

- through inhibiting JNK3/caspase-3 by enhancing Akt1 [J]. *Brain Res.*, 2016, 1653: 67-74.  
[20] Zhang M, Yan H, Li S, et al. Rosmarinic acid protects rat

- hippocampal neurons from cerebral ischemia/reperfusion injury via the Akt/JNK3/caspase-3 signaling pathway [J]. *Brain Res.*, 2017, 1657: 9-15.

## 姜黄素对食管癌细胞中 5-FU 化疗敏感性的影响

秦文兵<sup>1</sup>, 李瑞佳<sup>1</sup>, 张月丽<sup>2</sup>

(1. 西安市第八医院药剂科, 陕西 西安 710000; 2. 郑州大学附属郑州中心医院临床药学科, 河南 郑州 450007)

**摘要:** 目的 探讨姜黄素对食管癌细胞中 5-氟尿嘧啶 (5-FU) 化疗敏感性的影响。方法 选取食管癌细胞 EC-9706 和 EC-109, 单独给予 5-FU 或联合姜黄素干预后, 采用 CCK-8 法检测细胞增殖, RT-qPCR 法检测 miR-590-3p 表达, Western blot 法检测 Wnt-2、β-catenin 蛋白表达。结果 姜黄素能够抑制食管癌 EC-9706 和 EC-109 细胞的增殖 ( $P < 0.05$ ), 并呈剂量依赖性。姜黄素能够增强食管癌细胞 EC-9706 和 EC-109 对 5-FU 的敏感性, 降低其 IC<sub>50</sub> 值 ( $P < 0.01$ )。miR-590-3p 在食管癌细胞系中低表达; 过表达 miR-590-3p 能够抑制食管癌细胞的增殖, 并增加 EC-9706 和 EC-109 细胞对 5-FU 的敏感性, 降低其 IC<sub>50</sub> 值 ( $P < 0.01$ )。姜黄素能够增加食管癌细胞中 miR-590-3p 的表达; 抑制 miR-590-3p 的表达能够逆转姜黄素对食管癌细胞增殖的影响。姜黄素能够通过调节 miR-590-3p 表达抑制 Wnt-2、β-catenin 蛋白表达 ( $P < 0.01$ )。结论 姜黄素能够增加 5-FU 对食管癌的化疗敏感性, 其机制可能是通过调控 miR-590-3p 表达从而抑制 Wnt-2/β-catenin 通路的活性。

**关键词:** 姜黄素; 5-氟尿嘧啶 (5-FU); 食管癌细胞 EC-9706; miR-590-3p; 食管癌细胞 EC-109; Wnt-2/β-catenin 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)03-0960-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2023.03.047

食管癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一, 虽然近年来食管癌的治疗取得了很大进展, 但患者的总生存率和五年生存率仍较低<sup>[1]</sup>。手术是食管癌治疗的首选, 但超过4/5 的食管癌患者在确诊时已失去根治性手术的机会<sup>[2-3]</sup>, 放化疗维持是中晚期食管癌患者的主要治疗方式<sup>[4]</sup>。新的靶向药物如 Pembrolizumab 已于 2019 年获得 FDA 批准用于食管癌患者的治疗, 但只能用于 PD-L1 阳性症状患者<sup>[5]</sup>。因此, 基于 5-氟尿嘧啶 (5-FU) 的化疗方案仍是食管癌治疗的重要手段<sup>[6]</sup>, 但 5-FU 对正常细胞的毒性及耐药性限制了其临床应用。因此, 如何提高食管癌对 5-FU 的敏感性仍是亟待解决的难题。

姜黄素是从姜黄科植物根茎中提取出的一种酸性多酚类物质, 具有抗肿瘤、抗炎、等多种药理作用<sup>[7-8]</sup>。研究发现, 姜黄素能够抑制食管癌细胞的增殖、凋亡等生理功能<sup>[9-10]</sup>, 但在食管癌中, 姜黄素对 5-FU 的化疗敏感性及其作用机制的研究尚不明确。因此, 本研究以食管癌细胞 EC-9706 和 EC-109 为研究对象, 评价姜黄素对食管癌细胞活

性的作用及其对 5-FU 化疗敏感性的影响。

### 1 材料

1.1 细胞株 人食管癌细胞株 EC-9706、EC-109 和正常食管上皮细胞 Het-1A 均购自中国科学院上海细胞库。  
1.2 试剂与药物 姜黄素 (批号 110823-201405)、5-FU (批号 L1903080) (美国 Sigma 公司); 胎牛血清、PRMI 1640 (批号 WH0021F211) (美国 HyClone 公司); CCK-8 试剂盒 (批号 KGA317)、蛋白提取试剂盒、ECL 发光试剂盒 (批号 P0018FS) (上海碧云天生物技术有限公司); 逆转录试剂盒 (批号 0522011)、PCR 试剂盒 (批号 05225807) (美国 Thermo Scientific 公司); miR-NC、miR-590-3p 模拟物、miR-590-3p 抑制物、PCR 引物 (上海吉马制药技术有限公司); 一抗 anti-Wnt-2 (批号 ab190222)、anti-β-catenin (批号 ab32572)、二抗 (批号 ab172730) (英国 Abcam 公司)。

1.3 仪器 7500 型实时荧光定量 PCR 仪 (美国 ABI 公司); 电泳及成像系统 (美国 Bio-Rad 公司); 倒置显微镜

收稿日期: 2021-01-07

基金项目: 河南省科技攻关项目 (212102310121); 河南省医学科技攻关联共建项目 (LHGJ20191039, LHGJ20210072)

作者简介: 秦文兵 (1966—), 男, 副主任药师, 研究方向为中药药理学。Tel: 13991339566, E-mail: 13991339566@163.com

网络出版日期: 2022-03-28

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20220325.1658.006.html>

(日本 Olympus 公司); SpectraMax M2 型多功能酶标仪 (美国 Molecular Devices 公司)。

## 2 方法

2.1 细胞培养 所有细胞均培养于含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青链霉素的 PRMI 1640 培养基中, 在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养。

2.2 细胞转染与分组 按照说明书, 使用脂质体 3000 进行 miRNAs 的转染。将细胞分为对照组 (DMSO)、miR-590-3p 模拟物组、miR-590-3p 抑制物组、5-FU 组、5-FU+miR-590-3p 模拟物组、5-FU+姜黄素+miR-NC 组 (40 μmol/L 5-FU+80 μmol/L 姜黄素 + miR-NC)、5-FU+姜黄素+miR-590-3p 抑制物组 (40 μmol/L 5-FU+80 μmol/L 姜黄素 + miR-590-3p 抑制物)、姜黄素+miR-NC 组 (80 μmol/L 姜黄素 + miR-NC)、姜黄素+miR-590-3p 抑制物组 (姜黄素 80 μmol/L+miR-590-3p 抑制物)。

2.3 CCK-8 法检测细胞活力 取对数生长期的细胞, 调整密度为 1×10<sup>5</sup>/mL, 接种于 96 孔板中, 每孔 100 μL, 37 °C 孵育 24 h, 当细胞融合率达到 70%~80% 时, 加入含有不同浓度药物的新鲜培养基, 继续培养 24、48、72 h, 每孔加入 10 μL CCK-8 溶液, 继续孵育 4 h, 在 490 nm 波长处检测细胞光密度 (OD) 值, 每个实验组设置 3 个复孔, 计算细胞活性。

2.4 RT-qPCR 法检测 miR-590-3p 表达 TRIzol 法从细胞中提取总 RNA, 按照说明书采用逆转录试剂盒将总 RNA 逆转录为 cDNA, 使用实时荧光定量 PCR 仪进行定量分析, 扩增条件为 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 10 s, 60 °C 34 s, 72 °C

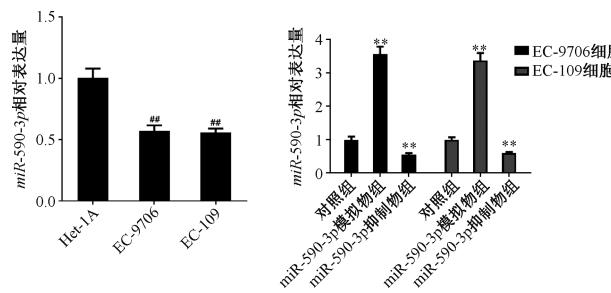
10 s, 共 40 个循环。重复 3 次, 应用 2<sup>-ΔΔCT</sup> 法计算结果。引物序列为 miR-590-3p 正向 5'-AAAGATTCCAAGAACGCTA AGGGTG-3', 反向 5'-CTTAACTGGTTCCGTGCCTA-3'; 内参 U6 正向 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', 反向 5'-AACGCTTCACGAAT TTGCCT-3'。

2.5 Western blot 法检测蛋白表达 收集细胞, 按照说明书提取总蛋白, BCA 法检测蛋白浓度。样品蛋白经 6% SDS-PAGE 电泳后转至 PVDF 膜上, 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h, 分别加入 Wnt-2、β-catenin 一抗, 4 °C 孵育过夜, 二抗室温孵育 2 h, ECL 试剂发光, 成像仪成像。采用 Image J 1.48 软件对各蛋白条带进行灰度值定量分析, 以 β-actin 蛋白为内参, 分析各蛋白相对表达, 重复 3 次。

2.6 统计学分析 通过 SPSS 19.0 软件进行处理, 计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 2 组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析。作图工具采用 GraphPad Prism 软件。*P*<0.05 表示差异具有统计学意义。

## 3 结果

3.1 miR-590-3p 对食管癌细胞增殖的影响 与正常食管上皮细胞系 Het-1A 比较, 在食管癌细胞系 EC-9706 和 EC-109 中 miR-590-3p 表达降低 (*P*<0.01)。与对照组比较, miR-590-3p 模拟物组 EC-9706 和 EC-109 细胞 miR-590-3p 表达和 OD 值 (即细胞活力) 升高 (*P*<0.05, *P*<0.01), miR-590-3p 抑制物组 miR-590-3p 表达和细胞活力降低 (*P*<0.01), 提示 miR-590-3p 模拟物能抑制食管癌细胞的增殖能力, miR-590-3p 抑制物能提升食管癌细胞的增殖能力 (*P*<0.05), 见图 1。



注: 与 Het-1A 组比较, \*\* *P*<0.01; 与对照组比较, \* *P*<0.05, \*\* *P*<0.01。

图 1 miR-590-3p 对食管癌细胞增殖的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , n=3)

### 3.2 过表达 miR-590-3p 对食管癌细胞 5-FU 敏感性的影响

在 5-FU 浓度为 0~80 μmol/L 时, 与对照组比较, miR-590-3p 模拟物组 EC-9706 和 EC-109 细胞活性降低 (*P*<0.05, *P*<0.01), 并呈剂量依赖性; 与 5-FU 组比较, 5-FU+miR-590-3p 模拟物组对食管癌细胞活性的抑制作用更强。与 5-FU 组比较, miR-590-3p 模拟物能够增加 EC-9706 和 EC-109 细胞对 5-FU 的敏感性, 其 IC<sub>50</sub> 值均下降 (*P*<0.01), 见图 2。

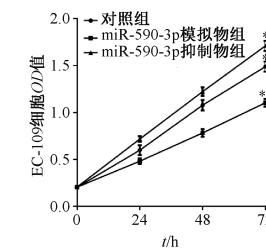
3.3 姜黄素对食管癌细胞 5-FU 敏感性的影响 与 0 μmol/L 姜黄素组比较, 20~160 μmol/L 姜黄素对 EC-9706 和 EC-109 细胞活性有抑制作用 (*P*<0.01), 并呈剂量依赖性。与 40 μmol/L 5-FU 组比较, 80 μmol/L 姜黄素+40 μmol/L 5-

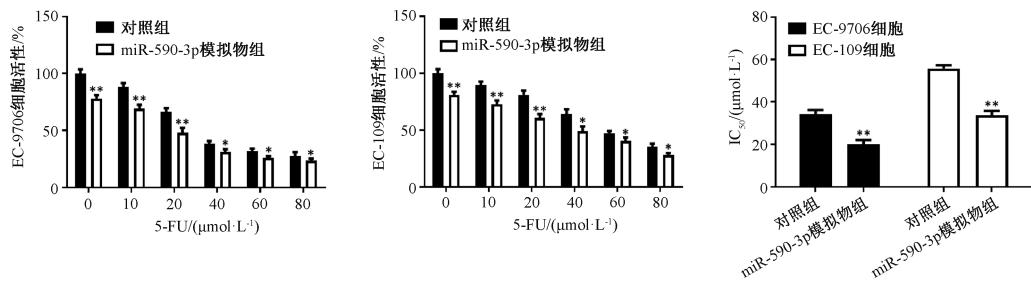
FU 组 EC-9706 和 EC-109 细胞活性的抑制作用增强 (*P*<0.01), 见图 3。

3.4 姜黄素对 miR-590-3p 表达的影响 与对照组比较, 20、80 μmol/L 姜黄素均能增加 EC-9706 和 EC-109 细胞 miR-590-3p 表达 (*P*<0.01), 见图 4。

3.5 沉默 miR-590-3p 表达逆转姜黄素对食管癌细胞活性的影响 与姜黄素+miR-NC 组比较, 姜黄素+miR-590-3p 抑制物组中 EC-9706 和 EC-109 细胞增殖能力增强 (*P*<0.01); 与 5-FU+姜黄素+miR-NC 组比较, 5-FU+姜黄素+miR-590-3p 抑制物组 EC-9706 和 EC-109 细胞活性升高 (*P*<0.01), 见图 5。

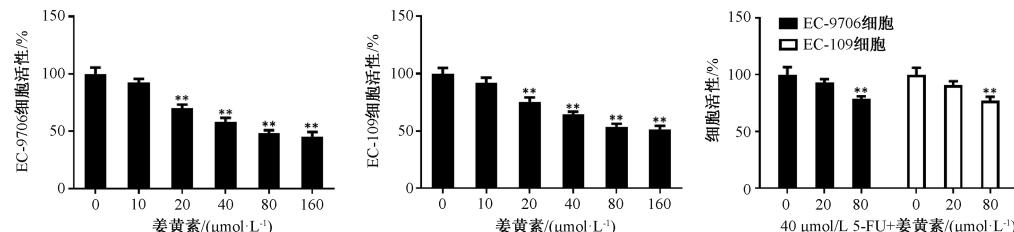
3.6 姜黄素对 Wnt-2/β-catenin 通路的影响 与对照组比





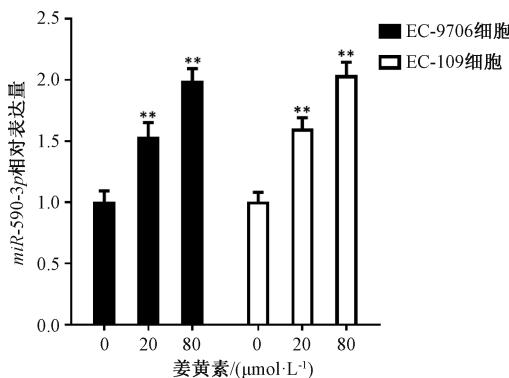
注：与对照组比较，\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。

图2 过表达 miR-590-3p 对食管癌细胞 5-FU 敏感性的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )



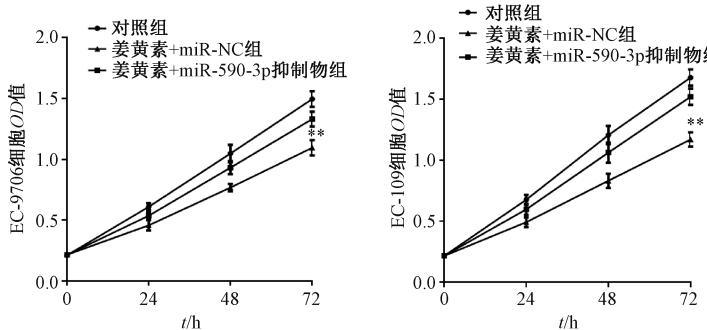
注：与 0  $\mu\text{mol/L}$  姜黄素组比较，\*\*  $P < 0.01$ 。

图3 姜黄素增强食管癌细胞对 5-FU 的敏感性 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )



注：与 0  $\mu\text{mol/L}$  姜黄素组比较，\*\*  $P < 0.01$ 。

图4 姜黄素对 miR-590-3p 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )



注：与姜黄素+miR-NC 组比较，\*\*  $P < 0.01$ ；与 5-FU+姜黄素+miR-NC 组比较，##  $P < 0.01$ 。

图5 沉默 miR-590-3p 表达逆转姜黄素对食管癌细胞活性的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

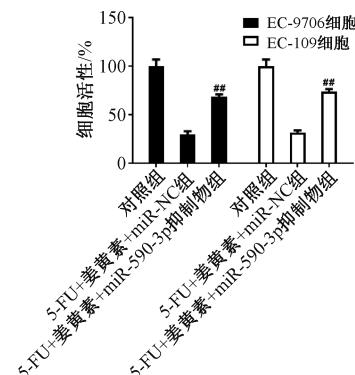
发现，姜黄素能够影响食管癌细胞 KYSE410、EC-109 的活性<sup>[10-11]</sup>。本研究发现，姜黄素能够抑制管癌细胞 EC-9706、EC-109 的活性，与文献报道一致。

姜黄素能够通过影响肿瘤细胞的增殖、凋亡等生理功能提高肿瘤对化疗药物的敏感性。李克等<sup>[12]</sup>研究发现，姜

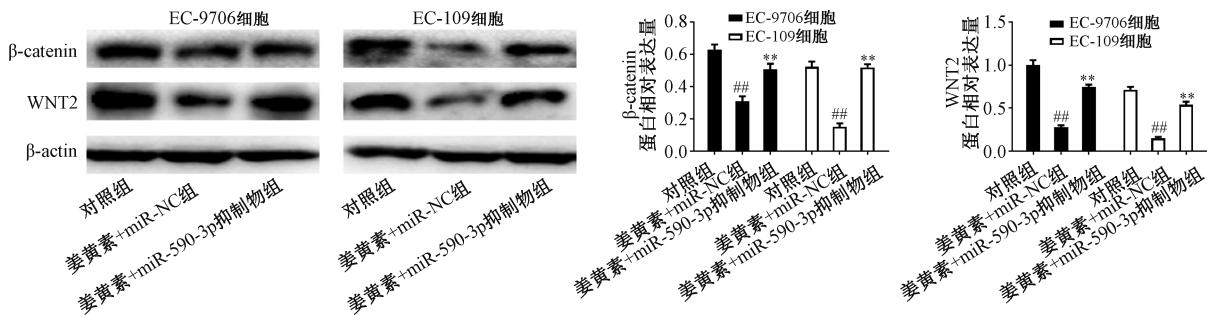
较，姜黄素+miR-NC 组 EC-9706 和 EC-109 细胞  $\beta$ -catenin、Wnt-2 蛋白表达降低 ( $P < 0.01$ )，说明姜黄素能够抑制 Wnt-2/ $\beta$ -catenin 通路的激活；与姜黄素+miR-NC 组比较，姜黄素+miR-590-3p 抑制物组 EC-9706 和 EC-109 细胞  $\beta$ -catenin、Wnt-2 蛋白表达升高 ( $P < 0.01$ )，说明姜黄素通过提高 miR-590-3p 的表达调控 Wnt-2/ $\beta$ -catenin 通路的活性，见图 6。

#### 4 讨论

我国是食管癌的高发地区，每年约有 50% 的新发病例。早期食管癌由于临床症状不明显，难以诊断，大多数确诊的食管癌患者都有局部进展或远处转移。因此，以控制扩散为目的的化疗在食管癌的治疗中发挥着重要作用。研究



黄素通过抑制 NF- $\kappa$ B-Snail 信号通路抑制紫杉醇耐药食管癌细胞的增殖。在结直肠癌、肝癌中，姜黄素均能通过抑制细胞活性增加 5-FU 的化疗敏感性、降低耐药性<sup>[13-14]</sup>。本研究发现，姜黄素能够增加 5-FU 对食管癌细胞 EC-9706 和 EC-109 的杀伤能力。Pendleton 等<sup>[15]</sup>研究也发现，与单独使



注：与对照组比较，<sup>\*\*</sup> $P<0.01$ ；与姜黄素+miR-NC组比较，<sup>\*\*\*</sup> $P<0.01$ 。

图6 姜黄素对Wnt-2/β-catenin通路的影响 ( $\bar{x}\pm s$ , n=3)

用5-FU比较，姜黄素及其衍生物四氢姜黄素与5-FU联合使用都能够显著抑制食管鳞状细胞癌细胞TE-1、TE-8和KY-5的增殖能力。

越来越多的研究证实，microRNAs (miRNAs) 在肿瘤的发生发展中发挥着重要的作用<sup>[16]</sup>。miR-590-3p在乳腺癌、结肠癌、食管癌等多种肿瘤中具有抑癌作用<sup>[17-19]</sup>。姜黄素通过调控miRNAs表达影响肿瘤的进展是其发挥抗癌作用的重要机制<sup>[20-21]</sup>。本研究发现，miR-590-3p在食管癌细胞系中低表达，过表达miR-590-3p能够增加食管癌细胞对5-FU的敏感性，降低其IC<sub>50</sub>值；姜黄素能够通过提升miR-590-3p的表达抑制食管癌细胞的活性，进而影响5-FU的化疗敏感性。miR-590-3p可能通过调控Wnt-2/β-catenin通路的活性影响肿瘤的进展<sup>[22-23]</sup>，本研究发现，姜黄素通过升高miR-590-3p的表达抑制Wnt-2/β-catenin通路的活性。

综上所述，姜黄素能够增加5-FU对食管癌的化疗敏感性，其机制可能是通过调控miR-590-3p的表达从而抑制Wnt-2/β-catenin通路的活性。

## 参考文献：

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] Tu C C, Hsu P K. The frontline of esophageal cancer treatment: Questions to be asked and answered [J]. *Ann Transl Med*, 2018, 6(4): 83.
- [3] 姚 钧. 未手术食管癌放射治疗的现状 [J]. 中外医疗, 2017, 36(16): 195-198.
- [4] Kimura M, Ishiguro H, Tanaka T, et al. Advanced esophageal cancer with tracheobronchial fistula successfully treated by esophageal bypass surgery [J]. *Int J Surg Case Rep*, 2015, 9: 115-118.
- [5] Aschenbrenner D S. New esophageal cancer indication for pembrolizumab [J]. *Am J Nurs*, 2019, 119(11): 21.
- [6] 国家卫生健康委员会. 食管癌诊疗规范（2018年版）[J]. 中华消化病与影像杂志（电子版），2019, 9(4): 158-192.
- [7] Sak K. Radiosensitizing potential of curcumin in different cancer models [J]. *Nutr Cancer*, 2020, 72(8): 1276-1289.
- [8] Crivelli B, Bari E, Perteghella S, et al. Silk fibroin nanoparticles for celecoxib and curcumin delivery: ROS-scavenging and anti-inflammatory activities in an *in vitro* model of osteoarthritis [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2019, 137: 37-45.
- [9] Liu Y, Wang X H, Zeng S, et al. The natural polyphenol curcumin induces apoptosis by suppressing STAT3 signaling in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 303.
- [10] 周新媛, 洪佳馨, 何少兵, 等. 姜黄素对食管癌KYSE410细胞的生长抑制与氧化调节 [J]. 高等学校化学学报, 2019, 40(7): 1405-1410.
- [11] 金宇斌, 李立德, 韩 莹, 等. 姜黄素调控食管癌Eca-109细胞分化、增殖、凋亡的机制 [J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(4): 806-809.
- [12] 李 克, 徐淑宁, 刘 莺, 等. 姜黄素抑制耐紫杉醇食管癌细胞的上皮间质转化作用及机制探讨 [J]. 重庆医学, 2017, 46(34): 4753-4756; 4762.
- [13] He W T, Zhu Y H, Zhang T, et al. Curcumin reverses 5-fluorouracil resistance by promoting human colon cancer HCT-8/5-FU cell apoptosis and down-regulating heat shock protein 27 and p-glycoprotein [J]. *Chin J Integr Med*, 2019, 25(6): 416-424.
- [14] Xu T, Guo P, Pi C, et al. Synergistic effects of curcumin and 5-fluorouracil on the hepatocellular carcinoma *in vivo* and *in vitro* through regulating the expression of COX-2 and NF-κB [J]. *J Cancer*, 2020, 11(13): 3955-3964.
- [15] Pendleton E G, Jamasbi R J, Geusz M E. Tetrahydrocurcumin, curcumin, and 5-fluorouracil effects on human esophageal carcinoma cells [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2019, 19(8): 1012-1020.
- [16] Moles R. MicroRNAs-based therapy: a novel and promising strategy for cancer treatment [J]. *Microrna*, 2017, 6(2): 102-109.
- [17] Salem M, Shan Y N, Bernando S, et al. MiR-590-3p targets cyclin G2 and FOXO3 to promote ovarian cancer cell proliferation, invasion, and spheroid formation [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(8): 1810.
- [18] Wu K M, Zhao Z X, Xiao Y L, et al. Roles of mitochondrial transcription factor A and microRNA-590-3p in the development

- of colon cancer [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(6): 5475-5480.
- [19] Liu J, Mayekar M K, Wu W, et al. Long non-coding RNA ESCCAL-1 promotes esophageal squamous cell carcinoma by down regulating the negative regulator of APOBEC3G [J]. *Cancer Lett*, 2020, 493: 217-227.
- [20] Sun C L, Zhang S P, Liu C H, et al. Curcumin promoted miR-34a expression and suppressed proliferation of gastric cancer cells [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2019, 34 ( 10 ): 634-641.
- [21] Chen L, Zhan C Z, Wang T, et al. Curcumin inhibits the proliferation, migration, invasion, and apoptosis of diffuse large B-cell lymphoma cell line by regulating miR-21/VHL axis [J]. *Yonsei Med J*, 2020, 61(1): 20-29.
- [22] Feng Z Y, Xu X H, Cen D Z, et al. MiR-590-3p promotes colon cancer cell proliferation via Wnt/β-catenin signaling pathway by inhibiting WIF1 and DKK1 [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(21): 4844-4852.
- [23] Gao J, Yu S R, Yuan Y, et al. MicroRNA-590-5p functions as a tumor suppressor in breast cancer conferring inhibitory effects on cell migration, invasion, and epithelial-mesenchymal transition by downregulating the Wnt-β-catenin signaling pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(2): 1827-1841.

## 葛根水溶性总蛋白对小鼠黑色素瘤细胞 B16 的影响

王 悅<sup>1</sup>, 宋 岩<sup>2</sup>, 陈艳艳<sup>1</sup>, 边 帅<sup>1</sup>, 王思明<sup>1\*</sup>

(1. 长春中医药大学吉林省人参科学研究院, 吉林长春 130117; 2. 长春中医药大学药学院, 吉林长春 130117)

**摘要:** 目的 探讨葛根水溶性总蛋白对小鼠黑色素瘤细胞 B16 的影响。方法 给予葛根水溶性总蛋白 (0.1、0.3、0.5 mg/mL) 处理小鼠黑色素瘤细胞 B16 48 h, 并设置对照组, 采用 MTT 法观察药物对 B16 细胞增殖抑制的影响, 多巴氧化法检测给药后细胞内酪氨酸酶的活性, NaOH 裂解法检测细胞中黑色素的变化, 流式细胞仪检测药物对 B16 细胞线粒体膜电位及细胞凋亡的影响, Western blot 法检测 B16 细胞 Bax、Bcl-2、TRP-1、TYR、MITF 蛋白表达, RT-qPCR 法检测 B16 细胞 TRP-1、TYR、MITF mRNA 表达。结果 与对照组比较, 各剂量葛根水溶性总蛋白干预后, 小鼠黑色素瘤细胞 B16 中酪氨酸酶活性、黑色素水平、线粒体膜电位、Bcl-2、TRP-1、TYR、MITF 蛋白与 mRNA 表达降低 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), 细胞凋亡率升高、Bax 蛋白与 mRNA 表达 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。结论 葛根水溶性总蛋白能够抑制小鼠黑色素瘤细胞 B16 增殖, 其作用机制与促进细胞凋亡和抑制黑色素形成有关。

**关键词:** 葛根水溶性总蛋白; 黑色素瘤细胞 B16; 酪氨酸酶; 黑色素; 线粒体膜电位; 凋亡

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)03-0964-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2023.03.048

黑色素是一种高分子生物色素, 不溶于水, 但可溶于碱性溶液, 是一种类似于多酚的蛋白质衍生物<sup>[1-5]</sup>。正常情况下黑色素细胞在皮肤下面呈均匀分布, 当受到外界刺激后会过度分裂增殖, 聚集成团, 形成黑色素痣, 继续恶化演变成黑色素瘤, 为恶性肿瘤的一种。有效阻断黑色素的积累和合成过量是研究的关键, 因此, 寻找安全、有效的抑制黑色素形成的产品具有重大意义。酪氨酸酶 (TYR) 又称多酚氧化酶, 是黑色素生物合成途径中的主要限速酶, 黑色素形成的多少取决于其活性。研究者发现可以通过抑制酪氨酸酶的活性, 阻止色素沉积从而达到美白效果<sup>[6]</sup>。

葛根为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 的干燥根, 习称野葛<sup>[7]</sup>, 其主要化学成分包括异黄酮类、三

萜类、皂苷类和多糖类。葛根中含量最多的成分为异黄酮类物质, 包括大豆苷、大豆苷元与葛根素等, 其中葛根素含量占比最大<sup>[8]</sup>, 所以对葛根素的药理作用研究也较多<sup>[9-11]</sup>, 目前其研究主要集中在抗氧化自由基、心血管系统作用、改善胃肠道功能、治疗酒精性肝损伤等方面<sup>[12-17]</sup>, 已有报道称葛根黄酮和葛根异黄酮具有抑制黑色素形成作用<sup>[18-19]</sup>, 对葛根水溶性总蛋白抑制黑色素作用尚未有报道。因此, 本研究从细胞水平研究葛根水溶性总蛋白对小鼠黑色素瘤细胞 B16 的影响及其作用机制, 以期为研制抗黑色素瘤药物提供数据支撑。

### 1 材料

#### 1.1 细胞 小鼠恶性黑色素瘤细胞 B16 细胞株 (货号 CL-

收稿日期: 2021-07-28

基金项目: 吉林省中药生物大分子重点实验室项目 (20140622003JC)

作者简介: 王 悅 (1995—), 女 (满族), 硕士生, 从事中医药传统功效研究。Tel: 18804313283, E-mail: 1332370901@qq.com

\*通信作者: 王思明 (1987—), 男, 实验师, 从事中药大健康产品开发及生物学机制研究。E-mail: lwsml26030@126.com