

# 苦参多糖促人肺癌 A549 细胞的凋亡作用

王静, 孟姝, 李芳

(江苏医药职业学院药学院, 江苏盐城 224005)

**摘要:** 探究苦参多糖对人肺癌细胞株增殖、凋亡、侵袭、迁移能力的影响。选取人肺癌 A549 细胞株, 经过培养后分为空白组、药物对照组以及低、中、高浓度组, 检测各组细胞增殖、凋亡、侵袭、迁移能力, 并对凋亡相关蛋白 Bcl-2、PI3K、Akt 表达进行测定。研究结果显示, 72 h 时高浓度组细胞增殖率为 18.65%, 凋亡率为 79.55%, 均优于其他各对照组。高浓度组细胞侵袭数、迁移数均低于其他各组 ( $p < 0.05$ )。高浓度组细胞 Bcl-2、PI3K、Akt 相对表达量分别为 0.32、0.40、0.34, 均低于其他各组 ( $p < 0.05$ )。在苦参多糖干预下, 肺癌细胞增殖率下降, 凋亡率上升, 侵袭、迁移能力受到明显的抑制, 凋亡相关蛋白 Bcl-2、PI3K、Akt 表达受到明显的调控, 且其能力呈现明显的浓度依赖性, 说明苦参多糖能够抑制肺癌细胞增殖、侵袭、迁移, 促进肺癌细胞凋亡, 为肺癌的临床治疗提供一定的理论依据。

**关键词:** 苦参多糖; 肺癌; 细胞凋亡

文章编号: 1673-9078(2019)12-54-60

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.12.008

## Apoptotic Effect of Sophora Flavescens Polysaccharide on Human Lung Cancer A549 Cells

WANG Jing, MENG Shu, LI Fang

(School of Pharmacy, Jiangsu Vocational College of Medicine, Yancheng 224005, China)

**Abstract:** To explore the effects of Sophora flavescens polysaccharide on proliferation, apoptosis, invasion and migration of human lung cancer cell lines, human lung cancer A549 cell lines were cultured and divided into blank group, drug control group and low, medium and high concentration groups. Cell proliferation, apoptosis, invasion and migration ability were detected in each group, and the expressions of apoptosis-related proteins Bcl-2, PI3K and Akt were determined. The results showed that the cell proliferation rate and apoptosis rate of the high concentration group, at 72 h, were 18.65% and 79.55% respectively, which were superior to those of the other control groups. The number of cell invasion and migration in high concentration group was lower than that in other groups ( $p < 0.05$ ). The relative expressions of Bcl-2, PI3K and Akt in high concentration group were 0.32, 0.40 and 0.34 respectively, which were lower than those in other groups ( $p < 0.05$ ). Under the intervention of Sophora flavescens polysaccharide, the proliferation rate of lung cancer cells decreased, the apoptosis rate increased, the invasion and migration ability were inhibited obviously, and the expression of apoptosis-related proteins Bcl-2, PI3K and Akt were obviously regulated, and their ability showed obvious concentration dependence. This indicated that Sophora flavescens polysaccharide could inhibit the proliferation, invasion and migration of lung cancer cells, promote apoptosis of lung cancer cells and provide a theoretical basis for clinical treatment of lung cancer.

**Key words:** sophora flavescens polysaccharides; lung cancer; apoptosis

肺癌是一种临床十分常见的呼吸系统恶性肿瘤, 对患者的身体健康甚至生命安全造成严重的威胁<sup>[1,2]</sup>。据相关流行病学调查数据显示, 相比其他恶性肿瘤, 肺癌具有高发病率、高病死率的特点, 并且肺癌发病率一直呈现上升趋势<sup>[3,4]</sup>。据世界卫生组织调查数据显

收稿日期: 2019-07-12

基金项目: 江苏省自然科学基金资助项目 (BK20180273); 江苏医药职业学院科技创新团队资助项目 (20188103); 江苏高等学校 A 类品牌药学专业建设项目 (PPZY2015A097)

作者简介: 王静 (1976-), 女, 讲师, 研究方向: 细胞凋亡与肿瘤

示, 男性肺癌症状发病率明显高于女性, 并且长期吸烟人士肺癌症状发病率是不吸烟人士的 20 倍左右, 说明长期吸烟与肺癌症状发病密切相关<sup>[5,6]</sup>。肺癌患者主要临床表现为痰中带血、咳嗽、胸闷胸痛等, 严重影响患者的生活质量, 但是目前对于肺癌的发病机制尚未研究透彻, 大多数专家认为吸烟、电离辐射以及环境污染是肺癌发病主要危险因素, 因此寻找一种安全有效的治疗手段具有重要意义<sup>[7,8]</sup>。

大量实验研究表明, 植物多糖能够调节机体免疫功能, 还具有抗肿瘤等作用, 相比临床常用的抗癌药

物, 植物多糖具有对细胞毒性作用较小的优势<sup>[9]</sup>。苦参是一种豆科植物, 在我国具有上千年的药用历史, 具有清热、杀菌、抗炎、抗病毒、抗氧化以及调节免疫等诸多药理作用<sup>[10]</sup>。近年来, 有学者在研究中提出苦参具有一定的抗肿瘤作用, 并且有越来越多的学者开始致力于苦参抗肿瘤作用的研究。有实验研究表明, 苦参能够诱导胃癌细胞自噬、凋亡, 还能够对膀胱癌组织细胞增殖、凋亡能力进行调控, 但是国内外关于苦参多糖对肺癌细胞增殖、凋亡能力影响的研究还鲜有报道。对苦参多糖影响肺癌细胞生物学行为的作用进行观察研究, 能够为肺癌症状的临床治疗提供新的思路。

大量实验研究表明, Bcl-2、PI3K、Akt 的表达与细胞凋亡密切相关<sup>[11]</sup>。本研究中设计实验, 培养人肺癌细胞株, 并且使用不同浓度苦参多糖进行干预, 对各组肺癌细胞的增殖、凋亡、侵袭、迁移能力进行检测, 并对细胞凋亡相关蛋白 Bcl-2、PI3K、Akt 的相对表达量进行检测, 以分析苦参多糖对肺癌细胞的干预效果。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

所选细胞株为人肺癌细胞株, 购于中国医学科学院肿瘤细胞库。主要试剂包括鼠抗人 Bcl-2 抗体, BD 公司; 兔抗大鼠 PI3K 抗体, Invitrogen 公司; 兔抗人 Akt 抗体, Dako 公司; MTT 试剂盒, 天根生化科技有限公司; Transwell 小室, 上海国药集团化学试剂有限公司。本研究获得我院伦理委员会批准。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 苦参多糖制备

将苦参在 70 °C 的环境下干燥 3 h, 粉碎之后过 60 目筛, 取苦参粉末 50 g, 用石油醚 500 mL 回流 2 h, 抽滤, 挥干。用 95%乙醇 500 mL 回流 2 h, 干燥得苦参药渣。加入双水相溶剂之后摇晃均匀, 在 80 °C 的环境下提取 0.5 h 之后经冷却后过滤, 使用 3000 r/min 的离心机处理滤液 5 min, 分别将上、下相转移至 25 mL 量瓶, 用去水稀释、定容, 得苦参多糖溶液。使用紫外分光光度法、红外分光光度法对提取产物结构进行分析, 该物质在 3000~3500  $\text{cm}^{-1}$  处有明显的多羟基宽峰, 1655  $\text{cm}^{-1}$  处为糖的 C=O 吸收峰, 1047  $\text{cm}^{-1}$  处有明显的 C-O-C 吸收峰; 该物质遇碘化钾溶液不变色, 在 260、280 nm 处无吸收, 说明该物质不是淀粉, 且不含蛋白质和核酸。苯酚硫酸法测得该物质在 490 nm

处有吸收峰。综合上述检测结果, 说明产物为苦参多糖类物质。

#### 1.2.2 细胞培养及分组

将冻存的人肺癌细胞株取出后, 在 40 °C 的温度中进行水浴, 并迅速进行摇晃至均匀、融化, 并将其置入 2 mL 的培养基 (10% PBS、1% 双抗 (青链霉素) RPMI-1640 培养基 500 mL) 之中, 以 1000 r/min 的离心机离心处理 5 min, 分离上清液, 并用完全培养液进行重悬, 然后传代到培养瓶内, 将培养基加至 5 mL, 并将之放入 CO<sub>2</sub> 培养箱中进行培养, 次日换液, 待细胞融合率达到 80%~90% 之时进行传代。实验分为空白组、药物对照组、低浓度组、中浓度组、高浓度组, 种板后 24 h 换无血清培养液时加入苦参多糖预处理 24 h, 细胞饥饿 24 h 后, 更换无血清培养液, 再每天加入苦参多糖, 48 h 后提取细胞蛋白。5 组细胞中分别加入 1  $\mu\text{L}$  的 PBS 溶液和无菌生理盐水、2 mg/L 顺铂溶液、5  $\mu\text{mol/L}$  浓度苦参多糖、10  $\mu\text{mol/L}$  浓度苦参多糖、20  $\mu\text{mol/L}$  浓度苦参多糖。

#### 1.2.3 细胞毒性、增殖抑制试验

使用亚甲基蓝染色法对苦参多糖细胞毒性进行试验: 将肺癌 A549 细胞悬液接种于 96 孔细胞培养板上 (每孔  $4 \times 10^4$  个), 每孔加入 100  $\mu\text{L}$  培养液, 37 °C 下培养 1 d, 待细胞贴壁生长后, 去除上清液, 用 PBS 清洗每个孔。然后每孔加入 100  $\mu\text{L}$  含不同浓度苦参多糖的培养基, 以不加苦参多糖的细胞悬液作为对照, 37 °C 下培养 1 d, 去除上清液, 用 PBS 清洗每个孔后去除溶液, 每孔加入 50  $\mu\text{L}$  亚甲基蓝着色液, 置于 37 °C 下培养 1 h。取出 96 孔细胞培养板, 去除染色液, 浸入去离子水中洗板 6 次直到去离子水变清澈透明。甩干细胞培养板中的去离子水, 每孔加入 100  $\mu\text{L}$  洗脱缓冲液, 在平板振荡器上振荡 20 min, 570 nm 下用酶标仪测定其吸光度值, 比较不同浓度苦参多糖与对照的区别, 如果苦参多糖减少超过对照的 10%, 则认为苦参多糖具有一定的细胞毒性。使用亚甲基蓝比色测定方法检测苦参多糖抗肺癌 A549 细胞增殖作用, 以半最大效应浓度 ( $\text{EC}_{50}$ ) 来判定细胞的抗增殖作用。

#### 1.2.4 MTT 检测细胞增殖能力

将培养后的细胞制成细胞悬液, 接种于 96 孔的培养板中, 在每一个孔内加入细胞悬液 90  $\mu\text{L}$ , 每一个细胞组分别设置 5 个复孔, 将顺铂溶液及不同浓度苦参多糖分别加入; 空白组细胞每孔中加入 10  $\mu\text{L}$  的培养液, 然后进行细胞培养。将培养细胞的观察时间设定为 24 h、48 h、72 h, 待各组细胞培养到相应的时间后, 在每孔中加入 20  $\mu\text{L}$  MTT 继续孵育 4 h, 将孔上的上清液仔细吸取, 然后在孔中加入 150  $\mu\text{L}$  DMSO,

振荡 10 min, 采用酶标仪测定波长为 570 nm 的细胞组 OD 值, 按照肿瘤细胞增殖率计算公式, 增殖率=实验组 OD 值/参照组 OD 值 $\times$ 100%, 对细胞增殖率进行计算。

### 1.2.5 流式细胞仪检测细胞凋亡

将 5 组肺癌细胞传代至 6 孔板之中, 并将细胞在 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 的环境中进行培养, 加入 0.25% 胰蛋白酶消化, 使用 2000 r/min 的离心机处理 5 min 后收取细胞, 并使用 PBS 缓冲液重复洗涤 2 次, 再次用 2000 r/min 的离心机处理 5 min 后收集细胞, 加入 1 mL PI 染液, 在避光的常温环境中放置 1 h 后, 用特异荧光标记后, 在鞘液包裹下高速流动, 流动期间会发射出光子, 严格按照流式细胞仪检测, 利用发光信号测量仪检测光子数值, 达到检测细胞凋亡的目的。

### 1.2.6 Transwell 小室检测细胞侵袭

使用 Transwell 试剂盒观察细胞侵袭能力。每组选 3 个复孔, 先用胰酶消化细胞, 之后使用 PBS 缓冲液清洗 1~2 次, 用 10 g/L 的 BSA 重悬细胞, 将细胞密度调整至  $1 \times 10^5$  个/mL, 取 150  $\mu$ L 细胞悬液加入到 Transwell 小室中, 培养 24 h, 之后乙醇固定 5 min, 使用结晶紫溶液染色, 在倒置显微镜下观察计数穿膜细胞。

### 1.2.7 细胞划痕实验

将肺癌细胞接种到 12 孔板中, 当细胞增长到 90% 时, 使用 100  $\mu$ L 的枪头, 垂直划出 3 条直线。之后经过 PBS 缓冲液进行清洗 2~3 次, 分别加入 0.5% 的血清培养基, 观察 24 h 之后, 使用倒置显微镜观察各组细胞的迁移变化。

### 1.2.8 Western blot 法检测 Bcl-2、PI3K、Akt 表达

使用 PBS 缓冲液清洗标本三次, 分离缓冲液之后裂解 0.5 h, 对蛋白浓度进行测定。取 20  $\mu$ g/孔蛋白质, 加入适量 SDS-PAGE 蛋白缓冲液后电泳 100 min, 在 10% 的牛奶中浸泡电转膜, 摇床上常温封闭 1.5 h; 与一抗结合之后使用 TBST 进行稀释, 并孵育、保存; 次日使用 TBST 液进行清洗, 与二抗结合后常温孵育 1 h, 再次清洗, 加入显影剂显色, 对 Bcl-2、PI3K、Akt 表达进行测定。

## 1.3 统计学处理

采用 SPSS 21.0 统计软件进行分析, 计量资料采用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 进行描述, 多组间比较采用  $F$  值检验, 两组间比较采用实施独立样本  $t$  检验,  $p < 0.05$  则说明差异具有统计学意义。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同浓度苦参多糖对肺癌细胞的抗增殖

能力和细胞毒性

本文研究结果如表 1 所示, 使用不同浓度苦参多糖对肺癌 A549 细胞进行干预, EC<sub>25</sub> 值分别为 252.36、255.49、254.64 mg/mL, EC<sub>50</sub> 值分别为 316.57、318.77、319.61 mg/mL, 未检测到肺癌 A549 细胞的毒性, 说明苦参多糖抗肺癌 A549 细胞增殖作用并不是依赖其自身的细胞毒性而引起的, 可能是由于其具有一定的抗肿瘤作用。

表 1 不同浓度苦参多糖对肺癌细胞的抗增殖能力和细胞毒性

Table 1 Anti-proliferation and cytotoxicity of different concentrations of matrine polysaccharide on lung cancer cells

| 苦参多糖浓度 | 细胞抗增殖能力                   |                           | 细胞毒性<br>(CC <sub>50</sub> , mg/mL) |
|--------|---------------------------|---------------------------|------------------------------------|
|        | EC <sub>25</sub> /(mg/mL) | EC <sub>50</sub> /(mg/mL) |                                    |
| 低浓度    | 252.36 $\pm$ 10.35        | 316.57 $\pm$ 15.36        | >350                               |
| 中浓度    | 255.49 $\pm$ 11.53        | 318.77 $\pm$ 15.42        | >350                               |
| 高浓度    | 254.64 $\pm$ 11.21        | 319.61 $\pm$ 15.29        | >350                               |

### 2.2 不同浓度苦参多糖对肺癌细胞增殖的影响

方彪彪<sup>[12]</sup>等在研究中表示, 肺癌细胞增殖率较高, 对肺癌细胞进行适当的干预后, 能够有效抑制肺癌细胞增殖。本文研究中使用苦参多糖对人肺癌细胞株进行干预, 结果如表 2 所示, 24、48、72 h 时, 药物对照组、低浓度组、中浓度组、高浓度组肺癌细胞增殖率均低于空白组, 高浓度组肺癌细胞增殖率均低于药物对照组、低浓度组、中浓度组, 差异具有统计学意义 ( $p < 0.05$ ); 并且随着时间的推移, 各组肺癌细胞增殖率均出现下降, 空白组细胞增殖率自 73.52% 下降至 64.52%, 药物对照组细胞增殖率自 50.83% 下降至 25.17%, 低浓度组细胞增殖率自 66.27% 下降至 51.22%, 中浓度组细胞增殖率自 60.46% 下降至 35.61%, 高浓度组细胞增殖率自 44.62% 下降至 18.65%。说明使用苦参多糖对肺癌细胞进行干预, 能够起到抑制肺癌细胞增殖的作用, 且具有一定的浓度依赖性。梁宗英<sup>[13]</sup>等研究结果显示, 使用 100  $\mu$ mol/L 大蒜素对肺癌细胞进行干预, 72 h 后肺癌细胞增殖率为 22.64%, 与本文研究结果相比较, 可以得出苦参多糖抑制肺癌细胞增殖的能力优于大蒜素的结论。

表 2 不同浓度苦参多糖对肺癌细胞增殖的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , %)

Table 2 Effects of sophora flavescens polysaccharide at different concentrations on proliferation of lung cancer cell

| 组别    | 增殖率            |                |                |
|-------|----------------|----------------|----------------|
|       | 24 h           | 48 h           | 72 h           |
| 空白组   | 73.52±9.92     | 69.58±9.87     | 64.52±9.53     |
| 药物对照组 | 50.83±8.23*    | 36.23±6.11*    | 25.17±4.46*    |
| 低浓度组  | 66.27±9.61*#   | 59.32±8.76*#   | 51.22±8.02*#   |
| 中浓度组  | 60.46±8.59*#△  | 50.16±7.68*#△  | 35.61±5.36*#△  |
| 高浓度组  | 44.62±7.98*#△★ | 30.15±5.77*#△★ | 18.65±4.05*#△★ |

注: 与空白组相比, \* $p<0.05$ ; 与药物对照组相比, # $p<0.05$ ; 与低浓度组相比, △ $p<0.05$ ; 与中浓度组相比, ★ $p<0.05$ 。下表同。

表 3 不同浓度苦参多糖对肺癌细胞凋亡的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , %)

Table 3 Effects of sophora flavescens polysaccharide at different concentrations on apoptosis of lung cancer cells

| 组别    | 凋亡率            |                |                |
|-------|----------------|----------------|----------------|
|       | 24h            | 48h            | 72h            |
| 空白组   | 2.11±0.64      | 2.09±0.67      | 2.13±0.65      |
| 药物对照组 | 44.17±3.87*    | 50.25±4.33*    | 71.74±5.99*    |
| 低浓度组  | 10.54±1.56*#   | 28.65±2.47*#   | 36.58±3.05*#   |
| 中浓度组  | 29.73±2.58*#△  | 47.52±3.55*#△  | 60.58±4.79*#△  |
| 高浓度组  | 50.64±4.65*#△★ | 57.85±4.73*#△★ | 79.55±6.82*#△★ |

### 2.3 不同浓度苦参多糖对肺癌细胞凋亡的影响

影响

付向春<sup>[14]</sup>等在研究中表示, 人肺癌细胞株凋亡率较低, 使用牛磺酸对人肺癌细胞株进行干预, 能够有效促进肺癌细胞凋亡。本文研究中使用苦参多糖对人肺癌细胞株进行干预, 对肺癌细胞凋亡率进行检测, 结果如表 3 所示, 24、48、72 h 时, 药物对照组、低浓度组、中浓度组、高浓度组肺癌细胞凋亡率均高于空白组, 高浓度组肺癌细胞凋亡率均高于药物对照组、低浓度组、中浓度组, 差异具有统计学意义 ( $p<0.05$ ); 并且随着时间的推移, 药物对照组、低浓度组、中浓度组、高浓度组肺癌细胞凋亡率均出现上升, 药物对照组细胞凋亡率自 44.17% 上升至 71.74%, 低浓度组细胞凋亡率自 10.54% 上升至 36.58%, 中浓度组细胞凋亡率自 29.73% 上升至 60.58%, 高浓度组细胞凋亡率自 50.64% 上升至 79.55%。说明使用苦参多糖对肺癌细胞进行干预, 能够起到促进肺癌细胞凋亡的作用, 且具有一定的浓度依赖性, 出现这一结果的原因可能是苦参多糖能够调控癌细胞凋亡相关通路, 从而促进癌细胞凋亡。

### 2.4 不同浓度苦参多糖对肺癌细胞侵袭、迁移

的影响

杜建红<sup>[15]</sup>等在研究中表示, 肺癌细胞具有较强的侵袭、迁移能力, 对肺癌细胞进行适当的干预, 能够抑制其侵袭、迁移能力。本文研究中使用苦参多糖对人肺癌细胞株进行干预, 并对肺癌细胞侵袭、迁移能力进行检测, 结果如表 4、图 1 所示, 空白组、药物对照组、低浓度组、中浓度组、高浓度组肺癌细胞侵袭细胞数分别为 81.52、33.22、65.22、47.30、26.35, 空白组肺癌细胞侵袭细胞数高于其他四组, 且高浓度组肺癌细胞侵袭细胞数低于药物对照组、低浓度组、中浓度组, 说明使用苦参多糖对肺癌细胞进行干预, 能够抑制肺癌细胞侵袭能力, 且具有一定的浓度依赖性。

表 4 不同浓度苦参多糖对肺癌细胞侵袭、迁移的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 4 Effects of sophora flavescens polysaccharide at different concentrations on invasion and migration of lung cancer cells

| 组别    | 侵袭细胞数          | 迁移细胞数          |
|-------|----------------|----------------|
| 空白组   | 81.52±8.51     | 82.64±8.02     |
| 药物对照组 | 33.22±4.96*    | 32.26±4.06*    |
| 低浓度组  | 65.22±7.67*#   | 61.58±6.97*#   |
| 中浓度组  | 47.30±6.02*#△  | 41.66±4.52*#△  |
| 高浓度组  | 26.35±4.11*#△★ | 26.11±3.85*#△★ |



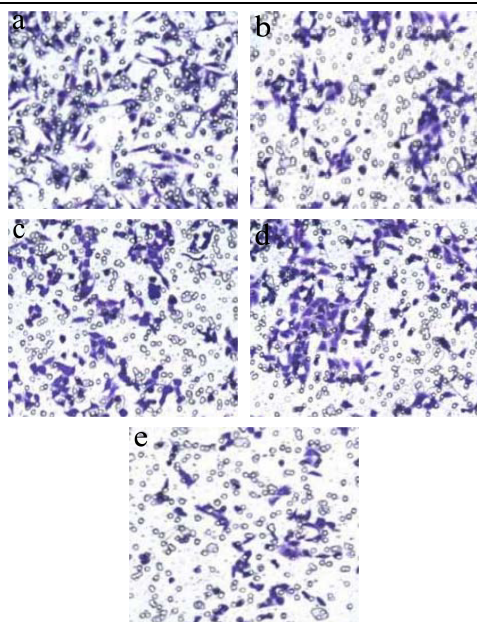


图1 不同浓度苦参多糖干预下肺癌细胞侵袭图(×200)

Fig.1 Invasion map of lung cancer cells intervened by different concentrations of sophora flavescens polysaccharide

注: a: 空白组; b: 药物对照组; c: 低浓度组; d: 中浓度组; e: 高浓度组。下同。

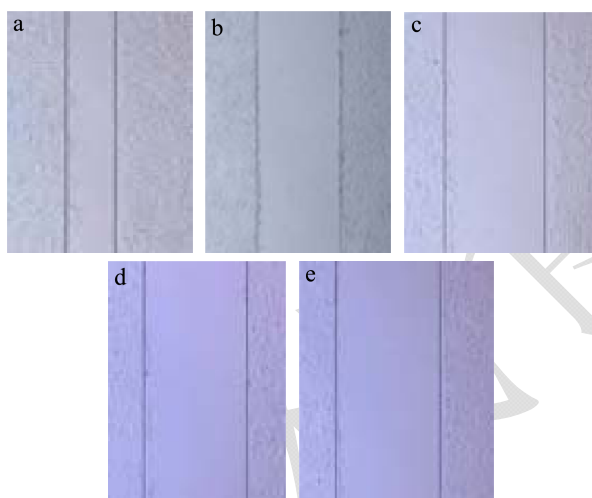


图2 不同浓度苦参多糖干预下肺癌细胞迁移图(×200)

Fig.2 Migration map of lung cancer cells intervened by different concentrations of sophora flavescens polysaccharide

如表4、图2所示,空白组、药物对照组、低浓

表5 不同浓度苦参多糖对凋亡相关蛋白 Bcl-2、PI3K、Akt 相对表达量的影响

Table 5 Effects of different concentrations of Sophora flavescens polysaccharides on the relative expression of apoptosis-related proteins

| Bcl-2, PI3K and Akt |               |               |               |
|---------------------|---------------|---------------|---------------|
| 组别                  | Bcl-2         | PI3K          | Akt           |
| 空白组                 | 1.00±0.01     | 1.00±0.01     | 1.00±0.01     |
| 药物对照组               | 0.41±0.03*    | 0.49±0.04*    | 0.40±0.04*    |
| 低浓度组                | 0.76±0.05*#   | 0.72±0.06*#   | 0.69±0.05*#   |
| 中浓度组                | 0.54±0.04*#△  | 0.61±0.05*#△  | 0.47±0.03*#△  |
| 高浓度组                | 0.32±0.03*#△★ | 0.40±0.03*#△★ | 0.34±0.03*#△★ |

度组、中浓度组、高浓度组肺癌细胞迁移细胞数分别为82.64、32.26、61.58、41.66、26.11,空白组肺癌细胞迁移细胞数高于其他四组,且高浓度组肺癌细胞迁移细胞数低于药物对照组、低浓度组、中浓度组,说明使用苦参多糖对肺癌细胞进行干预,能够抑制肺癌细胞迁移能力,且具有一定的浓度依赖性。

## 2.5 不同浓度苦参多糖对凋亡相关蛋白 Bcl-2、PI3K、Akt 相对表达量的影响

有研究者在研究中表示, Bcl-2、PI3K、Akt 的表达与细胞凋亡密切相关<sup>[16,17]</sup>。Bcl-2 是在线粒体通路中起着调节作用的一种重要基因,也是抑制细胞生长、影响细胞凋亡过程的重要基因,当 Bcl-2 的表达水平下降时,与其相关的 Bax 表达水平便会随之升高,能够起到促进组织细胞凋亡的作用,许多抗肿瘤药物就是通过对 Bcl-2 表达进行抑制来达到治疗目的<sup>[18]</sup>。PI3K 是一种磷脂酰肌醇 3 激酶,能在机体生长因子的作用下集成细胞膜<sup>[19]</sup>。Akt 是在处于 PI3K 下游的靶蛋白,将它激活后,即激活其他靶蛋白,能促使细胞生长,具有抗凋亡的作用<sup>[20]</sup>。

本文研究中对各组细胞 Bcl-2、PI3K、Akt 相对表达量进行检测,结果如表5所示,药物对照组、低浓度组、中浓度组、高浓度组肺癌细胞 Bcl-2 相对表达量分别为0.41、0.76、0.54、0.32,均低于空白组,差异具有统计学意义( $p<0.05$ );药物对照组、低浓度组、中浓度组、高浓度组肺癌细胞 PI3K 相对表达量分别为0.49、0.72、0.61、0.40,均低于空白组,差异具有统计学意义( $p<0.05$ );药物对照组、低浓度组、中浓度组、高浓度组肺癌细胞 Akt 相对表达量分别为0.40、0.69、0.47、0.34,均低于空白组,差异具有统计学意义( $p<0.05$ )。说明使用苦参多糖对人肺癌细胞株进行干预,能够通过调控凋亡相关蛋白 Bcl-2、PI3K、Akt 的表达而起到促进肺癌细胞凋亡的作用,并且具有一定的浓度依赖性。

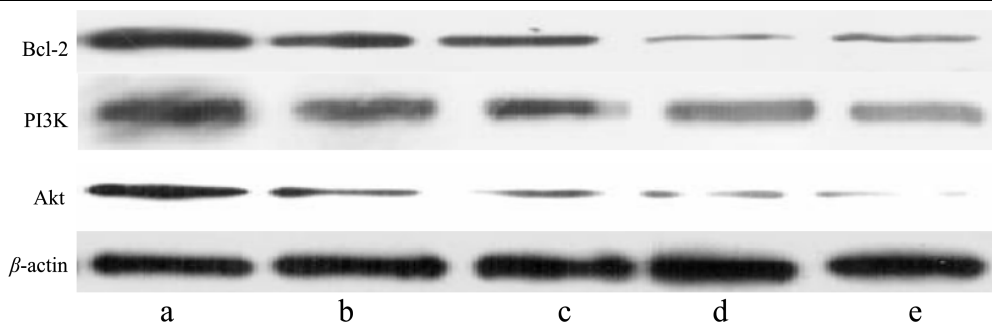


图3 Bcl-2、PI3K、Akt 表达 WB 图

Fig.3 WB map expressed by Bcl-2, PI3K and Akt

### 3 结论

3.1 研究表明,在苦参多糖的干预下,肺癌细胞增殖率明显下降,细胞凋亡率明显提升,并且随着时间的推移以及苦参多糖浓度的提升改变明显,说明使用苦参多糖对肺癌细胞进行干预,能够起到抑制肺癌细胞增殖,促进肺癌细胞凋亡的作用,且具有一定的浓度依赖性。

3.2 肺癌细胞侵袭、迁移能力较强,使用苦参多糖进行干预后,肺癌细胞侵袭、迁移细胞数均出现明显下降,凋亡相关蛋白 Bcl-2、PI3K、Akt 表达受到明显的调控,说明苦参多糖能够抑制肺癌细胞侵袭、迁移能力,促进癌细胞的凋亡。

### 参考文献

- [1] Kim Y J, Song C, Eom K Y, et al. Combined chemoradiotherapy-induced weight loss decreases survival in locally advanced non-small cell lung cancer patients [J]. *In Vivo*, 2019, 33(3):955-961
- [2] Mehlman C, Chaabane N, Lacave R, et al. Ceritinib ALK T1151R resistance mutation in lung cancer with initial response to brigatinib [J]. *J Thorac Oncol*, 2019, 14(5): 95-96
- [3] Ahn M J. Combination of osimertinib with durvalumab in epidermal growth factor receptor-mutant non-small cell lung cancer: Is there room for reinvestigation? [J]. *J Thorac Oncol*, 2019, 14(5): 766-767
- [4] Sullivan DR, Eden KB, Dieckmann NF, et al. Understanding patients' values and preferences regarding early stage lung cancer treatment decision making [J]. *Lung Cancer*, 2019, 131: 47-57
- [5] Xian H, Feng W, Zhang J. Schizandrin A enhances the efficacy of gefitinib by suppressing IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B signaling in non-small cell lung cancer [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 4
- [6] Zang S, He Q, Bao Q, et al. Establishment and validation of a novel survival prediction scoring algorithm for patients with non-small-cell lung cancer spinal metastasis [J]. *Int J Clin Oncol*, 2019, 4
- [7] Zhang J, Wang J, Qian Z, et al. CCR5 is associated with immune cell infiltration and prognosis of lung cancer [J]. *J Thorac Oncol*, 2019, 14(5): 102-103
- [8] Yan X, Qureshi M, Dyer M, et al. Stereotactic body radiation therapy with higher biologically effective dose is associated with improved survival in stage II non-small cell lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2019, 131:147-153
- [9] Jiao R, Liu Y, Gao H, et al. The anti-oxidant and antitumor properties of plant polysaccharides [J]. *Am J Chin Med*, 2016;44(3):463-88
- [10] Yim D, Kim M J, Shin Y, et al. Inhibition of cytochrome P450 activities by sophora flavescens extract and its prenylated flavonoids in human liver microsomes [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, 13: 2673769
- [11] Bao RK, Zheng SF, Wang XY. Selenium protects against cadmium-induced kidney apoptosis in chickens by activating the PI3K/AKT/Bcl-2 signaling pathway [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2017, 24(25):20342-20353
- [12] 方彪彪,张淑君,刘佳,等.苦参碱可能通过自噬抑制肺癌 A549 细胞的增殖[J].*现代肿瘤医学*,2018,26(12):1811-1815  
FANG Biao-biao, ZHANG Shu-jun, LIU Jia, et al. Matrine may inhibit the proliferation of lung cancer A549 cells through autophagy [J]. *Modern Oncology Medicine*, 2018, 26 (12): 1811-1815
- [13] 梁宗英,张乐,侯继申,等.大蒜素对肺癌细胞增殖与凋亡的影响[J].*山东医药*,2017,57(6):27-28,29  
LIANG Zong-ying, ZHANG Le, HOU Ji-shen, et al. Effects of allicin on proliferation and apoptosis of lung cancer cells [J]. *Shandong Medicine*, 2017, 57(6): 27-28, 29
- [14] 付向春,祝冬香,曾晓琦,等.牛磺酸对人肺癌细胞株 A549 细胞凋亡的影响[J].*南昌大学学报(医学版)*,2018,58(1):43-47, 52  
FU Xiang-chun, ZHU Dong-xiang, ZENG Xiao-qi, et al.

- Effects of taurine on apoptosis of human lung cancer cell line A549 [J]. Journal of Nanchang University (Medical Edition), 2018, 58(1): 43-47, 52
- [15] 杜建红,范春水,张虹,等.环巴胺对人肺癌细胞增殖、侵袭、迁移的影响及作用机制[J].山东医药,2018,58(24):50-52  
DU Jian-hong, FAN Chun-shui, ZHANG Hong, et al. Effects of cyclopatamide on proliferation, invasion and migration of human lung cancer cells [J]. Shandong Medicine, 2018, 58(24): 50-52
- [16] Badr G, Zahran AM, Omar HM, et al. Camel whey protein disrupts the cross-talk between PI3K and BCL-2 signals and mediates apoptosis in primary acute myeloid leukemia cells [J]. Nutr Cancer, 2019, 24: 1-15
- [17] Raasmaja A, Stenius U, Ghalali A. The water extract of *Juniperus communis* L. induces cell death and sensitizes cancer cells to cytostatic drugs through p53 and PI3K/Akt pathways [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(9)
- [18] Lee E F, Harris T J, Tran S, et al. BCL-XL and MCL-1 are the key BCL-2 family proteins in melanoma cell survival [J]. Cell Death Dis. 2019, 24, 10(5): 342
- [19] Ahmed ESA, Ahmed N H, Medhat A M, et al. Mesenchymal stem cells targeting PI3K/AKT pathway in leukemic model [J]. Tumour Biol. 2019, 41(4):1010428319846803
- [20] Hung CY, Lee CH, Chiou HL, et al. Praeruptorin-B inhibits 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced cell invasion by targeting AKT/NF- $\kappa$ B via matrix metalloproteinase-2/-9 expression in human cervical cancer cells [J]. Cell Physiol Biochem, 2019, 52(6): 1255-1266
- 
- (上接第 224 页)
- [45] 高年发,李小刚,杨枫.葡萄及葡萄酒中的有机酸及降酸研究[J].中外葡萄与葡萄酒,1999,4 :6-11  
GAO Nian-fa, LI Xiao-gang, YANG Feng. Studies on the organic acids and reducing acids of grapes and wines [J]. Sino-overseas Grapevine & Wine, 1999 (4): 6-11
- [46] 陶永胜,李华,王华.中国不同产区赤霞珠干红葡萄酒香气成分数据的可视化分析[J].分析化学,2008, 5:653-657  
TAO Yong-sheng, LI Hua, WANG Hua. Data visualization of wine aroma compounds of cabernet sauvignon dry red wines from different origins in China [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2008, 5: 653-657
- [47] 夏亚男,李佳颖,陈建乔,等.红枣白兰地香气成分固相微萃取条件的优化[J].食品科技,2014,4:252-257  
XIA Ya-nan, LI Jia-ying, CHEN Jian-qiao, et al. Optimization of headspace solid phase microextraction conditions for GC-MS analysis of aromatic constituents in jujube brandy [J]. Food Science and Technology, 2014, 4: 252-257
- [48] 曾朝珍,张永茂,康三江,等.发酵酒中高级醇的研究进展[J].中国酿造,2015,34(5):11-15  
ZENG Zhao-zhen, ZHANG YONG-mao, KANG San-jiang, et al. Research progress of higher alcohols in fermented wine [J]. China Brewing, 2015, 34(5): 11-15
- [49] Bover-Cid S, Iquierdo-Pulido M, Abel Maríné-Font, et al. Biogenic mono-, di- and polyamine contents in Spanish wines and influence of a limited irrigation [J]. Food Chemistry, 2006, 96(1): 43-47
- [50] Anna Halász, Ágnes Baráth, Livia Simon-Sarkadi, et al. Biogenic amines and their production by microorganisms in food [J]. Trends in Food Science & Technology, 1994, 5(2): 42-49
- [51] Bodmer S, Imark C, M. Kneubühl. Biogenic amines in foods: Histamine and food processing [J]. Inflammation Research, 1999, 48(6): 296-300
- [52] Cinquina A L, Cal A, Longo F, et al. Determination of biogenic amines in fish tissues by ion-exchange chromatography with conductivity detection [J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1032(1-2): 73-77
- [53] Lehtonen P. Determination of amines and amino acids in wine: A review [J]. Am J Enol Vitic, 2006, 47: 127-133