

# 软坚散结颗粒对人胃腺癌 SGC-7901 细胞 EMT 的抑制作用及相关机制

张贵彪, 朱元章, 朱国福\*

(上海中医药大学 中药学院, 上海 201203)

**[摘要]** **目的:** 上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)现象的发生发展是肿瘤转移的关键因素之一,对胃癌 EMT 现象的研究可能有助于控制胃癌转移。本课题旨在研究软坚散结方(RJSJ)对人胃腺癌 SGC-7901 细胞 EMT 的抑制作用并探讨相关机制。**方法:** 采用噻唑蓝(MTT)比色法观察 RJSJ 对 SGC-7901 细胞的抑制作用;采用 transwell 方法观察 RJSJ 对 SGC-7901 细胞侵袭的抑制作用;采用实时荧光定量 PCR(Real-time PCR)和蛋白免疫印迹法(Western blot)观测 SGC-7901 细胞 EMT 过程中锌指 E 盒结合同源盒蛋白 1(Zinc finger E-box binding homeobox 1, Zeb1), 锌指 E 盒结合同源盒蛋白 2(Zinc finger E-box binding homeobox 2, Zeb2)以及 E-钙黏蛋白(E-cadherin)mRNA 和蛋白的表达。**结果:** ①MTT 结果显示,不同浓度 RJSJ 组均能有效抑制 SGC-7901 细胞的增殖( $P < 0.05$ ), RJSJ 对 SGC-7901 细胞的抑制作用呈剂量和时间依赖。②transwell 侵袭实验结果显示,不同质量浓度 RJSJ( $250, 500, 1\ 000\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )对 SGC-7901 细胞的穿膜能力有不同程度的抑制作用( $P < 0.05$ )。③Real-time PCR 和 Western blot 结果显示,与空白组比较, RJSJ 各组均能使 E-cadherin mRNA 和蛋白表达增加, Zeb1, Zeb2 mRNA 和蛋白表达减少,其中 RJSJ 高剂量组能够明显上调 E-cadherin mRNA 和蛋白表达,下调 Zeb1, Zeb2 mRNA 和蛋白表达( $P < 0.05$ )。**结论:** RJSJ 对 SGC-7901 细胞有直接的抑制作用;RJSJ 对 SGC-7901 细胞 EMT 有抑制作用,其机制可能与下调 Zeb1, Zeb2 mRNA 及蛋白表达,上调 E-cadherin mRNA 及蛋白表达有关。

**[关键词]** 软坚散结颗粒; SGC-7901 细胞; 上皮间质转化; 锌指 E 盒结合同源盒蛋白 1; 锌指 E 盒结合同源盒蛋白 2

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)18-0112-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017180112

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170612.1000.016.html>

**[网络出版时间]** 2017-06-12 10:00

## Intervention Effect and Mechanism of Ruanjian Sanjie Granules for Gastric Carcinoma Cell SGC-7901

ZHANG Gui-biao, ZHU Yuan-zhang, ZHU Guo-fu\*

(School of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

**[Abstract]** **Objective:** The development of epithelial-mesenchymal transition (EMT) is one of the key factors for tumor metastasis, so the research on the phenomenon of EMT may be conducive to control gastric cancer metastasis. This paper is aimed to explore the intervention effect and mechanism of Ruanjian Sanjie (RJSJ) granules for the invasion and metastasis of gastric carcinoma SGC-7901 cells. **Method:** Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide (MTT) assay was used to observe the inhibitory effect of RJSJ on SGC-7901 cells proliferation; transwell assay was used to explore the inhibitory effect of RJSJ granules on the invasion of gastric carcinoma SGC-7901 cells; the mRNA and protein expression levels of E-cadherin, Zinc finger E-box binding homeobox 1 (Zeb1)

**[收稿日期]** 20170113(004)

**[基金项目]** 上海中医药大学“名师工作室”专项(P20802);上海中医药大学预算内项目(2015YSN06)

**[第一作者]** 张贵彪, 博士, 讲师, 从事抗肿瘤中药药理药效研究, Tel:021-51322295, E-mail: kofy1234@163.com

**[通讯作者]** \*朱国福, 博士生导师, 教授, 从事中医药教学及抗肿瘤中药研究, Tel:021-51322209, E-mail: gzf1998@163.com

and Zinc finger E-box binding homeobox 2 (Zeb2) were examined by Real-time PCR and Western blot respectively. **Result:** MTT experimental results showed that all different concentrations of RJSJ granules could inhibit the proliferation of gastric carcinoma SGC-7901 cells ( $P < 0.05$ ), and the inhibitory effect was in a dose and time dependent manner. transwell assay showed that RJSJ granules (concentrations of 250, 500, 1 000  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  respectively) could inhibit invasion of gastric carcinoma SGC-7901 cells ( $P < 0.05$ ). Real-time PCR showed that RJSJ granules could up-regulate the mRNA expression levels of E-cadherin and down-regulate the mRNA expression levels of Zeb1 and Zeb2; while Western blot showed that RJSJ granules could up-regulate the protein expression levels of E-cadherin and down-regulate the protein expression levels of Zeb1 and Zeb2 ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** RJSJ granules could inhibit SGC-7901 cells proliferation; RJSJ granules had an inhibitory effect on SGC-7901 cells EMT, and the mechanism may be associated with down-regulating Zeb1 and Zeb2 mRNA and protein expression and up-regulating E-cadherin mRNA and protein expression.

[**Key words**] Ruanjian Sanjie granules; SGC-7901 cell; epithelial-mesenchymal transition (EMT); Zinc finger E-box binding homeobox 1 (Zeb1); Zinc finger E-box binding homeobox 2 (Zeb2)

恶性肿瘤是危害人类健康及生命的重大疾病,近 10 年的全球肿瘤发病及死亡增长了约 22.0%,恶性肿瘤也已成为威胁人类生命健康的第一杀手<sup>[1]</sup>。在中国,胃癌是最常见的消化道肿瘤之一,其发病率和病死率均高居第 2<sup>[2]</sup>。肿瘤远处转移是肿瘤患者恶性病变及死亡的主要原因,上皮-间质转化(EMT)现象的发生发展是肿瘤转移的关键因素之一<sup>[3-4]</sup>。已有研究报道发现中药复方能抑制 EMT 转化<sup>[5]</sup>。沈克平等<sup>[6]</sup>研究发现中药复方胃肠安,体外实验可逆转人胃癌 SGC-7901 细胞 EMT 的发生,体内实验可抑制人胃癌裸鼠皮下移植瘤的生长、转移。李素云等<sup>[7]</sup>研究发现扶正抑癌方通过抑制转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )/Smad 信号通路中 Smad3,磷酸化-Smad3(p-Smad3)及 TGF- $\beta_1$  的蛋白表达,上调 E-钙黏蛋白(E-cadherin)的表达,抑制 LoVo 细胞 EMT 转变,进而降低 LoVo 细胞的侵袭力和迁移力。因此对胃癌 EMT 现象的研究可能有助于控制胃癌转移。软坚散结方(RJSJ)是由钱伯文教授在数 10 年的临床实践中总结出的,以软坚散结、滋阴解毒、扶正抗癌为治法,防治胃癌及转移的临床效方<sup>[8]</sup>。研究发现软坚散结方对体外培养的肿瘤细胞增殖以及 S180 荷瘤小鼠的肿瘤生长均有显著抑制作用<sup>[9]</sup>。本研究选用人胃癌 SGC-7901 细胞为研究对象,观察 RJSJ 对其增殖抑制、侵袭能力的影响,并对 RJSJ 干预的 SGC-7901 细胞 EMT 过程中锌指 E 盒结合同源盒蛋白 1(Zeb1),锌指 E 盒结合同源盒蛋白 2(Zeb2),E-cadherin 基因和蛋白表达进行探讨,以明确 RJSJ 抑制 SGC-7901 细胞 EMT 进程的相关机制。

## 1 材料

### 1.1 药物与细胞株 软坚散结方 6 味中药颗粒剂

按一定配伍比例混合组成,颗粒剂由江阴天江药业有限公司生产,玄参 3 g/包(批号 1601012),相当于生药 10 g;浙贝母 1 g/包(批号 1601047),相当于生药 10 g;牡蛎 0.5 g/包(批号 1510061),相当于生药 30 g;鳖甲(醋制)0.5 g/包(批号 1510137),相当于生药 10 g;莪术(醋制)0.5 g/包(批号 1511043),相当于生药 10 g;白术 3 g/包(批号 1601007),相当于生药 10 g。以一定的配伍比例(玄参-浙贝母-牡蛎-鳖甲-莪术-白术 15:20:20:20:15:9)混合后,加双蒸水超声溶解,配制成  $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的母液,用  $0.22 \mu\text{m}$  无菌微孔滤膜过滤,实验给药时用 RPMI 1640 培养液稀释至所需的药物浓度。人胃腺癌 SGC-7901 细胞株,购自中国科学院生物化学与细胞生物学研究所。以含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基,于  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养,细胞呈单层贴壁生长。实验过程均取对数生长期的细胞,细胞密度为  $0.5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^6$  个/mL。

### 1.2 试剂

胎牛血清(美国 Gibco 公司,批号 100099-141);RPMI-1640 培养液(美国 Thermo 公司,批号 AAK208935);注射用环磷酰胺(CTX,江苏恒瑞医药股份有限公司,国药准字 H32020857);四甲基偶氮唑盐(MTT,上海威奥生物公司,批号 20151102);二甲基亚砷(DMSO,国药集团化学试剂有限公司,批号 20150104);transwell 小室(美国 Corning 公司,批号 3413);人工重构基底膜胶(Matrigel,美国 BD 公司,批号 356234);Zeb1(美国 CST 公司,批号 0003);Zeb2(德国 Thermo Fisher 公司,批号 PA5-38536);E-cadherin(美国 CST 公司,批号 14472S);IRDye 800CW anti-Rabbit IgG 荧光二抗(美国 LI-COR 基因公司,批号 C0121402);

RNAisoPlus, PrimeScript RT Master Mix, SYBR Premix Ex Taq™ II (美国 Takara 公司, 批号分别为 AKA1206, AK3802, AK7101)。引物序列由生工生物工程(上海)股份有限公司合成, 见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequence

引物	序列	长度/bp
Zeb1	上游 5'-TGCAAGACAACGTGAAAGA-3'	20
	下游 5'-AACTGGGAAAATGCATCTGG-3'	
Zeb2	上游 5'-TAGCCGGTCCAGAAGAAATG-3'	20
	下游 5'-GGCCATCTCTTTCCTCCAGT-3'	
E-cadherin	上游 5'-ATTCTGATTCTGCTGCTCTTG-3'	21
	下游 5'-AGTAGTCATAGTCCTGGTCTT-3'	
β-actin	上游 5'-CTAGGCACCAGGCTGTGATG-3'	20
	下游 5'-GGGTACTTCAGGTCAGGA-3'	

**1.3 仪器** IX71 型相差显微镜(日本 Olympus 公司); 311 型水套式 CO<sub>2</sub> 培养箱, NanoDrop 2000c RNA 浓度测量仪(美国 Thermo 公司); Synergy HT 型多功能酶标仪(美国 Bio-Tech 基因公司); Power Pac™ Basic 型蛋白电泳及 041BR104950 型转印装置(美国 Bio-Rad 公司); Odyssey 型红光激光成像系统(美国 Li-Cor 公司); Lightcycler 480 II 型荧光定量 PCR 仪(瑞士 Roche 公司)。

## 2 方法

**2.1 细胞培养** 人胃腺癌 SGC-7901 细胞培养在含 10% 胎牛血清, 青霉素、链霉素(各 100 U·mL<sup>-1</sup>), pH 7.4 的 RPMI 1640 培养液中, 置 37 °C 5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱内培养。隔天换液, 2~3 d 传代 1 次。

**2.2 检测细胞增殖** 消化、收集对数生长期细胞, 并调整成密度为 3 × 10<sup>4</sup> 个/mL 的单细胞悬液, 接种于 96 孔板, 24 h 后加入以 RPMI 1640 培养液配制的 RJSJ, 终质量浓度分别为 800, 600, 400, 200 mg·L<sup>-1</sup>; 设 RPMI 1640 全培养基的空白组; 以 RPMI 1640 培养液配制的 CTX 组, 终质量浓度分别为 6, 4, 2 mg·L<sup>-1</sup>, 每个浓度设 3 个复孔, 分别继续培养 12, 24, 36 h; 弃上清后每孔加 MTT 10 μL, 混匀, 于 37 °C 5% CO<sub>2</sub> 培养箱孵育 4 h; 弃上清后以 DMSO 溶解蓝色颗粒, 以酶标仪波长 490 nm 处检测每孔吸光度 A。实验重复 3 次。

**2.3 细胞侵袭性测定** 首次使用人工基质胶 Matrigel 前, 在超净台上无菌分装, 使用前于 4 °C 自然融化, 所有枪头和管子均于 -20 °C 过夜预冷。用不含血清的 RPMI 1640 培养液以 1:3 稀释基质胶, 取 40 μL 加入 transwell 小室中, 放置于饱和湿度,

37 °C 5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱孵育 40 min 后, 用移液枪吸净 transwell 小室中残余的培养液, 备用。选取对数生长期的细胞, 用无血清的细胞培养液调整细胞密度为 2 × 10<sup>5</sup> 个/mL, 上室加入空白组, RJSJ 250, 500, 1 000 mg·L<sup>-1</sup> 组细胞溶液 200 μL, 每组 3 个复孔, 下室加入含 10% 血清的 RPMI 1640 培养液 500 μL, 放置于饱和湿度, 37 °C 5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱培养 24 h。取出 transwell 小室, 用磷酸缓冲盐溶液冲洗 2 次, 再用棉签轻轻擦除小室上表面未穿过的细胞, 用 95% 乙醇固定 20 min, 室温下风干, 用 0.1% 结晶紫染液染色, 使小室下表面正好与染液表面接触, 染色 30 min, 用双蒸水清洗小室下表面 3 遍。在倒置显微镜下, 每个小室随机取 3 个视野, 拍照计数。

**2.4 实时荧光定量 PCR 检测相关基因** 取对数生长期的细胞, 接种在 6 孔培养板中, 2.0 × 10<sup>5</sup> 个/孔, 培养 24 h, 加入 RJSJ(终质量浓度为 1 000, 500, 250 mg·L<sup>-1</sup>), 设置不加药组, 孵育 12 h 后, 收集细胞按 trizol 法进行总 RNA 提取, 测定 RNA 浓度, 调整 RNA 浓度使其终质量浓度为 50 mg·L<sup>-1</sup>。根据试剂盒说明进行逆转录, 按引物浓度 0.4 μmol·L<sup>-1</sup>, cDNA 终体积为 10% 进行扩增, PCR 扩增条件: 5 °C 预变性 2 min, 95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 68 °C 延伸 90 s, 共 40 个循环。收集 Ct, 计算 2<sup>-ΔΔCt</sup>, 每个样品设 3 个复孔, 重复 3 次。计算其相对表达量。

**2.5 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测相关蛋白表达** 取对数生长期的细胞, 接种在 6 孔培养板中, 2.0 × 10<sup>5</sup> 个/孔, 培养 24 h, 加入 RJSJ(终质量浓度 1000, 500, 250 mg·L<sup>-1</sup>), 设置不加药组, 孵育 12 h 后, 收集细胞裂解, 离心收集蛋白上清液, 测定蛋白浓度, 蛋白变性, 电泳, 转膜, 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h, 加入一抗(1:1 000), 4 °C 过夜, 荧光二抗(1:5 000)室温避光孵育 2 h, 洗膜后上机检测, 以目的蛋白灰度值/内参灰度值表示蛋白相对表达量。

**2.6 统计学方法** 采用 SPSS 22.0 统计软件, 所有实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用 *t* 检验分析, 多组间比较采用单因素方差分析, 以 *P* < 0.05 表示具有统计学差异。

## 3 结果

**3.1 RJSJ 对 SGC-7901 细胞增殖抑制的影响** 与空白组比较, RJSJ(200, 400, 600, 800 mg·L<sup>-1</sup>) 组均能有效抑制 SGC-7901 细胞的增殖 (*P* < 0.05, *P* < 0.01), 且随着药物质量浓度的增加, 对抑制作用增强, 提示 RJSJ 对 SGC-7901 细胞的增殖抑制作用具有浓度依赖性。见表 2。

表 2 RJSJ 对 SGC-7901 细胞增殖的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 2 Effect of RJSJ on proliferation of SGC-7901 cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

作用时间/h	组别	质量浓度/mg·L <sup>-1</sup>	细胞增殖 A	抑制率/%	IC <sub>50</sub> /mg·L <sup>-1</sup>
12	空白	-	0.501 ± 0.015	-	-
	RJSJ	200	0.479 ± 0.012	4.28 ± 1.27	1.421
		400	0.445 ± 0.027	11.27 ± 2.32 <sup>2)</sup>	
		600	0.393 ± 0.022	21.54 ± 2.18 <sup>2)</sup>	
		800	0.309 ± 0.023	30.92 ± 2.53 <sup>2)</sup>	
	CTX	2	0.431 ± 0.029	14.58 ± 1.25 <sup>2)</sup>	17.12
		4	0.392 ± 0.021	22.44 ± 2.16 <sup>2)</sup>	
		8	0.357 ± 0.023	35.74 ± 2.51 <sup>2)</sup>	
	24	空白	-	0.571 ± 0.016	-
RJSJ		200	0.527 ± 0.021	7.73 ± 1.28	1.003
		400	0.483 ± 0.024	15.47 ± 2.17 <sup>2)</sup>	
		600	0.398 ± 0.014	30.27 ± 2.52 <sup>2)</sup>	
		800	0.319 ± 0.178	44.01 ± 2.34 <sup>2)</sup>	
CTX		2	0.469 ± 0.027	18.41 ± 1.39 <sup>2)</sup>	12.07
		4	0.428 ± 0.023	25.27 ± 2.04 <sup>2)</sup>	
		8	0.329 ± 0.021	42.74 ± 3.12 <sup>2)</sup>	
36		空白	-	0.624 ± 0.015	-
	RJSJ	200	0.541 ± 0.027	11.89 ± 2.26 <sup>1)</sup>	847
		400	0.479 ± 0.037	21.95 ± 3.05 <sup>2)</sup>	
		600	0.402 ± 0.032	34.49 ± 1.67 <sup>2)</sup>	
		800	0.292 ± 0.025	52.41 ± 1.89 <sup>2)</sup>	
	CTX	2	0.512 ± 0.029	19.34 ± 2.13 <sup>2)</sup>	8.56
		4	0.439 ± 0.037	30.76 ± 1.87 <sup>2)</sup>	
		8	0.324 ± 0.023	48.96 ± 1.62 <sup>2)</sup>	

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

**3.2 RJSJ 对 SGC-7901 细胞侵袭的影响** RJSJ (250, 500, 1 000 mg·L<sup>-1</sup>) 组及 CTX (12 mg·L<sup>-1</sup>) 组干预 SGC-7901 细胞 24 h 后, 其侵袭抑制率分别为 (27.78 ± 2.31)%, (48.19 ± 1.78)%, (63.62 ± 2.54)%, (72.12 ± 2.13)%, 对 SGC-7901 细胞侵袭有明显抑制作用 ( $P < 0.05$ )。见图 1。

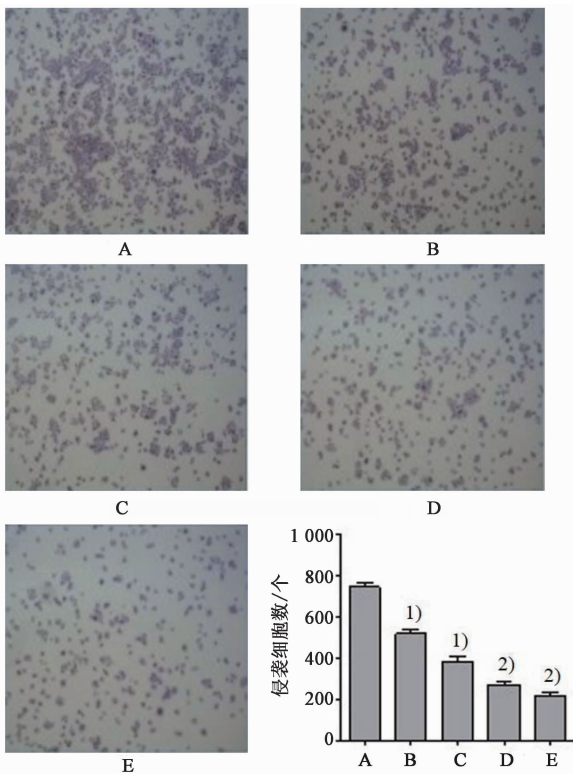
**3.3 RJSJ 对 SGC-7901 细胞相关基因表达的影响** RJSJ 作用 SGC-7901 细胞 24 h 后, 与空白组比较, RJSJ (250, 500, 1 000 mg·L<sup>-1</sup>) 组 Zeb1 和 Zeb2 mRNA 相对表达都降低, 其中 RJSJ (1 000 mg·L<sup>-1</sup>) 组呈现明显降低 ( $P < 0.05$ ), E-cadherin mRNA 相对表达升高, 其中 RJSJ (1 000 mg·L<sup>-1</sup>) 组升高明显 ( $P < 0.05$ )。见图 2。

**3.4 RJSJ 对 SGC-7901 细胞相关蛋白表达的影响** RJSJ 作用 SGC-7901 细胞 24 h 后, 与空白组比较,

RJSJ (250, 500, 1 000 mg·L<sup>-1</sup>) 组 Zeb1, Zeb2 蛋白表达呈降低趋势, 其中 RJSJ (250, 1 000 mg·L<sup>-1</sup>) 组 Zeb1 蛋白明显降低 ( $P < 0.05$ ), RJSJ (500, 1 000 mg·L<sup>-1</sup>) 组 Zeb2 蛋白明显降低 ( $P < 0.05$ )。E-cadherin 蛋白表达呈升高趋势, 其中 RJSJ (500, 1 000 mg·L<sup>-1</sup>) 组显著升高 ( $P < 0.01$ )。见图 3。

#### 4 讨论

肿瘤是全球性的恶性疾病, 严重危害人类健康和生活质量, 患者数量也呈逐年上升的趋势。目前, 西医治疗肿瘤集中在手术和放化疗, 疗效确定的背后, 存在很多术后及放化疗后的副作用, 常见的如消化系统反应、骨髓抑制等<sup>[10-11]</sup>。中药复方在肿瘤应用领域已有确切的临床疗效, 越来越多的患者选择中药治疗或者辅助治疗肿瘤, 以形成一定的社会响应, 对中药复方抗肿瘤机制的研究成了



A. 空白组; B~D. RJSJ(250, 500, 1 000 mg·L<sup>-1</sup>)组; E. CTX (12 mg·L<sup>-1</sup>)组。与空白组比较<sup>1)</sup>P<0.05, <sup>2)</sup>P<0.01(表 2, 3 同)

图 1 RJSJ 对 SGC-7901 细胞侵袭运动的影响(倒置显微镜, ×100)  
Fig. 1 Effect of RJSJ on SGC-7901 cell invasion ability (inverted microscope, ×100)

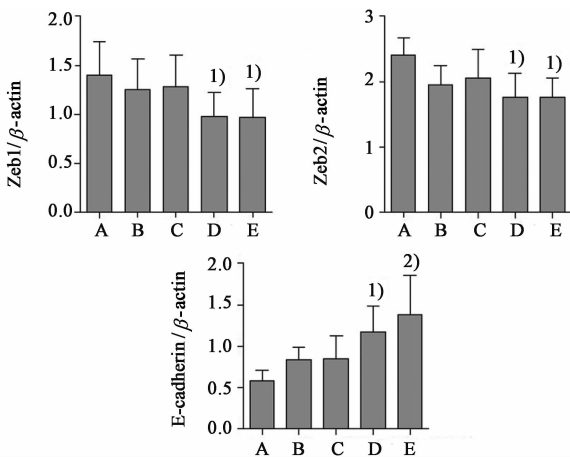


图 2 RJSJ 作用 SGC-7901 细胞 24 h 后对 Zeb1, Zeb2, E-cadherin mRNA 相对表达的影响(̄x ± s, n = 3)

Fig. 2 Effect of RJSJ on Zeb1, Zeb2 and E-cadherin mRNA expressions of SGC-7901 cells after 24 h(̄x ± s, n = 3)

热点<sup>[12-13]</sup>。

肿瘤侵袭转移是指恶性肿瘤细胞离开其原发部位,通过多种方式转运到远处部位,继续增生成同样性质肿瘤的过程<sup>[14]</sup>。侵袭与转移是恶性肿瘤最重要的生物学特征,也是肿瘤患者致死的主要

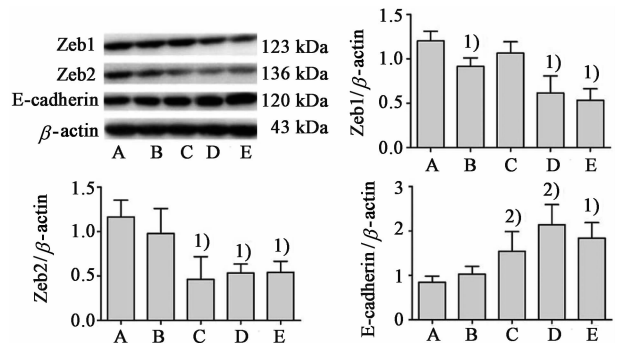


图 3 RJSJ 作用 SGC-7901 细胞 24 h 后对 Zeb1, Zeb2, E-cadherin 蛋白表达的影响(̄x ± s, n = 3)

Fig. 3 Effect of RJSJ on Zeb1, Zeb2 and E-cadherin protein expressions of SGC-7901 cells after 24 h(̄x ± s, n = 3)

原因<sup>[15]</sup>。EMT 是上皮细胞失去其极性和细胞间连接,重组细胞骨架,表达间质细胞标志物,同时表现出侵袭特性的横向分化过程<sup>[16]</sup>。EMT 在胚胎发育、创伤修复、组织再生以及上皮来源肿瘤的转移侵袭过程中均发挥重要作用<sup>[17]</sup>。E-cadherin 是 EMT 的关键分子,其在肿瘤的发生、发展、浸润、转移过程中扮演重要角色,是上皮细胞发生 EMT 的最重要的特征之一,是 EMT 的关键分子,因此 E-cadherin 被普遍认为是肿瘤浸润与转移的有效抑制因子<sup>[18]</sup>。同样, E-cadherin 在胃癌浸润与转移中具有重要意义,有研究发现,用 E-cadherin 基因转染后的癌细胞丧失恶性增殖能力,转变成无侵袭性的细胞,提示 E-cadherin 可能是一个肿瘤生长和浸润转移的抑制因子<sup>[19-20]</sup>。HOU 等<sup>[21]</sup>研究发现, E-cadherin 表达变化与胃癌浸润深度,分化程度, TNM 分期和淋巴结转移有关, E-cadherin 表达水平是胃癌术后患者的独立预后因素。Zeb1, Zeb2 都是含有锌指结构,能结合到靶基因启动子区 E-box 的转录因子,通过与 E-cadherin 基因启动子区结合,抑制其转录过程,进而降低 E-cadherin 蛋白表达,促使 EMT 的发生<sup>[22-23]</sup>。有研究报道, Zeb1, Zeb2 高表达可以促进间质性标志物如 Vimentin, 基质金属蛋白酶家族等的表达,诱导 EMT 的发生,进而促进肿瘤细胞的侵袭转移<sup>[24]</sup>。有研究发现,通过上调胃癌肿瘤细胞转录抑制物 Zeb1, Snail 及 Twist 基因表达,可导致 E-cadherin 表达下调<sup>[25]</sup>。又有研究发现, Zeb1 的表达阳性率与胃癌组织分化程度无关,但与胃癌的淋巴结转移、远处转移、浸润程度及 TNM 分期具有密切关系<sup>[26]</sup>。

本研究表明,软坚散结方能够有效地抑制 SGC-7901 细胞的增殖及侵袭性,其作用机制可能与降低 Zeb1, Zeb2 表达,增加 E-cadherin 表达,阻碍 EMT

进程有关。但胃癌的发生和发展是多因素、多通路影响的过程,因此有待于进一步从整体蛋白水平或基因水平上研究其药物作用机制。

[参考文献]

[1] Jemal A, Bray F, Center M M, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90.

[2] CHEN W, ZHENG R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.

[3] Thomson S, Petti F, Sujka-Kwok I, et al. A systems view of epithelial-mesenchymal transition signaling states [J]. Clin Exp Metastasis, 2011, 28(2): 137-155.

[4] Lim J, Thiery J P. Epithelial-mesenchymal transitions: insights from development [J]. Development, 2012, 139(19): 3471-3486.

[5] 朱耀东, 刘延庆. 中药抑制肿瘤上皮间质转化的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(6): 228-232.

[6] 沈克平, 王海永, 胡兵, 等. 胃肠安对人胃癌 SGC-7901 细胞 TGF- $\beta_1$  诱导上皮间质转化作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(23): 132-135.

[7] 李素云, 周春仙, 顾燕频, 等. 扶正抑癌方含药血清对结肠癌 Lovo 细胞 E-cad、N-cad 和 Snail 蛋白表达的影响[J]. 中国肿瘤, 2011, 20(9): 690-693.

[8] 王国娟, 孙珏, 余文燕, 等. 化痰散结法治疗肿瘤的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(1): 333-338.

[9] 李文龙. 软坚散结方抗肿瘤作用研究[D]. 上海: 上海中医药大学, 2013.

[10] 郭晨旭, 吴迎春, 朱元章, 等. 藏族药翼首草正丁醇部位提取物体外抑制人肝癌 Hep3B 细胞增殖和侵袭转移[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(3): 100-105.

[11] 韩聪, 朱国福. 白屈菜红碱诱导人肝癌细胞 HepG2 凋亡及机制探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(11): 127-130.

[12] 朱国福, 钱力兰. 胃癌的中医常用治法和方药探讨[J]. 江苏中医, 1998, 19(12): 38-39.

[13] 朱国福, 罗万慰. 中医药防治肿瘤的主要机制及研究热点分析[J]. 中国中医药信息杂志, 2000, 7(1): 20-21.

[14] 伊日贵, 徐晓艳, 李时荣. 肿瘤侵袭转移机制研究进展[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2014, 28(10): 937-939.

[15] 孙洋, 黄晓俊, 陈鹭. 胃癌相关危险因素的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2015, 23(30): 4831-4837.

[16] Zavadi J, Böttinger E P. TGF-beta and epithelial-to-mesenchymal transitions[J]. Oncogene, 2005, 24(37): 5764-5774.

[17] Micalizzi D S, Farabaugh S M, Ford H L. Epithelial-mesenchymal transition in cancer: parallels between normal development and tumor progression [J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2010, 15(2): 117-134.

[18] 薛松, 陈映霞. E-cadherin 在胃癌浸润与转移中作用的研究进展[J]. 临床肿瘤学杂志, 2015, 20(6): 555-557.

[19] Onder T T, Gupta P B, Mani S A, et al. Loss of E-cadherin promotes metastasis *via* multiple downstream transcriptional pathways [J]. Cancer Res, 2008, 68(10): 3645-3654.

[20] Walch A, Seidl S, Hermannstötter C, et al. Combined analysis of Rac1, IQGAP1, Tiam1 and E-cadherin expression in gastric cancer[J]. Mod Pathol, 2008, 21(5): 544-552.

[21] HOU F, YUAN W, HUANG J, et al. Over expression of EphA2 correlates with epithelial-mesenchymal transition-related proteins in gastric cancer and their prognostic importance for postoperative patients[J]. Med Oncol, 2012, 29(4): 2691-2700.

[22] Bindels S, Mestdagt M, Vandewalle C, et al. Regulation of vimentin by SIP1 in human epithelial breast tumor cells[J]. Oncogene, 2006, 25(36): 4975-4985.

[23] Bracken C P, Gregory P A, Kolesnikoff N, et al. A double negative feedback loop between Zeb1-SIP1 and the microRNA-200 family regulates epithelial-mesenchymal transition [J]. Cancer Res, 2008, 68(19): 7846-7854.

[24] Karihtala P, Auvinen P, Kauppila S, et al. Vimentin, Zeb1 and Sip1 are up-regulated in triple-negative and basal-like breast cancers: association with an aggressive tumour phenotype[J]. Breast Cancer Res Treat, 2013, 138(1): 81-90.

[25] Kato Y, Yashiro M, Noda S, et al. Establishment and characterization of a new hypoxia-resistant cancer cell line, OCUM-12/Hypo, derived from a scirrhous gastric carcinoma [J]. Br J Cancer, 2010, 102(5): 898-907.

[26] 魏疆, 禄邵英. 胃癌患者中 Zeb1 蛋白的检测及其表达意义[J]. 陕西医学杂志, 2015, 44(1): 104-106.

[责任编辑 张丰丰]