

# 铁皮石斛毛兰素对人食管癌KYSE-150细胞的抑制作用

燕文柏<sup>1</sup>, 赵庆俊<sup>1</sup>, 胡艺萍<sup>1</sup>, 罗纪红<sup>1</sup>, 邓晓东<sup>2</sup>, 赵志伟<sup>1</sup>, 魏玉颖<sup>1</sup>, 蒋璐遥<sup>1</sup>, 严阳<sup>1</sup>, 周俊含<sup>1</sup>,  
甘菊丽<sup>1</sup>, 杜彦锋<sup>1</sup>, 张薇薇<sup>1\*</sup>

(1. 成都医学院公共卫生学院, 四川成都 610500)

(2. 成都医学院第一附属中医医院, 成都市新都区中医医院, 四川成都 610500)

**摘要:** 该研究旨在探明铁皮石斛毛兰素对人食管癌 KYSE-150 细胞生长的抑制作用。分别采用 CCK-8 试剂盒、显微镜观察、划痕实验和流式细胞技术检测毛兰素对 KYSE-150 细胞的活性, 细胞形态变化、细胞迁移能力和细胞凋亡、周期阻滞的影响, 并通过 Western Blot 法检测 Bax、Bcl-2、Vimentin、Akt、P-Akt、PI3K、P-PI3K、N-cadherin、E-cadherin 蛋白的表达情况。结果表明, 毛兰素对 KYSE-150 细胞生长具有抑制作用, 24、48、72 h 的 IC<sub>50</sub> 分别为 357.30、120.20、57.43 nmol/L, 细胞出现皱缩、聚团生长现象, 细胞迁移能力降低, 同时与对照组相比, 40、80、120 nmol/L 作用 24 h 后, 细胞凋亡百分比分别是 27.57%、35.38%、61.97%, 处理组细胞 G<sub>1</sub> 期比例明显降低, 由 56.64% 下降至 2.80%, G<sub>2</sub> 期细胞比例明显增加, 由 16.82% 增加至 86.98%, Western Blot 实验中加药组 Bax 和 E-cadherin 表达相对增高, Bcl-2、Vimentin、P-Akt、PI3K、P-PI3K、N-cadherin 蛋白表达相对降低, 表明毛兰素可诱导细胞凋亡, 抑制细胞迁移。由此可见, 铁皮石斛毛兰素可通过抑制 EMT 途径抑制细胞迁移, 通过调控 PI3K/Akt 信号通路抑制 KYSE-150 细胞增殖并诱导其凋亡。

**关键词:** 铁皮石斛; 毛兰素; 人食管癌 KYSE-150 细胞; PI3K/Akt 信号通路

文章编号: 1673-9078(2025)01-57-64

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.1.1426

## Inhibitory Effect of Erianin from *Dendrobium officinale* on Human Esophageal Cancer KYSE-150 Cells

YAN Wenbai<sup>1</sup>, ZHAO Qingjun<sup>1</sup>, HU Yiping<sup>1</sup>, LUO Jihong<sup>1</sup>, DENG Xiaodong<sup>2</sup>, ZHAO Zhiwei<sup>1</sup>, WEI Yuying<sup>1</sup>,  
JIANG Luyao<sup>1</sup>, YAN Yang<sup>1</sup>, ZHOU Junhan<sup>1</sup>, GAN Juli<sup>1</sup>, DU Yanfeng<sup>1</sup>, ZHANG Weiwei<sup>1\*</sup>

引文格式:

燕文柏, 赵庆俊, 胡艺萍, 等. 铁皮石斛毛兰素对人食管癌 KYSE-150 细胞的抑制作用 [J]. 现代食品科技, 2025, 41(1): 57-64.

YAN Wenbai, ZHAO Qingjun, HU Yiping, et al. Inhibitory effect of erianin from *Dendrobium officinale* on human esophageal cancer KYSE-150 cells [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(1): 57-64.

收稿日期: 2023-11-29

基金项目: 四川中医药大健康产业发展与乡村振兴研究中心一般项目 (DJKYB202302); 成都医学院医院发展研究中心项目 (YYFZ23001); 成都医学院省级大学生创新创业训练计划项目 (S202213705064); 成都医学院国家级、省级大学生创新创业训练计划 (202313705027); 成都医学院研究生科研创新基金一般项目 (YCX2023-01-49); 重大疾病靶点发现与蛋白药物研发四川省高校重点实验室项目 (23LHZY04); 四川省中医药管理局中医药科研专项课题一般项目 (2024MS232)

作者简介: 燕文柏 (2001-), 男, 本科, 研究方向: 营养与食品卫生学, E-mail: wenbaiyan@163.com

通讯作者: 张薇薇 (1985-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 营养与食品卫生学, E-mail: solozww@163.com

(1.School of Public Health, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China)

(2.The First Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine of Chengdu Medical College, Xindu Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610500, China)

**Abstract:** The inhibitory effect of erianin extracted from *Dendrobium officinale* on the growth of human esophageal cancer KYSE-150 cells was investigated. The CCK-8 kit, microscope, scratch test, and flow cytometry were used to determine the inhibitory effect, morphological changes, cell migration, cell apoptosis, and cycle arrest of erianin on the activity of KYSE-150 cells. Western blot analysis was used to detect the expression levels of Bax, Bcl-2, Vimentin, Akt, P-Akt, PI3K, P-PI3K, N-cadherin, and E-cadherin proteins. The results of cell experiments showed that the  $IC_{50}$  of erianin for inhibiting the growth of KYSE-150 cells at 24, 48, and 72 h was 357.30, 120.20, and 57.43 nmol/L, respectively. The cells exhibited reduced migration capability and demonstrated shrinkage and aggregation during growth. After treatment with 40, 80, and 120 nmol/L for 24 h, the percentage of apoptosis was found to be 27.57%, 35.38%, and 61.97%, respectively, compared with the control group. The proportion of cells in the  $G_1$  phase in the treatment group significantly decreased from 56.64 % to 2.80%, whereas the proportion of cells in the  $G_2$  phase significantly increased from 16.82% to 86.98%. The western blot results showed that the expression of Bax and E-cadherin increased, whereas the expression of Bcl-2, Vimentin, P-Akt, PI3K, P-PI3K, and N-cadherin decreased, indicating that erianin has the potential to induce apoptosis and inhibit cell migration. In summary, erianin from *D. officinale* has the capability to inhibit cell migration through the inhibition of the EMT pathway and KYSE-150 cell proliferation and induce apoptosis via regulation of the PI3K/Akt signaling pathway.

**Key words:** *Dendrobium officinale*; erianin; human esophageal cancer KYSE-150 cells; PI3K/Akt signaling pathway

食管癌 (Esophageal Cancer) 是全球常见的恶性肿瘤, 根据 2020 年统计数据显示食管癌在发病率方面排名第七 (60.4 万例), 在总死亡率方面排名第八 (54.4 万例)<sup>[1]</sup>。预估食管癌在我国 2022 年恶性肿瘤发病率中排名第六 (34.6 万例), 死亡率排名第四位 (32.3 万例)<sup>[2]</sup>。食管癌常见的病理学分型为食管鳞状细胞癌 (ESCC) 和食管腺癌 (EAC), 在我国食管癌 90% 以上的病理类型为鳞癌, 食管癌癌变早期常发病隐匿, 待症状明显时已处于中晚期, 单纯手术或单纯放化疗治疗效果差, 5 年生存率较低<sup>[3]</sup>。目前, 同步放化疗仍然是晚期食管癌的主要治疗方法, 但其存在患者预后较差, 对现有化疗药物敏感性差, 治疗效果有限, 副作用大等缺点<sup>[4]</sup>。

铁皮石斛 (*Dendrobium officinale*) 为兰科石斛属多年生草本植物的干燥根茎, 其主要分布于中国安徽、浙江、福建等地<sup>[5]</sup>。铁皮石斛是我国经典药食同源资源, 始载于《神农本草经》, 以“千金草”“还魂草”之誉驰名中外, 为中华九大仙草之首, 其味甘、性微寒, 具有益胃生津、滋阴清热、润肺止咳、明目强身等功效<sup>[6]</sup>。现代药理学研究发现铁皮石斛有效成分包括黄酮、联苳、生物碱、苯丙素、萜、菲、核苷、挥发油、氨基酸和微量元素, 同时

发现其具有抗氧化、抗肿瘤、降血糖、缓解便秘、预防骨质疏松、护肝保肾等功效<sup>[7,8]</sup>。

毛兰素 (*Erianin*) 是从石斛中提取的一种相对分子量为 318.36 的联苳类化合物<sup>[9]</sup>, 其在铁皮石斛中的含量较丰富。研究表明, 毛兰素具有抗菌、抗炎、抗病毒以及抗血管生成活性等作用<sup>[10-14]</sup>。Liu 等<sup>[15]</sup>研究发现毛兰素通过 ERK 通路诱导人鼻咽癌细胞凋亡, Wang 等<sup>[16]</sup>发现毛兰素可以通过 HRAS-PI3K-AKT 信号通路抑制胃癌癌前病变, Zhu 等<sup>[17]</sup>证明 JNK 信号通路可抑制膀胱癌细胞的生长, Zhang 等<sup>[18]</sup>在实验中发现毛兰素可通过线粒体凋亡途径诱导肝癌细胞发生凋亡, Wang 等<sup>[19]</sup>发现毛兰素可通过抑制 CRAF 和 MEK1/2 来抑制 MAPK 信号通路。PI3K/Akt 信号通路可通过多种途径刺激激活, 对于细胞行使正常的生理活动功能具有重要意义, Zhang 等<sup>[20]</sup>通过实验发现毛兰素可通过 PI3K/Akt 信号通路抑制人肺癌细胞的生长。毛兰素及其衍生物除抗癌特性外, 还具有低毒性和患者的耐受性良好的优点, 是一种潜力的新型的抗癌剂, 但铁皮石斛毛兰素对于食管癌的作用鲜有人报道。因此, 本研究拟探究铁皮石斛毛兰素对人食管癌 KYSE-150 细胞的抑制作用并初步对其潜在机制进行探讨, 为后续铁皮石斛的开发利用提供新的思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

人食管癌细胞株 KYSE-150, 成都医学院科研中心惠赠; 铁皮石斛毛兰素 (纯度:  $\geq 98\%$ )、质量分数 10% SDS 溶液、质量分数 10% PAGE 胶凝固剂、1.5 mol/L Tris-HCl 缓冲液、1.0 mol/L Tris-HCl 缓冲液、10×TBST 缓冲液 (粉剂), 北京索莱宝科技有限公司; 胎牛血清 (FBS), 以色列生物工业公司; 96 孔板、磷酸缓冲液 (PBS)、DMSO、胰酶、RPMI-1640 培养基、细胞周期检测试剂盒、细胞凋亡检测试剂盒、BCA 蛋白含量检测试剂、CCK8 试剂盒, 江苏凯基生物技术有限公司; 预染彩色蛋白分子量 Marker, 赛默飞世尔科技公司; 质量分数 4% 多聚甲醛, 成都金山化学试剂公司; PVDF 膜、德国默克密理博公司; PI3K、P-Akt、 $\beta$ -actin、E-Cadherin、N-Cadherin、Vimentin, 美国 CST 公司; P-PI3K, 英国 Abcam 公司; Akt、Bcl-2、Bax, 杭州景杰生物科技公司。

### 1.2 仪器

A2 型 1300 系列二级生物安全柜, Thermo Scientific; 3110 型 CO<sub>2</sub> 培养箱, Thermo Scientific; 6K 型低速离心机, 珠海黑马医学仪器有限公司; IX71 倒置荧光相差显微镜, OLYMPUS 公司; BX41TF 正置荧光显微镜, MODEL 公司; PHS 2 酶标仪, 基因有限公司; ND2000 E720 微量分光光度计, Gene Company Limited; NovoCyt 流式细胞仪, ACEA 公司; 041BR139591 电泳仪, BIO RAD; 720BR/01487 化学凝胶成像仪, BIO RAD 公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 细胞培养

将食管癌 KYSE-150 细胞培养在含有 RPMI-1640 完全培养基的培养瓶中, 完全培养基含有体积分数 10% 的胎牛血清, 培养箱培养条件为 37 °C、体积分数 5% CO<sub>2</sub>, 当细胞生长程度达到 80% 的融合程度时选择用质量分数 0.25% 的胰酶消化处理进行冻存或传代。

#### 1.3.2 CCK-8法检测细胞活性

取生长状态良好的 KYSE-150 细胞接种于 96 孔板中每孔  $5 \times 10^3$  个细胞, 置于培养箱中孵育 24 h, 待细胞贴壁后加入不同浓度的毛兰素药物 (0、20、

40、80、160 nmol/L), 每个浓度设置 3 个复孔, 置于体积分数 5% CO<sub>2</sub>、37 °C 培养箱继续培养 24、48、72 h。在避光条件下向各孔中加入 10  $\mu$ L 的 CCK-8 检测溶液, 37 °C 继续培养 1 h, 用酶标仪在 450 nm 波长下检测 96 孔板各孔的吸光度。根据吸光度计算细胞存活率, 使用 GraphPad Prism 8.0.2 进行非线性拟合得到 IC<sub>50</sub>。细胞存活率公式计算如下:

$$W = \frac{As - Ab}{Ac - Ab} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

$W$ ——细胞存活率, %;

$As$ ——实验孔 (含有细胞的培养基、CCK-8、待测物质)

OD 值;

$Ac$ ——对照 (含有细胞的培养基、CCK-8、没有待测物质) OD 值;

$Ab$ ——空白孔 (不含细胞和待测物质的培养基、CCK-8) OD 值。

#### 1.3.3 细胞形态学观察

在 KYSE-150 细胞对数生长期分别加入 0、40、80、120 nmol/L 的毛兰素培养作用 24 h 后于倒置显微镜下观察细胞形态和数量变化并拍照记录。

#### 1.3.4 划痕愈合实验检测细胞迁移能力

将 KYSE-150 细胞接种于 6 孔板中每孔  $6.5 \times 10^5$  个细胞, 培养 24 h 后用 200  $\mu$ L 枪头进行垂直划线, PBS 洗两遍后镜下拍照, 加入含不同浓度的毛兰素药物 (0、40、80、120 nmol/L) 分别培养 12、24 h 于倒置显微镜下拍照观察, 利用 Image J 软件测量划痕区域面积, 并计算细胞划痕愈合率 (%)。计算公式如下:

$$C = \frac{T_0 - T_t}{T_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

$C$ ——细胞划痕愈合率, %;

$T_0$ ——0 h 划痕区域面积;

$T_t$ ——12/24 h 划痕区域面积。

#### 1.3.5 流式细胞仪检测细胞凋亡和周期分布

取生长状态良好的 KYSE-150 细胞进行处理, 将细胞接种于 6 孔板中, KYSE-150 细胞凋亡实验每孔接种  $2 \times 10^5$  个细胞, KYSE-150 细胞周期分布实验每孔接种  $2 \times 10^5$  个细胞, 培养箱中贴壁培养 24 h 后, 分别加入不同浓度的毛兰素药物 (0、40、80、120 nmol/L) 进行处理, 继续培养细胞 24 h 后

收集细胞, 凋亡参照说明书分别加入 Annexin V-FITC 和 PI 染液, 周期检测参照说明书加入 PI/RNase A 染色工作液, 避光孵育染色, 上机检测。

### 1.3.6 Western Blot检测蛋白表达

将食管癌 KYSE-150 细胞于室温消化后, 以适宜浓度接种, 培养 24 h 后加入不同毛兰素药物 (0、40、80、120 nmol/L) 进行干预, 培养细胞 24 h 后, 收集细胞并进行裂解, 提取细胞总蛋白并进行蛋白定量和蛋白变性, 最后将其保存在  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱备用。采用 SDS-PAGE 凝胶电泳, 以 230 A 电压进行转膜 90 min, 然后使用质量分数 5% 脱脂奶粉进行封闭 1.5 h。在  $4^{\circ}\text{C}$  条件下孵育一抗过夜, 进行 TBST 清洗,  $37^{\circ}\text{C}$  条件下孵育二抗 1 h, 然后使用 ECL 发光液底物进行显色并拍照, 利用 Image J 软件测量相对灰度值, 以  $\beta$ -actin 为内参并计算相对蛋白相对表达量。计算公式如下:

$$D = \frac{A_1 - A_0}{A_2 - A_0} \quad (3)$$

式中:

$D$ ——蛋白相对表达量, %;

$A_0$ ——背景灰度值;

$A_1$ ——目的蛋白灰度值;

$A_2$ ——内参蛋白灰度值。

### 1.3.7 统计学处理

采用 GraphPad Prism 8.0.2 软件进行统计分析, 实验数据使用  $(\bar{x} \pm s)$  表示, 两组间分析使用  $t$  检验, 多组间分析使用单因素方差分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果与讨论

### 2.1 毛兰素对食管癌 KYSE-150 细胞活性的影响

图 1 显示, 经不同浓度 (0、20、40、80、160 nmol/L) 铁皮石斛毛兰素处理 KYSE-150 细胞 24、48、72 h 后, 与 0 nmol/L 组相比, KYSE-150 细胞经过 20~160 nmol/L 处理后的活性明显下降。经过统计学计算, 毛兰素对食管癌 KYSE-150 细胞 24、48、72 h 的  $\text{IC}_{50}$  分别为 357.30、120.20、57.43 nmol/L, 实验结果呈现出一定的剂量依赖性与时间依赖性。为避免高浓度药物引起的细胞毒性, 干扰对细胞凋亡机制的研究, 故选择低药物浓度 40、80、120 nmol/L 为后续实验的条件。结果表明, 毛兰素在短时间、低药物浓度

下即可影响 KYSE-150 细胞的活性并且明显抑制其增殖。

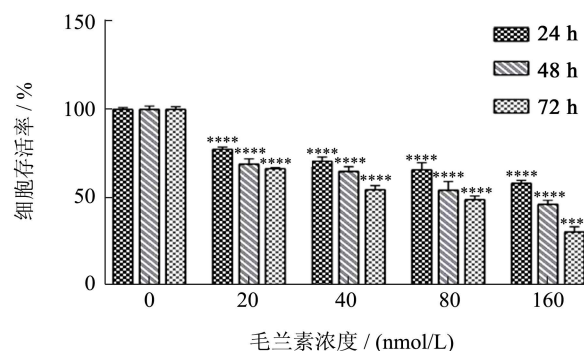


图 1 毛兰素对食管癌 KYSE-150 细胞活性的影响  
Fig.1 Effect of erianin on the activity of esophageal cancer KYSE-150 cells

注: 与对照组相比, \*\*\*\* 表示  $P < 0.0001$ 。

### 2.2 细胞形态学观察

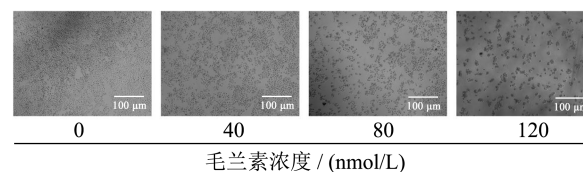


图 2 毛兰素对食管癌 KYSE-150 细胞生长数量的影响  
(40×)

Fig.2 Effect of erianin on the growth of esophageal cancer KYSE-150 cells (40×)

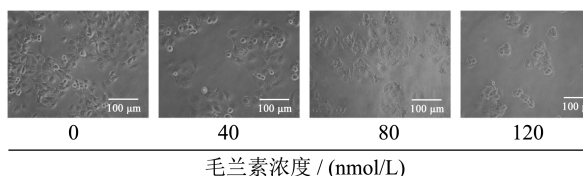


图 3 毛兰对食管癌 KYSE-150 细胞形态的影响 (200×)  
Fig.3 Effects of erianin on the morphology of esophageal cancer KYSE-150 cells (200×)

人食管癌细胞 KYSE-150 是一种低分化的上皮样鳞癌细胞, 细胞贴壁生长, 形态呈扁平、不规则多角形, 中有圆形核。当细胞发生凋亡时, 细胞的形态会发生明显形变, 包括细胞皱缩、聚团生长、与周围细胞脱离, 有凋亡小体出现等。实验过程中采用不同浓度毛兰素 (0、40、80、120 nmol/L) 处理 24 h 后, 在 40× 显微镜下观察可见: 40 nmol/L 组细胞数量出现减少; 80 nmol/L 组出现少量漂浮细胞; 120 nmol/L 组细胞数量减少明显, 漂浮脱落细胞增多, 呈明显的梯度趋势 (见图 2)。在 200× 显微镜下观察可见: 0 nmol/L 组细胞排列紧密, 视野

背景干净; 40 nmol/L 组细胞间隙变大; 80 nmol/L 组细胞出现皱缩、少量脱壁; 120 nmol/L 组细胞出现大量脱壁、聚团生长 (见图 3)。实验结果表明, 经过铁皮石斛毛兰素处理后的 KYSE-150 细胞发生明显的形态改变, 且出现凋亡现象。

### 2.3 毛兰素对食管癌 KYSE-150 细胞迁移的抑制作用

为了验证毛兰素对 KYSE-150 细胞的迁移抑制效果, 我们进行了划痕愈合实验。12 h 后 0、40、80、120 nmol/L 各组愈合度分别为 38.51%、35.62%、11.38%、19.16%, 与对照组相比, 对照组的伤口在 24 小时内几乎完全愈合, 愈合率达到 84.06%, 不同浓度毛兰素 (40、80、120 nmol/L) 处理组 24 h 愈合度分别为 54.14%、21.88%、18.97% (图 4)。实验现象可得, 毛兰素处理组的细胞在 24 h 内迁移速度和能力明显减慢, 同时药物处理浓度越高划痕愈合面积越小, 当药物处理浓度达到 120 nmol/L 时 12 h 和 24 h 组划痕愈合几乎相似。结果表明, 经毛兰素处理后食管癌 KYSE-150 细胞的迁移能力减弱。

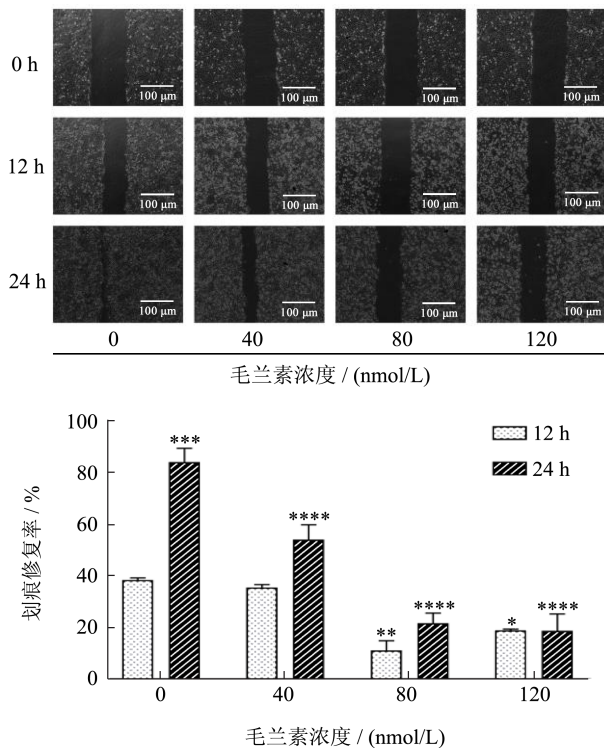


图 4 毛兰素对食管癌 KYSE-150 细胞细胞平面迁移的抑制作用 24 h 后 (40×)

Fig.4 Inhibitory effect of erianin on planar migration of esophageal cancer KYSE-150 cells after 24 h (40×)

注: 与对照组相比, \* 表示  $P < 0.05$ , \*\* 表示  $P < 0.01$ , \*\*\* 表示  $P < 0.001$ , \*\*\*\* 表示  $P < 0.0001$ 。

### 2.4 流式细胞仪检测毛兰素对食管癌 KYSE-150 凋亡的影响

采用流式细胞术进一步检测说明毛兰素可诱导食管癌 KYSE-150 细胞凋亡。在经过不同浓度毛兰素 (0、40、80、120 nmol/L) 处理 24 h 后, 使用流式细胞术检测各组细胞凋亡率。与 0 nmol/L 组相比, 不同浓度毛兰素 (40、80、120 nmol/L) 处理后可显著诱导 KYSE-150 细胞凋亡, 细胞凋亡百分比分别是 27.57% ( $P < 0.05$ )、35.38% ( $P < 0.001$ )、61.97% ( $P < 0.0001$ )。结果表明, 毛兰素可以有效诱导 KYSE-150 细胞凋亡, 且随着药物浓度的增高, 凋亡率也明显增加 (见图 5)。

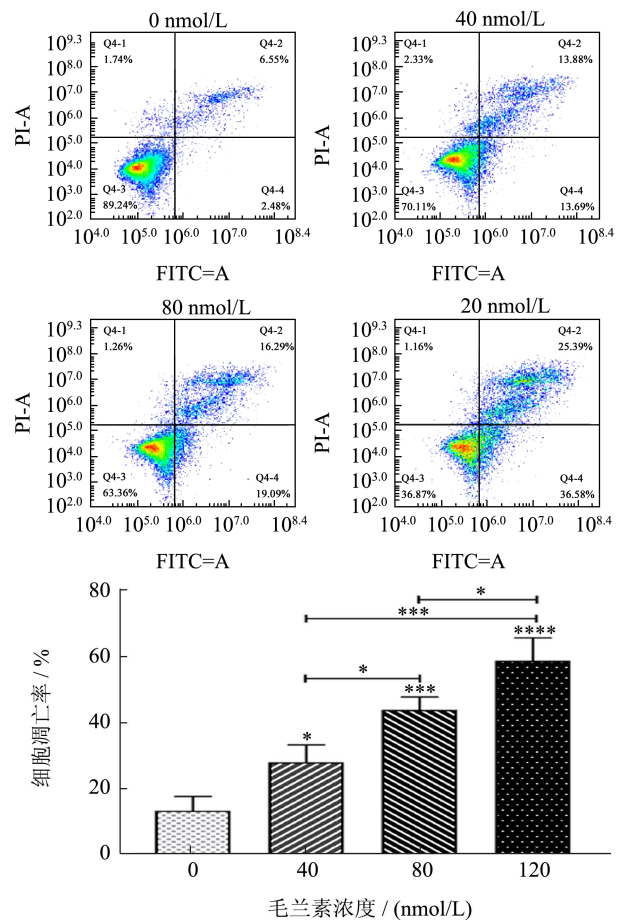


图 5 毛兰素对食管癌 KYSE-150 细胞凋亡的影响

Fig.5 Effect of erianin on apoptosis of esophageal cancer KYSE-150 cells

注: 与对照组相比, \* 表示  $P < 0.05$ , \*\*\* 表示  $P < 0.001$ , \*\*\*\* 表示  $P < 0.0001$ 。

### 2.5 毛兰素对食管癌 KYSE-150 细胞周期的阻滞作用

细胞周期失调是诱发恶性肿瘤的因素之一。多项研究表明, 天然产物可以通过诱导细胞周期停滞

发挥抗肿瘤的作用<sup>[21]</sup>。因此可知,通过阻滞细胞是杀死肿瘤细胞的一个重要途径,本实验经流式细胞仪检测发现 KYSE-150 细胞经不同浓度毛兰素(40、80、120 nmol/L)处理 24 h 后可导致细胞周期发生异常。其中与对照组相比,毛兰素处理组细胞 G<sub>1</sub> 期比例明显降低,由 56.64% 下降至 2.80%,S 期变化无统计学意义,G<sub>2</sub> 期细胞比例明显增加,由 16.82% 增加至 86.98%,具有明显的统计学意义。这与 Xu 等<sup>[22]</sup>发现毛兰素可阻滞 MDA-MB-231 细胞在 G<sub>2</sub> 期实验结果具有相似性。结果表明,毛兰素呈浓度依赖将 KYSE-150 细胞周期阻滞在 G<sub>2</sub> 期(见图 6)。

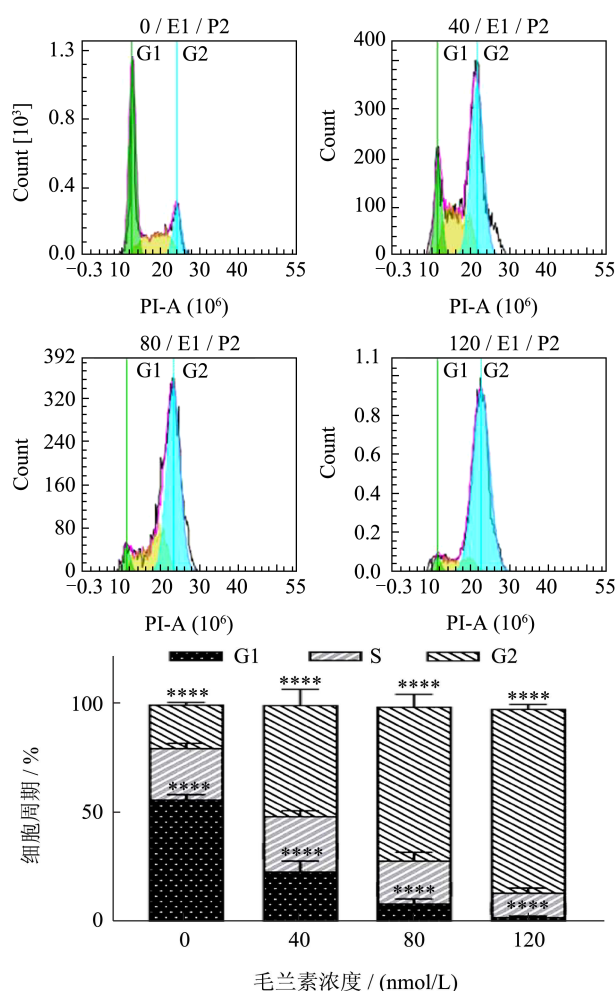


图 6 毛兰素对食管癌 KYSE-150 细胞周期阻滞的影响  
Fig.6 Effect of erianin on cell cycle arrest of esophageal cancer KYSE-150 cells

注:与对照组相比,\*\*\*\*表示  $P < 0.0001$ 。

## 2.6 毛兰素对食管癌 KYSE-150 细胞 EMT 相关蛋白表达的影响

EMT 过程是肿瘤转移的前提和基础<sup>[23]</sup>。肿瘤细胞 EMT 过程中伴随着蛋白标志物表达水平的变化 E-cadherin 可使上皮细胞间的粘附性增强,其表达

下调是 EMT 最重要的标志性变化,发挥着负向调控作用。N-cadherin 表达增强时,细胞间的粘附作用下降,迁移和侵袭能力增强。Vimentin 蛋白调节细胞的运动和增殖<sup>[24]</sup>。为进一步证明,毛兰素可以抑制 KYSE-150 细胞的迁移作用,采用 Western blotting 实验来检测 EMT 相关蛋白表达的表达式。结果显示,与对照组相比,毛兰素组可以有效抑制 Vimentin、N-cadherin 蛋白表达,同时促进 E-cadherin 蛋白表达,这与 Yang 等<sup>[25]</sup>的研究结果具有相似性。实验结果表明,毛兰素对 KYSE-150 细胞 EMT 效应有抑制效果(见图 7)。

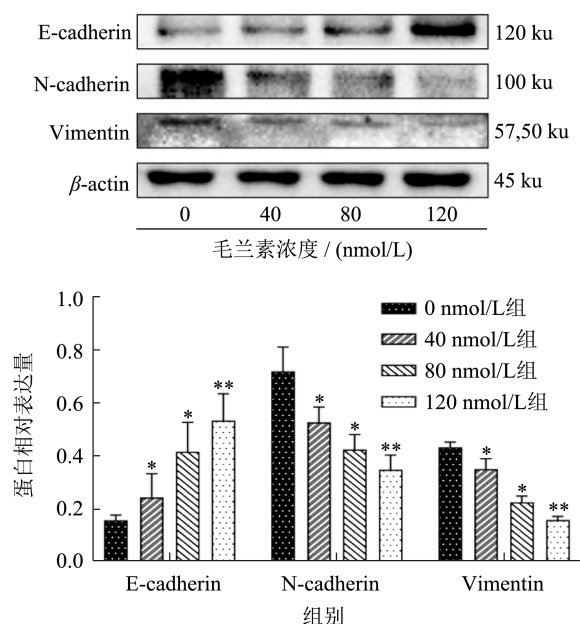


图 7 毛兰素对 KYSE-150 细胞 EMT 蛋白的影响

Fig.7 Effect of erianin on EMT protein in KYSE-150 cells

注:与对照组相比,\*表示  $P < 0.05$ ,\*\*表示  $P < 0.01$ 。

## 2.7 毛兰素对食管癌 KYSE-150 细胞凋亡相关蛋白表达的影响

磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B(PKB/Akt) (PI3K/Akt) 信号通路是哺乳动物细胞内重要的信号传导途径之一。这一通路可以被多种类型的细胞刺激或毒性刺激所激活,并且调节细胞的基本功能,如增殖、生长、存活、转录和翻译,在多种癌症中,这一信号通路被异常激活<sup>[26]</sup>。研究发现,PI3K/Akt 通路相关蛋白在食管癌组织中高表达<sup>[27]</sup>。通过抑制 PI3K/Akt 通路进而抑制细胞增殖、促进细胞凋亡。PI3K 通过转化成为 p-PI3K 激活下游 Akt 向 p-Akt 转变,而 p-Akt 是凋亡过程中起着重要作用<sup>[28]</sup>。在本研究中 PI3K、p-PI3K、p-Akt 蛋白随着毛兰素浓度增加而表达减少,但 p-PI3K 和 p-Akt 的激活受到 PI3K 和 Akt 蛋白表达量的影响,因此通

过 p-PI3K/PI3K 和 p-Akt/Akt 比值进一步确定毛兰素对 PI3K/Akt 通路的抑制情况, 在研究中可得知毛兰素可有效抑制 PI3K 和 Akt 的磷酸化。Bax 和 Bcl-2 是常见的促凋亡蛋白和抑制凋亡蛋白<sup>[29]</sup>, 可以作为 PI3K/Akt 通路的下游蛋白, 在本研究中, 随着毛兰素浓度增加, Bax 表达量增加, Bcl-2 表达量降低 (见图 8)。实验结果表明, 毛兰素诱导 KYSE-150 细胞凋亡与 PI3K/Akt 信号通路有关。

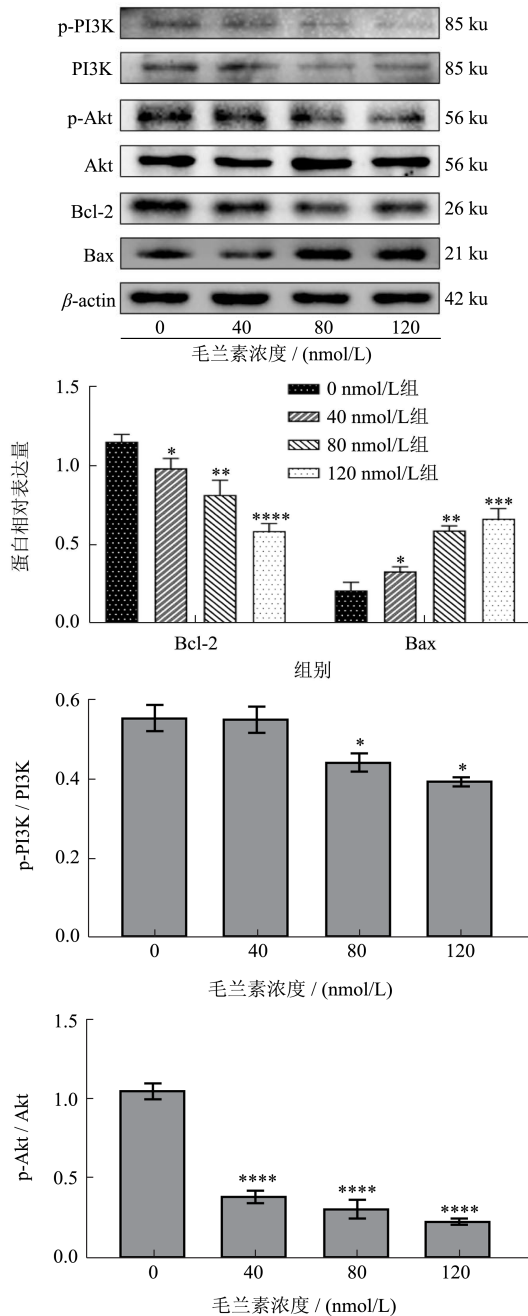


图 8 毛兰素对 KYSE-150 细胞凋亡蛋白的影响

Fig.8 Effect of erianin on apoptosis protein in KYSE-150 cells

注: 与对照组相比, \* 表示  $P < 0.05$ , \*\* 表示  $P < 0.01$ , \*\*\* 表示  $P < 0.001$ , \*\*\*\* 表示  $P < 0.0001$ 。

### 3 结论

本研究利用 CCK-8 法、形态学观察、划痕实验、流式细胞术和 Western Blot 法对人食管癌 KYSE-150 细胞在不同毛兰素浓度处理后的活性、凋亡、周期阻滞以及相关蛋白的表达进行检测。结果表明铁皮石斛毛兰素可抑制食管癌 KYSE-150 细胞的增殖, 同时促进其凋亡, 这可能与其能抑制 PI3K/Akt 信号通路有关, 毛兰素抑制 KYSE-150 细胞迁移可能与其能抑制 EMT 过程相关, 表明毛兰素可能是一种存在治疗食管癌潜力的天然产物。本研究旨在, 为铁皮石斛药理学研究、保健食品开发等提供基础实验参考, 促进相关资源的开发利用。

### 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] XIA C, DONG X, LI H, et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants [J]. Chinese Medical Journal, 2022, 135(5): 584-590.
- [3] TANIA T, BAS P L W. Current status of esophageal cancer treatment [J]. Chinese Journal of Cancer Research, 2020, 32(3): 271-286.
- [4] 杨雄涛,王鑫.食管癌综合治疗新进展[J].中国肿瘤临床,2023,50(2):98-103.
- [5] 张石玉,龚小见,周欣,等.铁皮石斛的化学成分及药理作用研究进展[J].甘肃农业大学学报,2024,59(4):257-278.
- [6] 赵菊润,赵佳琛,王艺涵,等.经典名方中石斛的本草考证[J].中国实验方剂学杂志,2022,28(10):215-228.
- [7] 倪凯,何鹏飞,梁志庆,等.铁皮石斛化学成分、药理作用及毒理学评价研究进展[J].云南中医中药杂志,2023, 44(10):86-93.
- [8] 王治丹,代云飞,罗尚娟,等.铁皮石斛化学成分及药理作用的研究进展[J].华西药理学杂志,2022,37(4):472-476.
- [9] CHEN P, WU Q, FENG J, et al. Erianin, a novel dibenzyl compound in Dendrobium extract, inhibits lung cancer cell growth and migration via calcium/calmodulin-dependent ferroptosis [J]. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2020, 5(1): 51.
- [10] 袁中伟,吴秦慧美,邓嘉强,等.毛兰素缓解金黄色葡萄球菌腹膜炎的作用机制[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2018,44(5):553-558.
- [11] 窦博.毛兰素抗溃疡性结肠炎活性的研究[D].长春:吉林

- 大学,2020.
- [12] ZHANG T, OUYANG H, MEI X, et al. Erianin alleviates diabetic retinopathy by reducing retinal inflammation initiated by microglial cells via inhibiting hyperglycemia-mediated ERK1/2-NF-kappaB signaling pathway [J]. *Faseb Journal*, 2019, 33(11): 11776-11790.
- [13] MENG X, YU X, LIU C, et al. Effect of ingredients from Chinese herbs on enterovirus D68 production [J]. *Phytotherapy Research*, 2019, 33(1): 174-186.
- [14] LI X, LIU X, XING Y, et al. Erianin controls collagen-mediated retinal angiogenesis via the RhoA/ROCK1 signaling pathway induced by the alpha2/beta1 integrin-collagen interaction [J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2022, 63(1): 27.
- [15] LIU Y T, HSIEH M J, LIN J T, et al. Erianin induces cell apoptosis through ERK pathway in human nasopharyngeal carcinoma [J]. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2019, 111: 262-269.
- [16] WANG Y, CHU F, LIN J, et al. Erianin, the main active ingredient of *Dendrobium chrysotoxum* Lindl, inhibits precancerous lesions of gastric cancer (PLGC) through suppression of the HRAS-PI3K-AKT signaling pathway as revealed by network pharmacology and *in vitro* experimental verification [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2021, 279: 114399.
- [17] ZHU Q, SHENG Y, LI W, et al. Erianin, a novel dibenzyl compound in *Dendrobium* extract, inhibits bladder cancer cell growth via the mitochondrial apoptosis and JNK pathways [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2019, 371: 41-54.
- [18] ZHANG X, WANG Y, LI X, et al. The anti-carcinogenesis properties of erianin in the modulation of oxidative stress-mediated apoptosis and immune response in liver cancer [J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(22): 10284-10300.
- [19] WANG P, JIA X, LU B, et al. Erianin suppresses constitutive activation of MAPK signaling pathway by inhibition of CRAF and MEK1/2 [J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2023, 8(1): 96.
- [20] ZHANG H Q, XIE X F, LI G M, et al. Erianin inhibits human lung cancer cell growth via PI3K/Akt/mTOR pathway *in vitro* and *in vivo* [J]. *Phytotherapy Research*, 2021, 35(8): 4511-4525.
- [21] LUO H, VONG C T, CHEN H, et al. Naturally occurring anti-cancer compounds: shining from Chinese herbal medicine [J]. *Chinese Medical Journal*, 2019, 14: 48.
- [22] XU Y, FANG R, SHAO J, et al. Erianin induces triple-negative breast cancer cells apoptosis by activating PI3K/Akt pathway [J]. *Bioscience Reports*, 2021, 41(6): 20210093.
- [23] WANG K, CHEN Q, SHAO Y, et al. Anticancer activities of TCM and their active components against tumor metastasis [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2021, 133: 111044.
- [24] 王燕,张宝,王交莉.TIPE2过表达调控Wnt/ $\beta$ -catenin抑制胃癌细胞增殖、迁移和EMT[J].*中国免疫学杂志*,2023, 39(8):1700-1705.
- [25] YANG B, CHEN Q, WAN C, et al. Transgelin inhibits the malignant progression of esophageal squamous cell carcinomas by regulating epithelial-mesenchymal transition [J]. *Frontiers in Oncology*, 2021, 11: 709486.
- [26] TEWARI D, PATNI P, BISHAYEE A, et al. Natural products targeting the PI3K-Akt-mTOR signaling pathway in cancer: A novel therapeutic strategy [J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2022, 80: 1-17.
- [27] WU N, DU Z, ZHU Y, et al. The expression and prognostic impact of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in advanced esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Technology in Cancer Research and Treatment*, 2018, 17: 1077026420.
- [28] 刘陆,高小玲,李墨颜,等.PI3K/Akt信号通路影响食管癌细胞生长的机制及中药干预作用研究进展[J].*中国实验方剂学杂志*,2020,26(14):217-224.
- [29] JIANG J H, PI J, JIN H, et al. Chinese herb medicine matrine induce apoptosis in human esophageal squamous cancer KYSE-150 cells through increasing reactive oxygen species and inhibiting mitochondrial function [J]. *Pathology Research and Practice*, 2018, 214(5): 691-699.