

# 健脾消癌方通过lncRNA HOTAIR/JAK2/STAT3信号通路抑制结肠癌细胞株HCT116转移的机制

焦蕉<sup>1,2</sup>, 唐麒<sup>1</sup>, 蒋益兰<sup>3\*</sup>, 李东芳<sup>2</sup>, 刘佳琴<sup>3</sup>, 胡广生<sup>1</sup>

(1. 湖南中医药大学 研究生院, 长沙 410208;

2. 湖南省肿瘤医院, 长沙 410013;

3. 湖南省中医药研究院 附属医院, 长沙 410006)

**[摘要]** 目的:观察健脾消癌方对Hox转录本反义基因间RNA(lncRNA HOTAIR)/酪氨酸蛋白激酶2(JAK2)/信号传导及转录激活因子3(STAT3)信号通路的影响,探讨健脾消癌方抑制结肠癌转移的可能作用机制。方法:分析不同细胞株lncRNA HOTAIR的表达情况,采用10%,15%,20%健脾消癌方含药血清作用于HCT116细胞,transwell实验检测健脾消癌方对HCT116细胞的侵袭能力影响,实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测lncRNA HOTAIR,JAK2,STAT3 mRNA的表达,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测JAK2,磷酸化STAT3(p-STAT3),STAT3蛋白表达情况。结果:结肠癌细胞株HCT116中lncRNA HOTAIR的表达水平最高,采用此细胞作为观察对象。与空白组比较,健脾消癌方各组的侵袭细胞数均降低( $P<0.05$ , $P<0.01$ );健脾消癌方中剂量组JAK2 mRNA相对表达水平降低( $P<0.05$ );健脾消癌方中、高剂量组的lncRNA HOTAIR,健脾消癌方高剂量组的JAK2 mRNA相对表达水平显著降低( $P<0.01$ )。与空白组比较,健脾消癌方中剂量组的p-STAT3蛋白相对表达水平平均降低( $P<0.05$ );健脾消癌方中、高剂量组的JAK2蛋白,健脾消癌方高剂量组的p-STAT3蛋白相对表达水平平均明显降低( $P<0.01$ )。结论:健脾消癌方可有效抑制结肠癌细胞转移,其机制可能与抑制lncRNA HOTAIR/JAK2/STAT3信号通路的表达相关。

**[关键词]** 健脾消癌方; 结肠癌; HCT116细胞; Hox转录本反义基因间RNA; 酪氨酸蛋白激酶2; 信号传导及转录激活因子3

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2021)23-0066-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20212325

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20211015.0417.001.html>

[网络出版日期] 2021-10-15 15:15

## Efficacy of Jianpi Xiaoi Prescription in Inhibition of Metastasis of Colon Cancer HCT116 Cells: An Exploration Based on LncRNA HOTAIR/JAK2/STAT3 Signaling Pathway

JIAO Jiao<sup>1,2</sup>, TANG Qi<sup>1</sup>, JIANG Yi-lan<sup>3\*</sup>, LI Dong-fang<sup>2</sup>, LIU Jia-qin<sup>3</sup>, HU Guang-sheng<sup>1</sup>

(1. Graduate School, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410006, China;

2. Hunan Cancer Hospital, Changsha 410013, China;

3. Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine Affiliated Hospital, Changsha 410208, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effect of Jianpi Xiaoi prescription on long non-coding RNA Hox transcript antisense intergenic RNA (lncRNA HOTAIR)/Janus kinase 2 (JAK2) /signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) signaling pathway and to explore the potential mechanism of Jianpi Xiaoi prescription in suppressing the metastasis of colon cancer. **Method:** The expression of lncRNA HOTAIR in

[收稿日期] 20210914(013)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81774287);黎月恒全国名老中医药专家传承工作室项目(湘财社[2014]119号);湖南省中医药管理局青年课题项目(2021193);长沙市科技局一般课题项目(kq1706040);湖南创新型省份建设专项(2019SK4013)

[第一作者] 焦蕉,在读博士,主治医师,从事中西医结合防治肿瘤疾病研究,E-mail:393739583@qq.com

[通信作者] \*蒋益兰,博士生导师,主任医师,从事中西医结合防治肿瘤疾病研究,E-mail:tianshangren624@163.com

different cells was analyzed. Following the treatment of HCT116 cells with 10%, 15%, and 20% Jianpi Xiaoi prescription-containing serum, the invasive ability of Jianpi Xiaoi prescription on HCT116 cells was assessed by transwell assay. The mRNA expression levels of lncRNA HOTAIR, JAK2, and STAT3 were measured by Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR), and the protein expression levels of JAK2, phosphorylated STAT3 (p-STAT3) and STAT3 by Western blot. **Result:** The highest expression of lncRNA HOTAIR was detected in HCT116 cells. Compared with the blank group, each Jianpi Xiaoi prescription group exhibited a decreased number of invasive cells ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). The relative JAK2 mRNA expression in the middle-dose Jianpi Xiaoi prescription group was down-regulated ( $P < 0.05$ ), and the relative lncRNA HOTAIR mRNA expression in the middle- and high-dose Jianpi Xiaoi prescription groups and the relative JAK2 mRNA expression in the high-dose Jianpi Xiaoi prescription group were remarkably down-regulated ( $P < 0.01$ ). Compared with the blank group, the relative p-STAT3 protein expression was down-regulated in the middle-dose Jianpi Xiaoi prescription group ( $P < 0.05$ ), and the relative JAK2 protein expression in the middle- and high-dose Jianpi Xiaoi prescription groups and the relative p-STAT3 protein expression in the high-dose Jianpi Xiaoi prescription group were remarkably down-regulated ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Jianpi Xiaoi prescription effectively inhibits the metastasis of colon cancer cells, which may be related to the inhibition of lncRNA HOTAIR/JAK2/STAT3 signaling pathway.

**[Keywords]** Jianpi Xiaoi prescription; colon cancer; HCT116 cells; long non-coding RNA Hox transcript antisense intergenic RNA (lncRNA HOTAIR); janus kinase 2 (JAK2); signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3)

结直肠癌是一种常见的严重威胁人民健康的恶性肿瘤,据全球肿瘤数据统计,结直肠癌每年新发病例193万,居恶性肿瘤第3位;死亡病例94万,居恶性肿瘤第2位<sup>[1-2]</sup>。长链非编码RNA(lncRNA)异常表达是肿瘤发生发展的关键影响因素之一,与肿瘤的转移及预后密切相关。经大量实验研究表明,Hox转录本反义基因间RNA(lncRNA HOTAIR)是一种致癌lncRNA,其高表达被证实与宫颈癌<sup>[3]</sup>、肺癌<sup>[4]</sup>、大肠癌<sup>[5]</sup>密切相关。有研究表明,lncRNA HOTAIR与大肠癌恶性程度密切相关,其表达降低的大肠癌患者5年生存率延长<sup>[6]</sup>。肿瘤细胞的增殖、凋亡、侵袭和迁移是肿瘤转移的关键步骤<sup>[7]</sup>。酪氨酸蛋白激酶2/信号传导及转录激活因子3(JAK2/STAT3)信号通路被证实与肿瘤细胞的增殖、凋亡、侵袭、迁移密切相关,在多种肿瘤的发生、发展过程中起到了关键作用<sup>[8]</sup>。有文献报道,lncRNA HOTAIR可直接调控促炎因子白细胞介素(IL)-1 $\beta$ , IL-6和肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 等的表达,激活JAK2/STAT3信号转导通路,调节嗜铬细胞瘤细胞系PC12的增殖和凋亡<sup>[9]</sup>。课题组前期研究发现,湖南省名中医蒋益兰教授经验方健脾消癌方可有效抑制结肠癌细胞HCT116的增殖、侵袭、迁移,促进凋亡<sup>[10-11]</sup>。本研究在前期研究基础上采用健脾消癌方作用于结肠癌HCT116细胞,观察健脾消癌方对

lncRNA HOTAIR/JAK2/STAT3信号通路的影响,探讨健脾消癌方抑制结肠癌转移的可能作用机制。

## 1 材料

**1.1 细胞株和动物** 人结肠上皮细胞株NCM460购于美国模式培养物集存库(目录编号HTX1841),人结肠癌细胞株SW480,SW620,HCT116购于中国科学院上海细胞中心(目录编号分别为TCHu172, TCHu101, TCHu 99),收到后传至第3代备用。20只SD大鼠购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,雌雄各半,体质量180~200 g,合格证号SCXK(湘)2019-0004。本研究中涉及动物的实验均经湖南省中医药研究院实验动物伦理委员会批准(批号2020-0035)。

**1.2 药物** 健脾消癌方药材(人参10 g,薏苡仁30 g,半枝莲30 g,重楼10 g,莪术10 g,郁金15 g)购于湖南省中医药研究院附属医院中药房,经药剂科主任药师田其学鉴定,所有中药材均符合2015年版《中华人民共和国药典》标准。将所购药材浸泡1 h,武火煮沸后转文火煎30 min,取药液后药渣按前法再煎煮1次,将2次药液混匀、过滤,浓缩成相当于含生药1.134 g·mL<sup>-1</sup>,4℃保存备用。

**1.3 试剂** DMEM培养基(美国Life Technology公司,批号05197);胎牛血清(德国Cellbox公司,批号SAG-01U-02);PureLink RNA试剂盒(赛默飞公司,

批号 12183018A); cDNA 逆转录试剂盒, 实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)试剂盒(日本 Takara 公司, 批号分别为 RR047Q, RR430A); JAK2, STAT3, p-STAT3,  $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)蛋白抗体(美国 Abcam 公司, 批号分别为 ab108596, ab68153, ab237373, ab6276); 二抗(SAB 公司, 批号 L3012); 草酸铵结晶紫染色液(北京索莱宝科技有限公司, 批号 G1062)。

**1.4 仪器** MOP175型二氧化碳细胞培养箱(日本 Sanyo 公司); SE300型垂直凝聚电泳仪, TE22型蛋白质转膜仪(美国 Hoefler 公司); S2030型凝胶脱色水平摇床(美国 Labnet 公司); GBOX型凝胶成像系统(美国 Syngene 公司); 480 II FAST型 Real-time PCR 仪器(瑞士 Roche 公司)。

## 2 方法

**2.1 细胞培养** 将人结肠上皮细胞株 NCM460, 人结肠癌细胞株 SW480, SW620, HCT116 进行常规复苏, 加入含 10% 胎牛血清的高糖 DMEM 培养液, 置于 37 °C, 5%CO<sub>2</sub> 的恒温培养孵箱进行培养, 每 2 d 传代 1 次, 并取处于对数生长期的细胞进行实验。

**2.2 健脾消癌方含药血清制备** 参照课题组前期含药血清制备方法<sup>[12]</sup>, 将 20 只 SD 大鼠按照随机数字表法分成空白组和健脾消癌方组, 每组 10 只。大鼠灌胃剂量参照人与实验动物体表面积计算比值换算<sup>[13]</sup>, 大鼠给药剂量=人(按 70 kg 计算)给药剂量×换算系数=105 g·70 kg<sup>-1</sup>×6.3=9.45 g·kg<sup>-1</sup>, 即健脾消癌方组按 9.45 g·kg<sup>-1</sup>灌胃; 空白组按大鼠体质量给予等体积的生理盐水灌胃。每天灌胃 2 次, 连续给药 7 d, 并于最后 1 次灌胃后 1 h, 采用 10% 水合氯醛麻醉大鼠, 于无菌条件下腹主动脉取血, 37 °C 静置 4 h, 2 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min(离心半径 13.5 cm) 后取血清, 并将同组血清进行混合, 用 0.22  $\mu$ m 微孔滤膜过滤除菌, -20 °C 保存备用。

**2.3 分组给药** 取对数生长期的 HCT116 细胞按 5×10<sup>6</sup> 个/皿, 接种于 100 mm 的水平培养皿中, 每皿加入高糖 DMEM 完全培养基 12 mL, 置于 37 °C, 5%CO<sub>2</sub> 的培养孵箱培养过夜, 次日, 更换新鲜高糖 DMEM 完全培养基, 将细胞分为空白组、健脾消癌方低、中、高剂量组, 分别加入 15% 空白血清, 10%, 15%, 20% 健脾消癌方含药血清, 置于 37 °C, 5%CO<sub>2</sub> 饱和湿度的细胞培养箱内进行培养 24 h。

**2.4 细胞侵袭实验** 收集各组处理 48 h 的细胞, 磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 3 次, 用无血清 DMEM 培养基将细胞密度调整为 1×10<sup>6</sup> 个/mL, 100  $\mu$ L/孔接种

于含 Matrigel 胶的 transwell 板上室中, 空白组小室下室加入含 15%FBS 的 DMEM 培养基 1 mL 作为诱导剂, 培养 24 h, 结晶紫染色 20 min, 倒置显微镜下观察穿过小室的细胞数, 随机选取 8 个视野拍照计数, 取平均值作为侵袭细胞的数目。

**2.5 Real-time PCR 检测 lncRNA HOTAIR, JAK2, STAT3 mRNA 的表达** 按 PureLink RNA 试剂盒说明书制备各组细胞总 RNA。按反转录试剂盒说明书制备 cDNA。逆转录条件为 42 °C, 5 min; 37 °C, 15 min; 85 °C, 5 s; 4 °C 保存。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)作为内参, 通过 PCR 扩增 lncRNA HOTAIR, JAK2, STAT3 mRNA, 扩增条件为 ① 95 °C 预变形 50 s, 1 个循环; ② 95 °C 变性 8 s; 62 °C 退火 48 s; 45 个循环; ③ 95 °C 延伸 6 s; 60 °C 降温 62 s; 95 °C 终延伸 3 s; 1 个循环; ④ 50 °C 保存。实验重复 3 次。2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup> 法计算 lncRNA HOTAIR, JAK2, STAT3 mRNA 的相对表达量。引物由上海 Sangon 有限公司提供, 见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequence

引物	序列(5'-3')	长度/bp
lncRNA HOTAIR	上游 GGTAGAAAAAGCAACCAC	170
	下游 ACATTAACCTCTGTCTGT	
GAPDH	上游 ACCCAGAAAGACTGTG	120
	下游 CACATTGGGGGGTAGG	
JAK2	上游 TCTGGGGAGTATGTTGCAGAA	130
	下游 AGACATGGTTGGGTGGATAACC	
STAT3	上游 CAGCAGCTTGACACACGGTA	150
	下游 AAACACCAAAGTGGCATGGA	

**2.6 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 JAK2, p-STAT3, STAT3 蛋白表达** 采用蛋白裂解液(强)提取总蛋白, BCA 法测定所提取的蛋白质浓度。按每孔 35  $\mu$ g 上样量进行 15% 十二烷基苯磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 将蛋白质转移到聚偏氟乙烯(PVDF)膜上, 摇床封闭 3.5 h, 分别加入相应抗体 JAK2 (1 : 2 000), p-STAT3 (1 : 1 万), STAT3 (1 : 5 000),  $\beta$ -actin (1 : 5 000), 水平摇床 4 °C, 孵育 18 h; TBST 洗涤 15 min, 3 次, 分别加入辣根过氧化物酶标记山羊抗兔二抗(1 : 5 000), 水平摇床 20 °C, 1.5 h, 洗涤 2 次, 每次 15 min, 加入化学发光底物, 仪器内显影, 并用 Image J 对实验图像进行灰度值分析。

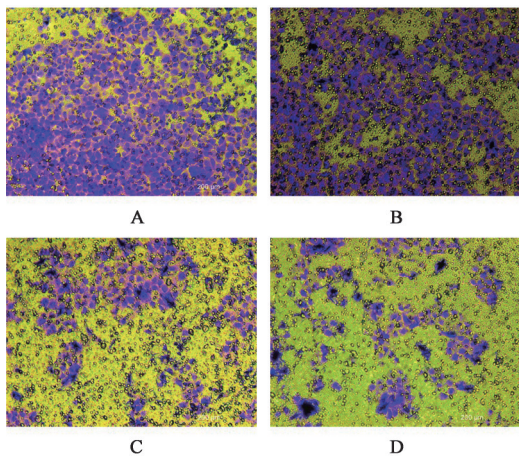
**2.7 统计学分析** 采用 GraphPad prism 9.0 软件对

数据进行统计分析,计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用单因素方差分析实验数据,组间两两比较采用最小显著性差异法(LSD),以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 lncRNA HOTAIR在不同细胞株中的相对表达水平** 结肠癌细胞株 SW480, SW620, HCT116 的 lncRNA HOTAIR 相对表达水平分别为(3.952±0.167), (5.690±0.555), (9.535±0.590), 均显著高于正常结肠上皮细胞株 NCM460 的 lncRNA HOTAIR 相对表达水平(1.00±0.045)( $P<0.01$ ), 且 HCT116 细胞株的 lncRNA HOTAIR 相对表达水平最高, 故选用 HCT116 细胞作为本次实验的研究对象。

**3.2 健脾消癌方对 HCT116 细胞侵袭能力的影响** 与空白组比较, 健脾消癌方低、中剂量组的侵袭细胞数明显降低( $P<0.05$ ), 健脾消癌方高剂量组的侵袭细胞数显著降低( $P<0.01$ )。见图 1, 表 2。



A. 空白组; B~D. 健脾消癌方低、中、高剂量组(图 2 同)

图 1 健脾消癌方对 HCT116 细胞侵袭能力的影响(结晶紫, ×400)

Fig. 1 Effect of Jianpi Xiaocai prescription on invasion of HCT116 cells (crystal violet, ×400)

表 2 健脾消癌方对 HCT116 细胞侵袭能力的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 2 Effect of Jianpi Xiaocai prescription on invasion of HCT116 cells ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	体积分数/%	侵袭细胞数/个
空白	15	100.0±7.8
健脾消癌方	10	82.0±3.0 <sup>1)</sup>
	15	60.5±7.5 <sup>1)</sup>
	20	51.56±3.5 <sup>2)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup> $P<0.05$ ,<sup>2)</sup> $P<0.01$ (表 3, 4 同)。

**3.3 健脾消癌方对 JAK2, p-STAT3, STAT3 mRNA 相对表达水平的影响** 与空白组比

较, 健脾消癌方中剂量组的 JAK2 mRNA 相对表达水平明显降低( $P<0.05$ ); 健脾消癌方中、高剂量组的 lncRNA HOTAIR 相对表达水平均显著降低( $P<0.01$ ), 健脾消癌方高剂量组的 JAK2 mRNA 相对表达水平显著降低( $P<0.01$ )。健脾消癌方各剂量组 STAT3 mRNA 差异无统计学意义。见表 3。

表 3 健脾消癌方对 lncRNA HOTAIR, JAK2, STAT3 mRNA 相对表达的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 3 Effect of Jianpi Xiaocai prescription on lncRNA HOTAIR, JAK2, STAT3 mRNA ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	体积分数/%	lncRNA HOTAIR	JAK2	STAT3
空白	15	1.013±0.009	1.017±0.009	1.010±0.012
健脾消癌方	10	0.922±0.017	0.981±0.017	1.033±0.035
	15	0.396±0.048 <sup>2)</sup>	0.683±0.049 <sup>1)</sup>	0.975±0.031
	20	0.156±0.022 <sup>2)</sup>	0.442±0.061 <sup>2)</sup>	1.033±0.057

**3.4 健脾消癌方对 JAK2, p-STAT3, STAT3 蛋白相对表达水平的影响** 与空白组比较, 健脾消癌方中剂量组 p-STAT3 蛋白相对表达水平明显降低( $P<0.05$ ); 健脾消癌方中、高剂量组 JAK2 蛋白, 健脾消癌方高剂量组的 p-STAT3 蛋白相对表达水平均显著降低( $P<0.01$ )。健脾消癌方各组的 STAT3 蛋白相对表达差异无统计学意义。见图 2, 表 4。

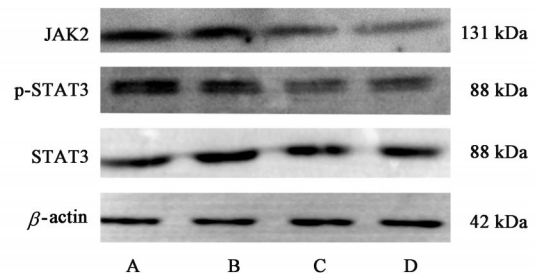


图 2 各组 JAK2, p-STAT3, STAT3 蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of Jianpi Xiaocai prescription on JAK2, p-STAT3, STAT3 protein

表 4 健脾消癌方对 JAK2, p-STAT3, STAT3 蛋白相对表达的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 4 Effect of Jianpi Xiaocai prescription on JAK2, p-STAT3, STAT3 protein ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	体积分数/%	JAK2 / $\beta$ -actin	p-STAT3 / $\beta$ -actin	STAT3 / $\beta$ -actin
空白	15	1.000±0.015	1.000±0.015	1.000±0.031
健脾消癌方	10	0.961±0.050	1.137±0.101	1.043±0.027
	15	0.509±0.018 <sup>2)</sup>	0.888±0.074 <sup>1)</sup>	1.041±0.039
	20	0.454±0.047 <sup>2)</sup>	0.730±0.051 <sup>2)</sup>	1.230±0.029

#### 4 讨论

近20年来,我国结直肠癌的发病率与病死率逐年攀升,且呈现年轻化趋势,其发生与饮食结构、生活环境、人口老龄化、环境污染等相关,由于远处转移和复发,大多数晚期结直肠癌预后不佳<sup>[14-15]</sup>。健脾消癌方是根据湖南省名中医蒋益兰教授数十载临证精华凝练总结而来的治疗结直肠癌的效验方,方中人参、薏苡仁益气健脾,以健生化之源,而疗诸虚不足,从而达到扶正固本的目的;莪术、郁金活血化瘀,半枝莲、重楼清热解毒、消痈散结,全方配伍精要,攻补兼施,共奏益气健脾,化瘀解毒之功。前期课题组基础研究结果表明,健脾消癌方通过下调基质金属蛋白酶(MMP)-2, MMP-9蛋白表达,抑制HCT116细胞迁移、侵袭;而且通过降低结肠癌细胞HCT116中miR-21/蛋白酪氨酸磷酸酶基因(PTEN)信号通路的表达,抑制结肠癌的增殖,通过上调B细胞淋巴瘤-2相关X蛋白(Bax)的表达,下调天冬氨酸半胱氨酸蛋白水解酶-3(Caspase-3), B细胞淋巴瘤-2相关xL蛋白(Bcl-xL)的表达促进结肠癌HCT116细胞的凋亡<sup>[10-12]</sup>。

研究表明, lncRNA HOTAIR在结直肠癌的发展过程中起重要作用,通过敲除lncRNA HOTAIR基因,在体外可抑制结直肠癌细胞系的存活和转移,在体内可通过降低肝细胞核因子4 $\alpha$ (HNF4 $\alpha$ )的表达,抑制肠癌细胞的上皮间充质转化(EMT)过程,从而抑制结直肠癌的发生、迁移和侵袭<sup>[16]</sup>。JAK2/STAT3信号通路是一种典型的致癌信号通路, JAK2作为一个信号枢纽,将白细胞介素受体和致癌受体酪氨酸激酶的细胞外信号整合到STAT3中, JAK2在Y705处磷酸化STAT3,通过其磷酸化的Y705位点和SH2结构域的相互作用,与p-STAT3同源二聚,以诱导其核易位和转录活性,核STAT3与其靶基因启动子结合,诱导肿瘤细胞迁移、生长和分化,在结直肠癌的发生发展中起着重要作用<sup>[17-18]</sup>。DENG等<sup>[19]</sup>的研究表明, lncRNA HOTAIR可靶向miR-34a激活JAK2/STAT3信号通路,促进胰腺癌细胞的侵袭、迁移,敲除lncRNA HOTAIR可抑制胰腺癌的生长。

为了进一步明确健脾消癌方抑制结直肠癌转移的机制,本研究检测了人结肠上皮细胞与不同结肠癌细胞株中lncRNA HOTAIR的表达水平,结果证实结肠癌细胞株lncRNA HOTAIR表达水平高于人结肠上皮细胞,且侵袭性强的结肠癌细胞株中lncRNA HOTAIR表达水平更高,说明lncRNA

HOTAIR与结肠癌的侵袭密切相关。本研究从lncRNA HOTAIR/JAK2/STAT3信号通路着手,采用不同剂量的健脾消癌方作用于结肠癌HCT116细胞,结果发现lncRNA HOTAIR, JAK2, p-STAT3在HCT116细胞中均呈高表达状态,与文献报道一致<sup>[16-18]</sup>。健脾消癌方干预后, lncRNA HOTAIR, JAK2表达下调, p-STAT3水平下降,并且随着健脾消癌方剂量的增加,抑制效果更佳明显。这阐释健脾消癌方抑制结肠癌侵袭的作用机制可能与lncRNA HOTAIR/JAK2/STAT3信号通路密切相关。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [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 Cancer J Clin, 2021, 71 (3): 209-249.
- [2] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, et al. Cancer statistics, 2021 [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71 (1): 7-33.
- [3] ZHANG Z Z, SHEN Z Y, SHEN Y Y, et al. lncRNA HOTAIR long noncoding RNA promotes gastric cancer metastasis through suppression of poly r(C)-binding protein (PCBP) 1 [J]. Mol Cancer Ther, 2015, 14(5): 1162-1170.
- [4] SAHA S S, ROY CHOWDHURY R, MONDAL N R, et al. Identification of genetic variation in the lncRNA HOTAIR associated with HPV-16-related cervical cancer pathogenesis [J]. Cell Oncol, 2016, 39 (6): 559-572.
- [5] LIU W, YIN N C, LIU H, et al. Cav-1 promote lung cancer cell proliferation and invasion through lncRNA HOTAIR [J]. Gene, 2018, 641: 335-340.
- [6] XU Y J, LI S Y, CHENG Q, et al. Effects of anaesthesia on proliferation, invasion and apoptosis of LoVo colon cancer cells *in vitro* [J]. Anaesthesia, 2016, 71(2): 147-154.
- [7] LIU B, LIU Q Q, PAN S, et al. The lncRNA HOTAIR/miR-214/ST6GAL1 crosstalk modulates colorectal cancer procession through mediating sialylated c-Met via JAK2/STAT3 cascade [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 455.
- [8] DOHENY D, SIRKISOON S, CARPENTER R L, et al. Combined inhibition of JAK2-STAT3 and SMO-GLI1/tGLI1 pathways suppresses breast cancer stem cells, tumor growth, and metastasis [J]. Oncogene,

- 2020,39(42): 6589-6605.
- [9] 李升平,贺利明,马锋. lncRNA HOTAIR通过介导JAK2/STAT3通路调节肾上腺肿瘤细胞增殖和凋亡的机制[J]. 临床和实验医学杂志, 2021, 20(3): 253-256.
- [10] 简小兰,曾普华,杜佳,等. 健脾消癌方对结肠癌HCT116细胞迁移、侵袭的影响研究[J]. 中医学报, 2021, 36(1): 132-137.
- [11] 简小兰,杨晓,罗吉,等. 健脾益气化痰解毒方含药血清对结肠癌HCT116细胞增殖、周期、凋亡的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2016, 39(11): 909-914.
- [12] 罗燕,罗吉,蒋益兰,等. 健脾消癌方抑制结肠癌增殖的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(6): 151-155.
- [13] 魏伟,吴希美,李元建. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 71.
- [14] ZHANG S W, SUN K X, ZHENG R S, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2015 [J]. J Nat Cancer Center, 2020, 32(1): 10-17.
- [15] LI S, XU Z S, GUO J, et al. Farnesoid X receptor activation induces antitumour activity in colorectal cancer by suppressing JAK2/STAT3 signalling via transactivation of SOCS3 gene [J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(24): 14549-14560.
- [16] JIN L, PAN Y L, ZHANG J, et al. LncRNA lncRNA HOTAIR recruits SNAIL to inhibit the transcription of HNF4 $\alpha$  and promote the viability, migration, invasion and EMT of colorectal cancer [J]. Transl Oncol, 2021, 14(4): 101036.
- [17] WANG J Q, ZHANG Y, SONG H, et al. The circular RNA circSPARC enhances the migration and proliferation of colorectal cancer by regulating the JAK/STAT pathway [J]. Mol Cancer, 2021, 20(1): 81.
- [18] JAŚKIEWICZ A, DOMORADZKI T, PAJĄK B. Targeting the JAK2/STAT3 pathway—can we compare it to the two faces of the god Janus? [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(21): 8261.
- [19] DENG S K, WANG J F, ZHANG L, et al. LncRNA lncRNA HOTAIR promotes cancer stem-like cells properties by sponging miR-34a to activate the JAK2/STAT3 pathway in pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. Onco Targets Ther, 2021, doi: 10.2147/OTT.S286666.

[责任编辑 张丰丰]