

辣椒素对非小细胞肺癌侵袭能力影响及其机制探讨

任公平¹, 刘宏扬², 于雪莲¹, 梁国英^{3*}

(1. 牡丹江医学院 红旗医院, 黑龙江 牡丹江 157011;

2. 齐齐哈尔市中医医院, 黑龙江 齐齐哈尔 161000;

3. 黑龙江中医药大学 附属第一医院, 哈尔滨 150040)

[摘要] **目的:**观察辣椒素对人大细胞肺癌细胞 NCI-H460 侵袭能力及 E 钙黏蛋白 (E-cadherin) 蛋白, Slug 蛋白表达的影响, 探讨其抗非小细胞肺癌的可能机制。**方法:**体外培养 NCI-H460 细胞, 以不同终浓度辣椒素进行处理, 未加辣椒素为空白组。采用 MTT 比色分析法, 观察辣椒素对 NCI-H460 细胞增殖抑制作用, 计算半数抑制浓度 (IC₅₀); 采用微丝荧光染色和 Transwell 小室细胞侵袭实验观察 NCI-H460 细胞侵袭能力, 以及 Western blot 和 RT-PCR 分析检测 E-cadherin 和 Slug 蛋白及 mRNA 表达的变化。**结果:**MTT 比色分析法结果显示, 辣椒素对 NCI-H460 细胞生长具有明显抑制作用, 与空白组比较, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 微丝荧光染色分析表明, 辣椒素可明显抑制 NCI-H460 细胞丝状伪足形成; Transwell 体外侵袭实验结果显示, 辣椒素可显著抑制侵袭穿膜细胞数, 与空白组比较, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。Western blot 和 RT-PCR 分析结果显示, 辣椒素显著升高 E-cadherin 表达水平, 并显著降低 Slug 表达水平, 与空白组比较, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论:**辣椒素能明显抑制 NCI-H460 细胞活率, 降低侵袭能力与其降低 Slug 表达, 增加 E-cadherin 表达有关, 可能是其抗非小细胞肺癌的机制之一。

[关键词] 辣椒素; 侵袭能力; E 钙黏蛋白; Slug

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)05-0172-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016050172

Effects and Mechanism of Capsaicin on Invasion of Non-small Cell Lung Cancer

REN Gong-ping¹, LIU Hong-yang², YU Xue-lian¹, LIANG Guo-ying^{3*}

(1. Hongqi Hospital, Mudanjiang Medical University, Mudanjiang 157011, China;

Qiqihar Hospital of Traditional Chinese Medicine, Qiqihar 161000, China;

3. The First Affiliated Hospital to Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of capsaicin on the invasion ability of human large cell carcinoma NCI-H460 and the expressions of E-cadherin and Slug, in order to discuss the possible mechanisms of anti-non-small cell lung cancer. **Method:** NCI-H460 cells were cultured *in vitro* and treated with capsaicin with various concentrations, with no capsaicin in the blank group. The 50% inhibitory concentration (IC₅₀) was measured by MTT method. The NCI-H460 cell invasion ability was evaluated by actin-tracker green fluorescent probe and transwell chamber invasion assay. Western blot and RT-PCR were used to detect the protein and mRNA expression of E-cadherin and Slug. **Result:** MTT assay results showed that the growth of NCI-H460 cells treated with capsaicin was significantly inhibited compared with the blank group, with statistically significant difference ($P < 0.05$); Actin-tracker Green fluorescent probe showed that capsaicin can notably prohibit NCI-H460 filopodia formation. Transwell invasion *in vitro* results showed that capsaicin can significantly inhibit invasion of penetrating

[收稿日期] 20150215(028)

[第一作者] 任公平, 硕士, 主治医师, 从事中西医结合防治老年病研究, Tel:13836313279, E-mail:gongpingren@163.com

[通讯作者] * 梁国英, 博士, 副主任医师, 从事消化系统疾病的临床与实验研究, Tel:0451-87961267, E-mail:lianggy1976@163.com

cells, with statistically significant difference compared with the control group ($P < 0.05$). Western blot and RT-PCR analysis showed that E-cadherin expression level was significantly elevated and Slug expression level was significantly decreased by capsaicin, with statistically significant difference compared with the control group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Capsaicin can inhibit the NCI-H460 cell viability and invasion, its mechanism for anti-non-small cell lung cancer may be correlated with decrease in Slug expression and increase in E-cadherin expression.

[Key words] capsaicin; invasion ability; E-cadherin; Slug

近年来,关于辣椒素(capsaicin, CAP)抗癌作用的研究在国内外日益受到学者的高度重视。辣椒素是红辣椒中的一种活性成分。最近有研究表明,辣椒素可以抑制癌症细胞的增殖,促进凋亡,因此可以作为一种药物或传统化疗药物的辅助用药^[1-2]。目前恶性肿瘤占全球死因的第 1 位,而肺癌是癌症相关死亡的首要原因,5 年生存率 15%^[3-4]。据预测,到 2020 年,中国将有 550 万新发肺癌病例,死亡人数将达 400 万^[5]。在肺癌的病理学分型中,80% 为非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC),包括腺癌、鳞状上皮细胞癌和大细胞癌,其侵袭和转移能力是导致患者死亡及复发的主要原因,并使其成为作为当今世界上对人类健康和生命危害最大的恶性肿瘤之一^[6],给患者和家属及其社会带来极大的经济负担。虽然辣椒素具有抗癌作用,但是其有关于 NSCLC 的研究鲜见报导。本研究采用人大细胞肺癌 NCI-H460 细胞,旨在观察辣椒素对 NCI-H460 细胞侵袭能力及 E 钙黏蛋白(E-cadherin), Slug 蛋白表达的影响,为明确辣椒素治疗恶性肿瘤提供实验依据,探讨其可能作用机制,以期为 NSCLC 治疗提供新思路。

1 材料

1.1 细胞 人大细胞肺癌细胞 NCI-H460,购自中科院上海细胞库。

1.2 药物及试剂 辣椒素(纯度 > 99%), MTT, 罗丹明标记的鬼笔环肽(美国 Sigma 公司,批号分别为 100081-201408, M2128, PHDR1), Transwell 小室(美国 Corning 公司,批号 3140908), E-cadherin 蛋白, Slug 蛋白, β -actin(上海浩然生物技术有限公司,批号分别为著名 ZM0092, ZM2356, 1208), E-cadherin 鼠抗人单克隆抗体(美国 Pro Mab 公司,批号 70796267A2), Slug 兔抗人多克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司,批号 B2206), HRP 标记抗鼠 IgG 二抗及 HRP 标记抗兔 IgG 二抗(上海碧云天公司,批号 BSE-0140G, BSE-0520G), 逆转录试剂盒(日本 Promega 公司,批号 9035-81-8), Quant SYBR Green PCR 试剂盒(美国 TaKaRa 公司,批号 BS-PCR003)。

1.3 仪器 DFC 450C 型倒置显微镜(德国莱卡公司), ABI-7300 型 PCR 仪(美国 ABI 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养 NCI-H460 细胞保存在含有 10% BSA 的 RPMI-1640 营养培养基(含 L-谷氨酰胺, 青霉素 $100 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和链霉素 $100 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$), $37 \text{ }^\circ\text{C}$, 5% CO_2 及饱和湿度下培养。当 NCI-H460 细胞达 80% 汇合度时,用 0.05% 胰蛋白酶/0.02% EDTA 消化。按照细胞密度 2×10^6 个/孔接种于超低吸附 6 孔板中, $37 \text{ }^\circ\text{C}$, 5% CO_2 及饱和湿度下培养 48 h。收集悬浮的细胞经 EDTA 处理制备成单细胞悬液,然后用 RPMI-1640 培养液洗涤细胞。收集对数生长期细胞,备用。

2.2 药物配置 辣椒素溶解于 DMSO, 配成 $500 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液, $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存。临用时,以完全培养液将辣椒素稀释到所需浓度。

2.3 MTT 比色分析法测定细胞抑制率 取对数生长期 NCI-H460 细胞,按照细胞密度 1×10^4 个/孔接种于 96 孔板中,总体积为 $200 \text{ } \mu\text{L}$,过夜培养。次日,实验组每孔加入终浓度为 0, 100, 200, 300, 400, 500 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的辣椒素^[7],空白组除未加辣椒素外,其余条件与实验组完全一致。每组设 6 个平行孔,将培养板置于 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 5% CO_2 及饱和湿度下培养,分别培养 24, 48 h 后,每孔加入 MTT 溶液($5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) $20 \text{ } \mu\text{L}$, $37 \text{ }^\circ\text{C}$, 继续培养 4 h,终止培养,小心吸弃孔内培养上清液,然后每孔加入 DMSO,振荡 10 min,使结晶物充分溶解,570 nm 波长处,以空白培养液调零点,酶标仪测定吸光度 A,取 6 孔平均值。在 graphpad prism 5 统计软件中计算出半数抑制浓度(IC_{50})。

$$\text{抑制率} = (A_{\text{实验组}} - A_{\text{空白组}}) / (A_{\text{空白组}} - A_{\text{对照组}}) \times 100\%$$

2.4 微丝荧光染色观察 根据江隆昌和欧阳理权等^[8-9]方法,取对数生长期 NCI-H460 细胞,按照细胞密度 2×10^3 个细胞/接种于 96 孔板中,实验组每孔加入终浓度为 100, 200, 300 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的辣椒素各 $10 \text{ } \mu\text{L}$,空白组除未加辣椒素外,其余条件与实验组完全一致。每组设 6 个平行孔。PBS 洗涤 2 次,再用 4%

多聚甲醛溶液于 37 °C 固定 10 min; 然后, 用含 0.1% TritonX-100 的 PBS 洗涤细胞 3 次, 每次 4 min。用含 0.2% BSA 的 PBS 封闭 30 min。随后, 将细胞与 1:100 罗丹明标记的鬼笔环肽 PBS 孵育 15 min, PBS 洗涤 3 次。Olympus IX51 型荧光显微镜 496 nm 处, 观察细胞微丝的形态学变化。实验重复 3 次。

2.5 Transwell 小室外侵袭实验 根据史立宏等^[10]方法, Transwell 小室用前铺上 0.5% Matrigel 膜基质 50 μL 于 37 °C 孵育过夜 4 h。取对数生长期 NCI-H460 细胞, 将实验组细胞用终浓度为 100, 200, 300 μmol·L⁻¹ 的辣椒素, 37 °C 5% CO₂ 及饱和湿度下培养 24 h, 空白组除未加辣椒素外, 其余条件与实验组完全一致。按照 5 × 10⁴ 个细胞接种于 Transwell 小室内室, 并在 Transwell 小室下室加入含有 10% BSA 的完全培养液。孵育 24 h 后, 取出 Transwell 小室去除未穿膜细胞。甲醇固定 15 min 后, 再以 10 g·L⁻¹ Hoechst33342 染色 30 min。Olympus IX51 荧光显微镜计数穿过微孔膜的细胞数。每组细胞随机计数 10 个视野, 取其平均值。实验重复 3 次。

2.6 Western blot 分析 取对数生长期 NCI-H460 细胞, 将实验组细胞用终浓度为 100, 200, 300 μmol·L⁻¹ 的辣椒素, 37 °C 5% CO₂ 及饱和湿度下培养 24 h, 空白组除未加辣椒素外, 其余条件与实验组完全一致。用细胞裂解液(20 mmol·L⁻¹ Tris-HCl, 1.5% Triton X-100, 150 mmol·L⁻¹ NaCl, 10% 甘油, 1 mmol·L⁻¹ Na₄P₂O₇, 50 mmol·L⁻¹ NaF, 1 mmol·L⁻¹ PMSF) 和蛋白酶抑制剂(5 μmol·L⁻¹ AEBSF-HCl, 5 μmol·L⁻¹ EDTA, 10 mmol·L⁻¹ leupeptin, 1.5 mmol·L⁻¹ E-64,

pH 7.4) 裂解细胞后, 收集裂解液, Bradford 法测定蛋白质含量。取 20 μg 蛋白质加入等体积 2 × 上样缓冲液, 95 °C 变性 5 min。随后进行 7.5% SDS-PAGE 凝胶电泳。电泳后, 电转至 0.45 μm 硝酸纤维素膜, 用含 5% 的脱脂奶粉 PBST (25 mmol·L⁻¹ Tris pH 7.5, 150 mmol·L⁻¹ NaCl, 0.1% Tween20) 封闭 1 h, 分别加入 E-cadherin 抗体, Slug 抗体 (1:1 000 稀释) 4 °C 孵育过夜, PBST 洗涤 3 次, 每次 5 min。加入 HRP 标记的二抗 (1:2 000 稀释) 室温孵育 2 h, PBST 洗涤 3 次, 每次 5 min。按同样的方法与 β-actin 抗体孵育。ECL 化学发光试剂显色, 通过 Bio-Rad 凝胶成像进行目的条带的表达检测及分析。

$$\text{蛋白的相对表达强度} = \frac{\text{目标蛋白表达强度}}{\beta\text{-actin蛋白表达强度}}$$

2.7 Real-Time PCR (RT-PCR) 分析 取对数生长期 NCI-H460 细胞, 将实验组细胞用终浓度为 100, 200, 300 μmol·L⁻¹ 的辣椒素, 37 °C 5% CO₂ 及饱和湿度下培养 24 h, 空白组除未加辣椒素外, 其余条件与实验组完全一致。按照 TRIzol 试剂盒说明书抽提总 RNA。Nanodrop2000 检测 RNA 纯度。使用 M-MLV 逆转录试剂盒进行逆转录反应, 成单链的 cDNA, 操作按照试剂盒说明书进行。利用 Pubmed 查找相关基因序列, 并利用引物合成软件 Primer Premier 5.0 设计引物, 引物序列见表 1。使用 Quant SYBR Green PCR 试剂盒按照 PCR 引物进行扩增, 用 Applied Biosystems 7500 型定量 PCR 仪测出 ΔC_t 值及溶解曲线, 计算出相对基因表达量。每份样品检测 3 次。

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequence of PCR

基因	上游	下游	片段长度/bp
E-cadherin	5'-GGCATTGGGAAGAATCAGCC-3'	5'-ATTGATGTCCAATGGCCG-3'	487
Slug	5'-CCTGGTTGCTTCAAGGACAC-3'	5'-TCCATGCTCTTGACACTCTC-3'	395
β-actin	5'-GAAATCGTGCCTGACATTAAG-3'	5'-CTAGAAGCATTTCGGGTGGA-3'	226

2.8 统计学分析 采用 SPSS 17.0 软件进行数据分析, 计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 正态资料组间比较采用 *t* 检验, 多样本均数采用单因素方差分析, 以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 NCI-H460 细胞增殖的影响 不同终浓度 (100 ~ 500 μmol·L⁻¹) 的辣椒素分别作用于 NCI-H460 细胞 24, 48 h 后, 随着终浓度的增大和作用时

间的延长, 其对细胞的抑制率也明显增强, 呈浓度和时间依赖性, 与空白组比较, 差异具有统计学意义 (*P* < 0.05)。辣椒素 24, 48 h 的 IC₅₀ 分别为 366.2, 328.2 μmol·L⁻¹。见表 2。

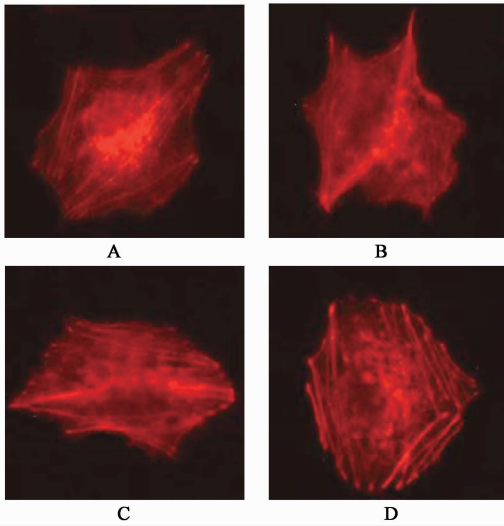
3.2 对 NCI-H460 细胞丝状伪足形成的影响 微丝荧光染色后发现, 辣椒素终浓度为 100 μmol·L⁻¹ 时, NCI-H460 细胞有明显的丝状伪足形成, 表现为细胞表面形成微丝突起并且延伸到细胞外, 而且充满

表 2 辣椒素对 NCI-H460 细胞增殖的影响

Table 2 Effects of capsaicin on proliferation in NCI-H460 cells

组别	浓度 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	24 h 抑制率 /%	48 h 抑制率 /%
空白	-	-	-
辣椒素	100	9.16	14.60
	200	20.43	24.27
	300	27.29	30.72
	400	52.41	66.87
	500	82.98	94.29

与相邻的其他肿瘤细胞相接触的平行排列肌丝纤维。辣椒素终浓度为 200,300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,NCI-H460 细胞未见明显丝状伪足形成,可有效抑制丝状伪足的伸出,仅见细胞表面可见少量突起,肌动蛋白丝网状排列。见图 1。



A. 空白组;B. 辣椒素 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组;C. 辣椒素 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组;
D. 辣椒素 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组(图 2 同)

图 1 辣椒素对 NCI-H460 细胞丝状伪足形成的影响(微丝荧光, $\times 400$)

Fig.1 Effects of capsaicin on filiform pseudopodia formation in NCI-H460 cells (microfilament fluorescence, $\times 400$)

3.3 对 NCI-H460 细胞体外侵袭能力的影响 辣椒素终浓度为 200,300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,NCI-H460 细胞侵袭细胞数均显著下降,并呈浓度依赖性,与空白组比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。辣椒素终浓度为 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,NCI-H460 细胞侵袭细胞数虽然减少,但是与空白组比较,差异无统计学意义。见表 3。

3.4 对 NCI-H460 细胞 E-cadherin, Slug 蛋白表达的影响 辣椒素终浓度为 200,300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,显著升高 E-cadherin 表达水平,并呈浓度依赖性,与空

表 3 辣椒素对 NCI-H460 细胞体外侵袭能力的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effects of capsaicin on invasion ability in NCI-H460 cells

组别	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	侵袭细胞数/个 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
空白	-	107.1 \pm 20.4
辣椒素	100	99.0 \pm 18.2
	200	75.3 \pm 17.9 ¹⁾
	300	52.2 \pm 14.1 ¹⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

白组比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。辣椒素终浓度为 200,300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,显著降低 Slug 表达水平,并呈浓度依赖性,与空白组比较,差异具有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。辣椒素终浓度为 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,E-cadherin 和 Slug 表达水平与空白组比较,差异无统计学意义。见图 2,表 4。

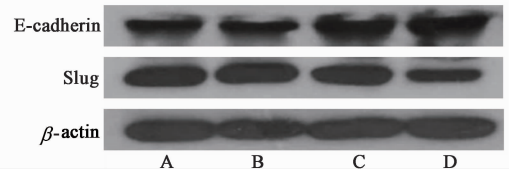


图 2 辣椒素对 NCI-H460 细胞 E-cadherin, Slug 蛋白表达的影响

Fig.2 Effects of capsaicin on E-cadherin, Slug protein in NCI-H460 cells

表 4 辣椒素对 NCI-H460 细胞 E-cadherin, Slug 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Effects of capsaicin on E-cadherin, Slug protein in NCI-H460 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	终浓度 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	蛋白表达水平	
		E-cadherin	Slug
空白	-	0.61 \pm 0.10	0.86 \pm 0.19
辣椒素	100	0.65 \pm 0.14	0.83 \pm 0.19
	200	0.91 \pm 0.23 ¹⁾	0.67 \pm 0.11 ¹⁾
	300	0.95 \pm 0.26 ¹⁾	0.42 \pm 0.07 ²⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05, ^{2)}$ $P < 0.01$ (表 5 同)。

3.5 对 NCI-H460 细胞 E-cadherin, Slug mRNA 表达的影响 辣椒素终浓度为 200,300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,显著升高 E-cadherin mRNA 表达水平,并呈浓度依赖性,与空白组比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。辣椒素终浓度为 200,300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,显著降低 Slug mRNA 表达水平,并呈浓度依赖性,与空白组比较,差异具有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。辣椒素终浓度为 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,E-cadherin 和 Slug mRNA 表达水平与空白组比较,差异无统计学意义。见表 5。

表 5 辣椒素对 NCI-H460 细胞 E-cadherin, Slug mRNA 表达的影响
($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 5 Effects of capsaicin on E-cadherin, Slug mRNA in NCI-H460 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	终浓度 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	mRNA 相对水平	
		E-cadherin	Slug
空白	-	1.02 ± 0.18	4.67 ± 1.03
辣椒素	100	1.53 ± 0.20	3.87 ± 0.68
	200	2.48 ± 0.31 ¹⁾	3.0.2 ± 0.59 ¹⁾
	300	3.54 ± 0.57 ¹⁾	1.31 ± 0.23 ²⁾

4 讨论

肺癌是全球发病率最高的恶性肿瘤之一,其中 80% 为 NSCLC,只有 20% ~ 30% 的患者有手术机会,但是即使是在手术切除的早期 NSCLC 患者中,也有 2/3 的患者存在复发和转移的危险,侵袭转移是患者死亡和治疗效果不理想的主要原因^[11-12]。目前对于放疗、化疗等主要治疗肺癌的手段已经进入平台期,然而其分子机制尚不明了,因此探讨肺癌分子水平侵袭转移机制尤为必要。

近年来,传统中药应用于抗癌症的治疗成为研究抗癌药物的新的热点,受到广大医药学工作者的广泛重视。辣椒素(结构为反式 8-甲基-N-香草基-丁-壬烯胺)是红辣椒中的一种活性成分,作为食物和传统药物已有几千年的历史,于 1999 年载入《美国药典》^[13]。辣椒素可通过多种途径在体内外发挥抗癌作用,如刘南等^[14]研究表明,辣椒素可抑制胰腺癌裸鼠皮下移植瘤得生长。另外还有报道称,辣椒素可诱导人黑色素瘤 A375-S2 细胞的凋亡^[15]。然而辣椒素对 NSCLC 是否具有抑制作用目前尚不明了。故此,本研究以不同终浓度辣椒素作用于 NCI-H460 细胞,观察辣椒素的抗 NSCLC 效应。结果发现辣椒素对 NCI-H460 细胞细胞活率有一定抑制作用,提示辣椒素具有潜在的抗 NSCLC 效应。

E-cadherin 是一类主要介导细胞之间相互黏附的钙依赖性跨膜蛋白,主要表达在上皮细胞,广泛参与细胞间的连接,对于维持正常上皮细胞的完整性十分重要^[16]。E-cadherin 结构和功能异常可致癌细胞间黏附松散,癌细胞极易从原发部位脱落,并沿淋巴管,血管外膜及组织间隙浸润蔓延,破坏邻近正常组织并继续生长,形成转移瘤^[17]。Slug 基因是 Snail 超家族成员之一,能识别 E-cadherin 基因启动子上 E2-box 元件以抑制靶基因 E-cadherin 的转录,下调 E-cadherin 蛋白表达,共同促进癌症细胞的原位侵袭和远处转移^[18]。赵志娟等^[19-22]研究表明,Slug 基

因的过表达同时伴有 E-cadherin 的低表达或缺失与诱发胰腺癌、骨肉瘤、结直肠癌、口腔鳞癌等肿瘤的发生、发展和转移高度相关。本研究中,以辣椒素处理 NCI-H460 细胞,微丝荧光染色和 Transwell 小室体外侵袭实验结果显示,辣椒素可显著抑制丝状伪足形成和侵袭细胞数,证明辣椒素可抑制癌症细胞的侵袭。进一步通过 Western blot 和 RT-PCR 分析结果显示,辣椒素可减少 NCI-H460 细胞 Slug 蛋白和 mRNA 表达,增加 E-cadherin 蛋白和 mRNA 的表达,揭示辣椒素可能通过抑制 Slug 表达而增加 E-cadherin 表达来抑制癌症的远处侵袭能力。本研究结果与赵志娟等研究结果高度类似,故此可以推测,抑制 Slug 表达和增加 E-cadherin 表达可抑制 NSCLC 侵袭。

综上所述,辣椒素具有明显的 NCI-H460 细胞毒性作用,可降低 NCI-H460 细胞活率。而且辣椒素可通过降低 Slug 表达,增加 E-cadherin 表达抑制 NCI-H460 细胞侵袭能力,可能是其抗 NSCLC 的机制之一,为 NSCLC 治疗提供新的思路。

[参考文献]

[1] 谭隽,胡玉兰,杨中华. 辣椒素对宫颈癌 Hela 细胞增殖影响的研究[J]. 广西医科大学学报,2010,27(2): 213-215.

[2] 田芳,江亚南,张晓艳,等. 辣椒素对食管鳞状细胞癌细胞凋亡和 NF- κ B 信号通路相关蛋白表达的影响[J]. 郑州大学学报:医学版,2013,48(4):437-440.

[3] 王琳,姜加陶. microRNA-128a 对非小细胞肺癌细胞增殖和迁移的影响[J]. 上海交通大学学报:医学版,2014,34(3):268-274.

[4] 李勇,李子明,陆舜. 早期非小细胞肺癌表皮生长因子受体基因突变分布[J]. 上海交通大学学报:医学版,2014,34(4):511-515.

[5] 王宏羽,张湘茹. 脂质体紫杉醇联合卡铂与紫杉醇联合卡铂一线治疗晚期非小细胞肺癌的疗效和安全性的比较[J]. 中国医学科学院学报,2014,36(3): 305-307.

[6] 苟云久,何晓东,谢定雄,等. 非小细胞肺癌组织中 CD133 表达及临床意义的 Meta 分析[J]. 中国组织工程研究,2013,17(23):4292-4298.

[7] 廖新明,李兴红,陈志芬. 辣椒素对人结肠癌 SW-480 生长及 Bc-12/Bax 表达的影响[J]. 实用医院临床杂志,2007,4(4):39-41.

[8] 江隆昌,屈新才,张勇. Cdc42 基因在非甾体抗炎药抑制乳腺癌细胞丝状伪足形成中的作用[J]. 肿瘤,2011,31(2):93-98.

- [9] 欧阳理权,李丽君,祝孔俊,等.多西他赛通过作用肿瘤细胞丝状伪足抑制乳腺癌细胞的迁移和侵袭[J].肿瘤,2013,33(9):776-780.
- [10] 史立宏,陶蓉,王云甲,等.Gab2 对人肺癌细胞 A549 侵袭能力影响及其机制的探讨[J].中华肿瘤防治杂志,2013,20(16):1207-1212.
- [11] 鲁芬,肖贵华,薛军,等.肺癌细胞中 miR-96 对其侵袭和迁移的影响[J].肿瘤防治研究,2014,41(6):588-592.
- [12] 洪伟俊,宁允叶,胥武剑,等.组蛋白去乙酰化酶 5 在非小细胞肺癌迁移中的作用研究[J].中国癌症杂志,2011,21(4):277-282.
- [13] 黄媛媛.辣椒素抑制胰腺癌裸鼠皮下移植瘤生长的实验研究[J].医学研究杂志,2012,41(12):169-172.
- [14] 刘南,张兆伟,孙刚.辣椒素抑制胰腺癌裸鼠皮下移植瘤生长的实验研究[J].中华临床医师杂志:电子版,2013,7(6):2555-2558.
- [15] 龚显峰,王敏伟,池岛乔.辣椒素诱导人黑色素瘤 A375-S2 细胞凋亡的研究[J].中华肿瘤杂志,2005,27(7):401-403.
- [16] 田茗源,王林辉,张雄,等.肺癌组织中 E-cadherin 和 Vimentin 的表达及其与上皮-间质转化的相关性[J].中国生物制品学杂志,2011,24(9):1068-1071.
- [17] 左涛,黄杰,谢颂平,等.VEGF-C 和 E-cadherin 在非小细胞肺癌中的表达及意义[J].中国生物制品学杂志,2013,40(1):72-75.
- [18] 郭运生,戚峰,刘彤.siRNA 干扰沉默 Slug 基因表达抑制结肠癌细胞 HCT116 生长和侵袭的研究[J].中国肿瘤临床,2012,39(23):1886-1889.
- [19] 赵志娟,袁宏伟,韦玄,等.上皮间质转化相关基因在口腔鳞癌中的相关性及其与临床病理特征的关系研究[J].临床口腔医学杂志,2014,30(9):515-519.
- [20] 孟宪魁,张雷.沉默 Slug 抑制胰腺癌细胞迁移和侵袭能力[J].西安交通大学学报:医学版,2014,35(1):69-72.
- [21] 伍锋,尹科,龙秋平,等.骨肉瘤组织中 Slug 和 E 钙粘蛋白的表达意义[J].中国现代医学杂志,2014,24(13):28-32.
- [22] 史江波,郑绘霞,肖虹等.Slug 蛋白在结直肠腺癌中的表达及意义[J].中国药物与临床,2014,14(15):584-587.

[责任编辑 周冰冰]

欢迎订阅 2016 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所等主办的学术刊物。本刊创建于 1995 年 10 月,主要设置栏目包括复方配伍专论、方剂学研究、药剂与炮制、化学分析、药物代谢、药理、毒理、临床、数据挖掘、中医传承及相关综述等。目前为 CSCD 来源期刊、中文核心期刊、RCCSE 中国学术期刊排行榜核心期刊、美国《化学文摘》统计源期刊;并被评为中国中医药优秀期刊及中国学术期刊优秀期刊。

本刊为半月刊,16 开本,234 页,标准刊号 ISSN1005-9903;CN11-3495/R。每期定价 35 元,全年 840 元。国内外公开发行,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号 2-417;国外由中国国际图书贸易集团有限公司办理发行,代号 SM4655,欢迎订阅。读者还可通过本刊编辑部办理邮购,地址:北京市东城区东直门内南小街 16 号,收件人:《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编 100700,Tel:(010)84076882,E-mail:syfjx_2010@188.com,网址:www.syfjxzz.com。