

ISSN 1009-3079 (print)  
ISSN 2219-2859 (online)

# 世界华人消化杂志®

## WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2018 年 6 月 18 日      第 26 卷      第 17 期      (Volume 26 Number 17)



## 17/2018

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被美国《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》数据库收录.



### 述评

- 1015 肠道准备患者舒适度的研究进展

王霞, 朱秀琴

- 1022 七味白术散对菌群失调腹泻肠道微生态的调节作用

刘娅薇, 惠华英, 谭周进

### 基础研究

- 1029 溪黄草黄酮对肝癌细胞增殖, 迁移和侵袭的影响及相关机制

李晨瑜, 张喜红

### 临床研究

- 1036 基质金属蛋白酶-9、富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白检测在原发性肝癌严重程度和预后评估中的价值分析

杨建村

- 1044 有消化道症状糖尿病患者近端胃功能与血糖的关系

张月霞, 蓝宇

- 1049 高脂血症性急性胰腺炎患者进行早期降脂治疗的临床效果

覃艳琼, 沈莹, 万鸿

- 1056 结直肠癌组织中Cyr61和NF- $\kappa$ B p65的表达及其临床病理意义

吴安定, 万里鹏, 覃艳琼

### 文献综述

- 1064 应激在肠易激综合征致病机制中的作用

王玉婷, 许文燮

### 研究快报

- 1071 幽门螺杆菌对于溃疡性结肠炎发生发展的临床意义

葛永芳, 管鑫, 姜相君

### 临床实践

- 1077 家庭亲密度和适应性对肠造口患儿心理弹性的影响

金琳华, 蒋晓燕

## 消 息

- 1028 《世界华人消化杂志》栏目设置  
1048 《世界华人消化杂志》外文字符标准  
1063 《世界华人消化杂志》正文要求  
1076 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标  
1082 《世界华人消化杂志》修回稿须知

## 封面故事

孙文兵, 外科学博士, 主任医师, 教授, 博士生导师, 100043, 北京市石景山区京原路5号, 首都医科大学附属北京朝阳医院西院肝胆胰脾外科. 从事肝胆胰脾外科的临床和实验研究33年, 是北京市肝胆胰脾外科知名专家团队带头人, 北京市肝肿瘤射频消融培训基地负责人, 北京市石景山区医学重点学科负责人, 国内外首个肝血管瘤射频消融治疗专家共识负责人, 制定我国原发性肝癌消融治疗规范指南的专家组成员, 四项国家自然科学基金等多项课题的负责人. 发表SCI论文36篇, 国内期刊论文256余篇, 获全军科技进步二等奖和全军医疗成果二等奖各一项, 获全军科技进步三等奖一项. 2002年被解放军总后勤部评为科技新星, 2009年被评为首批北京市卫生系统高层次技术人才, 2016年获北京市二级教授和“名医”称号.

## 本期责任人

编务 李香; 送审编辑 崔丽君; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 崔丽君; 形式规范审核编辑部主任 马亚娟; 最终清样审核总编辑 马连生

## 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2018-06-18

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [wjgd@wjgnet.com](mailto:wjgd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路

62号, 远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被美国《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2018 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

## Contents

Volume 26 Number 17 June 18, 2018

## EDITORIAL

- 1015 Research progress on patient comfort during bowel preparation

*Wang X, Zhu XQ*

- 1022 Regulatory effect of Qiwei Baizhu powder on intestinal microecology in patients with dysbacteria associated diarrhea

*Liu YW, Hui HY, Tan ZJ*

## BASIC RESEARCH

- 1029 Effects of flavonoids from *Rabdosia serra* (Maxim.) Hara on proliferation, migration, and invasion of hepatocellular carcinoma cells

*Li CY, Zhang XH*

## CLINICAL RESEARCH

- 1036 Value of matrix metalloproteinase-9 and secreted protein acidic and rich in cysteine in evaluation of severity and prognosis of primary liver cancer

*Yang JC*

- 1044 Relationship between proximal gastric function and blood glucose in diabetic patients with and without gastrointestinal symptoms

*Zhang YX, Lan Y*

- 1049 Clinical effects of early lipid-lowering therapy in patients with hyperlipidemic acute pancreatitis

*Qin YQ, Shen Y, Wan H*

- 1056 Clinicopathologic significance of Cyr61 and NF- $\kappa$ B p65 expression in colorectal adenocarcinoma

*Wu AD, Wan LP, Qin YQ*

## REVIEW

- 1064 Role of stress in pathophysiology of irritable bowel syndrome

*Wang YT, Xu WX*

## RAPID COMMUNICATION

- 1071 Clinical significance of *Helicobacter pylori* in the growth of ulcerative colitis

*Ge YF, Guan X, Jiang XJ*

## CLINICAL PRACTICE

- 1077 Influence of family intimacy and adaptability on mental elasticity of children with intestinal stoma

*Jin LH, Jiang XY*

## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 26 Number 17 June 18, 2018

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Wen-Bing Sun, Professor, Chief Physician, Director, Department of Hepatobiliary, Pancreatic and Splenic Surgery, Affiliated Chaoyang Hospital of Capital Medical University, 5 Jingyuan Avenue, Shijingshan Distric, Beijing 100043, China

### Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, and Scopus.

### RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Li-Jun Cui* Electronic Editor: *Yan-Liang Zhang* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Li-Jun Cui* Proof Editor: *Ya-Juan Ma* Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** June 18, 2018

#### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

#### ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

#### EDITOR-IN-CHIEF

**Ying-Sheng Cheng, Professor**, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

**Shuang-Suo Dang, Professor**, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

**Xue-Liang Jiang, Professor**, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

**Lian-Xin Liu, Professor**, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

**Zhan-Ju Liu, Professor**, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

**Bin Lv, Professor**, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

**Jun-Ping Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

**Xiao-Zhong Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

**Deng-Fu Yao, Professor**, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

**Zong-Ming Zhang, Professor**, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

#### EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <http://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

#### EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [wjcd@wjgnet.com](mailto:wjcd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

#### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

#### PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

#### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 90.67 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

#### COPYRIGHT

© 2018 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

#### SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

#### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <http://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.



# 溪黄草黄酮对肝癌细胞增殖, 迁移和侵袭的影响及相关机制

李晨瑜, 张喜红

李晨瑜, 张喜红, 台州恩泽医疗中心(集团)恩泽医院药剂科 浙江省台州市 318050

李晨瑜, 药师, 主要从事临床药理学和基础药理方面的研究.

**作者贡献分布:** 此课题由李晨瑜与张喜红进行课题的设计; 研究过程由李晨瑜与张喜红完成; 研究所用的试剂由李晨瑜提供; 数据分析由李晨瑜完成; 论文写作由李晨瑜与张喜红完成.

**通讯作者:** 李晨瑜, 药师, 318050, 浙江省台州市路桥区桐杨路1号, 台州恩泽医疗中心(集团)恩泽医院药剂科. [lichenyu0530@163.com](mailto:lichenyu0530@163.com)  
电话: 0576-89218614

收稿日期: 2018-03-24  
修回日期: 2018-04-16  
接受日期: 2018-05-16  
在线出版日期: 2018-06-18

## Effects of flavonoids from *Rabdosia serra* (Maxim.) Hara on proliferation, migration, and invasion of hepatocellular carcinoma cells

Chen-Yu Li, Xi-Hong Zhang

Chen-Yu Li, Xi-Hong Zhang, Department of Pharmacy, Enze Hospital, Taizhou Grace Medical Center (Group), Taizhou 318050, Zhejiang Province, China

**Correspondence to:** Chen-Yu Li, Pharmacist, Department of Pharmacy, Luqiao Hospital, Taizhou Grace Medical Center (Group), 1 Tongyang Road, Luqiao District, Taizhou 318050, Zhejiang Province, China. [lichenyu0530@163.com](mailto:lichenyu0530@163.com)

Received: 2018-03-24  
Revised: 2018-04-16  
Accepted: 2018-05-16  
Published online: 2018-06-18

## Abstract

### AIM

To investigate the effect of flavonoids from *Rabdosia serra* (Maxim.) Hara on the proliferation, migration, and invasion of human hepatoma HepG2 cells and explore the possible mechanisms involved.

### METHODS

After HepG2 cells were treated with various concentrations of flavonoids from *Rabdosia serra* (Maxim.) Hara (0, 1, 5, 10, 20, or 40  $\mu\text{mol/L}$ ), cell viability was determined by CCK-8 assay, cell migration was examined by wound healing assay, and cell invasion was assessed by Transwell assay. Moreover, the protein expression of Notch-1, Cyclin D1, MMP-2, and MMP-9 was detected by Western blot.

### RESULTS

CCK-8 assay showed that flavonoids from *Rabdosia serra* (Maxim.) Hara decreased HepG2 cell viability in a concentration-dependent manner, with the maximal effect observed at 20  $\mu\text{mol/L}$ . Flavonoids from *Rabdosia serra* (Maxim.) significantly inhibited hepatoma cell migration and invasion. Furthermore, the protein expression of Notch-1, Cyclin D1, MMP-2, and MMP-9 was dramatically decreased after treatment with flavonoids from *Rabdosia serra* (Maxim.) Hara.

### CONCLUSION

Our data demonstrate that the flavonoids from *Rabdosia serra* (Maxim.) Hara can effectively inhibit human hepatoma HepG2 cell proliferation, migration, and invasion possibly by inhibiting the Notch-1-MMP-2/-9 and Notch-1-Cyclin D1 signaling pathways.

© The Author(s) 2018. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Flavonoids; *Rabdosia serra* (Maxim.) Hara; Proliferation; Migration; Invasion; Hepatoma cells

Li CY, Zhang XH. Effects of flavonoids from *Rabdosia serra* (Maxim.) Hara on proliferation, migration, and invasion of hepatocellular carcinoma cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2018; 26(17): 1029-1035 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v26/i17/1029.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v26.i17.1029>

## 摘要

### 目的

探讨溪黄草黄酮[Flavonoids from *Rabdosia serra* (Maxim.) Hara]对人肝癌细胞株HepG2的增殖、迁移与侵袭能力的影响, 并研究初步机制。

### 方法

CCK-8法检测不同浓度溪黄草黄酮(0、1、5、10、20和40  $\mu\text{mol/L}$ )对HepG2细胞活性的影响; 划痕实验和Transwell侵袭实验分别检测细胞的迁移和侵袭能力; Western blot检测Notch-1, Cyclin D1, MMP-2和MMP-9蛋白表达水平变化。

### 结果

CCK-8法检测结果显示溪黄草黄酮呈浓度依赖性抑制HepG2细胞的生长, 当浓度到达20  $\mu\text{mol/L}$ 时, 抑制作用达到最大; 经溪黄草黄酮干预后, HepG2细胞迁移和侵袭能力显著下降, Notch-1, Cyclin D1, MMP-2和MMP-9蛋白表达水平显著下降。

### 结论

溪黄草黄酮具有抑制肝癌细胞株HepG2增殖、迁移和侵袭的作用, 其作用机制可能与溪黄草黄酮抑制Notch-1-MMP-2/-9和Notch-1-Cyclin D1信号通路相关。

© The Author(s) 2018. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 溪黄草黄酮; 增殖; 迁移; 侵袭; 肝癌细胞

**核心提要:** 溪黄草黄酮能够抑制肝癌细胞株HepG2增殖、迁移和侵袭的恶性生物学行为, 其作用机制可能与溪黄草黄酮抑制Notch-1-MMP-2/-9和Notch-1-Cyclin D1信号通路相关。

李晨瑜, 张喜红. 溪黄草黄酮对肝癌细胞增殖, 迁移和侵袭的影响及相关机制. *世界华人消化杂志* 2018; 26(17): 1029-1035 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v26/i17/1029.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v26.i17.1029>

## 0 引言

原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是常见的致死性肿瘤之一, 主要特征是死亡率和恶性程度高, 是全世界癌症死亡的第三大原因, 仅次于胃癌和肺癌<sup>[1]</sup>. 目前对肝癌的临床治疗以手术为主<sup>[2]</sup>, 由于大部分患者确诊时已发生了临床转移, 从而导致治疗效果差, 肝癌的术后易复发<sup>[3]</sup>. 肝癌细胞不受控制的增殖和癌细胞的转移是肝癌患者死亡的主要原因<sup>[4]</sup>, 因此, 抗肝癌治疗的关键在于如何控制肝癌细胞增殖和转移侵袭。

溪黄草具有清热利湿、退黄、凉血散瘀的功能, 同时具有消炎、抗菌、抗肿瘤等功效<sup>[5]</sup>. 近来, 国内学者研究发现溪黄草水煎剂具有减少肝损伤<sup>[6,7]</sup>和抗肝癌活性<sup>[8,9]</sup>. 溪黄草黄酮是溪黄草重要的药理活性之一, 是溪黄草水溶性总黄酮部位中活性药理活性成分. 近年来, 虽然有关于溪黄草关于抗肝癌方面的研究<sup>[8,9]</sup>, 但是对于溪黄草黄酮研究尚不具体, 因此, 本实验观察溪黄草黄酮对人肝癌细胞株HepG2的增殖、迁移与侵袭的作用, 并探讨其初步作用机制。

## 1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌细胞株HepG2(中南大学湘雅医院细胞中心); 溪黄草黄酮(纯度>98%; 中南大学药学院); DMEM培养基、胰蛋白酶、CCK-8试剂(Sigma公司); Notch-1、Cyclin D1、MMP-2、MMP-9和GADPH抗体(Santa Cruz公司); Notch-1激动剂Jagged1、Notch-1抑制剂LY3039478(MedChemExpress公司)。

### 1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 将人肝癌细胞株HepG2培养在含10%胎牛血清的DMEM培养基中, 置于5% CO<sub>2</sub>、37 °C培养箱, 每2 d更换培养基; 用0.25%胰蛋白酶进行消化, 1:4传代。

1.2.2 CCK-8法检测各组细胞的细胞活力: 收集对数生长期的HepG2细胞, 胰蛋白酶消化, DMEM培养基重悬细胞调整为 $1 \times 10^5$ 个/mL, 接种于96孔板中, 每孔加入RPMI-1640培养基100  $\mu\text{L}$ , 待细胞贴壁后, 改用含1%胎牛血清的DMEM细胞培养基同步化12 h, 弃旧培养基, 更换含10%胎牛血清的DMEM细胞培养基, 然后分别加入溪黄草黄酮使得最终浓度为0、1、5、10、20和40  $\mu\text{mol/L}$ , 继续培养12、24和48 h, 滴入10  $\mu\text{L}$  CCK-8试剂, 置于37 °C、5% CO<sub>2</sub>培养箱, 4 h后, 于450 nm波长处检测各孔吸光度值(A), 每组设6复孔. 另设单孔仅加入培养基作为空白对照, 计算各组细胞的细胞活力。

1.2.3 实验分组: 实验分为空白对照组(Control), 不加任何处理; 溶剂对照组(Vehicle), 加入相应体积溶剂DMSO; 溪黄草黄酮组(Fla), 给予20  $\mu\text{mol/L}$ 溪黄草黄酮

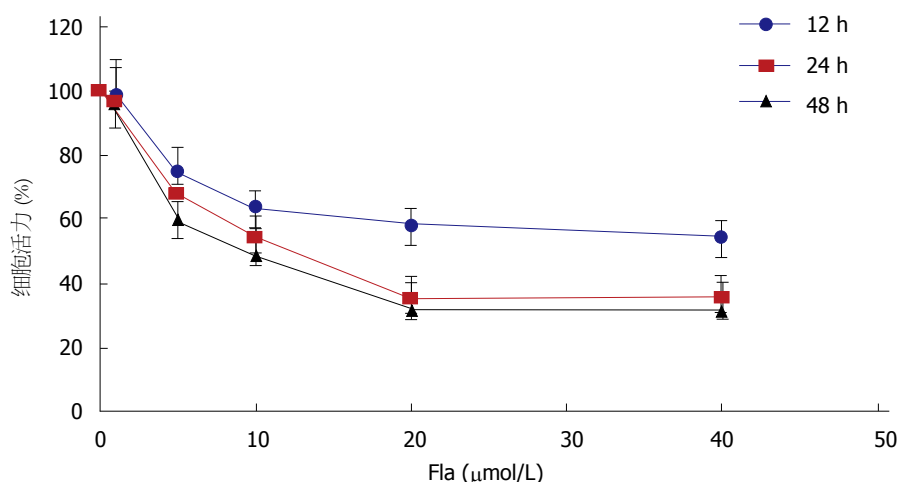


图 1 CCK-8实验检测溪黄草黄酮对HepG2细胞活力的影响( $n=3$ ).

处理24 h.

1.2.4 划痕实验: 取对数生长期的HepG2细胞以 $2 \times 10^5$ 个/mL密度接种于24孔板中. 待细胞贴壁后, 改用含1%胎牛血清的DMEM细胞培养基同步化12 h, 弃旧培养基, 更换含10%胎牛血清的DMEM细胞培养基继续培养细胞, 待细胞铺满孔底, 用枪头垂直皿底方向划痕, PBS小心清洗培养孔三次, 然后按照"1.2.3"方法分组, 并置于37 °C, 5%CO<sub>2</sub>培养箱继续培养24 h, 然后分别在0 h和24 h时使用倒置相差显微镜观察细胞划痕的修复情况, 进而通过划痕的愈合情况衡量细胞的迁移能力.

1.2.5 Transwell侵袭实验: 按照"1.2.3"方法分组并处理的细胞, 用含1%胎牛血清的DMEM细胞培养基同步化12 h后, 然后消化并收集各组细胞. 用含0.2%BSA的无血清DMEM细胞培养基重悬各组细胞, 制成细胞密度为 $2 \times 10^5$ 个/mL单细胞悬液, 200 μL细胞悬液接种至预先铺Matrigel胶的Transwell小室上室中, 下室中加入500 μL含10%胎牛血清的DMEM培养基; 将Transwell小室置于37 °C、5% CO<sub>2</sub>的培养箱, 培养24 h后, 4%多聚甲醛固定10 min, PBS洗涤, 0.1%结晶紫染色10 min, 漂洗, 棉球轻轻擦去基质胶和上室中未发生侵袭转移的细胞, 置于倒置显微镜下观察并拍照, 每孔随机计数6个视野, 计算穿膜细胞数取平均值并进行统计学分析.

1.2.6 Western blot检测相关蛋白表达: 按照"1.2.3"方法分组并处理的细胞, 待细胞达到观测时间点时, 弃培养基, PBS洗2次, 加入裂解液裂解细胞, 提取总蛋白, Bradford比色法测定蛋白质浓度, 取相同质量的总蛋白, 加入等体积的2×电泳加样缓冲液, 电泳, 转移至PVDF膜上, 加入封闭液封闭1 h, 加入对应一抗, 4 °C孵育过夜, 再加入相应二抗, 室温孵育2 h, 化学发光法显色, 成像扫描分析系统保存图像.

**统计学处理** 实验数据采用SPSS15.0软件统计分析,

计量资料数据采用mean±SD表示, 多组间均数差异性比较采用单因素方差分析, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 溪黄草黄酮对HepG2细胞活力的影响 给予0-40 μmol/L的溪黄草黄酮分别处理HepG2细胞12、24和48 h后, 细胞的活力变化如图1所示, 溪黄草黄酮浓度依赖性和时间依赖性抑制HepG2细胞活力, 20 μmol/L和40 μmol/L的溪黄草黄酮处理HepG2细胞24 h与48 h, 细胞的活力显著低于其他组( $P<0.05$ ), 且20 μmol/L与40 μmol/L溪黄草黄酮培养处理24 h与48 h时, HepG2细胞活力无统计学差异( $P>0.05$ ), 综合考虑结果, 20 μmol/L的溪黄草黄酮处理24 h为溪黄草黄酮的最佳作用条件, 后续实验均采用此条件.

2.2 溪黄草黄酮对HepG2细胞迁移能力的影响 划痕实验通过创伤愈合的情况来衡量癌细胞的迁移能力. 结果如图2所示, 对照组(Control组)、溶剂对照组(Vehicle组)和溪黄草黄酮组(Fla组)HepG2细胞相对迁移率分别为 $81.2\% \pm 9.4\%$ 、 $79.6\% \pm 8.9\%$ 和 $32.6\% \pm 4.3\%$ ; 与对照组相比, 溪黄草黄酮组HepG2细胞相对迁移率明显降低( $P<0.01$ ). 结果表明, 溪黄草黄酮可抑制HepG2细胞迁移.

2.3 溪黄草黄酮对HepG2细胞侵袭能力的影响 Transwell细胞侵袭实验用于检测溪黄草黄酮对HepG2细胞侵袭能力的影响. 检测结果如图3所示, 对照组(Control组)、溶剂对照组(Vehicle组)和溪黄草黄酮组(Fla组)HepG2细胞侵袭数目分别为 $425 \pm 43$ 、 $416 \pm 41$ 和 $86 \pm 12$ ; 与对照组相比, 溪黄草黄酮组HepG2细胞侵袭数目明显减少( $P<0.01$ ). 结果表明, 说明溪黄草黄酮可抑制HepG2细胞侵袭能力.



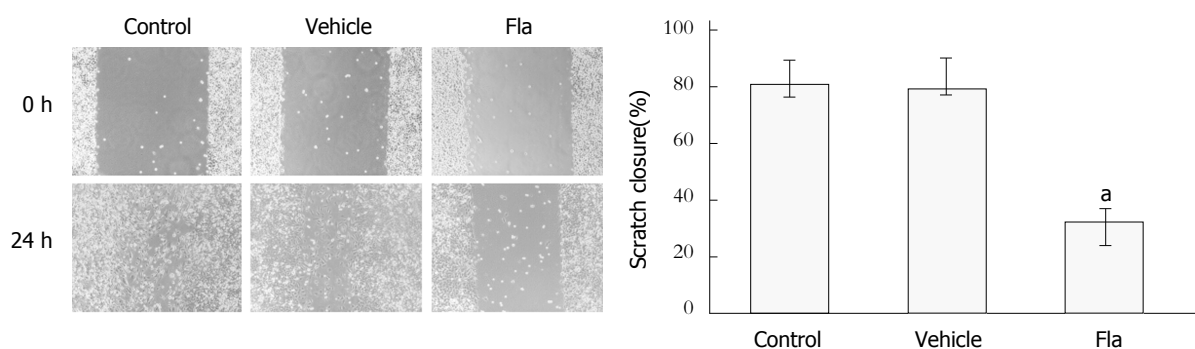


图 2 划痕实验检测20  $\mu\text{mol/L}$ 溪黄草黄酮对HepG2迁移能力的影响。<sup>a</sup> $P<0.05$ , 与对照组相比,  $n=3$ 。

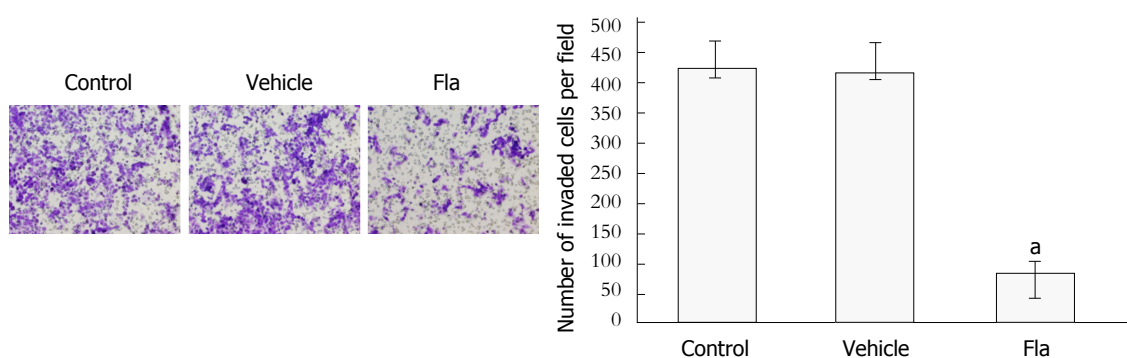


图 3 Transwell细胞侵袭检测20  $\mu\text{mol/L}$ 溪黄草黄酮对HepG2侵袭能力的影响。<sup>a</sup> $P<0.05$ , 与对照组相比,  $n=3$ 。

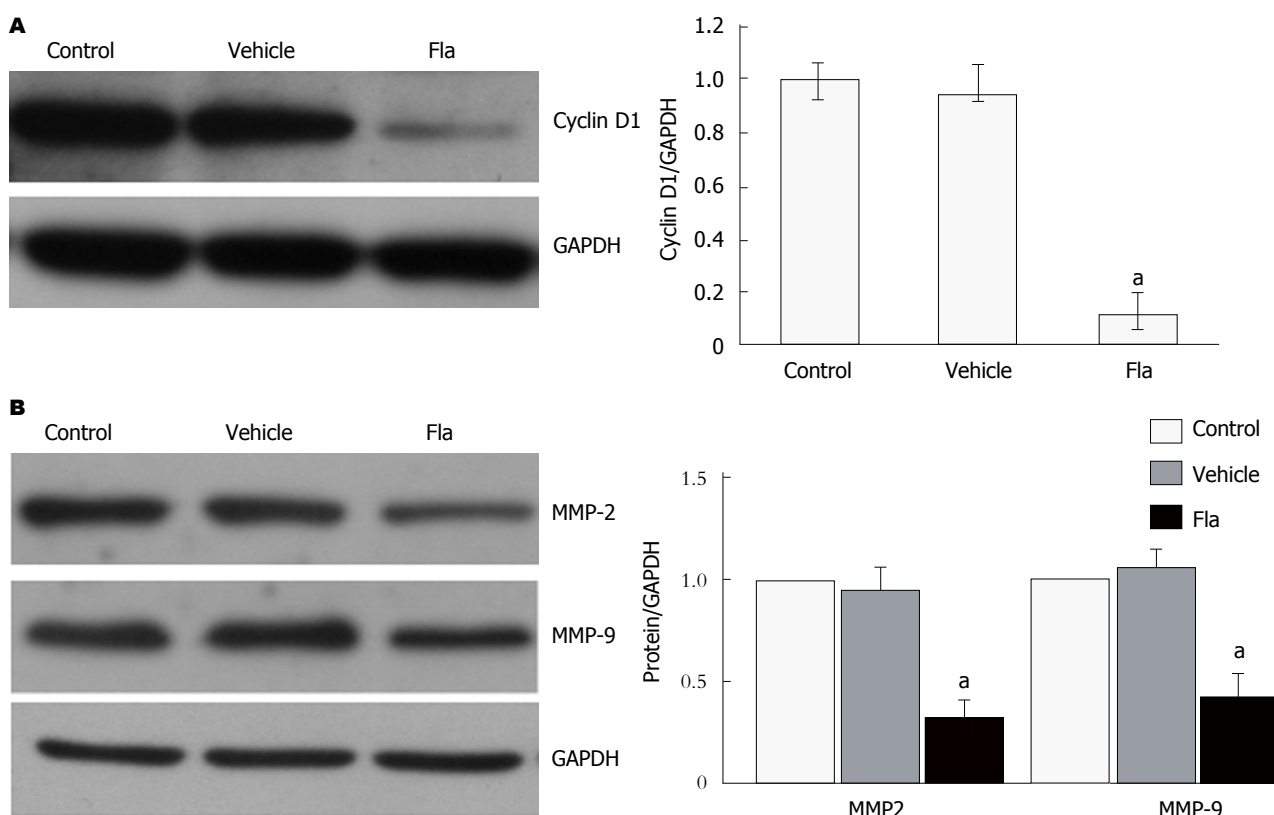


图 4 溪黄草黄酮对Cyclin D1、MMP-2和MMP-9蛋白表达水平的影响。A: 溪黄草黄酮对Cyclin D1蛋白表达水平的影响; B: 溪黄草黄酮对MMP-2和MMP-9蛋白表达水平的影响。<sup>a</sup> $P<0.05$ , 与对照组相比,  $n=3$ 。

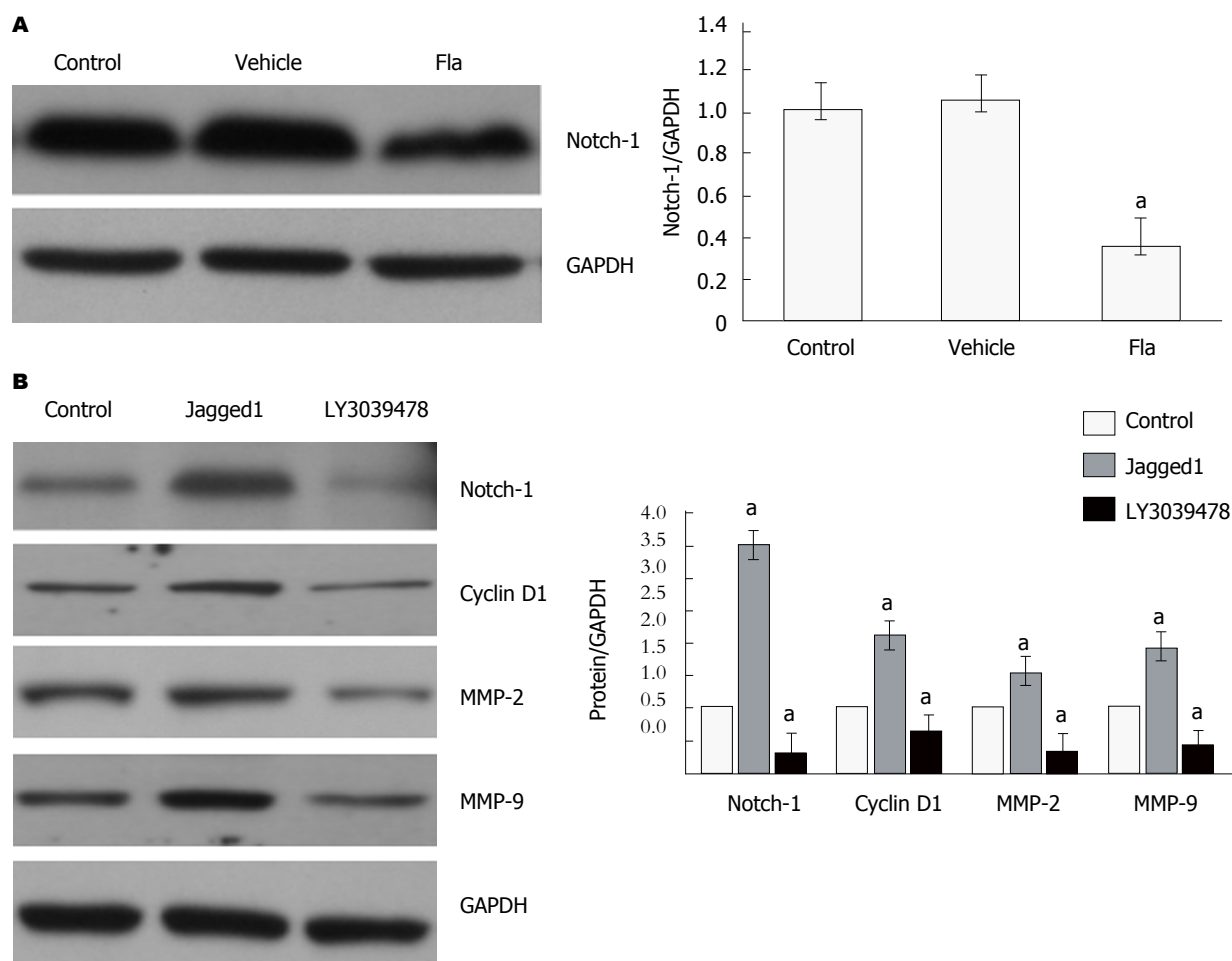


图 5 溪黄草黄酮对Notch-1信号的影响. A: 溪黄草黄酮对Notch-1蛋白表达水平的影响; B: Notch-1激动剂Jagged1和Notch-1抑制剂LY3039478分别对Cyclin D1、MMP-2和MMP-9蛋白表达水平的影响. <sup>a</sup> $P < 0.05$ , 与对照组相比,  $n = 3$ .

2.4 溪黄草黄酮对CyclingD1、MMP-2和MMP-9的蛋白表达的影响 免疫印迹法结果显示, 如图4所示, 与对照组相比, 给予20  $\mu\text{mol/L}$ 溪黄草黄酮处理后, HepG2细胞中CyclingD1、MMP-2和MMP-9的蛋白表达水平显著降低( $P < 0.05$ ).

2.5 溪黄草黄酮对Notch-1信号的影响 免疫印迹法结果显示, 如图5所示, 与对照组相比, 给予20  $\mu\text{mol/L}$ 溪黄草黄酮处理后, HepG2细胞中Notch-1的蛋白表达水平显著降低( $P < 0.05$ ). 进一步, 采用Notch-1激动剂Jagged1和Notch-1抑制剂LY3039478处理细胞, 发现Jagged1能上调Cyclin D1、MMP-2和MMP-9蛋白表达水平( $P < 0.05$ ), LY3039478能下调Cyclin D1、MMP-2和MMP-9蛋白表达水平( $P < 0.05$ ).

### 3 讨论

肝癌是消化系统恶性肿瘤中常见的恶性肿瘤之一, 其发病率和死亡率居消化系统恶性肿瘤的第二位, 且随着生活方式的改变和人口的老齡化呈明显上升趋势<sup>[1]</sup>. 另外, 肝癌具有因起病隐匿, 极易发生侵袭、转移且复

发率高、预后差的特点<sup>[3]</sup>. 因此, 研究肝癌肿瘤细胞的生长和侵袭转移机制非常必要. 为此, 本研究从HepG2细胞的细胞增殖、迁移和侵袭探讨溪黄草黄酮的抗肝癌作用.

肿瘤细胞不受控制的增殖是肿瘤发生的根本原因<sup>[10]</sup>, 所以抑制恶性肿瘤细胞增殖是治疗肿瘤的关键. 本研究首先采用CCK-8法检测溪黄草黄酮对HepG2细胞活力的影响, 发现溪黄草黄酮呈浓度依赖性抑制HepG2细胞的生长, 当浓度到达20  $\mu\text{mol/L}$ 时, 抑制作用达到最大. 细胞的增殖是通过细胞周期运行完成, 而细胞周期的运行受到周期相关蛋白、激酶和激酶抑制因子共同调控的影响<sup>[11]</sup>. 其中, Cyclin D1是G1期细胞增殖信号的关键周期蛋白, 其过度表达可致细胞增殖失控, 而抑制Cyclin D1表达可抑制细胞周期运行和细胞增殖<sup>[12]</sup>. 因此, 本研究进一步采用Western blot检测溪黄草黄酮对HepG2细胞Cyclin D1表达的影响, 发现溪黄草黄酮能抑制HepG2细胞Cyclin D1表达.

肿瘤侵袭转移是恶性肿瘤的基本生物学特征之一, 也是绝大多数肿瘤患者死亡的重要原因之一<sup>[13]</sup>. 本

研究采用细胞划痕实验和Transwell细胞侵袭实验检测溪黄草黄酮对HepG2细胞侵袭转移能力的影响, 发现, 溪黄草黄酮能抑制HepG2细胞侵袭转移. MMPs是一类锌依赖性的蛋白水解酶, 与肿瘤转移转移及血管重塑密切相关, 在肿瘤的侵袭转移过程中起重要作用<sup>[14]</sup>. 因此, 本研究进一步采用Western blot检测溪黄草黄酮对HepG2细胞MMP-2和MMP-9表达的影响, 发现溪黄草黄酮能抑制HepG2细胞MMP-2和MMP-9表达.

另外, 有研究发现肝癌组织中Notch-1呈高表达, 且与肝癌的转移相关<sup>[15]</sup>. 在肝癌细胞上, 另有研究同样发现Notch-1与其下游因子Hes1呈高表达, 上调Notch-1后, 肝癌细胞的增殖及侵袭转移能力增强<sup>[16]</sup>. 暗示, Notch-1信号通路参与调控肝癌的增殖及侵袭转移. 本研究发现溪黄草黄酮能抑制HepG2细胞Notch-1表达. 并进一步采用, Notch-1激动剂Jagged1、Notch-1抑制剂LY3039478分别处理HepG2细胞, 发现Jagged1能上调Cyclin D1、MMP-2和MMP-9蛋白表达水平, LY3039478能下调Cyclin D1、MMP-2和MMP-9蛋白表达水平. 说明, 溪黄草黄酮通过抑制Notch-1-Cyclin D1信号通路抑制HepG2细胞增殖, 通过抑制Notch-1-MMP-2/-9信号通路抑制HepG2细胞迁移和侵袭.

总之, 溪黄草黄酮可通过抑制Notch-1信号通路抑制HepG2细胞的增殖, 迁移与侵袭. 本实验为溪黄草黄酮抗肝癌提供了重要的实验依据.

## 文章亮点

### 实验背景

肝癌是常见的消化系统恶性肿瘤之一, 死亡率位于所有肿瘤第三位. 且近年来, 肝癌的发病率呈上升趋势. 肝癌因起病隐匿, 大部分患者确诊时已是晚期, 且该病极易发生侵袭、转移, 手术难以根除. 肿瘤切除术及术后辅以基础化疗是标准的肝癌治疗方法. 但目前的化疗药物易出现耐药性, 导致临床上治疗效果不佳以及预后不良. 因此, 希望从祖国医学提取物筛选出毒副作用小的抗肿瘤药物.

### 实验动机

目前研究发现溪黄草具有抗肿瘤活性, 而不同的提取方法和提取活性部位, 溪黄草提取物的抗肿瘤活性并不一致. 溪黄草黄酮是溪黄草重要的药理活性之一, 是溪黄草水溶性总黄酮部位中活性药理活性成分. 因此, 本实验观察溪黄草黄酮对人肝癌细胞株HepG2的增殖、迁移与侵袭的作用, 并探讨其初步作用机制.

### 实验目标

本研究通过观察溪黄草黄酮对人肝癌细胞株HepG2的

增殖、迁移与侵袭能力的影响, 并研究初步机制. 为溪黄草黄酮作为开发为抗肝癌药物提供实验理论依据.

### 实验方法

本研究首先采用CCK-8法检测不同浓度溪黄草黄酮(0、1、5、10、20和40  $\mu\text{mol/L}$ )对HepG2细胞活性的影响; 再使用划痕实验和Transwell侵袭实验分别检测细胞的迁移和侵袭能力; 最后采用Western blot检测Notch-1, Cyclin D1, MMP-2和MMP-9蛋白表达水平变化, 分析潜在的作用机制.

### 实验结果

本研究发现, 溪黄草黄酮呈浓度依赖性抑制HepG2细胞的生长, 当浓度到达20  $\mu\text{mol/L}$ 时, 抑制作用达到最大; 经溪黄草黄酮干预后, HepG2细胞迁移和侵袭能力显著下降, Notch-1, Cyclin D1, MMP-2和MMP-9蛋白表达水平显著下降.

### 实验结论

本研究发现, 溪黄草黄酮具有抑制肝癌细胞株HepG2增殖、迁移和侵袭的作用, 其作用机制可能与溪黄草黄酮抑制Notch-1-MMP-2/-9和Notch-1-Cyclin D1信号通路相关.

### 展望前景

本研究发现, 溪黄草黄酮通过抑制Notch-1-MMP-2/-9和Notch-1-Cyclin D1信号通路具有抑制肝癌细胞株HepG2增殖、迁移和侵袭. 这为溪黄草黄酮在抗肝癌方面的研究指出了一个研究方向. 今后, 我们可以用溪黄草黄酮处理多种肝癌细胞系, 然后对比正常肝细胞, 检验抗肝癌的同时是否具有细胞毒性, 筛选最佳各种肝癌细胞系作用浓度; 或者尝试溪黄草黄酮是否能增强肝癌细胞对常规化疗药物的敏感性等方面的研究.

## 4 参考文献

- Kim SH, Park YN, Lim JH, Choi GH, Choi JS, Kim KS. Characteristics of combined hepatocellular-cholangiocarcinoma and comparison with intrahepatic cholangiocarcinoma. *Eur J Surg Oncol* 2014; 40: 976-981 [PMID: 24909336 DOI: 10.1016/j.ejso.2014.04.016]
- Tang H, Lu W, Yang Z, Jiang K, Chen Y, Lu S, Dong J. Risk factors and long-term outcome for postoperative intra-abdominal infection after hepatectomy for hepatocellular carcinoma. *Medicine (Baltimore)* 2017; 96: e6795 [PMID: 28445320 DOI: 10.1097/MD.0000000000006795]
- Zeeneldin AA, Eid SM, Darweesh AD, Moneer MM, Saadeldin M. Tamoxifen compared to best supportive care in advanced hepatocellular carcinoma: A retrospective matched-cohort study. *J Egypt Natl Canc Inst* 2014; 26: 1-7 [PMID: 24565676 DOI: 10.1016/j.jnci.2013.03.005]
- Jiang D, Cho W, Li Z, Xu X, Qu Y, Jiang Z, Guo L, Xu G. MiR-758-3p suppresses proliferation, migration and invasion of hepatocellular carcinoma cells via targeting MDM2

- and mTOR. *Biomed Pharmacother* 2017; 96: 535-544 [PMID: 29032337 DOI: 10.1016/j.biopha.2017.10.004]
- 5 谢兴亮, 盛艳梅. 溪黄草的研究进展. *医药导报* 2011; 30: 494-497 [DOI: 10.3870/yydb.2011.04.032]
- 6 刘银花, 陈秀琴, 沈婕, 艾文利. 溪黄草水煎剂对大鼠急性肝损伤的保护作用. *山东中医杂志* 2007; 26: 565-566 [DOI: 10.3969/j.issn.0257-358X.2007.08.032]
- 7 韩坚, 钟志勇, 林煌权, 韩强, 吴清和. 溪黄草茶浸膏对化学性肝损伤的保护作用. *中药新药与临床药理* 2005; 16: 414-417 [DOI: 10.3321/j.issn:1003-9783.2005.06.008]
- 8 陈源红, 曾怡, 罗艳红. 溪黄草对肝癌细胞HepG2增殖及凋亡的影响. *山东大学学报(医学版)* 2013; 51: 42-45 [DOI: 10.6040/j.issn.1671-7554.2013.11.009]
- 9 王佐, 王璐, 陈忠正, 劳扬, 刘杏宜, 高雄, 燕妮, 林晓蓉, 张媛媛, 李斌. 冬凌草甲素诱导小鼠肝癌细胞醌还原酶活性及其机理研究. *食品科学* 2017; 38: 193-200 [DOI: 10.7506/spkx1002-6630-201707031]
- 10 Zhou X, Yang F, Yang Y, Hu Y, Liu W, Huang C, Li S, Chen Z. HBV Facilitated Hepatocellular Carcinoma Cells Proliferation by Up-Regulating Angiogenin Expression Through IL-6. *Cell Physiol Biochem* 2018; 46: 461-470 [PMID: 29614505 DOI: 10.1159/000488614]
- 11 Turkekul K, Colpan RD, Baykul T, Ozdemir MD, Erdogan S. Esculetin Inhibits the Survival of Human Prostate Cancer Cells by Inducing Apoptosis and Arresting the Cell Cycle. *J Cancer Prev* 2018; 23: 10-17 [PMID: 29629344 DOI: 10.15430/JCP.2018.23.1.10]
- 12 Borello U, Berarducci B, Delahaye E, Price DJ, Dehay C. SP8 Transcriptional Regulation of Cyclin D1 During Mouse Early Corticogenesis. *Front Neurosci* 2018; 12: 119 [PMID: 29599703 DOI: 10.3389/fnins.2018.00119]
- 13 Huang L, Zhou Y, Cao XP, Lin JX, Zhang L, Huang ST, Zheng M. KPNA2 promotes migration and invasion in epithelial ovarian cancer cells by inducing epithelial-mesenchymal transition via Akt/GSK-3 $\beta$ /Snail activation. *J Cancer* 2018; 9: 157-165 [PMID: 29290781 DOI: 10.7150/jca.20879]
- 14 Chien YC, Liu LC, Ye HY, Wu JY, Yu YL. EZH2 promotes migration and invasion of triple-negative breast cancer cells via regulating TIMP2-MMP-2/-9 pathway. *Am J Cancer Res* 2018; 8: 422-434 [PMID: 29636998]
- 15 Han B, Liu SH, Guo WD, Zhang B, Wang JP, Cao YK, Liu J. Notch1 downregulation combined with interleukin-24 inhibits invasion and migration of hepatocellular carcinoma cells. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 9727-9735 [PMID: 26361419 DOI: 10.3748/wjg.v21.i33.9727]
- 16 You K, Sun P, Yue Z, Li J, Xiong W, Wang J. NOR1 promotes hepatocellular carcinoma cell proliferation and migration through modulating the Notch signaling pathway. *Exp Cell Res* 2017; 352: 375-381 [PMID: 28232113 DOI: 10.1016/j.yexcr.2017.02.032]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁







Published by **Baishideng Publishing Group Inc**  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,  
CA 94588, USA  
Fax: +1-925-223-8242  
Telephone: +1-925-223-8243  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

