

扶正祛邪方抑制表观遗传调控蛋白EZH2对卵巢癌细胞的影响及其机制

王雪梅¹, 贺鸣¹, 张婷婷², 李晓华³, 王鑫⁴, 王艳春²

(1. 河南大学人民医院中医科, 郑州 450003; 2. 河南省人民医院中医科, 郑州 450003; 3. 郑州大学第一附属医院耳科, 郑州 450052; 4. 中国人民解放军联勤部队第九八九医院全科医学科, 河南 洛阳 471000)

摘要 目的 研究扶正祛邪方对卵巢癌细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭的影响及其可能的机制。方法 扶正祛邪方作用于人卵巢癌SKOV3细胞后, 通过MTT、细胞克隆、细胞划痕和Transwell实验, 检测对SKOV3细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移的影响; 通过Western blotting和实时PCR检测负性表观遗传调控蛋白EZH2及其相关蛋白E-cadherin, 以及细胞凋亡相关蛋白Bax、Bcl-2的表达水平。结果 扶正祛邪方可呈浓度及时间依赖性提高SKOV3细胞的生长抑制率, 可明显抑制SKOV3细胞的增殖、侵袭和迁移能力; Western blotting及实时PCR结果表明, 扶正祛邪方与GSK126联合能抑制EZH2及Bcl-2转录, 促进Bax、E-cadherin转录, 下调EZH2、Bcl-2蛋白表达, 促进Bax、E-cadherin蛋白表达。结论 扶正祛邪方能抑制人卵巢癌SKOV3细胞增殖和侵袭, 诱导其发生凋亡, 可能是通过抑制EZH2参与调控E-cadherin表达及卵巢癌细胞的增殖、侵袭和迁移, 并通过Bcl-2及Bax调控卵巢癌细胞的凋亡。

关键词 扶正祛邪方; 表观遗传; 卵巢癌; 细胞凋亡; 细胞增殖

中图分类号 R737.31 文献标志码 A 文章编号 0258-4646(2024)01-0001-07

网络出版地址 <https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20240103.1619.022>

DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2024.01.001

Effect of Fuzhengqixie prescription on epigenetic regulatory protein EZH2 in ovarian cancer cells and its mechanism

WANG Xuemei¹, HE Ming¹, ZHANG Tingting², LI Xiaohua³, WANG Xin⁴, WANG Yanchun²

(1. Department of Traditional Chinese Medicine, People's Hospital of Henan University, Zhengzhou 450003, China; 2. Department of Traditional Chinese Medicine, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450003, China; 3. Department of Otolaryngology, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; 4. Department of General Medicine, 989 Hospital of Joint Logistic Force of PLA, Luoyang 471000, China)

Abstract Objective To investigate the effect of Fuzhengqixie prescription on the proliferation, apoptosis, invasion, and migration of ovarian cancer cells and its associated mechanism. **Methods** After Fuzhengqixie prescription was applied to human ovarian cancer SKOV3 cells, the effects on cell proliferation, apoptosis, invasion, and migration were detected by 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide, cell cloning, cell scratch, and Transwell assay experiments. Quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (qRT-PCR) and Western blotting were used to determine the expression levels of the negative epigenetic regulatory protein, EZH2; its related protein, E-cadherin; and the apoptosis-related proteins, Bax and Bcl-2. **Results** Fuzhengqixie prescription inhibited the growth rate of SKOV3 cells in a concentration- and time-dependent manner, and significantly inhibited the proliferation, invasion, and migration of SKOV3 cells. Western blotting and qRT-PCR results showed that Fuzhengqixie prescription combined with GSK126 inhibited the transcription of EZH2 and Bcl-2, promoted the transcription of Bax and E-cadherin, down-regulated the expression of EZH2 and Bcl-2 proteins, and promoted the expression of Bax and E-cadherin proteins. **Conclusion** Fuzhengqixie prescription inhibited the proliferation, invasion, and migration of SKOV3 cells and induced their apoptosis. It may be involved in regulating the E-cadherin-mediated proliferation, invasion, and migration of ovarian cancer cells by inhibiting the epigenetic regulatory protein EZH2, and regulating the apoptosis of ovarian cancer cells mediated by Bcl-2 and Bax.

Keywords Fuzhengqixie prescription; epigenetic inheritance; ovarian cancer; apoptosis; cell proliferation

基金项目: 国家自然科学基金(U1804181); 河南省中医药管理局科学研究专项课题(20-21ZY1036); 河南省科技攻关项目(182102311187)

作者简介: 王雪梅(1978-), 女, 主任医师, 博士。

通信作者: 王艳春, E-mail: wyc88982@163.com

收稿日期: 2023-03-02

网络出版时间: 2024-01-04 19:21:11

卵巢癌是最常见的妇科恶性肿瘤之一,2018年全球新发病例超过29.5万例,死亡病例超过18.4万例^[1-2]。因其早期症状不明显,>70%患者在确诊时已发生腹腔内扩散和远处转移^[3-4],生存率<35%。虽然目前最佳的细胞减量化疗和多聚腺苷二磷酸核糖聚合酶抑制剂、贝伐单抗或靶向同源重组缺陷药物等维持治疗方式提高了部分患者的生活质量,但大多数卵巢癌患者仍存在复发和转移,平均临床缓解时间约为2年,5年生存率<45%^[5-6]。近年来,卵巢癌的发病率和死亡率呈现上升趋势^[7-8]。因此,研究卵巢癌发生发展机制,确定新的分子靶标和药物,对于卵巢癌的防治非常重要。基于中医理论“补不足,损有余”,中药扶正祛邪方已用于治疗卵巢癌多年^[9-12],但其分子机制尚不明确。

zeste增强子同源物2 (enhancer of zeste homolog, EZH2) 是一类组蛋白甲基转移酶,可通过催化组蛋白3赖氨酸27三甲基化及调控E-钙黏蛋白 (E-cadherin) 等影响卵巢细胞的增殖、迁移和侵袭^[13]。研究^[14-18]发现,EZH2表达水平越高,预示卵巢癌的分级越高、分期越晚、预后越差。本研究拟探讨扶正祛邪方与EZH2的相关性,研究扶正祛邪方对卵巢癌细胞增殖、凋亡的影响及其可能的相关机制,旨在为卵巢癌的防治提供理论基础及指导。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药材:扶正祛邪方由黄芩18 g,党参18 g,黄连18 g,天冬18 g,川芎18 g,生白术9 g,石上柏18 g,石见穿18 g,生牡蛎18 g,蜀羊泉9 g,夏枯草9 g等组成^[11-12,19-20],由河南省中医院中药房配制,常规水煎后冻干备用。

1.1.2 细胞与试剂:人卵巢癌细胞株SKOV3、人卵巢正常上皮细胞株IOSE80 (中国医学科学院基础研究所)。BCA 蛋白定量试剂盒 (碧云天生物技术有限公司);胎牛血清 (美国Gibco公司);DMEM/High Glucose培养基、RPMI 1640培养基、青霉素链霉素混合液 (美国Hyclone公司);细胞用二甲基亚砜、GSK126 (美国Sigma公司);EZH2、E-cadherin、Bcl-2、Bax、GAPDH mRNA引物、第一链cDNA 合成试剂盒、TRIzol、DEPC处理水 (上海生工生物有限公司);逆转录试剂盒 (美国Thermo公司);RNA酶抑制剂 (RNasin) (北京赛

百盛生物公司);SYBR Fast qPCR kit (美国Kapa Biosystems公司);PVDF膜 (美国Millipore公司);EZH2、E-cadherin、Bax、Bcl-2、羊抗兔 IgG 抗体 (美国CST公司),其他试剂为国产分析纯。

1.1.3 仪器:MK3酶标检测仪 (德国Thermo公司);NanoDrop 2000微量核酸定量仪 (美国Thermo Fisher公司);EVOS FL荧光显微镜 (美国Life公司);Chemi-Doc™ XRS+凝胶成像仪 (美国Bio-Rad公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养:分别用含10%胎牛血清的DMEM/High Glucose培养液和RPMI 1640培养液在37℃、5%CO₂、相对湿度98%的培养箱内培养SKOV3和IOSE80细胞,每天换液,2~3 d传代1次。

1.2.2 MTT法检测细胞增殖:将处于对数生长期且状态良好的SKOV3细胞用0.25%胰酶消化成单细胞,调整细胞密度为 5.0×10^4 /mL,接种于96孔板并培养。设置扶正祛邪方组和空白对照组。扶正祛邪方组药物浓度设为10、20、30、40、50、60、80、100、200 μg/mL,每个处理组均设置3个复孔。空白对照组加入等体积培养液。在24、48、72 h时弃上清,每孔加入5 mg/mL MTT溶液20 μL及培养液180 μL。培养5 h后,弃培养液,加入二甲基亚砜200 μL/孔,摇床上缓慢振荡10 min。酶标检测仪测定492 nm下各孔吸光度值 (optical density, OD)。细胞生长抑制率 (%) = $(1 - OD_{\text{扶正祛邪方组}} / OD_{\text{空白对照组}}) \times 100$ 。

1.2.3 MTT法检测细胞活性:收集并消化对数生长期且状态良好的IOSE80细胞,调整细胞浓度为 5.0×10^4 /mL,将单细胞悬液接种于96孔板并培养。待细胞贴壁生长后,分组及处理同1.2.2。各组细胞活性 (%) = $OD_{\text{扶正祛邪方组}} / OD_{\text{空白对照组}} \times 100$ 。

1.2.4 克隆形成实验检测细胞增殖活力:选择状态良好且处于对数生长期的SKOV3细胞,以 2×10^3 /孔接种于6孔板并培养。细胞贴壁后分为对照组、GSK126组 (EZH2抑制剂,20 μmol/L)、扶正祛邪方组 (80 μg/mL)、联合用药组,每组设置3个复孔。培养72 h后,弃培养基,加入4%多聚甲醛固定30 min,用PBS清洗1次,加入结晶紫溶液染色30 min,用双蒸水清洗。于显微镜下观察并计数,细胞数>50个的细胞群落为克隆。通过所得克隆数计算克隆形成率 (%) = 克隆数量/细胞数量 × 100。

1.2.5 Transwell实验检测细胞侵袭能力:细胞接种

及分组同1.2.4。将各组细胞密度调整至 $1 \times 10^5/\text{mL}$, 用无血清细胞培养基重悬各组细胞, 上室加入不含胎牛血清细胞悬液 $100 \mu\text{L}$, 下室加入少量含11%胎牛血清的DMEM培养基 $600 \mu\text{L}$, 24 h后, 用4%多聚甲醛固定细胞20 min后, 再用结晶紫染料行细胞染色。室温下, 在滤纸上晾干小室。倒置显微镜下观察拍照, 比较各组穿过小室的细胞个数。

1.2.6 划痕实验检测细胞迁移能力: 细胞接种及分组同1.2.4。消化并收集各组细胞, 接种于6孔板, 调整细胞密度至 $(1\sim 3) \times 10^5/\text{mL}$, 培养24 h后, 用 $20 \mu\text{L}$ 移液枪头和直尺划痕, 并按分组方法进行处理。分别在划痕后的0 h和24 h, 在光学显微镜下观察并采集细胞迁移图像。用Image J软件测试划痕面积。划痕愈合率($\%$) = $(0 \text{ h划痕宽度} - 24 \text{ h划痕宽度}) / 0 \text{ h划痕宽度} \times 100$ 。

1.2.7 实时PCR: 细胞接种及分组同1.2.4。TRIzol法提取RNA, 测定RNA的浓度和纯度($\text{OD}_{260 \text{ nm}} / \text{OD}_{280 \text{ nm}}$ 值 $1.8\sim 2.0$)。按照逆转录试剂盒说明书, 逆转录为cDNA。行PCR扩增及定量分析。反应体系为cDNA $2 \mu\text{L}$, GoTap[®] qPCR Master MIX $10 \mu\text{L}$, 引物(正向+反向)各 $0.2 \mu\text{L}$, 加无酶无菌水至 $20 \mu\text{L}$ 。PCR扩增程序: $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 15 s, $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 30 s, $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 15 s, $72 \text{ }^\circ\text{C}$, 共40个循环。融解曲线温度 $60\sim 95 \text{ }^\circ\text{C}$ 。每个样本重复3次。检测目的基因*E-cadherin*、*EZH2*、*Bax*、*Bcl-2*, 内参照基因为*GAPDH*。引物序列见表1。

表1 引物序列
Tab.1 Primer sequence

Primer	Sequence (5' - 3')
<i>EZH2</i> F	AGTGTGACCTGACCTCTGT
<i>EZH2</i> R	AGATGCTGCCAGCAATAGAT
<i>E-cadherin</i> F	CGAGAGCTACACGTTACCG
<i>E-cadherin</i> R	GGGTCTCGAGGGAAAAATAGG
<i>Bax</i> F	CCAGGACGCATCCACCAAGA
<i>Bax</i> R	TCAGCTGCCACACGGAAAGAA
<i>Bcl-2</i> F	TTCAGCCTGAGAGCAACCG
<i>Bcl-2</i> R	GAGGCTCAGGTGGACCACAG
<i>GAPDH</i> F	CCACAGTCCATGCCATCACT
<i>GAPDH</i> R	GCCTGCTTCACCACCTTCTTC

1.2.8 Western blotting: 细胞接种、分组及检测指标同1.2.4。用胰蛋白酶消化收集各组SKOV3细胞, 与细胞上清液合并, 2000 r/min 离心5 min, PBS洗2

次。RIPA充分裂解细胞后, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 12000 r/min 离心10 min。取适量上清液, 用BCA蛋白定量试剂盒检测样品蛋白浓度, 蛋白样品充分变性后, $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冻存备用。按 $30 \mu\text{g}/\text{孔}$ 上样, 行SDS-PAGE凝胶电泳, 转移至PVDF膜。5%脱脂牛乳中封闭2 h, 加入GAPDH抗体(1 : 2000稀释)及*EZH2*、*Bax*、*Bcl-2*、*E-cadherin*抗体(1 : 1000稀释), $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵育过夜。TBST洗3次后, 加入HRP标记山羊抗兔IgG二抗(1 : 5000稀释)孵育2 h, TBST洗3次, ECL显色, 凝胶成像显影, Image lab软件收集图像, Image J软件计算蛋白条带灰度。

1.3 统计学分析

采用SPSS 21.0和Graph Pad Prism 7.0软件行统计学分析。实验结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。2组间比较采用Student's *t*检验, 多组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 扶正祛邪方对人卵巢癌细胞SKOV3及人卵巢正常上皮细胞IOSE80的影响

不同浓度扶正祛邪方处理SKOV3细胞24、48、72 h后, 随着扶正祛邪方浓度增加、作用时间延长, 细胞生长抑制率也随之升高, 不同时间点间两两比较, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 药物处理24 h时生长抑制率达 $(55.38 \pm 3.22)\%$, 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 药物处理48 h时生长抑制率达 $(52.85 \pm 1.86)\%$, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 药物处理72 h时生长抑制率达 $(58.81 \pm 2.77)\%$ 。表明扶正祛邪方对SKOV3细胞有生长抑制作用, 且存在浓度和时间依赖性。见图1A。

低浓度扶正祛邪方可促进IOSE80细胞增殖, 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 药物处理24、48、72 h, 细胞活力分别达 $(123.09 \pm 7.29)\%$ 、 $(128.26 \pm 10.53)\%$ 、 $(136.23 \pm 7.00)\%$; 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 药物处理24、48、72 h, 细胞活力下降至 $(99.32 \pm 2.65)\%$ 、 $(96.65 \pm 4.16)\%$ 、 $(102.62 \pm 3.55)\%$; $> 80 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时, IOSE80细胞活性继续下降。80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 药物处理细胞72 h时细胞活力为 $(102.62 \pm 3.55)\%$, 表明此时药物对人卵巢正常上皮细胞生长干扰较小, 而在此条件下, 药物对人卵巢癌细胞SKOV3的生长抑制率达 $(68.13 \pm 0.99)\%$, 因此, 选择80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度进行后续实验。见图1B。

2.2 扶正祛邪方对人卵巢癌细胞SKOV3细胞克隆增殖

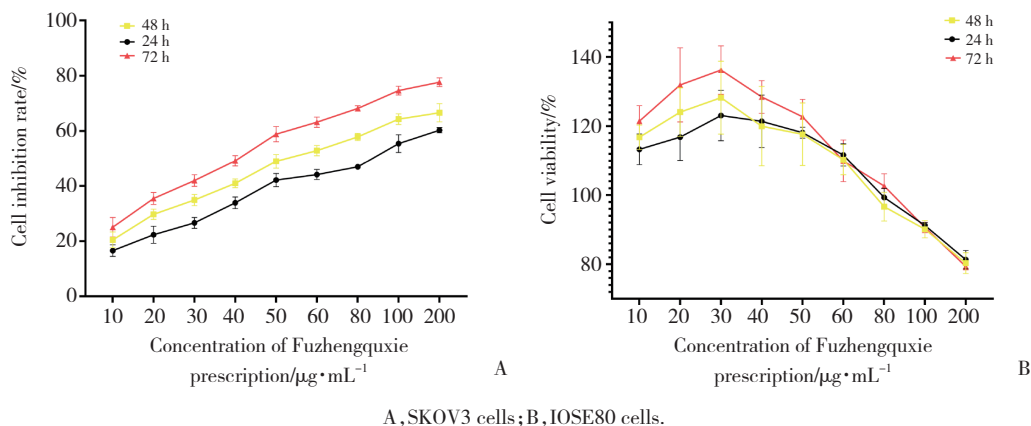


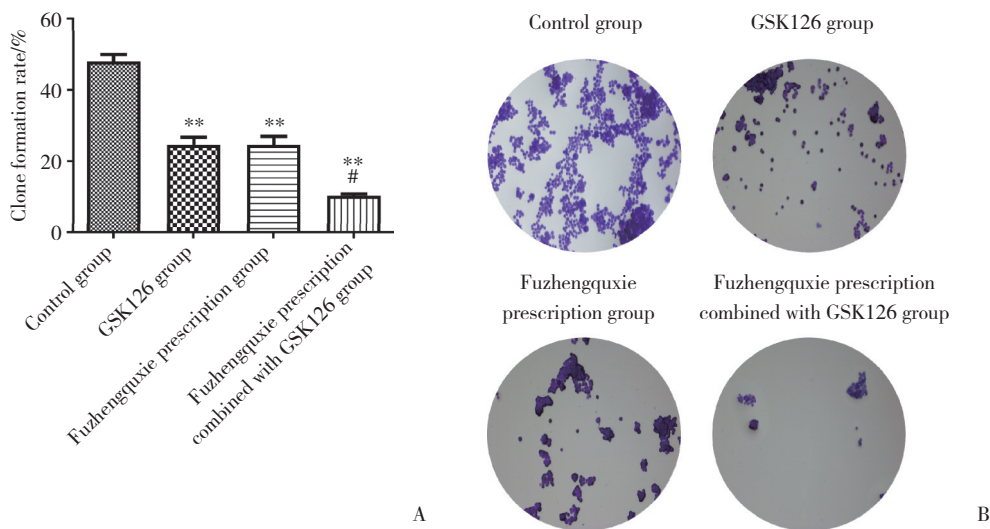
图1 扶正祛邪方对人卵巢癌SKOV3细胞和人卵巢正常上皮IOSE80细胞增殖的影响

Fig.1 The effect of Fuzhengqixie prescription on proliferation of ovarian cancer SKOV3 cells and ovarian normal epithelial IOSE80 cells

的影响

与对照组克隆形成率 $[47.94 \pm 3.50]\%$ 相比, GSK126组 $[24.68 \pm 3.50]\%$ 、扶正祛邪方组 $[24.64 \pm 4.12]\%$ 和联合用药组 $[10.28 \pm 0.95]\%$ 均显著下降(均 $P < 0.01$),且GSK126组和扶正祛邪方组的克隆形成率相近,联合用药组则显著低于这两组($P < 0.01$)。

细胞克隆结晶紫染色结果显示,对照组可见明显细胞克隆集落,联合用药组仅存在少许,GSK126组和扶正祛邪方组中的细胞克隆集落数接近且介于另外2组之间。提示扶正祛邪方和GSK126能抑制SKOV3细胞增殖,且二者联合抑制作用更强,表明扶正祛邪方和GSK126具有协同作用。见图2。



A, clone formation rate; B, cell clone experiment ($\times 10$). Compared with control group, $**P < 0.01$; compared with GSK126 group and Fuzhengqixie prescription group, $\#P < 0.01$.

图2 扶正祛邪方对人卵巢癌SKOV3细胞克隆的影响

Fig.2 The effect of Fuzhengqixie prescription on cell clone of ovarian cancer SKOV3 cell

2.3 扶正祛邪方对SKOV3细胞侵袭能力的影响

细胞结晶紫染色后,对照组中可见较多细胞,联合用药组仅有少许细胞,GSK126组和扶正祛邪方组的细胞数相近,且介于对照组和联合用药组之

间。说明GSK126组和扶正祛邪方组细胞侵袭能力相近,GSK126和扶正祛邪方均可抑制SKOV3细胞的侵袭能力,且两者具有协同作用。见图3。

2.4 扶正祛邪方对SKOV3细胞迁移能力的影响

划痕实验结果显示,划痕两侧细胞随着时间推移逐渐交汇,划痕区域减小。24 h后,GSK126组、扶正祛邪方组及联合用药组划痕愈合率显著低于对

对照组,联合用药组划痕愈合率明显低于扶正祛邪方组和GSK126组($P < 0.05$)。说明扶正祛邪方可抑制SKOV3细胞的迁移能力。见图4。

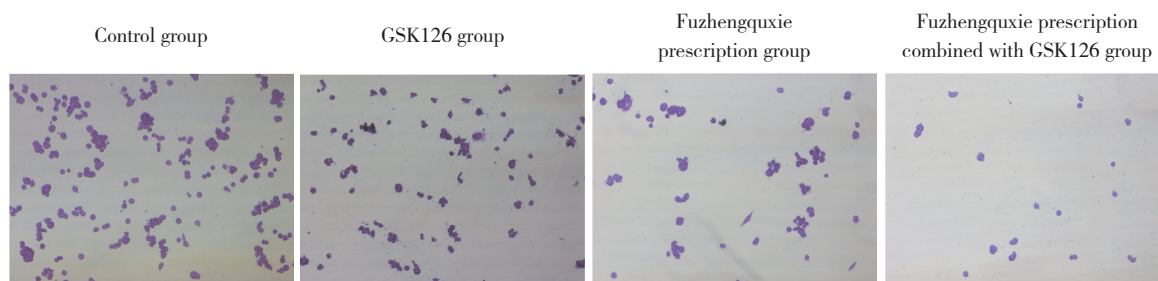
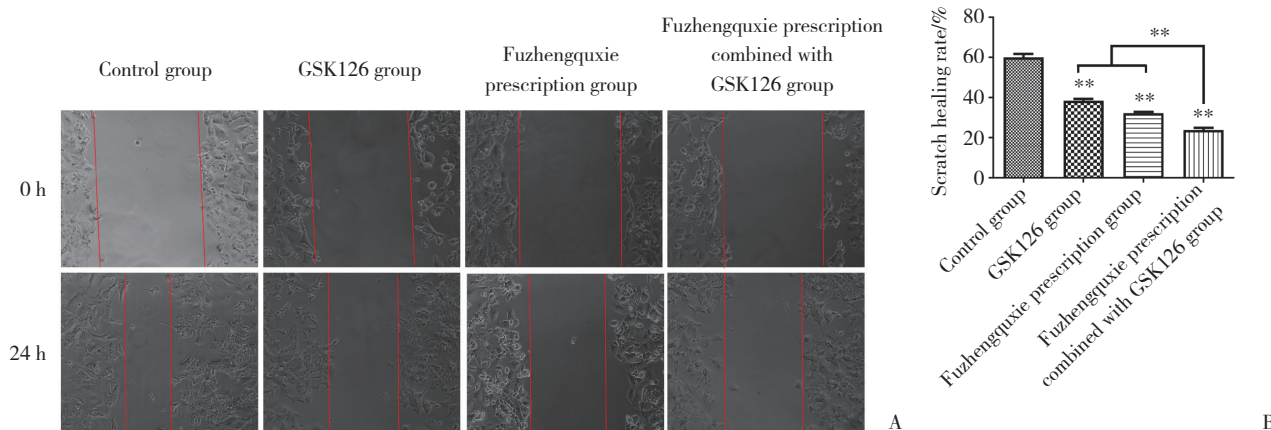


图3 扶正祛邪方对人卵巢癌SKOV3细胞侵袭能力的影响 $\times 10$

Fig.3 The effect of Fuzhengqixie prescription on cell invasion of ovarian cancer SKOV3 cell $\times 10$



A, wound healing assay images of SKOV3 cell ($\times 10$); B, statistical results of wound healing assay of SKOV3 cell. $**P < 0.01$.

图4 扶正祛邪方对人卵巢癌SKOV3细胞侵袭能力的影响

Fig.4 The effect of Fuzhengqixie prescription on cell migration of ovarian cancer SKOV3 cell

2.5 扶正祛邪方对SKOV3细胞EZH2、E-cadherin及细胞凋亡相关因子转录的影响

实时PCR结果显示,与对照组相比,GSK126组、扶正祛邪方组以及联合用药组能显著下调SKOV3细胞EZH2和Bcl-2 mRNA水平,显著上调E-cadherin和Bax mRNA水平($P < 0.01$);与GSK126组、扶正祛邪方组相比,联合用药组SKOV3细胞的EZH2、Bcl-2 mRNA下调以及E-cadherin和Bax mRNA水平上调更显著($P < 0.01$)。见图5。

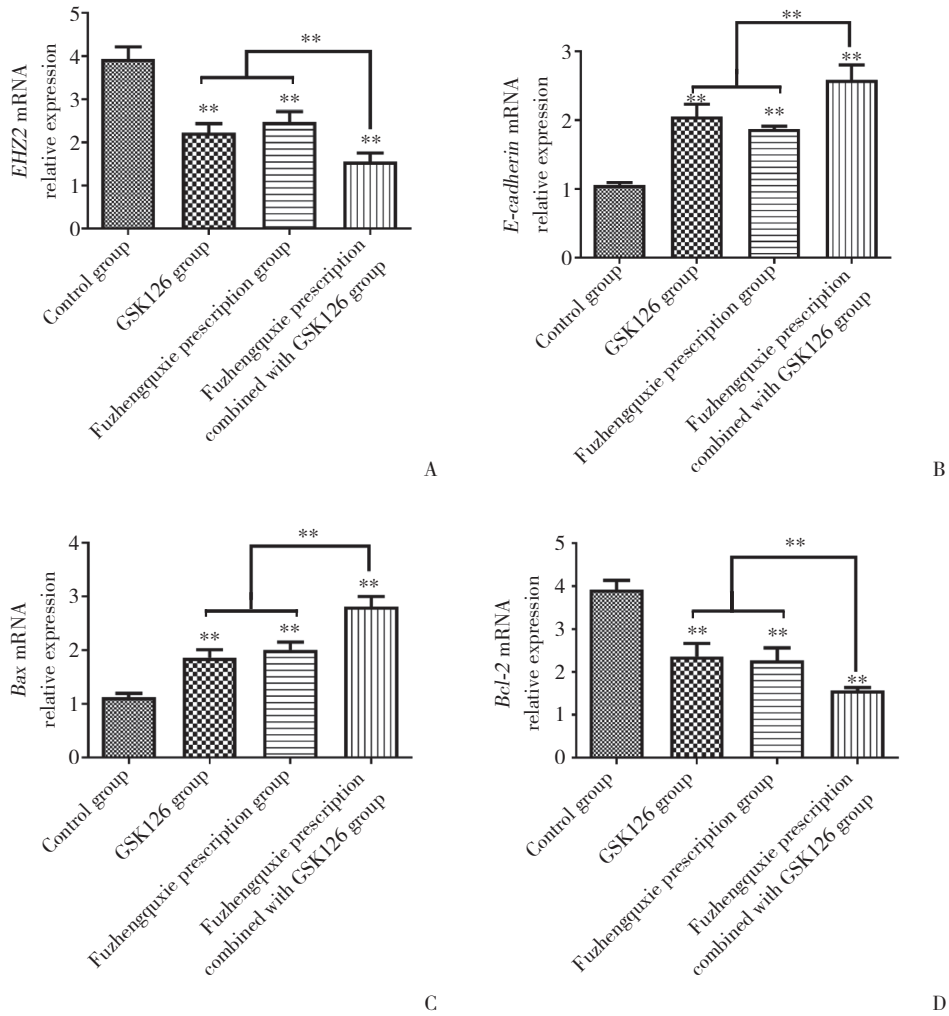
2.6 扶正祛邪方对SKOV3细胞EZH2、E-cadherin及细胞凋亡相关蛋白表达的影响

Western blotting结果显示,与对照组相比,GSK126组、扶正祛邪方组以及联合用药组SKOV3细胞EZH2

和Bcl-2蛋白表达显著下调,E-cadherin和Bax蛋白表达上调,且联合用药组的调控作用更显著,说明GSK126和扶正祛邪方对EZH2和Bcl-2表达的抑制以及对E-cadherin和Bax表达的促进具有协同作用。提示扶正祛邪方可抑制表观遗传调控蛋白EZH2,从而促进E-cadherin表达及SKOV3细胞凋亡。见图6。

3 讨论

前期研究发现,扶正祛邪方中的活性成分能抑制肿瘤细胞增殖,促进肿瘤细胞凋亡,且可能通过独立或交叉方式调控表观遗传修饰酶的活性或表达,干预关键基因的转录,从而发挥抑制肿瘤细胞增殖或诱导凋亡的作用。



A, the relative expression of *EZH2* mRNA; B, the relative expression of *E-cadherin* mRNA; C, the relative expression of *Bax* mRNA; D, the relative expression of *Bcl-2* mRNA. ** $P < 0.01$.

图5 扶正祛邪方对SKOV3细胞*EZH2*、*E-cadherin*、*Bax*、*Bcl-2* mRNA表达水平的影响

Fig.5 The effect of Fuzhengquxie prescription on *EZH2*, *E-cadherin*, *Bax*, and *Bcl-2* mRNA expression in ovarian cancer SKOV3 cells

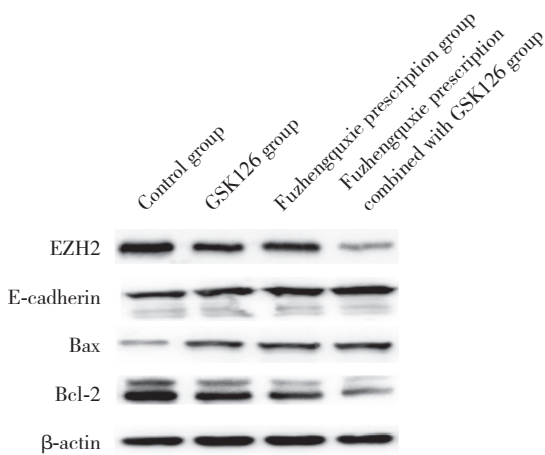


图6 扶正祛邪方对人卵巢癌SKOV3细胞*EZH2*、*E-cadherin*、*Bax*、*Bcl-2*蛋白表达的影响

Fig.6 The effect of Fuzhengquxie prescription on *EZH2*, *E-cadherin*, *Bax*, and *Bcl-2* protein expression in ovarian cancer SKOV3 cells

*EZH2*作为一种重要的负性表观遗传调控蛋白,可通过多种途径促进卵巢癌的发生与发展。*EZH2*蛋白能催化组蛋白3赖氨酸27三甲基化,参与介导PcG沉默机制,沉默的靶点基因大部分具有抑制肿瘤发生和调控细胞周期及增殖等作用;同时,*EZH2*通过抑制*E-cadherin*蛋白的表达,进一步促进卵巢癌的侵袭和转移。癌细胞无限增殖是癌症发生发展的重要机制,抑制细胞生长是抑制肿瘤生长的主要手段之一,因此,抑制*EZH2*的表达有利于抑制卵巢癌细胞增殖以及诱导癌细胞凋亡。*Bcl-2*及*Bax*是调控细胞凋亡变化的重要蛋白,其中,*Bcl-2*可抑制细胞凋亡,*Bax*可促进细胞凋亡。

本研究中的扶正祛邪方是由王艳春博士在前人的研究^[10-12]基础上总结而成,其组成成分包括黄

芩、党参、黄连、天冬、川芎、生白术、石上柏、石见穿、生牡蛎、蜀羊泉、夏枯草等。研究^[10-11]表明,黄芩、党参、白术等健脾益气中药可提高细胞免疫和体液免疫功能,并有抗肿瘤作用;天冬养阴润肺,治节有权;石上柏、石见穿清热解毒、活血止痛,主治心腹积聚;蜀羊泉清热解毒散结;生牡蛎、夏枯草等化痰散结。本研究结果显示,扶正祛邪方可抑制卵巢癌细胞SKOV3增殖,且与EZH2抑制剂GSK126联用时具有协同作用,生长抑制作用增强;划痕实验和Transwell小室检测证明,扶正祛邪方可有效抑制卵巢癌SKOV3细胞的侵袭和转移。同时,Western blotting和实时PCR结果表明,扶正祛邪方可显著下调EZH2、Bcl-2表达,同时上调E-cadherin和Bax表达,诱导卵巢癌细胞凋亡,与EZH2抑制剂GSK126联用时作用更为显著。进一步说明扶正祛邪方与EZH2抑制剂GSK126具有协同作用,可显著抑制EZH2的表达,促进E-cadherin表达,进而抑制卵巢癌细胞的增殖、侵袭、转移,促进卵巢癌细胞的凋亡。

综上所述,本研究发现,扶正祛邪方可能通过抑制EZH2的表达参与调控E-cadherin以及卵巢癌细胞增殖、侵袭和转移,并通过Bcl-2及Bax调节卵巢癌细胞的凋亡,从而抑制卵巢癌的发生发展,为扶正祛邪方用于抗肿瘤研究提供了实验基础。

参考文献:

- [1] 崔立山,林婷,徐岚溪,等. 下调基因PTG1对人胶质瘤细胞SHG44增殖、凋亡、迁移和侵袭能力的影响[J]. 中国癌症杂志,2019,29(5):338-344. DOI:10.19401/j.cnki.1007-3639.2019.05.003.
- [2] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68 (6) : 394-424. DOI: 10.3322/caac.21492.
- [3] CHEN WQ, ZHENG RS, BAADE PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA A Cancer J Clin, 2016, 66 (2) : 115-132. DOI: 10.3322/caac.21338.
- [3] CHEN WQ, ZHENG RS, BAADE PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA A Cancer J Clin, 2016, 66 (2) : 115-132. DOI: 10.3322/caac.21338.
- [4] CHIEN J, POOLE EM. Ovarian cancer prevention, screening, and early detection: report from the 11th biennial ovarian cancer research symposium [J]. Int J Gynecol Cancer, 2017, 27 (9S Suppl 5) : S20-S22. DOI: 10.1097/IGC.0000000000001118.
- [5] WANG GH, ZHUANG Z, SHEN SY, et al. Regulation of PTEN and ovarian cancer progression by an E3 ubiquitin ligase RBCK1 [J]. Hum Cell, 2022, 35 (3) : 896-908. DOI: 10.1007/s13577-022-00681-w.
- [6] CUI XJ, SONG KQ, LU XL, et al. Liposomal delivery of microRNA-7 targeting EGFR to inhibit the growth, invasion, and migration of ovarian cancer [J]. ACS Omega, 2021, 6 (17) : 11669-11678. DOI: 10.1021/acsomega.1c00992.
- [7] SEO JA, KIM B, DHANASEKARAN DN, et al. Curcumin induces apoptosis by inhibiting sarco/endoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase activity in ovarian cancer cells [J]. Cancer Lett, 2016, 371 (1) : 30-37. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.11.021.
- [8] 蒋绍艳,常宏,樊丹怡,等. 淫羊藿苷对人卵巢癌细胞株的肿瘤恶性行为的抑制作用研究[J]. 四川大学学报(医学版),2018,49(4):530-534. DOI:10.13464/j.scuxbyxb.2018.04.005.
- [9] 邹圣蕙,沈影,韩凤娟. 从伏邪理论探讨卵巢癌侵袭转移防治思路[J]. 长春中医药大学学报,2020,36(1):4-6. DOI:10.13463/j.cnki.czzy.2020.01.002.
- [10] 刘静. 陆德铭教授运用扶正祛邪法治疗乳腺癌经验[J]. 中医学报,2016,31(4):470-473. DOI:10.16368/j.issn.1674-8999.2016.04.134.
- [11] 徐静,王宇立,张素芳,等. 扶正祛邪方干预早期乳腺癌术后复发转移[J]. 中医学报,2021,36(4):875-880. DOI:10.16368/j.issn.1674-8999.2021.04.185.
- [12] 方媛,王宇立,徐静,等. 扶正祛邪方联合肿瘤深部热疗治疗晚期肺癌的临床观察[J]. 辽宁中医杂志,2021,48(2):104-106. DOI:10.13192/j.issn.1000-1719.2021.02.029.
- [13] MOORE HM, GONZALEZ ME, TOY KA, et al. EZH2 inhibition decreases p38 signaling and suppresses breast cancer motility and metastasis [J]. Breast Cancer Res Treat, 2013, 138 (3) : 741-752. DOI: 10.1007/s10549-013-2498-x.
- [14] CHEN J, HONG JH, HUANG Y, et al. EZH2 mediated metabolic rewiring promotes tumor growth independently of histone methyltransferase activity in ovarian cancer [J]. Mol Cancer, 2023, 22 (1) : 85. DOI: 10.1186/s12943-023-01786-y.
- [15] DUAN R, DU WF, GUO WJ. EZH2: a novel target for cancer treatment [J]. J Hematol Oncol, 2020, 13 (1) : 104. DOI: 10.1186/s13045-020-00937-8.
- [16] YI XQ, GUO JF, GUO J, et al. EZH2-mediated epigenetic silencing of TIMP2 promotes ovarian cancer migration and invasion [J]. Sci Rep, 2017, 7 (1) : 3568. DOI: 10.1038/s41598-017-03362-z.
- [17] GUI T, BAI HM, ZENG JF, et al. Tumor heterogeneity in the recurrence of epithelial ovarian cancer demonstrated by polycomb group proteins [J]. Onco Targets Ther, 2014, 7: 1705-1716. DOI: 10.2147/OTT.S67570.
- [18] WEN YP, HOU YY, YI XQ, et al. EZH2 activates CHK1 signaling to promote ovarian cancer chemoresistance by maintaining the properties of cancer stem cells [J]. Theranostics, 2021, 11 (4) : 1795-1813. DOI: 10.7150/thno.48101.
- [19] 王志勇. 扶正祛邪方对APP/PS1 HEK293细胞自噬功能调节作用的研究[D]. 北京:北京中医药大学,2017.
- [20] 陈玮黎,薛晓红,李思雨,等. 扶正祛邪方对三阴性乳腺癌术后复发转移及免疫功能的影响[J]. 陕西中医,2021,42(6):739-742. DOI:10.3969/j.issn.1000-7369.2021.06.015.

(编辑 王又冬)