

基础研究

## 裂果薯总皂苷对大鼠肝卵圆细胞系 WB-F344 上皮间质转化的影响

李锦华<sup>1</sup>, 莫宇雪<sup>1</sup>, 郭心怡<sup>1</sup>, 梁梓樱<sup>1</sup>, 李昊<sup>1</sup>, 吕美娴<sup>1</sup>, 王燕雪<sup>1</sup>, 梁钢<sup>1,2</sup>

(1. 广西医科大学药学院, 南宁 530021; 2. 省部共建靶向肿瘤学国家重点实验室, 南宁 530021)

**摘要** 目的: 探讨裂果薯总皂苷(SSPHs)对转化生长因子- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)诱导的大鼠肝卵圆细胞系 WB-F344 上皮间质转化(EMT)的影响及作用机制。方法: 将 WB-F344 细胞分为对照组、模型组, SSPHs 低、中、高剂量组和 PI3K/AKT 信号通路抑制剂 LY294002 组。除对照组外, 其余各组均以 10  $\mu$ g/L TGF- $\beta$ 1 诱导 WB-F344 构建 EMT 模型。采用 MTT 法、细胞划痕实验分别检测细胞增殖、迁移能力, 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)、western blotting 法分别检测 E-钙黏蛋白(E-cadherin)、N-钙黏蛋白(N-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)的 mRNA 和蛋白表达, western blotting 法检测 PI3K/AKT 信号通路关键蛋白表达。结果: SSPHs 可抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导的 WB-F344 细胞的增殖, 24 h 的细胞半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)为 3.02  $\mu$ g/mL。与对照组比较, 模型组 N-cadherin、Vimentin 的 mRNA 及蛋白表达水平显著升高, E-cadherin mRNA 及蛋白表达水平显著降低, p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 比值显著升高(均  $P < 0.05$ )。与模型组比较, SSPHs 中、高剂量组 N-cadherin 和 Vimentin mRNA 及蛋白表达下调, E-cadherin mRNA 及蛋白表达上调, p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 比值降低(均  $P < 0.05$ ), 结果与 LY294002 组相似。结论: SSPHs 可抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导的 WB-F344 细胞 EMT 进程, 其机制可能与抑制 PI3K/AKT 信号通路有关。

**关键词** 裂果薯总皂苷; 肝卵圆细胞; PI3K/AKT; 上皮间质转化; 肝癌前病变; 转化生长因子- $\beta$ 1

中图分类号: R735.7 文献标志码: A 文章编号: 1005-930X(2024)05-0639-07

DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.05.001

### The effect of total saponins of *Schizocapsa plantaginea* Hance on epithelial-mesenchymal transition of rat hepatic oval cell line WB-F344

LI Jinhua<sup>1</sup>, MO Yuxue<sup>1</sup>, GUO Xinyi<sup>1</sup>, LIANG Ziyang<sup>1</sup>, LI Hao<sup>1</sup>, Lyu Meixian<sup>1</sup>, WANG Yanxue<sup>1</sup>, LIANG Gang<sup>1,2</sup>.

(1. College of Pharmacy, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 2. State key Laboratory of Targeting Oncology, Nanning 530021, China)

**Abstract Objective:** To investigate the effect and mechanism of total saponins of *Schizocapsa plantaginea* Hance (SSPHs) on epithelial mesenchymal transformation (EMT) of rat hepatic oval cells WB-F344 induced by transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1). **Methods:** WB-F344 cells were divided into control group, model group, low-, medium- and high-dose SSPHs groups and PI3K/AKT signaling pathway inhibitor LY294002 group. Except the control group, all the other groups were induced with 10  $\mu$ g/L TGF- $\beta$ 1 to establish the EMT model. MTT assay and cell scratch assay were used to detect cell proliferation and migration. Reverse transcription-quantitative PCR (RT-qPCR) and western blotting were used to detect the mRNA and protein expression of E-cadherin, N-cadherin and Vimentin, respectively. The expression of key proteins in PI3K/AKT signaling pathway was detected by western blotting. **Results:** SSPHs inhibited the proliferation of TGF- $\beta$ 1-induced WB-F344 cells, with a half maximal inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) value of 3.02  $\mu$ g/mL at 24 hours. Compared with the control group, the model group showed significantly increased mRNA and protein expression levels of N-cad-

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.81960737; No.82360792)

[通信作者] 梁钢, E-mail: lianggang22@aliyun.com

[收稿日期] 2024-03-12

herin and Vimentin, significantly decreased mRNA and protein expression of E-cadherin, and significantly increased ratio of p-PI3K/PI3K and p-AKT/AKT (all  $P < 0.05$ ). Compared with the model group, N-cadherin and Vimentin mRNA and protein expression was down-regulated, E-cadherin mRNA and protein expression was up-regulated, and P-PI3K/PI3K and P-Akt/AKT ratios were decreased in the THE SSPHs medium and high-dose groups (all  $P < 0.05$ ), with results similar to those observed in the LY294002 group (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** SSPHs can inhibit the EMT process in TGF- $\beta$ 1-induced WB-F344 cells, and its mechanism may be related to the inhibition of PI3K/AKT signaling pathway.

**Keywords** total saponins of *Schizocapsa plantaginea* Hance; hepatic oval cells; PI3K/AKT; epithelial-mesenchymal transition; hepatic precancerous lesion; transforming growth factor- $\beta$ 1

原发性肝癌是高度致命的恶性肿瘤,是全球排名第三的癌症相关死亡原因,其中肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)约占原发性肝癌的75%~85%<sup>[1]</sup>。由于HCC发病隐匿性高,恶性程度高,患者确诊时往往已处于中晚期,错过最佳治疗时机。肝癌前病变阶段(即肝纤维化、肝硬化)被认为是阻止癌变的理想阶段。肝卵圆细胞(hepatic oval cells, HOC)的上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)与肝癌前病变密切相关<sup>[2,3]</sup>。因此,抑制HOC的EMT进程可能为阻止肝癌前病变进一步恶化的有效手段。

PI3K/AKT信号通路在调控细胞增殖、分化、迁移等过程中扮演着关键角色,并参与EMT的信号传导<sup>[4]</sup>。裂果薯(*Schizocapsa plantaginea* Hance)为广西地区特色中草药,裂果薯总皂苷(total saponins of *Schizocapsa plantaginea* Hance, SSPHs)是从裂果薯中分离得到的皂苷类化合物,含量为92.01%<sup>[4-5]</sup>。研究表明,SSPHs对人肝癌细胞增殖、迁移有较强的抑制作用<sup>[6]</sup>,还可降低胶原沉积,抑制大鼠肝纤维化进程<sup>[4]</sup>。然而,SSPHs能否抑制HOC的EMT进程,进而阻止肝癌前病变恶性转化的作用及其机制尚不明确。基于此,本研究通过转化生长因子- $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)诱导大鼠HOC WB-F344构建EMT模型,初步探讨SSPHs干预WB-F344细胞EMT的作用及其潜在机制,为其防治肝癌前病变的临床应用提供实验依据,以期促进广西药用资源的研发利用。

## 1 材料与方 法

**1.1 细胞、药物与主要试剂** 大鼠HOC WB-F344细胞购自武汉普诺赛生命科技有限公司,并由本课题组传代培养。SSPHs由本实验室自行提取与鉴

定,含量为92.01%<sup>[4]</sup>; TGF- $\beta$ 1(美国MedChemExpress公司); DEME/F12培养基、胎牛血清(美国Gibco公司); 胰蛋白酶/EDTA消化液、青霉素/链霉素混合溶液、二甲基亚砜(DMSO)、MTT(北京索莱宝生物科技有限公司); 总RNA提取试剂盒、逆转录试剂盒、SYBR Premix Ex Taq<sup>TM</sup> II(日本TaKaRa公司); E-钙黏蛋白(E-cadherin)、N-钙黏蛋白(N-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)、PI3K、 $\beta$ -actin抗体及荧光二抗(美国Cell Signaling Technology公司); 磷酸化(p-)PI3K(美国Abcam公司); AKT、p-AKT抗体(艾比玛特医药科技(上海)有限公司)。

**1.2 细胞培养与分组** WB-F344细胞用含10%胎牛血清的DMEM/F12培养基,置于37℃、5% CO<sub>2</sub>细胞培养箱中培养。将细胞分为对照组、模型组(10  $\mu$ g/L TGF- $\beta$ 1)、SSPHs低剂量组(1  $\mu$ g/mL)、SSPHs中剂量组(2  $\mu$ g/mL)、SSPHs高剂量组(4  $\mu$ g/mL)和PI3K/AKT信号通路抑制剂组(LY294002组)(20  $\mu$ mol/L)。除对照组外,其余各组均以10  $\mu$ g/L的TGF- $\beta$ 1预处理1周后,构建EMT模型,再加入不同剂量药物干预24 h。

**1.3 MTT法检测细胞增殖** 将WB-F344细胞以8 000个/孔的细胞密度接种于96孔板中,每孔100  $\mu$ L,每组设6个复孔。设置空白组、对照组及不同剂量药物组。空白组仅加入100  $\mu$ L的培养基,对照组和给药组分别加入含有不同剂量药物的培养基,设置给药剂量为0  $\mu$ g/mL(对照组)、0.5  $\mu$ g/mL、1  $\mu$ g/mL、2  $\mu$ g/mL、4  $\mu$ g/mL、8  $\mu$ g/mL、16  $\mu$ g/mL、32  $\mu$ g/mL、64  $\mu$ g/mL。孵育24 h后,每孔加入0.5 g/L的MTT溶液10  $\mu$ L,4 h后弃去MTT溶液,每孔加入150  $\mu$ L DMSO,摇床上孵育20 min。用酶标仪检测490 nm波长处各孔的吸光度(OD)值。计算细胞增殖抑制率,细胞增殖抑制率(%)=1-(给药组OD值-空白组OD值)/(对照组OD值-空白组OD

值) $\times 100\%$ ,以细胞增殖抑制率和给药浓度作图,计算半数抑制浓度( $IC_{50}$ )。

**1.4 划痕实验检测细胞迁移** 将 WB-F344 细胞以 8 000 个孔的细胞密度接种于 96 孔板中,每孔 100  $\mu\text{L}$ ,每组设 6 个复孔,待细胞汇合度达到 80% 时,用 200  $\mu\text{L}$  的枪头于正中央垂直划一条痕,24 h 后在显微镜下观察细胞迁移距离。利用 Image J 软件分析、计算

24 h 细胞迁移率。细胞迁移率=(0 h 划痕宽度-24 h 划痕宽度)/0 h 划痕宽度 $\times 100\%$ 。

**1.5 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR)** 提取各组细胞中的总 RNA,逆转录为 cDNA,行 PCR 扩增反应,以 *GAPDH* 为内参,采用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法计算 *E-cadherin*、*N-cadherin*、*Vimentin* 基因相对表达量,引物序列见表 1。

表 1 PCR 引物序列

基因名称	上游引物(5'~3')	下游引物(5'~3')
<i>E-cadherin</i>	AGGTCGGTGCCCCGATTG	CGTTGGTCTTGGGGTCTGT
<i>N-cadherin</i>	TGGAAGGCAATCCCCTTATG	GGTGACAGTCAGGTTGGCTACA
<i>Vimentin</i>	CTGCTGGAAGGGGAGGAGA	TTATTCAAGGTCATCGTGGTGC
<i>GAPDH</i>	GGCAAGTTCAACGGCACAG	CGCCAGTAGACTCCACGACAT

**1.6 Western blotting** 提取各组细胞总蛋白,测定蛋白浓度后进行电泳分离蛋白,采用湿转法将蛋白转移至 PVDF 膜,5% BSA 封闭液室温封闭 30 min,加入一抗 N-cadherin、Vimentin、E-cadherin、p-PI3K、p-AKT、PI3K、AKT 稀释液(均为 1:1 000)4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜,洗膜后加入荧光二抗(稀释倍数为 1:10 000)室温避光孵育 1 h。使用 Odyssey Clx 双色红外荧光成像系统检测,Image J 软件分析蛋白条带灰度值。

**1.7 统计学方法** 以上所有实验重复 3 次,采用 SPSS 21.0 统计软件处理数据,计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 SSPHs 对 TGF- $\beta$ 1 诱导后 WB-F344 细胞增殖的影响** MTT 结果显示,SSPHs 能抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导后的 WB-F344 细胞增殖,其 24 h 的  $IC_{50}$  为 3.02  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,

见图 1。根据  $IC_{50}$  确定后续实验给药剂量,SSPHs 低、中、高剂量分别为 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  和 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

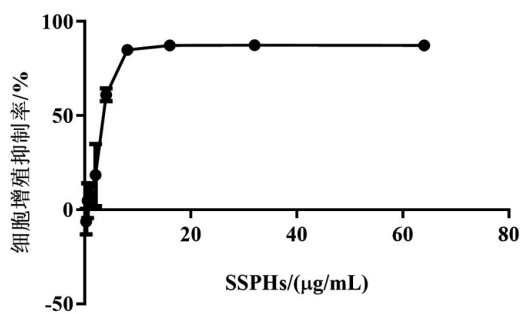
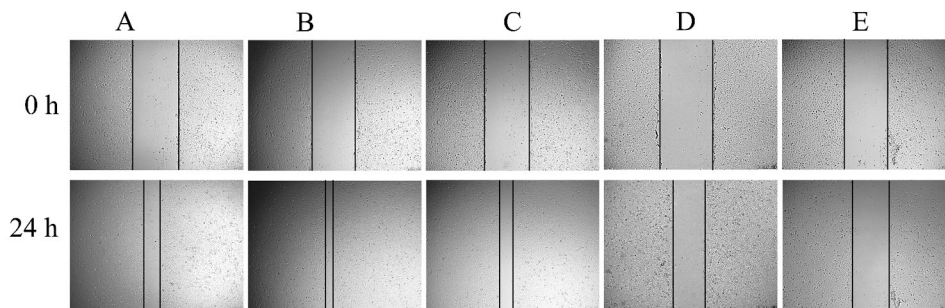


图 1 SSPHs 对 WB-F344 细胞 24 h 抑制率

**2.2 SSPHs 对 TGF- $\beta$ 1 诱导后 WB-F344 细胞迁移能力的影响** 与对照组 ( $0.64\pm 0.05$ ) 比较,模型组 ( $0.90\pm 0.02$ ) 细胞迁移率升高 ( $P<0.01$ );与模型组 ( $0.90\pm 0.02$ ) 比较,SSPHs 低剂量组 ( $0.73\pm 0.04$ )、SSPHs 中剂量组 ( $0.53\pm 0.07$ )、SSPHs 高剂量组 ( $0.37\pm 0.09$ ) 细胞迁移率降低(均  $P<0.05$ ),见图 2。



A: 对照组; B: 模型组; C: SSPHs 低剂量组; D: SSPHs 中剂量组; E: SSPHs 高剂量组。

图 2 SSPHs 对 TGF- $\beta$ 1 诱导后 WB-F344 细胞迁移能力的影响( $\times 50$ , 标尺 250 mm)



**2.3 SSPHs对TGF-β1诱导后WB-F344细胞EMT相关基因表达的影响** 与对照组比较,模型组的*N-cadherin*和*Vimentin*的mRNA表达水平均显著升高,*E-cadherin* mRNA表达水平显著降低(均 $P < 0.01$ );与模型组比较,SSPHs低、中、高剂量组*N-cadherin*和*Vimentin*的mRNA表达水平均显著降低,*E-cadherin* mRNA表达水平显著升高(均 $P < 0.05$ ),见表2。

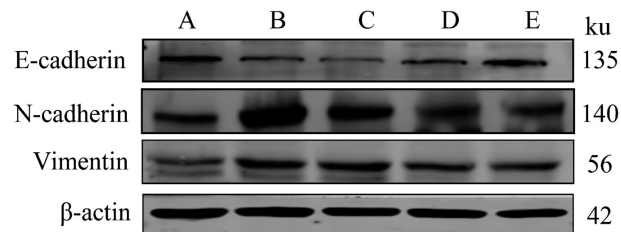
**2.4 SSPHs对TGF-β1诱导后WB-F344细胞EMT相关蛋白的影响** 与对照组比较,模型组间质细胞标志蛋白*N-cadherin*、*Vimentin*表达显著上调,上皮细胞标志蛋白*E-cadherin*表达显著下调(均 $P < 0.01$ );与模型组比较,SSPHs中、高剂量组*N-cadherin*、*Vimentin*蛋白表达显著下调,*E-cadherin*蛋白表达显著上调(均 $P < 0.01$ ),见图3、表3。

**2.5 SSPHs对TGF-β1诱导后WB-F344细胞p-PI3K、p-AKT蛋白表达的影响** 与对照组比较,模型组p-PI3K、p-AKT蛋白表达水平升高( $P < 0.01$ );与模型组比较,SSPHs中、高剂量组p-PI3K、p-AKT蛋白表达水平降低(均 $P < 0.05$ ),见图4、表4。

表2 SSPHs对TGF-β1诱导后WB-F344细胞*N-cadherin*、*E-cadherin*、*Vimentin*基因表达的影响

组别	<i>E-cadherin</i>	<i>N-cadherin</i>	<i>Vimentin</i>
对照组	1.00±0.08	1.00±0.06	1.00±0.06
模型组	0.32±0.01 <sup>##</sup>	2.38±0.06 <sup>##</sup>	1.34±0.03 <sup>##</sup>
SSPHs低剂量组	0.45±0.03 <sup>*</sup>	2.11±0.09 <sup>**</sup>	1.12±0.03 <sup>**</sup>
SSPHs中剂量组	0.56±0.03 <sup>**</sup>	1.55±0.05 <sup>**</sup>	0.97±0.05 <sup>**</sup>
SSPHs高剂量组	0.93±0.05 <sup>**</sup>	1.17±0.07 <sup>**</sup>	0.91±0.04 <sup>**</sup>

与对照组比较,<sup>##</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。



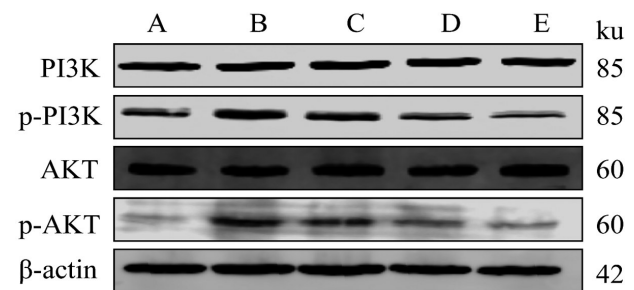
A: 对照组; B: 模型组; C: SSPHs低剂量组; D: SSPHs中剂量组; E: SSPHs高剂量组。

图3 Western blotting检测EMT相关蛋白*N-cadherin*、*Vimentin*、*E-cadherin*表达

表3 SSPHs对EMT相关蛋白*N-cadherin*、*Vimentin*、*E-cadherin*蛋白表达的影响

组别	<i>E-cadherin</i> / $\beta$ -actin	<i>N-cadherin</i> / $\beta$ -actin	<i>Vimentin</i> / $\beta$ -actin
对照组	0.53±0.05	0.69±0.05	0.52±0.05
模型组	0.34±0.02 <sup>##</sup>	0.97±0.03 <sup>##</sup>	0.92±0.05 <sup>##</sup>
SSPHs低剂量组	0.38±0.05	0.85±0.08	0.83±0.08
SSPHs中剂量组	0.51±0.07 <sup>**</sup>	0.72±0.08 <sup>**</sup>	0.67±0.02 <sup>**</sup>
SSPHs高剂量组	0.56±0.04 <sup>**</sup>	0.62±0.07 <sup>**</sup>	0.65±0.03 <sup>**</sup>

与对照组比较,<sup>##</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。



A: 对照组; B: 模型组; C: SSPHs低剂量组; D: SSPHs中剂量组; E: SSPHs高剂量组。

图4 Western blotting检测PI3K/AKT通路相关蛋白表达

表4 SSPHs对PI3K/AKT信号通路相关蛋白表达的影响

组别	p-PI3K/PI3K	p-AKT/AKT
对照组	0.46±0.06	0.47±0.02
模型组	0.72±0.07 <sup>##</sup>	0.77±0.11 <sup>##</sup>
SSPHs低剂量组	0.63±0.07	0.71±0.08
SSPHs中剂量组	0.52±0.06 <sup>*</sup>	0.57±0.07 <sup>*</sup>
SSPHs高剂量组	0.44±0.03 <sup>**</sup>	0.50±0.04 <sup>**</sup>

与对照组比较,<sup>##</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。

**2.6 SSPHs和PI3K/AKT通路抑制剂LY294002对TGF-β1诱导后WB-F344细胞迁移能力的影响** 与对照组(0.55±0.12)比较,模型组(0.88±0.04)细胞迁移率升高( $P < 0.01$ );与模型组(0.88±0.04)比较,SSPHs中剂量组(0.47±0.03)和LY294002组(0.32±0.08)细胞迁移率降低( $P < 0.01$ ),见图5。

**2.7 SSPHs和LY294002对TGF-β1诱导后WB-F344细胞EMT、PI3K/AKT通路相关蛋白表达的影响**

与对照组比较,模型组*N-cadherin*、*Vimentin*蛋白表达水平及p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT比值均显著升高,*E-cadherin*表达水平显著降低(均 $P < 0.05$ );

与模型组比较,SSPHs 中剂量组和 LY294002 组 N-cadherin、Vimentin 蛋白表达水平及 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 比值显著降低,E-cadherin 蛋白表达水平显著升高(均  $P < 0.05$ ),见图 6、表 5。

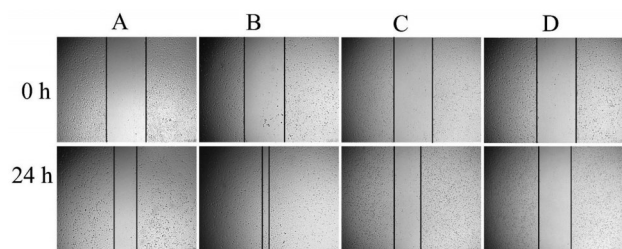


图 5 SSPHs 和 LY294002 对 TGF- $\beta$ 1 诱导后 WB-F344 细胞迁移能力的影响( $\times 50$ ,标尺=250 mm)

图 5 SSPHs 和 LY294002 对 TGF- $\beta$ 1 诱导后 WB-F344 细胞迁移能力的影响( $\times 50$ ,标尺=250 mm)

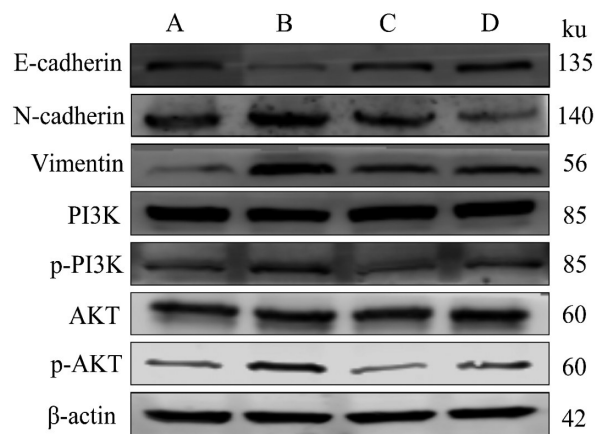


图 6 Western blotting 检测 EMT、PI3K/AKT 通路相关蛋白表达

图 6 Western blotting 检测 EMT、PI3K/AKT 通路相关蛋白表达

表 5 SSPHs 和 LY294002 对 TGF- $\beta$ 1 诱导后 WB-F344 细胞 EMT、PI3K/AKT 信号通路相关蛋白表达的影响

组别	$\bar{x} \pm s, n=3$				
	E-cadherin	N-cadherin	Vimentin	p-PI3K/PI3K	p-AKT/AKT
对照组	0.36 $\pm$ 0.07	0.52 $\pm$ 0.03	0.50 $\pm$ 0.07	0.56 $\pm$ 0.02	0.38 $\pm$ 0.08
模型组	0.13 $\pm$ 0.02 <sup>##</sup>	0.71 $\pm$ 0.05 <sup>##</sup>	0.88 $\pm$ 0.03 <sup>##</sup>	0.73 $\pm$ 0.03 <sup>#</sup>	0.63 $\pm$ 0.04 <sup>##</sup>
SSPHs 中剂量组	0.29 $\pm$ 0.04 <sup>*</sup>	0.57 $\pm$ 0.06 <sup>*</sup>	0.64 $\pm$ 0.04 <sup>**</sup>	0.48 $\pm$ 0.05 <sup>**</sup>	0.27 $\pm$ 0.06 <sup>**</sup>
LY294002 组	0.32 $\pm$ 0.05 <sup>**</sup>	0.48 $\pm$ 0.03 <sup>**</sup>	0.66 $\pm$ 0.03 <sup>**</sup>	0.51 $\pm$ 0.07 <sup>**</sup>	0.29 $\pm$ 0.04 <sup>**</sup>

与对照组比较,## $P < 0.01$ ;与模型组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ 。

### 3 讨论

EMT 是指在一定条件下,细胞从上皮细胞表型改变为间充质细胞表型形态,迁移、侵袭能力增强的可逆性改变,在这个过程中还伴随着 EMT 标志蛋白的变化,表现为上皮标志物(E-cadherin)减少和间充质标志蛋白(N-cadherin、Vimentin)增加<sup>[7]</sup>。在肿瘤微环境中,EMT 可以由多种细胞因子诱导发生,其中 TGF- $\beta$ 1 为诱导 EMT 的细胞因子<sup>[8]</sup>。HOC 是肝脏内源性的具有多向分化潜能的肝干细胞或肝前体细胞,正常情况下,可分化为胆管上皮细胞和成熟肝细胞参与肝损伤的修复以及维持正常肝功能,在持续性肝损伤或致癌因素刺激后,也可发生异常分化增殖,成为癌前病变细胞,向肝癌细胞转变,即 HOC 的恶性转化<sup>[8-13]</sup>。TGF- $\beta$ 1 能够诱导 WB-F344 细胞获得间质细胞特征,促进 EMT 的发生<sup>[8]</sup>;而 TGF- $\beta$ 1 长期刺激可促使其进一步获得肝癌起始细

胞的特征,进而促进肝癌发展<sup>[13]</sup>。本研究结果显示,TGF- $\beta$ 1 诱导后 WB-F344 细胞迁移能力增强,间质细胞标志蛋白 N-cadherin、Vimentin 表达水平显著升高,上皮细胞标志蛋白 E-cadherin 表达水平降低。表明 TGF- $\beta$ 1 诱导后可促使 WB-F344 细胞发生 EMT。

裂果薯具有清热凉血解毒、散瘀消肿、理气止痛、收敛止血等功效,可用于多种肿瘤治疗和肝炎、腮腺炎等治疗<sup>[4]</sup>。本课题组前期研究表明,SSPHs 在体内、外均具有诱导肝癌细胞凋亡,抑制人肝癌生长、侵袭转移、癌组织血管生成和协同增强部分化疗药的作用,其分子作用机制与 MAPK/ERK、PI3K/AKT/mTOR、IL-6/JAK2/STAT3、TGF- $\beta$ 1/smads 和 HGF/c-Met 等信号通路和阻止肝癌细胞的 EMT 形成有关<sup>[4-6,14-18]</sup>。本研究结果表明,SSPHs 可以抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导后的 WB-F344 细胞迁移能力,并有效抑制 WB-F344 细胞的 EMT 进程。

PI3K/AKT 信号通路是调控细胞增殖、分化、迁移运动和维持肿瘤细胞的迁移、侵袭、EMT 等恶性生物学行为的关键信号传导通路<sup>[19]</sup>。TGF- $\beta$ 1 不仅可以通过激活经典的 Smad 信号通路,还可以激活 PI3K/AKT 信号通路等非经典 Smad 信号通路,参与调控细胞 EMT<sup>[20-22]</sup>。Xing<sup>[23]</sup>等发现,TGF- $\beta$ 1 诱导后激活 PI3K/AKT 信号通路,促使 HCC 细胞发生 EMT,并增强其迁移和侵袭的能力。PI3K/AKT 信号通路抑制剂 LY294002 可通过促进 GSK-3 $\beta$  的核转位而降低 Snail 的表达,进而抑制 HCC 细胞的 EMT 进程<sup>[24]</sup>。提示 PI3K/AKT 信号通路可能是阻滞 TGF- $\beta$ 1 诱导 HOC EMT 进程的重要靶点。本研究发现,TGF- $\beta$ 1 可通过促进 WB-F344 细胞 PI3K 和 AKT 的磷酸化,激活 PI3K/AKT 信号通路,进而促使 EMT 的发生;而 SSPHs 干预后,p-PI3K、p-AKT 蛋白表达水平降低。提示在 TGF- $\beta$ 1 诱导的 WB-F344 细胞 EMT 模型中,SSPHs 可以抑制 PI3K/AKT 信号通路的激活。本研究使用 PI3K/AKT 信号通路抑制剂 LY294002 进一步验证,发现 LY294002 可抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导后的细胞迁移能力,下调 EMT 相关蛋白表达,SSPHs 的作用与之相似。研究结果进一步表明,SSPHs 可能是通过阻断 PI3K/AKT 信号通路抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导的 WB-F344 细胞 EMT 进程。

综上所述,SSPHs 能够抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导的大鼠 HOC EMT 进程,进而发挥抗肝癌前病变的作用,其作用机制可能与抑制 PI3K/AKT 信号通路有关。但本研究仅为体外细胞实验研究,存在一定的局限性。今后将构建肝癌前病变动物模型进一步探究 SSPHs 抗肝癌前病变的作用及其确切机制。

## 参考文献:

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA: a cancer journal for clinicians, 2021, 71(3):209-249.
- [2] 杨雪梅,文彬,孙海涛,等.肝癌前病变与肝卵圆细胞上皮间质转化的相关研究进展[J].广东医学,2018,39(14):2236-2239.
- [3] 肖尤川,李云峰,杨之斌.PI3K/AKT 信号通路轴在肿瘤上皮细胞间质转化中作用的研究进展[J].现代肿瘤医学,2013,21(9):2147-2150.
- [4] 廖智红,陈燕燕,黄修影,等.裂果薯总皂苷抗大鼠肝纤维化作用及其机制[J].中国药理学通报,2019,35(5):624-629.
- [5] 罗舜仁,邱汉琛,陈燕燕,等.裂果薯皂苷的特征图谱及总皂苷中有效组分的抗肿瘤活性研究[J].天然产物研究与开发,2018,30(2):294-298,245.
- [6] 吕美娴,廖智红,周欢,等.裂果薯皂苷单体 I 通过 TGF- $\beta$ 1 调控上皮间质转化对人肝癌细胞 SMMC-7721 侵袭和转移的影响[J].中国药理学通报,2020,36(3):408-413.
- [7] DONGRE A, WEINBERG R A. New insights into the mechanisms of epithelial-mesenchymal transition and implications for cancer[J]. Nature reviews. Molecular cell biology, 2019, 20(2):69-84.
- [8] 招文婷,孙嘉玲,文彬,等.鳖甲煎丸通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路逆转大鼠肝卵圆细胞 EMT 的机制[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(1):38-45.
- [9] HUANG Q, PU M, ZHAO G, et al. Tg737 regulates epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell properties via a negative feedback circuit between Snail and HNF4 $\alpha$  during liver stem cell malignant transformation [J]. Cancer letters, 2017, 402:52-60.
- [10] WANG P, YANG A T, CONG M, et al. EGF Suppresses the initiation and drives the reversion of tgf- $\beta$ 1-induced transition in hepatic oval cells showing the plasticity of progenitor cells[J]. Journal of cellular physiology, 2015, 230(10):2362-2370.
- [11] 王正洋,李晓波,殷莲华.肝卵圆细胞的起源、标志物、调控和应用前景[J].复旦学报(医学版),2017,44(2):213-216,230.
- [12] 舒曼,张明辉,何潇潇,等.大鼠肝卵圆细胞系 WB-F344 恶性转化模型的构建及 NOD/SCID 小鼠成瘤实验[J].临床与实验病理学杂志,2014,30(12):1354-1357,1364.
- [13] WU K, DING J, CHEN C, et al. Hepatic transforming growth factor beta gives rise to tumor-initiating cells and promotes liver cancer development[J]. Hepatology, 2012, 56(6):2255-2267.
- [14] 黄修影,卢国栋,廖智红,等.裂果薯皂苷对人肝癌 BEL-7402 细胞自噬的影响[J].中药材,2019,42(1):178-183.
- [15] SUN Y W, QIU H C, OU M C, et al. Saponins isolated from Schizocapsa plantaginea inhibit human hepatocellular carcinoma cell growth in vivo and in vitro via mitogen-activated protein kinase signaling[J]. Chinese journal of natural medicines, 2018, 16(1):29-40.
- [16] ZHOU J L, HUANG X Y, QIU H C, et al. SSPH I, a novel anti-cancer saponin, inhibits autophagy and induces apop-

- tosis via ROS accumulation and erk1/2 signaling pathway in hepatocellular carcinoma cells[J]. *Oncotargets and therapy*, 2020, 13:5979-5991.
- [17] 朱洪卿,韦爽,吕美娴,等.裂果薯总皂苷对H22荷瘤小鼠的抑瘤作用及其机制的初步研究[J]. *中国药理学杂志*, 2021,56(6):478-483.
- [18] 邱汉琛,孙悦文,罗舜仁,等.裂果薯总皂苷对人肝癌细胞增殖、迁移、凋亡的影响及对正常肝细胞的毒性作用[J]. *山东医药*,2017,57(15):1-4.
- [19] 徐拓,王洁,韦小毕,等.淫羊藿苷通过抑制PI3K/AKT信号通路抑制高糖诱导的人肾小管上皮细胞上皮间充质转化[J]. *中国病理生理杂志*,2023,39(11):2027-2033.
- [20] ZHANG L, ZHOU F, TEN DIJKE P. Signaling interplay between transforming growth factor- $\beta$  receptor and PI3K/AKT pathways in cancer[J]. *Trends in biochemical sciences*, 2013, 38(12):612-620.
- [21] H HAMIDI A, SONG J, THAKUR N, et al. TGF- $\beta$  promotes PI3K- AKT signaling and prostate cancer cell migration through the TRAF6- mediated ubiquitylation of p85 $\alpha$ [J]. *Science signaling*, 2017, 10(486):4186.
- [22] BAEK S H, KO J H, LEE J H, et al. Ginkgolic acid inhibits invasion and migration and TGF-  $\beta$ - induced emt of lung cancer cells through PI3K/Akt/mTOR inactivation [J]. *Journal of cellular physiology*, 2017, 232(2):346-354.
- [23] XING S, YU W, ZHANG X, et al. Isoviolanthin extracted from *dendrobium officinale* reverses TGF- $\beta$ 1-mediated epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma cells via deactivating the TGF- $\beta$ /Smad and PI3K/Akt/mTOR signaling pathways[J]. *International journal of molecular sciences*, 2018, 19(6):1556.
- [24] LEE S, CHOI E J, CHO E J, et al. Inhibition of PI3K/Akt signaling suppresses epithelial-to-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma through the Snail/GSK-3/beta-catenin pathway[J]. *Clinical and molecular hepatology*, 2020, 26(4):529-539.

本文引用格式:

李锦华,莫宇雪,郭心怡,等.裂果薯总皂苷对大鼠肝卵圆细胞系 WB-F344 上皮间质转化的影响[J]. *广西医科大学学报*, 2024, 41(5):639-645. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.05.001

LI J H, MO Y X, GUO X Y, et al. The effect of total saponins of *Schizocapsa plantaginea* Hance on epithelial-mesenchymal transition of rat hepatic oval cell line WB-F344 [J]. *Journal of Guangxi medical university*, 2024, 41(5): 639-645.DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.05.001