

辣椒碱通过下调 SIRT1 表达抑制乳腺癌 MCF-7 细胞的迁移和侵袭

毛岸云, 陈茂剑, 覃庆洪, 肖潺潺, 蒋玮, 梁至洁, 谭启杏, 杨伟萍, 韦长元*
(广西医科大学 附属肿瘤医院, 南宁 530021)

[摘要] 目的:观察辣椒碱对人乳腺癌 MCF-7 细胞迁移和侵袭的影响,并初步探讨其分子生物学机制。方法:设立辣椒碱(25,50,75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组以及空白组,采用穿透小室(Transwell)迁移和侵袭实验分别检测辣椒碱(25,50,75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)干预乳腺癌 MCF-7 细胞 24 h 后和空白组细胞的迁移和侵袭能力;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测辣椒碱(25,50,75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)干预乳腺癌 MCF-7 细胞 24 h 后和空白组细胞中沉默信息调节因子 2 同源蛋白 1(SIRT1)和 DNA 聚合酶 δ 催化亚基 p125 的编码基因 POLD1(POLD1)mRNA 表达水平;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测辣椒碱(25,50,75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)干预乳腺癌 MCF-7 细胞 24 h 后和空白组细胞中 SIRT1 和 DNA 聚合酶 δ 催化亚基 p125(p125)的蛋白表达水平。结果:与空白组比较,辣椒碱(25,50,75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)干预乳腺癌 MCF-7 细胞 24 h 后,穿膜细胞数明显减少,迁移率和侵袭率显著降低,且呈浓度依赖效应($P < 0.01$);与空白组比较,辣椒碱(25,50,75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)干预 24 h 能显著下调乳腺癌 MCF-7 细胞中 SIRT1, POLD1 mRNA 表达水平($P < 0.01$);与空白组比较,辣椒碱(25,50,75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)干预 24 h 能显著降低乳腺癌 MCF-7 细胞中 SIRT1 和 DNA 聚合酶 δ 催化亚基 p125 的蛋白表达水平($P < 0.01$)。结论:辣椒碱能显著抑制乳腺癌 MCF-7 细胞的迁移和侵袭能力,其机制可能与下调细胞中 SIRT1 mRNA 和蛋白的表达水平以及 POLD1 mRNA 和 p125 的蛋白表达水平有关。

[关键词] 辣椒碱; 乳腺癌; 迁移和侵袭; 沉默信息调节因子 2 同源蛋白 1 (SIRT1); DNA 聚合酶 δ 催化亚基 p125 的编码基因 POLD1 (POLD1); DNA 聚合酶 δ 催化亚基 p125 (p125)

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)07-0094-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190722

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20181218.1704.005.html>

[网络出版时间] 2018-12-20 17:28

Effect of Capsaicin in Inhibiting Migration and Invasion of Breast Cancer MCF-7 Cells by Down-regulating SIRT1

MAO An-yun, CHEN Mao-jian, QIN Qing-hong, XIAO Chan-chan, JIANG Wei, LIANG Zhi-jie,
TAN Qi-xing, YANG Wei-ping, WEI Chang-yuan*

(Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of capsaicin on the migration and invasion of human breast cancer MCF-7 cells and the underlying molecular mechanism. **Method:** Three capsaicin intervention groups of different concentrations (25, 50, 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) and a blank group were set up. After MCF-7 cells were treated with different concentrations of capsaicin (25, 50, 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) for 24 h, the cell migration and invasion abilities were assessed by Transwell migration and invasion assay, respectively. Meanwhile, the mRNA level of silent information regulator 2 homolog 1 (SIRT1) and DNA polymerase δ catalytic subunit p125 encoding gene POLD1

[收稿日期] 20181011(013)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81360396,8186034);广西科技基础条件平台建设项目(15-235-05);广西自然科学基金项目(2015GXNSFAA139204);广西研究生教育创新计划项目(YCSW2017108,YCBZ2018041)

[第一作者] 毛岸云,在读硕士,副主任医师,从事乳腺癌的生物学特性与临床研究,E-mail: maoyanun@163.com

[通信作者] *韦长元,博士生导师,主任医师,从事乳腺癌的生物学特性与临床研究,E-mail: weiy63@aliyun.com

(POLD1) were detected by Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR). The protein levels of SIRT1 and DNA polymerase δ catalytic subunit p125 (p125) were detected by Western blot. **Result:** Compared with the blank group, the number of transmembrane cells was significantly reduced, and the mobility was significantly decreased ($P < 0.01$) in a dose-dependent manner after the intervention of capsaicin (25, 50, 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) in MCF-7 cells for 24 h. Capsaicin (25, 50, 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) significantly down-regulated the mRNA and protein expressions of SIRT1 ($P < 0.01$) after intervention of capsaicin (25, 50, 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) in MCF-7 cells for 24 h. Furthermore, capsaicin (25, 50, 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) also significantly down-regulated the mRNA expression of POLD1 and the protein expression of p125 ($P < 0.01$) after intervention of capsaicin (25, 50, 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) in MCF-7 cells for 24 h. **Conclusion:** Capsaicin remarkably inhibits the cell migration and invasion of breast cancer MCF-7 cells, and the possible mechanism may be related to the down-regulation of SIRT1 and POLD1 mRNA expression levels and SIRT1 and p125 protein expression levels.

[**Key words**] capsaicin; breast cancer; migration and invasion; silent mating type information regulation 2 homolog 1 (SIRT1); DNA polymerase δ catalytic subunit p125 encoding gene POLD1 (POLD1); DNA polymerase δ catalytic subunit p125 (p125)

乳腺癌是最常见的女性恶性肿瘤,也是女性癌症死亡的最常见原因^[1]。虽然现代先进筛查技术有助于乳腺癌的早期诊断,治疗方面的进展显著改善了患者的生存率,但肿瘤侵袭和转移仍然是乳腺癌相关死亡率的主要原因,因此控制迁移和侵袭是减少乳腺肿瘤扩散和提高患者生存率的潜在策略^[2]。鉴于目前临床大多数治疗方法的侵入性、毒性和低效性,寻找更有效的新型肿瘤治疗方法具有重要的现实意义。由于在治疗疾病方面具有潜在疗效和较低的副作用,因此中药被认为是一种很有前景的抗肿瘤药物^[3]。辣椒碱又名辣椒素,是一种香草酰胺类生物碱,是辣椒中的主要活性成分^[4]。研究表明,辣椒碱在肝癌、宫颈癌、黑色素瘤和白血病等中显示出了抗肿瘤作用^[3, 5],但辣椒碱对乳腺癌细胞迁移和侵袭的作用及机制目前尚不明确。沉默信息调节因子 2 同源蛋白 1 (SIRT1) 是一种依赖烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD^+)的 III 类组蛋白去乙酰化酶,参与多种疾病的发生和发展^[6]。研究表明,肺癌、前列腺癌、乳腺癌等肿瘤的发生和发展与其细胞中 SIRT1 表达的失调有关^[7-8]。SIRT1 可以作为肿瘤抑制因子或肿瘤启动子,这取决于特定的肿瘤类型或者其所参与的特定信号传导途径^[9]。有报道显示,在乳腺癌组织或者乳腺癌细胞中,SIRT1 呈异常高表达,并且与乳腺癌侵袭转移以及预后不良有密切关系^[10-11]。通过微小 mRNA 干扰 SIRT1 表达后,乳腺癌细胞的迁移和侵袭能力明显减弱^[12-13],提示通过抑制 SIRT1 表达可能成为治疗乳腺癌的新策略。因此,本实验以人乳腺癌 MCF-7 细胞为研究对象,旨在探讨辣椒碱对 MCF-7 细胞迁移和侵袭的

影响及其分子生物学机制,为乳腺癌的治疗提供新的思路 and 理论依据。

1 材料

1.1 细胞株 人乳腺癌细胞系 MCF-7 细胞购自中国科学院上海生命科学研究院细胞库,编号 TCHu 74。

1.2 药品及试剂 辣椒碱(美国 MedChemExpress 公司,批号 HY-10448,纯度 $\geq 98\%$);胎牛血清(FBS)和 DMEM 培养基(美国 Gibco 公司,批号分别为 10099-141, C11995500BT);0.25% 胰蛋白酶-EDTA 溶液,青霉素-链霉素混合溶液(美国 Hyclone 公司,批号分别为 J140028, SV30010);Transwell 小室(美国 Corning 公司,批号 3422);trizol(美国 Ambion 公司,批号 15596026);逆转录,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 RR047A, RR820A);引物由广州艾基生物技术有限公司合成,甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH, 258 bp):上游 5'-AGAAGGCTGGGGCTCATTTG-3',下游 5'-AGGGGCCATCCACAGTCTTC-3';SIRT1 (120 bp):上游 5'-CCATGGCCGTGAGGTATATT-3',下游 5'-TCATCCTCCATGGGTTCTTC-3';POLD1 (109 bp):上游 5'-GCTCCGCTCCTACACGCTCAA-3',下游 5'-GGTCTGGTCTGCCATTCTGC-3';SIRT1 单克隆抗体(美国 CST 公司,批号 2496T);p125, GAPDH 单克隆抗体(美国 Abcam 公司,批号分别为 ab186407, ab181602);辣根过氧化物酶标记山羊抗兔免疫球蛋白(Ig)G 二抗(美国 EarthOx 公司,批号 E030120-01);结晶紫染色液, RIPA 裂解液, BCA 蛋白定量

试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号分别为 G1063, R0010, PC0020)。

1.3 仪器 BB15 型 CO₂ 培养箱(德国 Heraeus 公司);CKX41 型倒置显微镜, Mx3000P 型荧光定量 PCR 仪(美国 Agilent 公司);PowerPac300 型稳压稳流电泳仪, Trans-Blot SD 型转膜仪, GelDoc2000 型凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养 用含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素的 DMEM 培养基培养人乳腺癌 MCF-7 细胞, 所有细胞在 37 °C, 含 5% CO₂ 的饱和湿度的细胞培养箱中进行培养。达到 80% 融合度后, 用胰蛋白酶-EDTA 溶液消化, 离心, 重悬后进行传代再培养。

2.2 辣椒碱母液和工作液的配制 将辣椒碱溶于 DMSO 配制成 10 mmol·L⁻¹ 母液, 分装储存于 -20 °C 冰箱。实验时用含或不含血清的 DMEM 培养液将母液稀释成 25, 50, 75 μmol·L⁻¹ 工作液, DMSO 终体积分数为 0.1%, 空白组使用含或者不含血清 DMSO 终体积分数为 0.1% DMEM 培养液。

2.3 Transwell 迁移实验 根据课题组前期研究的 CCK-8 实验结果^[14], 为排除细胞活性产生的影响, 本课题组选取辣椒碱 25, 50, 75 μmol·L⁻¹ 进行迁移实验和后续的侵袭实验。对数生长期的 MCF-7 细胞用无血清培养液饥饿培养 24 h, 胰蛋白酶消化细胞, 用辣椒碱终浓度 0, 25, 50, 75 μmol·L⁻¹ 无血清培养液重悬细胞, 调整细胞密度为 5 × 10⁵ 个/mL, 以每孔 200 μL 接种于 Transwell 小室上室中, 在 24 孔板中加入含 0, 25, 50, 75 μmol·L⁻¹ 辣椒碱的完全培养液 600 μL, 于 37 °C 5% CO₂ 细胞培养箱中培养。24 h 后取出小室, 用棉签擦去上室中的细胞, PBS 洗 3 次, 100% 甲醇固定 20 min, 将小室适当风干。0.1% 结晶紫染色 20 min, 用 PBS 洗 3 遍, 适当风干后于光学倒置显微镜每组随机选择 5 个视野观察细胞数, 进而计算细胞迁移率。迁移率 = (辣椒碱组迁移细胞数/空白组迁移细胞数) × 100%。每组实验均独立重复 3 次。

2.4 Transwell 侵袭实验 Matrigel 基质胶与无血清培养基按 1:6 稀释, 在上室底部中央垂直加入混合稀释后的基质胶 70 μL, 于 37 °C 培养箱中放置 2 h 使胶凝固。后续步骤同迁移实验。侵袭率 = (辣椒碱组侵袭细胞数/空白组侵袭细胞数) × 100%。每组实验均独立重复 3 次。

2.5 Real-time PCR 检测 SIRT1, POLD1 mRNA 表达水平 对数生长期的 MCF-7 细胞接种于 25 cm²

培养瓶中, 放置在 37 °C 5% CO₂ 细胞培养箱中培养, 待细胞融合至 70% ~ 80% 时, 加入终浓度为 0, 25, 50, 75 μmol·L⁻¹ 辣椒碱完全培养液培养, 24 h 后收集细胞, 用 trizol 法提取各组细胞总 RNA, 用分光光度法测定其浓度和纯度。按试剂盒说明书进行逆转录和 PCR 反应。PCR 反应条件为 95 °C 30 s, 后续的 40 个循环, 95 °C 5 s, 60 °C 30 s, 72 °C 30 s。以 GAPDH 作为内参, 2^{-ΔΔC_t} 法用以计算相关 mRNA 的表达情况。每组实验均独立重复 3 次。

2.6 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测 SIRT1, p125 蛋白表达水平 细胞培养及加药同 2.5 项, 加入蛋白裂解液 120 μL, 临用前加入终浓度为 1 mmol·L⁻¹ 蛋白酶抑制剂苯甲基磺酰氟 (PMSF), 提取细胞总蛋白并用 BCA 法测定蛋白浓度。取蛋白样品 25 μg, 按实验说明进行电泳、转膜、封闭, TBST 洗膜 3 次, 然后分别加入一抗 SIRT1, p125 单克隆抗体 (均 1:1 000), GAPDH 单克隆抗体 (1:1 万), 4 °C 摇床孵育过夜, TBST 洗膜 3 次, 加入山羊抗兔 IgG 二抗 (1:1 万)。室温孵育 1 h, TBST 洗膜 3 次, ECL 系统显影。以 GAPDH 作为内参, 运用 Image J 软件进行条带灰度值的分析。每组实验均独立重复 3 次。

2.7 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据间两两比较用 LSD 检验, 多组数据间比较用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 辣椒碱对 MCF-7 细胞迁移能力的影响 与空白组比较, 辣椒碱 (25, 50, 75 μmol·L⁻¹) 干预 MCF-7 细胞 24 h 后, 穿膜细胞数明显减少, 迁移率显著降低, 且呈浓度依赖效应 ($P < 0.01$), 说明辣椒碱抑制了 MCF-7 细胞的迁移能力。见图 1, 表 1。

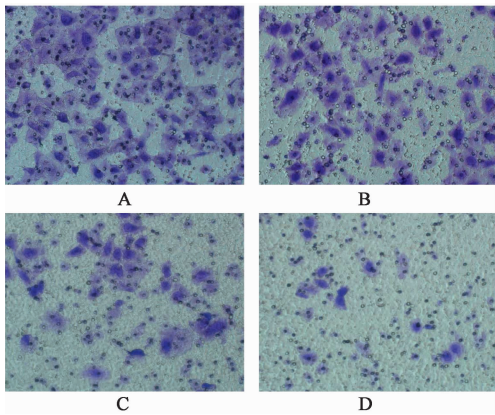
表 1 辣椒碱对 MCF-7 细胞迁移的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Effect of capsaicin on migration in MCF-7 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	浓度/μmol·L ⁻¹	细胞迁移率/%
空白	-	100.00
辣椒碱	25	80.32 ± 5.42 ¹⁾
	50	46.92 ± 3.76 ¹⁾
	75	25.17 ± 2.34 ¹⁾

注: 与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 4 同)。

3.2 辣椒碱对 MCF-7 细胞侵袭能力的影响 与空白组比较, 辣椒碱 (25, 50, 75 μmol·L⁻¹) 干预 MCF-7



A. 空白组; B~D. 辣椒碱 (25, 50, 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 组 (图 2, 3 同)
图 1 辣椒碱对 MCF-7 细胞迁移能力的影响 (结晶紫染色, $\times 200$)
Fig. 1 Effect of capsaicin on migration in MCF-7 cells (crystal violet, $\times 200$)

细胞 24 h 后, 穿膜细胞数明显减少, 侵袭率显著降低, 且呈浓度依赖效应 ($P < 0.01$), 说明辣椒碱抑制了 MCF-7 细胞的侵袭能力。见图 2, 表 2。

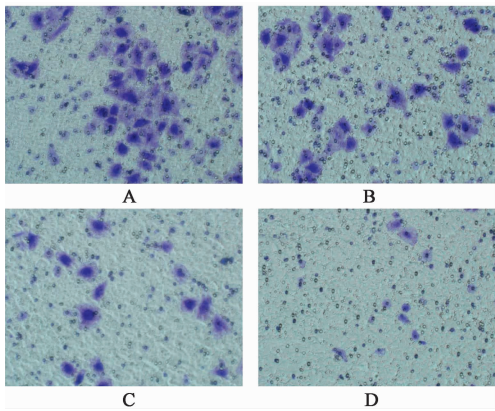


图 2 辣椒碱对 MCF-7 细胞侵袭能力的影响 (结晶紫, $\times 200$)
Fig. 2 Effect of capsaicin on invasion in MCF-7 cells (crystal violet, $\times 200$)

表 2 辣椒碱对 MCF-7 细胞侵袭能力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Table 2 Effect of capsaicin on invasion in MCF-7 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	侵袭率/%
空白	-	100.00
辣椒碱	25	72.65 \pm 4.96 ¹⁾
	50	38.67 \pm 2.89 ¹⁾
	75	16.67 \pm 2.11 ¹⁾

3.3 辣椒碱对 MCF-7 细胞 SIRT1, POLD1 mRNA 表达水平的影响 与空白组比较, 辣椒碱 (25, 50, 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 干预 MCF-7 细胞 24 h 后, 细胞中 SIRT1, POLD1 mRNA 表达水平显著下调, 且呈浓度依赖效应 ($P < 0.01$), 说明辣椒碱可抑制 MCF-7

细胞 SIRT1, POLD1 mRNA 的表达水平, 见表 3。

表 3 辣椒碱对 MCF-7 细胞 SIRT1, POLD1 mRNA 表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of capsaicin on mRNA expression levels of SIRT1, POLD1 in MCF-7 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	SIRT1	POLD1
空白	-	1.00	1.00
辣椒碱	25	0.62 \pm 0.08 ¹⁾	0.83 \pm 0.07 ¹⁾
	50	0.35 \pm 0.06 ¹⁾	0.52 \pm 0.05 ¹⁾
	75	0.22 \pm 0.03 ¹⁾	0.31 \pm 0.04 ¹⁾

3.4 辣椒碱对 MCF-7 细胞 SIRT1 和 p125 蛋白表达水平的影响 与空白组比较, 辣椒碱 (25, 50, 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 干预 MCF-7 细胞 24 h 后, 细胞中 SIRT1, p125 蛋白表达水平显著降低, 呈浓度依赖性 ($P < 0.01$), 说明辣椒碱可抑制 MCF-7 细胞 SIRT1 和 p125 蛋白的表达水平, 见图 3, 表 4。

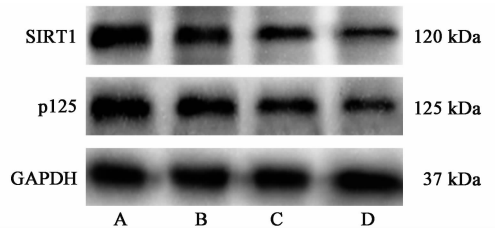


图 3 辣椒碱干预后 SIRT1, p125 蛋白在 MCF-7 细胞中的表达
Fig. 3 Electrophoresis of SIRT1 and p125 protein expressions in MCF-7 cells after intervention of capsaicin

表 4 辣椒碱对 MCF-7 细胞 SIRT1, p125 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Effect of capsaicin on SIRT1, p125 protein expressions in MCF-7 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	SIRT1/GAPDH	p125/GAPDH
空白	-	1.20 \pm 0.15	1.27 \pm 0.18
辣椒碱	25	0.88 \pm 0.11 ¹⁾	0.95 \pm 0.10 ¹⁾
	50	0.55 \pm 0.12 ¹⁾	0.67 \pm 0.09 ¹⁾
	75	0.34 \pm 0.07 ¹⁾	0.40 \pm 0.06 ¹⁾

4 讨论

流行病学和实验证据证明, 水果、蔬菜、全谷物、香料和茶中的膳食植物提取物对癌症的发生和发展具有有效的抑制作用^[15-16]。辣椒碱的抗肿瘤活性已经在大量研究中被揭示出来, 其可通过诱导氧化应激、抑制肿瘤细胞增殖以及促进肿瘤细胞凋亡等方式而发挥抗肿瘤作用^[17-18]。然而虽有研究报道辣椒碱具有抗乳腺癌作用, 但其作用机制

尚不明确^[19-20]。本课题组前期研究已发现辣椒碱呈浓度依赖性抑制乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖^[14]。本研究继续探讨辣椒碱对 MCF-7 细胞迁移和侵袭的影响及生物学机制。结果显示,经辣椒碱干预后的 MCF-7 细胞迁移和侵袭能力均明显受到抑制,且这种抑制作用呈浓度依赖效应。与此一致的是,李伯和等^[21]研究发现,辣椒碱对三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭也具有明显的抑制作用,且呈浓度依赖效应。这些研究共同说明辣椒碱能显著抑制乳腺癌的迁移和侵袭能力。

乳腺癌的发生和发展是一个复杂的病理过程,其机制目前尚未完全阐明。如何选择治疗性基因是治疗肿瘤有效性最关键的问题。研究表明,SIRT1 不仅在修复正常细胞的 DNA 损伤、调控细胞周期和凋亡中扮演着重要角色,而且与肝癌、膀胱癌、结肠癌和乳腺癌等多种恶性肿瘤的发生、发展及转归密切相关^[9, 22-23]。HU 等^[24]研究发现沉默 SIRT1 的表达可以激活抗氧化反应和诱导细胞周期阻滞,从而来抑制膀胱癌细胞增殖、迁移和侵袭。Chung 等^[10]研究发现 SIRT1 在乳腺癌中高表达,且与淋巴结转移和较低生存率有关。本课题组前期研究显示 SIRT1 参与乳腺癌的发生和发展,在乳腺癌组织或者乳腺癌细胞 MCF-7 中,SIRT1 较正常乳腺组织和正常乳腺上皮 MCF-10A 细胞表达增高,过表达 SIRT1 可以促进乳腺癌 MCF-7 细胞增殖、迁移和侵袭,而沉默 SIRT1 则可明显抑制 MCF-7 细胞增殖、迁移和侵袭^[25]。与 JIN 等^[12]在体内外的实验研究报道一致。本研究结果显示,辣椒碱呈浓度依赖性抑制 SIRT1 mRNA 和蛋白的表达,提示辣椒碱抑制 MCF-7 细胞迁移和侵袭的分子机制可能与 SIRT1 表达抑制有关。

DNA 复制对保持真核生物基因组和遗传稳定性具有重要作用。研究证实,肿瘤细胞的恶性增殖与 DNA 的大量复制紧密相关^[26-27]。DNA 聚合酶 δ 是真核生物 DNA 复制的最主要复制酶,DNA 聚合酶 δ 催化亚基基因 (POLD1) 编码 DNA 聚合酶 δ 催化亚基 p125 蛋白^[28]。Sanefuji 等^[29]研究发现突变型 p53 可以诱导 POLD1/p125 表达上调,进而促进肝癌的侵袭潜力,而沉默 POLD1 基因则可以抑制肝癌侵袭。本课题组前期研究显示 POLD1 参与乳腺癌的发生和发展,在乳腺癌组织和乳腺癌细胞 MCF-7 中,POLD1 较正常乳腺组织和正常乳腺上皮 MCF-10A 细胞表达增高,SIRT1 的表达与 POLD1/p125 表达呈正相关,SIRT1 可以通过调控 p53 的

表达水平,影响 POLD1 的转录活性,改变 p125 蛋白的表达,从而介导 MCF-7 细胞增殖、迁移和侵袭^[26-27]。本研究结果显示,辣椒碱呈浓度依赖性抑制 POLD1 mRNA 和 p125 蛋白的表达。结合前面所述结果,本研究认为辣椒碱可能通过抑制 SIRT1-POLD1/p125 途径从而抑制乳腺癌的迁移和侵袭。

综上所述,辣椒碱能显著抑制乳腺癌 MCF-7 细胞的迁移和侵袭能力,其机制可能与下调细胞中 SIRT1 mRNA 和蛋白的表达水平以及 POLD1 mRNA 和 p125 的蛋白表达水平有关。通过辣椒碱干预 SIRT1 的表达可为临床上治疗乳腺癌等肿瘤疾病提供新的思路和理论依据。但本文仅从体外实验基于 SIRT1-POLD1/p125 途径探讨辣椒碱抑制乳腺癌细胞迁移和侵袭的作用机制,具有一定的局限性,后续体内动物实验验证及是否存在其他作用机制有待进一步探讨研究。

[参考文献]

- [1] 陈万青,郑荣寿. 中国女性乳腺癌发病死亡和生存状况 [J]. 中国肿瘤临床, 2015, 42(13): 668-674.
- [2] Nho K J, Chun J M, Kim D S, et al. Ampelopsis japonica ethanol extract suppresses migration and invasion in human MDA-MB-231 breast cancer cells [J]. Mol Med Rep, 2015, 11(5): 3722-3728.
- [3] Chapa-Oliver A M, Mejia-Teniente L. Capsaicin: from plants to a cancer-suppressing agent [J]. Molecules, 2016, 21(8): 931.
- [4] Clark R, Lee S H. Anticancer properties of capsaicin against human cancer [J]. Anticancer Res, 2016, 36(3): 837-843.
- [5] 肖潺潺,陈茂剑,梅凡彪,等. 辣椒碱对肝癌 SMMC-7721 细胞迁移和侵袭的影响及机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(18): 124-129.
- [6] Karbasforooshan H, Roohbakhsh A, Karimi G. SIRT1 and microRNAs: the role in breast, lung and prostate cancers [J]. Exp Cell Res, 2018, 367(1): 1-6.
- [7] Sarma P, Bag I, Ramaiah M J, et al. Bisindole-PBD regulates breast cancer cell proliferation via SIRT-p53 axis [J]. Cancer Biol Ther, 2015, 16(10): 1486-1501.
- [8] SHU Y, REN L G, XIE B, et al. MiR-204 enhances mitochondrial apoptosis in doxorubicin-treated prostate cancer cells by targeting SIRT1/p53 pathway [J]. Oncotarget, 2017, 8(57): 97313-97322.
- [9] LIN Z H, FANG D Y. The roles of SIRT1 in cancer [J]. Genes Cancer, 2013, 4(3/4): 97-104.
- [10] Chung S Y, Jung Y Y, Park I A, et al. Oncogenic role

- of SIRT1 associated with tumor invasion, lymph node metastasis, and poor disease-free survival in triple negative breast cancer [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2016, 33(2): 179-185.
- [11] TAN J, LIU Y, Maimaiti Y, et al. Combination of SIRT1 and Src overexpression suggests poor prognosis in luminal breast cancer [J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11: 2051-2061.
- [12] JIN X X, WEI Y Z, XU F, et al. SIRT1 promotes formation of breast cancer through modulating Akt activity [J]. *J Cancer*, 2018, 9(11): 2012-2023.
- [13] Chung Y R, Kim H, Park S Y, et al. Distinctive role of SIRT1 expression on tumor invasion and metastasis in breast cancer by molecular subtype [J]. *Hum Pathol*, 2015, 46(7): 1027-1035.
- [14] 陈茂剑, 杨伟萍, 覃庆洪, 等. 辣椒碱对乳腺癌 MCF-7 细胞增殖及 p21 和 FBI-1 表达的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(22): 102-106.
- [15] Aggarwal B B, Shishodia S. Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer [J]. *Biochem Pharmacol*, 2006, 71(10): 1397-1421.
- [16] 贺栋业, 李晓宇, 王丽丽, 等. 金花茶化学成分及药理作用研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(3): 231-234.
- [17] Clark R, Lee S H. Anticancer properties of capsaicin against human cancer [J]. *Anticancer Res*, 2016, 36(3): 837.
- [18] Chapa-Oliver A M, Mejía-Teniente L. Capsaicin: from plants to a cancer-suppressing agent [J]. *Molecules*, 2016, 21(8): 931.
- [19] CHANG H C, CHEN S T, Chien S Y, et al. Capsaicin may induce breast cancer cell death through apoptosis-inducing factor involving mitochondrial dysfunction [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2011, 30(10): 1657-1665.
- [20] Thoennissen N H, O'Kelly J, LU D, et al. Capsaicin causes cell-cycle arrest and apoptosis in ER-positive and-negative breast cancer cells by modulating the EGFR/HER-2 pathway [J]. *Oncogene*, 2009, 29(2): 285-296.
- [21] 李伯和, 袁磊. 辣椒碱对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞迁移和侵袭的抑制作用及其机制 [J]. *生理学报*, 2017, 69(2): 183-188.
- [22] Chalkiadaki A, Guarente L. The multifaceted functions of sirtuins in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2015, 15(10): 608-624.
- [23] Hwang B J, Madabushi A, JIN J, et al. Histone/protein deacetylase SIRT1 is an anticancer therapeutic target [J]. *Am J Cancer Res*, 2014, 4(3): 211-221.
- [24] HU Q X, WANG G, PENG J P, et al. Knockdown of SIRT1 suppresses bladder cancer cell proliferation and migration and induces cell cycle arrest and antioxidant response through FOXO3a-mediated pathways [J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017(9): 3781904.
- [25] XU Y F, QIN Q H, CHEN R S, et al. SIRT1 promotes proliferation, migration, and invasion of breast cancer cell line MCF-7 by upregulating DNA polymerase delta1 (POLD1) [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 502(3): 351-357.
- [26] Nicolas E, Golemis E A, Arora S. POLD1: Central mediator of DNA replication and repair, and implication in cancer and other pathologies [J]. *Gene*, 2016, 590(1): 128-141.
- [27] 陈茂剑, 蒋玮, 覃庆洪, 等. 辣椒碱抗肿瘤作用分子机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(7): 100-108.
- [28] 欧贤红, 廖柳凤, 刘华钢, 等. POLD1 基因在原发性肝癌中的表达及其意义 [J]. *世界华人消化杂志*, 2011, 19(2): 151-155.
- [29] Sanefuji K, Taketomi A, Iguchi T, et al. Significance of DNA polymerase delta catalytic subunit p125 induced by mutant p53 in the invasive potential of human hepatocellular carcinoma [J]. *Oncology*, 2010, 79(3/4): 229-237.

[责任编辑 张丰丰]