ 15 min，85 ℃ 5 s。使用 SYBR Premix EX Taq 试剂盒配置上样体系，通过实时荧光定量 PCR 仪进行 RT-qPCR 反应，反应体系为 SYBR Mix 9 μL、正反向引物各 0.5 μL、cDNA 2 μL、RNase Free dH₂O 8 μL。记录各孔 C_T 值，以 β-actin 为内参，采用 2^{-ΔΔCT} 法计算 PI3K、Akt、Survivin、MMP-2 mRNA 相对表达量。

1.8 Western blot 法检测细胞 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、Survivin、MMP-2 蛋白表达 收集各组细胞，加入全蛋白裂解液后冰上裂解 10 min，提取得到的总蛋白采用 BCA 定量试剂盒进行定量，加入上样缓冲液于 95 ℃ 煮沸 10 min 进行变性。蛋白样本 SDS-PAGE 电泳后转移至 NC 膜，封闭液封闭 60 min，加入 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、Survivin、MMP-2 抗体，4 ℃ 孵育过夜，TBST 洗膜 3 次，加辣根过氧化物酶标记的二抗山羊抗兔 IgG H&L（HRP），室温下杂交 2 h，TBST 洗膜 3 次，ECL 试剂盒进行发光反应，曝光拍照，并进行图像分析，实验重复 3 次。

1.9 统计学分析 通过 SPSS 21.0 软件进行处理，计量资料以（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，服从正态分布，多组间比较采用方差分析，2 组间比较采用 *t* 检验。*P*<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 槲皮素联合顺铂对 HeLa/DDP 细胞增殖能力的影响 与对照组比较，48、72 h 各药物处理组细胞增殖能力降低（*P*<0.05）；与顺铂组比较，槲皮素联合顺铂处理组细胞增殖能力降低，并呈剂量依赖性（*P*<0.05），见表 1。

表 1 各组细胞增殖情况（ $\bar{x}\pm s$ ， <i>n</i> =3）			
组别	24 h	48 h	72 h
对照组	0.325±0.022	0.756±0.061	1.205±0.104
顺铂组	0.345±0.025	0.613±0.057 [*]	0.922±0.096 [*]
槲皮素低剂量+顺铂组	0.356±0.021	0.534±0.078 ^{**}	0.812±0.072 ^{**}
槲皮素中剂量+顺铂组	0.334±0.023	0.485±0.064 ^{***}	0.726±0.068 ^{***}
槲皮素高剂量+顺铂组	0.336±0.028	0.416±0.045 ^{***}	0.601±0.042 ^{***}

注：与对照组比较，^{*}*P*<0.05；与顺铂组比较，[#]*P*<0.05；与槲皮素低剂量+顺铂组比较，^{*}*P*<0.05；与槲皮素中剂量+顺铂组比较，[&]*P*<0.05。

2.2 槲皮素联合顺铂对 HeLa/DDP 细胞克隆形成能力的影响 与对照组比较,各药物处理组细胞克隆形成能力降低 ($P<0.05$);与顺铂组比较,槲皮素联合顺铂处理组细胞克隆形成能力降低,并呈剂量依赖性 ($P<0.05$),见表 2、图 1。

2.3 槲皮素联合顺铂对 HeLa/DDP 细胞迁移能力的影响 与对照组比较,各药物处理组细胞迁移能力降低 ($P<0.05$);与顺铂组比较,槲皮素联合顺铂处理组细胞迁移能力降低,并呈剂量依赖性 ($P<0.05$),见表 3、图 2。

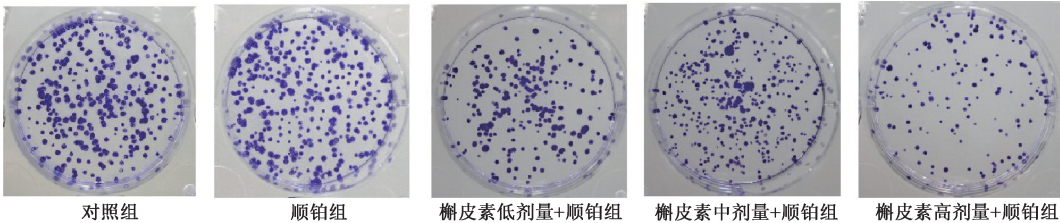


图 1 各组细胞克隆形成能力

表 3 各组细胞迁移率比较 ($\bar{x}\pm s, n=3$)	
组别	迁移率/%
对照组	89.57±3.05
顺铂组	70.20±3.41 *
槲皮素低剂量+顺铂组	58.54±3.01 **&
槲皮素中剂量+顺铂组	39.10±2.84 **\$
槲皮素高剂量+顺铂组	23.28±3.04 **\$&

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与顺铂组比较,# $P<0.05$;与槲皮素低剂量+顺铂组比较,\$ $P<0.05$;与槲皮素中剂量+顺铂组比较,& $P<0.05$ 。

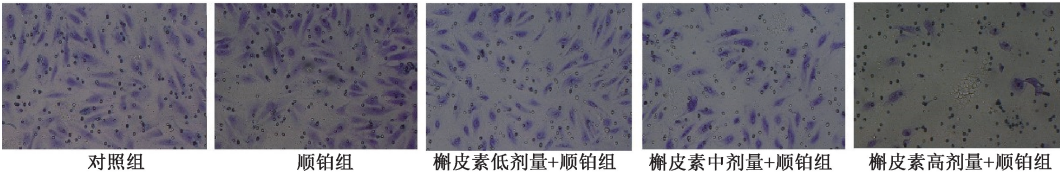


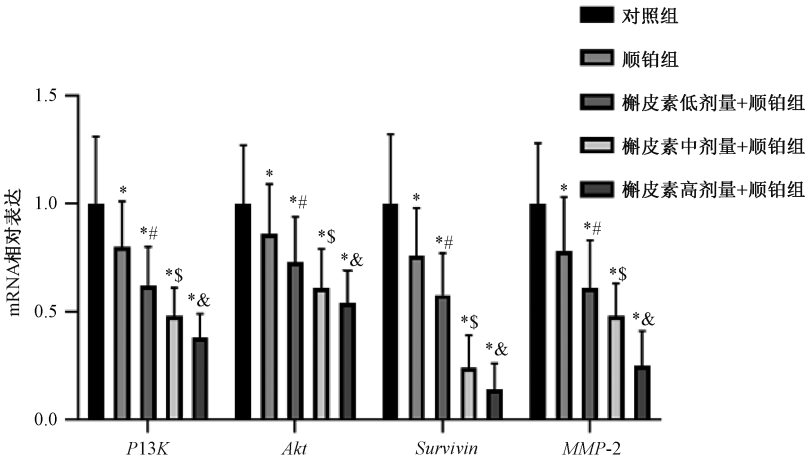
图 2 各组细胞迁移能力 (×200)

表 2 各组细胞菌落形成率比较 ($\bar{x}\pm s, n=3$)	
组别	菌落形成率/%
对照组	62.30±2.50
顺铂组	50.20±2.04 *
槲皮素低剂量+顺铂组	30.05±2.18 **
槲皮素中剂量+顺铂组	21.04±1.63 **\$
槲皮素高剂量+顺铂组	10.31±1.05 **\$&

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与顺铂组比较,# $P<0.05$;与槲皮素低剂量+顺铂组比较,\$ $P<0.05$;与槲皮素中剂量+顺铂组比较,& $P<0.05$ 。

2.4 槲皮素联合顺铂对 HeLa/DDP 细胞 *PI3K*、*Akt*、*Survivin*、*MMP-2* mRNA 表达的影响 与对照组比较,各药物处理组细胞 *PI3K*、*Akt*、*Survivin*、*MMP-2* mRNA 表达降低 ($P<0.05$);与顺铂组比较,槲皮素联合顺铂处理组细胞 *PI3K*、*Akt*、*Survivin*、*MMP-2* mRNA 表达降低,并呈剂量依赖性 ($P<0.05$),见图 3。

2.5 槲皮素联合顺铂对 HeLa/DDP 细胞 *PI3K*/*Akt* 信号通路活性的影响 与对照组比较,各药物处理组细胞 *PI3K*、p-*PI3K*、*Akt*、p-*Akt*、*Survivin*、*MMP-2* 蛋白表达降低

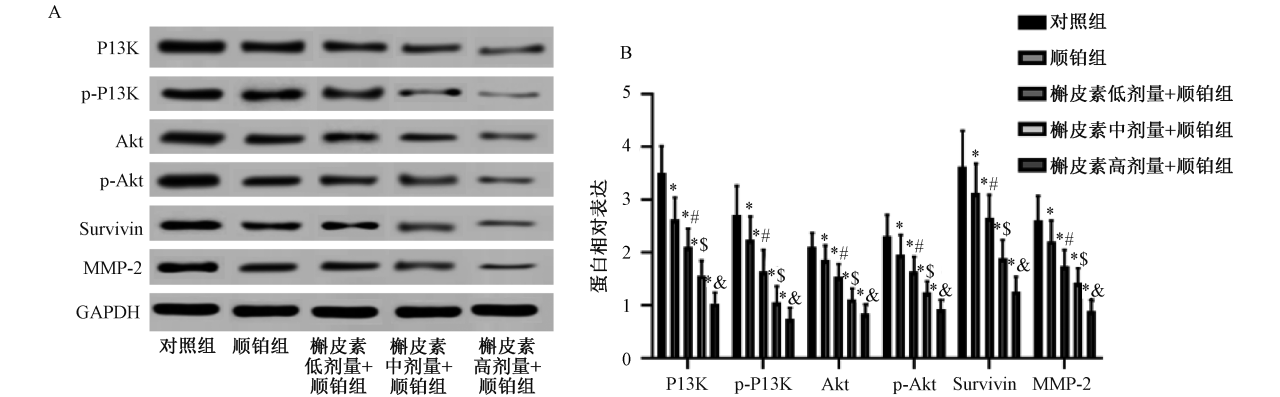


注:与对照组比较,* $P<0.05$;与顺铂组比较,# $P<0.05$;与槲皮素低剂量+顺铂组比较,\$ $P<0.05$;与槲皮素中剂量+顺铂组比较,& $P<0.05$ 。

图 3 各组细胞 *PI3K*、*Akt*、*Survivin*、*MMP-2* mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

($P<0.05$)；与顺铂组比较，槲皮素联合顺铂处理组细胞 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、Survivin、MMP-2 蛋白表达降

低，并呈剂量依赖性 ($P<0.05$)，见图 4。提示，槲皮素联合顺铂可以降低 PI3K/Akt 信号通路活性。



注：A 为蛋白条带图，B 为蛋白相对表达统计图。与对照组比较，* $P<0.05$ ；与顺铂组比较，# $P<0.05$ ；与槲皮素低剂量+顺铂组比较，\$ $P<0.05$ ；与槲皮素中剂量+顺铂组比较，& $P<0.05$ 。

图 4 各组细胞 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、Survivin、MMP-2 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

3 讨论

宫颈癌的死亡率位居全球癌症死亡率第 4，全球新发病例数为 52.8 万^[10]，我国宫颈癌的发生率与死亡率呈现上升趋势^[11]。顺铂是最常用的化学治疗药物，已被证明是治疗晚期或复发性宫颈癌的最有效药物之一^[12]，然而顺铂耐药性仍是长期疗效的最大挑战，宫颈癌中对顺铂耐药的机制尚不清楚。

槲皮素是植物界分布广泛，具有多种生物活性的黄酮醇类化合物，已被证明有抗氧化、抗炎和抗增殖作用，具有潜在的抗癌特性^[13]。有大量研究表明，槲皮素在肿瘤治疗方面有一定的效果。在前列腺癌中，槲皮素可以下调 hnRNPA1、AR-V7 表达，拮抗雄激素受体信号传导，并使 enzalutamide 治疗小鼠异种移植重新敏感^[14]；在宫颈癌中，槲皮素通过依赖 p53 的机制，调控核形态，磷脂酰丝氨酸外化，线粒体膜去极化，调节细胞周期调控蛋白，NF- κ B 家族成员和促凋亡的 Bcl-2 家族蛋白，诱导 G₂/M 期细胞周期停滞和线粒体凋亡，以剂量依赖的方式抑制了宫颈癌细胞的活力^[15]。槲皮素能够减少细胞内活性氧和脂质过氧化物的产生，维持了线粒体膜电位和 DNA 的完整性^[16]，并以剂量依赖性方式调节各种染色质修饰剂的表达，并降低 DNA 甲基转移酶 (DNMT)，组蛋白脱乙酰基酶 (HDAC)，组蛋白甲基转移酶 (HMT) 的活性，从而抑制肿瘤的进一步发生^[17]。

PI3K/Akt 通路在调控各种细胞功能 (包括代谢、生长、增殖、存活、转录以及蛋白质合成) 方面发挥重要作用，在肿瘤调控中同样扮演着重要角色。在前列腺癌中，PI3K/Akt 通路被激活，可促进肿瘤形成、疾病进展和治疗耐药性^[18]，PI3K/Akt/mTOR 通路在宫颈癌中经常失调，表明它可能是治疗这种恶性肿瘤的潜在靶标^[19]。人乳头瘤病毒 (HPV) 诱发的宫颈癌中，PI3K/Akt/mTOR 在常氧和低氧 HPV 阳性癌细胞中对病毒/宿主细胞串扰起关键作用^[20]。

本研究结果发现，槲皮素联合顺铂处理能降低增殖能力、克隆形成能力、迁移能力及 PI3K、Akt、Survivin、MMP-2 mRNA 和蛋白表达，并呈剂量依赖性。提示，槲皮素可能通过调控 PI3K/Akt 信号通路增强顺铂对人宫颈癌顺铂耐药细胞株 HeLa/DDP 的抗癌作用，为宫颈癌顺铂耐药的研究提供了新的思路。

参考文献：

[1] 赵向荣, 牛广旭, 张小辉, 等. 益气养阴方对宫颈癌大鼠免疫功能及癌组织的影响[J]. 世界中医药, 2020, 15 (12): 1739-1742; 1746.

[2] Adsul P, Srinivas V, Gowda S, et al. A community-based, cross-sectional study of hrHPV DNA self-sampling-based cervical cancer screening in rural Karnataka, India[J]. Int J Gynaecol Obstet, 2019, 146(2): 170-176.

[3] Diaz-Padilla I, Monk B J, Mackay H J, et al. Treatment of metastatic cervical cancer: future directions involving targeted agents[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2013, 85(3): 303-314.

[4] Baettig F, Vlajnic T, Vetter M, et al. Nivolumab in chemotherapy-resistant cervical cancer: report of a vulvitis as a novel immune-related adverse event and molecular analysis of a persistent complete response[J]. J Immunother Cancer, 2019, 7(1): 281.

[5] Su J, Zhang F, Li X, et al. Osthole promotes the suppressive effects of cisplatin on NRF2 expression to prevent drug-resistant cervical cancer progression[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 514(2): 510-517.

[6] Pang B, Xu X G, Lu Y, et al. Prediction of new targets and mechanisms for quercetin in the treatment of pancreatic cancer, colon cancer, and rectal cancer[J]. Food Funct, 2019, 10 (9): 5339-5349.

[7] Bishayee K, Ghosh S, Mukherjee A, et al. Quercetin induces cytochrome-c release and ROS accumulation to promote apoptosis and arrest the cell cycle in G₂/M, in cervical carcinoma: signal

cascade and drug-DNA interaction[J]. *Cell Prolif*, 2013, 46(2): 153-163.

[8] Che Y L, Li Y Z, Zheng F F, *et al*. TRIP4 promotes tumor growth and metastasis and regulates radiosensitivity of cervical cancer by activating MAPK, PI3K/AKT, and hTERT signaling[J]. *Cancer Lett*, 2019, 452: 1-13.

[9] Xu J, Zhu W P, Chen L J, *et al*. MicroRNA-433 inhibits cell growth and induces apoptosis in human cervical cancer through PI3K/AKT signaling by targeting FAK[J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(6): 3469-3478.

[10] 郭 婕, 潘彦舒, 庞大承, 等. 黄芩苷介导光动力疗法治疗宫颈癌的疗效及其机制研究[J]. *世界中医药*, 2020, 15(11): 1579-1584.

[11] 李 丹. 宫颈癌的防治及护理现状[J]. *家庭生活指南*, 2020(4): 110.

[12] Lorusso D, Petrelli F, Coinu A, *et al*. A systematic review comparing cisplatin and carboplatin plus paclitaxel-based chemotherapy for recurrent or metastatic cervical cancer[J]. *Gynecol Oncol*, 2014, 133(1): 117-123.

[13] Kim D H, Khan H, Ullah H, *et al*. MicroRNA targeting by quercetin in cancer treatment and chemoprotection [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 147: 104346.

[14] Tummala R, Lou W, Gao A C, *et al*. Quercetin targets hnRNPA1 to overcome enzalutamide resistance in prostate cancer cells[J]. *Mol Cancer Ther*, 2017, 16(12): 2770-2779.

[15] Vidya P R, Senthil M R, Maitreyi S, *et al*. The flavonoid quercetin induces cell cycle arrest and mitochondria-mediated apoptosis in human cervical cancer (HeLa) cells through p53 induction and NF- κ B inhibition[J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 649(1-3): 84-91.

[16] Kalagatur N K, Abd Allah E F, Poda S, *et al*. Quercetin mitigates the deoxynivalenol mycotoxin induced apoptosis in SH-SY5Y cells by modulating the oxidative stress mediators[J]. *Saudi J Biol Sci*, 2021, 28(1): 465-477.

[17] Kedhari S M, Hussain A, Haque S, *et al*. Quercetin modifies 5' CpG promoter methylation and reactivates various tumor suppressor genes by modulating epigenetic marks in human cervical cancer cells[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(10): 18357-18369.

[18] Shorning B Y, Dass M S, Smalley M J, *et al*. The PI3K-AKT-mTOR pathway and prostate cancer: At the crossroads of AR, MAPK, and WNT signaling [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(12): 4507.

[19] Bahrami A, Hasanzadeh M, Hassanian S M, *et al*. The potential value of the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway for assessing prognosis in cervical cancer and as a target for therapy [J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(12): 4163-4169.

[20] Bossler F, Hoppe S K, Hoppe S F. PI3K/AKT/mTOR signaling regulates the virus/host cell crosstalk in HPV-positive cervical cancer cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(9): 2188.

三叶青地上部分提取物对 H22 荷瘤小鼠的抗转移作用

王碧旭¹, 卢静静², 孙 棱¹, 程 雯², 周芳美¹, 朱炳祺¹, 丁志山^{1*}
(1. 浙江中医药大学医学技术与信息工程学院, 浙江 杭州 310053; 2. 浙江中医药大学生命科学院, 浙江 杭州 310053)

摘要: **目的** 探讨三叶青地上部分提取物对 H22 荷瘤小鼠的抗转移作用。**方法** 将 H22 荷瘤小鼠随机分为空白组, 模型组, 玉米油组, 环磷酰胺组 (40 mg/kg), 多糖低、中、高剂量组 (50、100、200 mg/kg), 醇提物低、中、高剂量组 (50、100、200 mg/kg), 干预 21 d 后, 检测各组小鼠肿瘤生长、胸腺指数、脾脏指数、肝脏指数、肿瘤远端肺及淋巴道转移灶数, ELISA 法检测各组小鼠血清 TNF- α 、IL-6、IL-2、IFN- γ 水平, HE 染色观察各组小鼠肿瘤组织病理学变化。**结果** 与模型组、玉米油组比较, 多糖各剂量组小鼠胸腺指数及抑制肿瘤远端肺转移和淋巴道转移能力增加 ($P<0.05$, $P<0.01$), 多糖高剂量组抑瘤率为 43.07%, 血清 TNF- α 、IL-2、IL-6、IFN- γ 水平升高 ($P<0.05$, $P<0.01$); 与环磷酰胺组比较, 多糖各剂量组小鼠胸腺指数升高 ($P<0.01$)。HE 染色显示, 各给药组小鼠肿瘤组织均可见坏死区域, 多糖各剂量组肿瘤细胞坏死现象更为明显。**结论** 三叶青地上部分多糖可能通过免疫调节、抑制肿瘤远端转移、促进肿瘤细胞坏死而发挥对 H22 荷瘤小鼠的抗转移作用。

关键词: 三叶青地上部分; 多糖; 醇提物; H22 荷瘤小鼠; 抑瘤; 抗转移作用

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2022)11-3671-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.11.049

收稿日期: 2021-01-10
基金项目: 浙江省中医药重点研究项目 (2019ZZ009); 浙江省医药卫生科技计划项目 (2020RC084)
作者简介: 王碧旭 (1997—), 女, 硕士生, 从事药理学研究。Tel: 15990111752, E-mail: wbxmust@163.com
* 通信作者: 丁志山 (1967—), 男, 博士, 教授, 从事药理学研究。Tel: 15658857028, E-mail: dzszjtc@163.com