

荷包牡丹碱对人肝癌 MHCC97-H 细胞转移、侵袭的影响及机制研究

郭 锰, 张成辉*, 吴婷婷

南阳市中心医院 肿瘤内科, 河南 南阳 473009

摘要:目的 探讨荷包牡丹碱对人肝癌 MHCC97-H 细胞转移、侵袭的影响及潜在机制。方法 体外培养 MHCC97-H 细胞至对数生长期, 分别经 5、10、25、50、100 $\mu\text{mol/L}$ 荷包牡丹碱处理 24、48、72 h, MTT 法检测细胞增殖能力。5、10、25 $\mu\text{mol/L}$ 荷包牡丹碱处理 MHCC97-H 细胞 24 h, MTT 法检测细胞黏附能力, 细胞划痕实验检测细胞转移能力, Transwell 小室实验检测细胞侵袭能力, 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 实验检测 VEGF、MMP-2 及 MMP-9 基因表达水平, 蛋白免疫印迹实验检测 p-JAK2 及 p-STAT3 蛋白表达水平。**结果** 25 $\mu\text{mol/L}$ 荷包牡丹碱处理 MHCC97-H 细胞 48、72 h 及 50、100 $\mu\text{mol/L}$ 荷包牡丹碱处理 24、48、72 h 后的细胞活力下降明显, 与对照组比较, 差异显著 ($P < 0.05$ 、 0.01); 5、10、25 $\mu\text{mol/L}$ 荷包牡丹碱处理 MHCC97-H 细胞 24 h, 细胞黏附能力、伤口愈合能力、穿膜数均明显下降 ($P < 0.05$ 、 0.01), VEGF、MMP-2、MMP-9 基因表达及 p-JAK2、p-STAT3 蛋白表达均明显下降 ($P < 0.05$ 、 0.01)。**结论** 荷包牡丹碱可以抑制人肝癌 MHCC97-H 细胞的转移及侵袭, 该作用与下调 VEGF、MMP-2、MMP-9 基因表达及抑制 JAK2/STAT3 信号通路的活化有关。

关键词: 荷包牡丹碱; 人肝癌 MHCC97-H 细胞; 转移; 侵袭; JAK2/STAT3 信号通路

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)22-5515-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.22.019

Effects of dicentrine on migration and invasion of human hepatocellular carcinoma MHCC97-H cells and potential mechanisms

GUO Meng, ZHANG Cheng-hui, WU Ting-ting

Department of Oncology, Nanyang Central Hospital, Nanyang 473009, China

Abstract: Objective To detect the effects of dicentrine on the migration and invasion of human hepatocellular carcinoma MHCC97-H cells and potential mechanisms. **Methods** MHCC97-H cells were cultured *in vitro* and cultured at logarithmic growth stage. The cells were treated with 5, 10, 25, 50, 100 $\mu\text{mol/L}$ dicentrine for 24, 48, 72 h, and cell proliferation was determined by MTT assay. The cells were treated with 5, 10, 25 $\mu\text{mol/L}$ dicentrine for 24 h, the cell adhesion, cell migration, cell invasion, gene expression of VEGF, MMP-2 and MMP-9, and protein expression of p-JAK2 and p-STAT3 were determined by MTT, scratch, Transwell, real-time qPCR, and western blot assay, respectively. **Results** The cell viability of MHCC-97H cells treated with 25 $\mu\text{mol/L}$ dicentrine at 48 and 72 h, and 50 and 100 $\mu\text{mol/L}$ dicentrine at 24, 48, and 72 h was decreased significantly, which was significantly different from that of the control group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with control group, cell adhesion ability, wound healing ability, cell penetration modulus, gene expression of VEGF, MMP-2 and MMP-9, and protein expression of p-JAK2 and p-STAT3 of MHCC-97H cells treated with 5, 10 and 25 $\mu\text{mol/L}$ dicentrine at 24 h were decreased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** Dicentrine can inhibit the migration and invasion of human hepatocellular carcinoma MHCC97-H cells, which is related to the down-regulation of VEGF, MMP-2, and MMP-9 gene expression and inhibition of JAK2/STAT3 signaling pathway activation.

Key words: dicentrine; human hepatocellular carcinoma MHCC97-H cells; migration; invasion; JAK2/STAT3 signaling pathway

肝细胞癌简称肝癌, 是全世界最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率和病死率均较高, 危害巨大。我国是肝癌发病率和病死率最高的国家, 约占全球总数的 50%, 探索有效的肝癌治疗药物对促进我国居

民健康具有重要意义^[1]。肝癌发病隐匿, 早期症状不明显, 多数患者确诊时已为中晚期, 失去了手术根治的机会, 而化疗及肝动脉导管介入等治疗方式的效果不理想^[2-3]。因此, 在传统中医药资源宝库

收稿日期: 2019-04-04

作者简介: 郭 锰 (1981—), 男, 硕士, 副主任医师, 研究方向为肿瘤内科综合治疗。Tel: 13838740911 E-mail: 2558692910@qq.com

*通信作者 张成辉 (1968—), 男, 学士, 主任医师, 研究方向为肿瘤内科综合治疗。E-mail: guyezch@sohu.com

中寻找具有抗癌作用的药物已成为该领域的研究热点。荷包牡丹碱是异喹啉类生物碱,具有抗癌、镇静、镇痛及肠道平滑肌解痉作用^[4]。研究表明^[5-7],荷包牡丹碱对人宫颈癌 HeLa 细胞、人肺腺癌 A549 细胞及人胃癌 SGC7901 细胞的增殖均有一定的抑制作用,但对人肝癌 MHCC97-H 细胞的作用少有报道。鉴于以上原因,本研究以人肝癌 MHCC97-H 细胞为研究对象,主要观察荷包牡丹碱对其转移及侵袭的影响,并检测 JAK2/STAT3 信号通路的变化情况,初步阐明荷包牡丹碱抗肝癌转移及侵袭的分子机制,为荷包牡丹碱的临床应用提供理论支持与参考。

1 材料

1.1 细胞

人肝癌 MHCC97-H 细胞购于中国科学院上海细胞库,并由本实验室长期保存。

1.2 药物与试剂

荷包牡丹碱(质量分数>98%,批号 FS-00142),湖北巨胜科技有限公司;DMEM 培养液、胎牛血清、胰蛋白酶,美国 Hyclone 公司;二甲基亚砜(DMSO)及 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)检测试剂盒,美国 Sigma 公司;Matrigel 基质胶,美国 Corning 公司;实时定量聚合酶链式反应(RT-PCR)检测试剂盒,美国 Thermo Fisher 公司;Janus 激酶 2(JAK2)、磷酸化-JAK2(p-JAK2)、信号传导与转录激活因子 3(STAT3)、磷酸化-STAT3(p-STAT3)及 β -肌动蛋白(β -actin)抗体,美国 Jackson 公司。

1.3 仪器

TGL-16GB 高速台式离心机,上海安亭科学仪器有限公司;AG-CPX CO₂ 培养箱,上海欧戈电子公司;VD650 超净工作台,上海力达仪器设备公司;DMIL-PH1 倒置相差显微镜,德国徕卡公司;SpectraMax iD5 多功能酶标仪,美国 Molecular Devices;SimpliAmp 实时定量 PCR 仪,美国 Thermo Fisher 公司;VE180 垂直蛋白电泳仪,上海天能科技公司;Yrdimes 半干转印仪,美国 WEALTEC 公司;Transwell 小室,美国康宁公司。

2 方法

2.1 细胞培养

MHCC97-H 细胞用含 10%胎牛血清的 DMEM 培养液培养,培养条件为饱和湿度、37 °C、5% CO₂。根据细胞生长状态,1~2 d 进行换液,当细胞融合

度为 70%~90%达到对数生长期时,进行相关实验或传代。

2.2 MTT 法检测细胞增殖

将生长至对数生长期的 MHCC97-H 细胞的密度调整至 5×10^5 个/mL,取 100 μ L 接种于 96 孔细胞培养板中,培养 24 h 待细胞完全贴壁后,弃去培养液。加入含有终浓度为 5、10、25、50、100 μ mol/L 荷包牡丹碱的完全培养液 200 μ L,对照组加入 200 μ L 含有等体积生理盐水的完全培养液,每个时间点及每个浓度均设置 3 个复孔。继续培养 24、48、72 h 后,每孔加入 5 g/L 的 MTT 溶液 20 μ L,继续培养 4 h。弃去培养液,补加 DMSO 150 μ L,通过酶标仪测 490 nm 处吸光度(A)值,计算细胞存活率。

$$\text{细胞存活率} = A_{\text{药物}} / A_{\text{对照}}$$

2.3 细胞黏附实验

参照 Kumagai 等^[8]方法,于 96 孔细胞培养板中加入 100 mg/L 纤维连接蛋白(FN),每孔 20 μ L。无菌环境中风干,使用前先用磷酸盐缓冲液(PBS)漂洗 2 次。将生长至对数生长期的 MHCC97-H 细胞密度调整至 5×10^5 个/mL,取 100 μ L 接种于 96 孔细胞培养板中,药物处理组加入荷包牡丹碱,使其终浓度为 5、10、25 μ mol/L。对照组加入含有等体积药物溶媒的完全培养液,每个时间点及每个浓度均设置 3 个复孔。常规条件分别培养 30、60、90 min 后,弃掉上清液,经 PBS 漂洗后去除未黏附细胞。采用 MTT 法(具体操作同“2.7”项)测定 490 nm 处 A 值,计算细胞黏附抑制率。

$$\text{黏附抑制率} = 1 - A_{\text{药物}} / A_{\text{对照}}$$

2.4 细胞划痕实验

用细胞划痕实验来测定不同浓度荷包牡丹碱对 MHCC97-H 细胞迁移作用的影响。将 MHCC97-H 细胞接种于 6 孔板,待细胞长至对数生长期时,将培养液弃掉,用灭菌的微量移液器枪头水平划线,分别加入含终浓度为 5、10、25 μ mol/L 荷包牡丹碱的完全培养基;对照组加入含有等体积药物溶媒的完全培养液,继续培养 24 h,计算伤口愈合率。

$$\text{伤口愈合率} = 1 - 24 \text{ h 细胞间距离} / 0 \text{ h 细胞间距离}$$

2.5 细胞侵袭实验

用 Transwell 小室实验来测定不同浓度荷包牡丹碱对 MHCC97-H 细胞侵袭作用的影响。用预冷至 0 °C 的灭菌蒸馏水稀释基质胶至 200 μ g/mL,吸取 50 μ L 铺入 Transwell 上室,无菌环境风干,备用。

将对数生长期的 MHCC97-H 细胞调整浓度为 5×10^5 个/mL, 药物处理组加入荷包牡丹碱, 使其终浓度为 5、10、25 $\mu\text{mol/L}$; 对照组加入含有等体积药物溶媒的完全培养液。吸取 100 μL 上述细胞悬液于 Transwell 上室, 常规条件培养 24 h。经甲醇-丙酮 (1:1) 溶液固定后, 伊红染色, 200 倍显微镜下计数穿膜细胞个数。

2.6 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 实验

收集对照组及不同浓度荷包牡丹碱 (5、10、25 $\mu\text{mol/L}$) 处理 24 h 后的 MHCC97-H 细胞, Trizol 法获得总 RNA, 经逆转录反应制备 cDNA。所需引物由北京安诺伦生物公司合成, 引物序列信息见表 1。qRT-PCR 实验操作步骤严格按照试剂盒操作指南进行, 最终结果采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行分析。

表 1 qRT-PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences for qRT-PCR

引物名称	引物序列	退火温度/ $^{\circ}\text{C}$	产物长度/bp
VEGF	正向引物: 5'-TCGGAGAGCAACGTCACCTATG-3'	55.2	232
	反向引物: 5'-TTTAA-ACCGGGATTCTTG-3'		
MMP-2	正向引物: 5'-GATTGACGCTGTGTATGAG-3'	54.8	190
	反向引物: 5'-GATGTATGTCTTCTTGTCTTAC-3'		
MMP-9	正向引物: 5'-ACTATGCTCACCTAACCCC-3'	55.6	201
	反向引物: 5'-CCGTGCTTCATAATCTGCC-3'		
β -actin	正向引物: 5'-TGAGACCTCAACACCCCAG-3'	55.0	312
	反向引物: 5'-GCCATCTCTTGCTCGAAGTC-3'		

2.7 蛋白免疫印迹实验

收集对照组及不同浓度荷包牡丹碱 (5、10、25 $\mu\text{mol/L}$) 处理 24 h 后的 MHCC97-H 细胞, 蛋白浓度测定采用 BCA 法。浓缩胶体积分数为 5%, 根据目的蛋白大小配制分离胶; 浓缩胶恒压 90 V, 20 min; 分离胶恒压 120 V, 电泳停止时间通过预染蛋白 Marker 确定; 半干法转膜, 300 mA 恒流, 时间为 90 min。一抗的稀释浓度为 1:2 000, 二抗的稀释浓度为 1:5 000。经显影、曝光及扫描后, 采用 Gel Image system ver 4.00 软件分析蛋白灰度值, 计算目的蛋白相对表达量。

2.8 统计学方法

所得数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 通过 SPSS 18.0 软件进行统计分析。组间比较采用单因素方差分析, HSD 检验比较各组间的差异。

3 结果

3.1 对 MHCC97-H 细胞活力的影响

荷包牡丹碱对 MHCC97-H 细胞活力的影响见图 1, 不同浓度的荷包牡丹碱 (5、10、25、50、100 $\mu\text{mol/L}$) 处理 MHCC97-H 细胞 24、48、72 h 后, 细胞活力均有不同程度的下降, 且呈浓度和时间依赖性。与对照组比较, 25 $\mu\text{mol/L}$ 荷包牡丹碱处理 48、72 h 及 50、100 $\mu\text{mol/L}$ 荷包牡丹碱处理 24、48、72 h 后的细胞活力下降明显, 差异显著 ($P < 0.05$ 、0.01)。在后续的研究中, 选择对 MHCC97-H 细

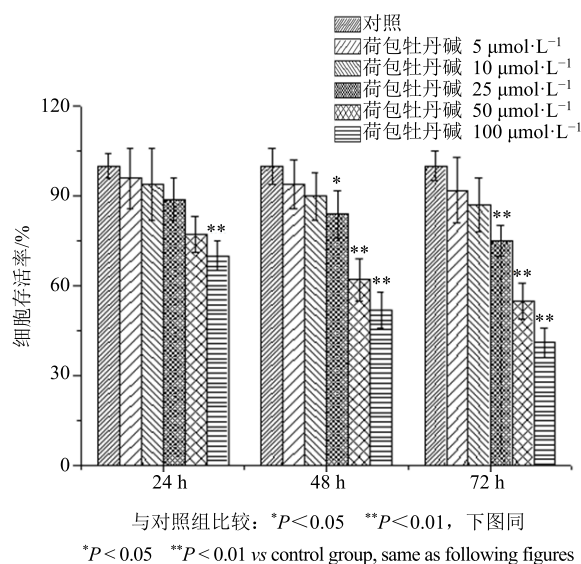


图 1 荷包牡丹碱对人肝癌 MHCC97-H 细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 1 Effects of dicentrine on cell viability of human hepatocellular carcinoma MHCC97-H cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

胞活力影响较小的 5、10、25 $\mu\text{mol/L}$ 3 个浓度进行实验。

3.2 对 MHCC97-H 细胞黏附的影响

荷包牡丹碱对 MHCC97-H 细胞黏附的影响见表 2, 各浓度的荷包牡丹碱 (5、10、25 $\mu\text{mol/L}$) 对 MHCC97-H 细胞的黏附能力均有明显的抑制作用, 与对照组比较, 差异显著 ($P < 0.01$)。且该抑

表 2 荷包牡丹碱对人肝癌 MHCC97-H 细胞黏附的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 2 Effects of dicentrine on adhesion of human hepatocellular carcinoma MHCC97-H cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	C/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	黏附抑制率/%		
		30 min	60 min	90 min
对照	0	0	0	0
荷包牡丹碱	5	8.37 \pm 0.93**	12.34 \pm 1.46**	16.87 \pm 2.32**
	10	15.09 \pm 1.28**	21.45 \pm 2.54**	24.80 \pm 2.85**
	25	27.31 \pm 3.23**	36.29 \pm 4.01**	43.44 \pm 5.27**

与对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group

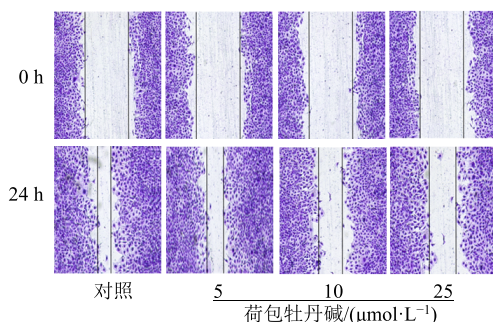


图 2 荷包牡丹碱对人肝癌 MHCC97-H 细胞迁移的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 2 Effects of dicentrine on cell migration of human hepatocellular carcinoma MHCC97-H cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

10、25 $\mu\text{mol/L}$) 处理 MHCC97-H 细胞 24 h 的细胞穿膜数明显降低, 与对照组比较, 差异显著 ($P < 0.01$)。提示荷包牡丹碱具有抑制 MHCC97-H 细胞侵袭的作用。结果见图 3。

3.5 对 MHCC97-H 细胞 VEGF、MMP-2 及 MMP-9 基因表达的影响

荷包牡丹碱对 MHCC97-H 细胞 VEGF、MMP-2 及 MMP-9 基因表达的影响如表 3 所示, 荷包牡丹碱各浓度 (5、10、25 $\mu\text{mol/L}$) 处理 MHCC97-H 细胞 24 h 后, MHCC97-H 细胞中 VEGF、MMP-2 及 MMP-9 基因表达均明显降低, 与对照组比较, 差异

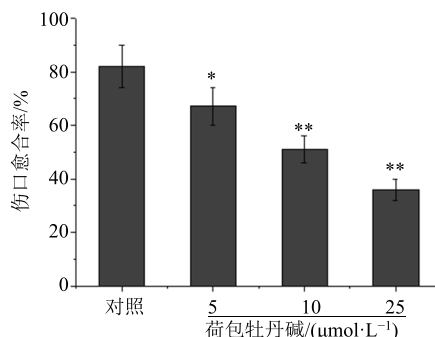
制作用呈浓度和时间依赖性。

3.3 对 MHCC97-H 细胞迁移的影响

细胞划痕实验结果 (图 2) 发现, 荷包牡丹碱各浓度 (5、10、25 $\mu\text{mol/L}$) 处理 MHCC97-H 细胞 24 h 后, 细胞迁移能力被明显抑制, 与对照组比较, 差异显著 ($P < 0.05, 0.01$)。且随着荷包牡丹碱浓度越高, 伤口愈合能力越低, 提示荷包牡丹碱具有抑制 MHCC97-H 细胞迁移的作用。

3.4 对 MHCC97-H 细胞侵袭的影响

细胞侵袭实验结果发现, 荷包牡丹碱各浓度 (5、



显著 ($P < 0.05, 0.01$)。

3.6 对 MHCC97-H 细胞 p-JAK2 及 p-STAT3 蛋白表达的影响

蛋白免疫印迹实验结果发现, 荷包牡丹碱各浓度 (5、10、25 $\mu\text{mol/L}$) 处理 MHCC97-H 细胞 24 h 后, 细胞中 p-JAK2 及 p-STAT3 蛋白表达明显降低, 与对照组比较, 差异显著 ($P < 0.01$)。提示荷包牡丹碱具有抑制 MHCC97-H 细胞 JAK2/STAT3 信号通路的作用。结果见图 4。

4 讨论

由于 MHCC97-H 细胞具有高迁移及侵袭的特

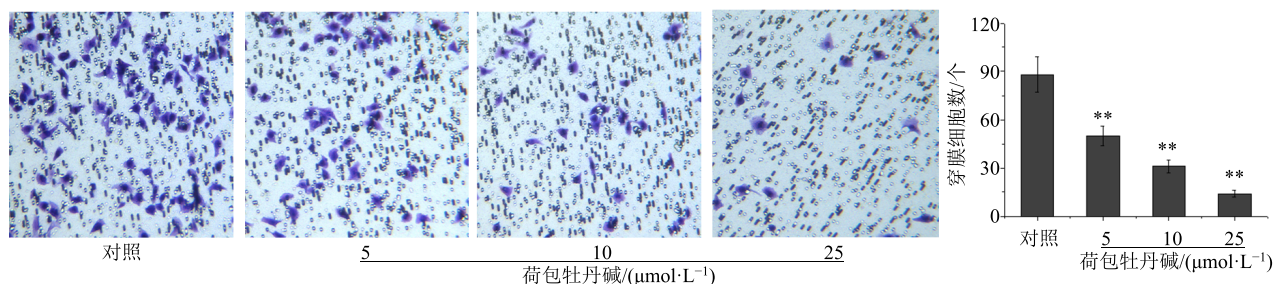


图 3 荷包牡丹碱对人肝癌 MHCC97-H 细胞侵袭的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 3 Effects of dicentrine on cell invasion of human hepatocellular carcinoma MHCC97-H cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

表 3 荷包牡丹碱对人肝癌 MHCC97-H 细胞 VEGF、MMP-2 及 MMP-9 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 3 Effects of dicentrine on mRNA expressions of VEGF, MMP-2, and MMP-9 of human hepatocellular carcinoma MHCC97-H cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	C/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	mRNA 相对表达量		
		VEGF	MMP-2	MMP-9
对照	0	0.41 ± 0.05	0.75 ± 0.08	0.81 ± 0.10
荷包牡丹碱	5	0.26 ± 0.03**	0.69 ± 0.07*	0.54 ± 0.05**
	10	0.23 ± 0.02**	0.37 ± 0.04**	0.45 ± 0.05**
	25	0.15 ± 0.02**	0.28 ± 0.02**	0.42 ± 0.04**

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

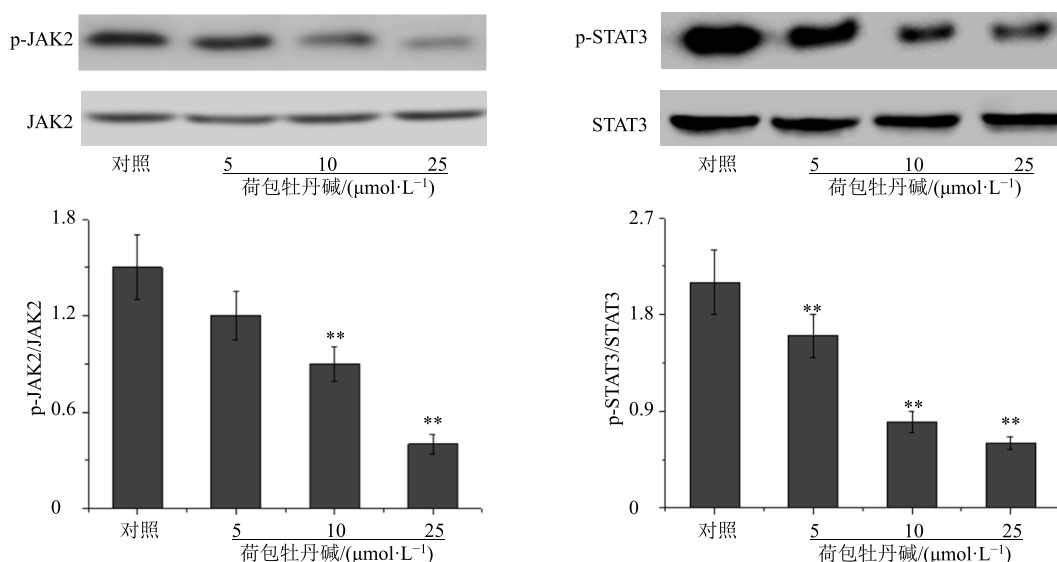


图 4 荷包牡丹碱对人肝癌 MHCC97-H 细胞 p-JAK2 及 p-STAT3 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 4 Effects of dicentrine on protein expression of p-JAK2 and p-STAT3 of human hepatocellular carcinoma MHCC97-H cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

性, 本研究选择 MHCC97-H 细胞为研究对象, 探讨荷包牡丹碱对其转移及侵袭的影响^[9]。MTT 检测发现, 荷包牡丹碱可以浓度和时间依赖性地抑制 MHCC97-H 细胞的增殖, 当荷包牡丹碱的浓度为 5、10、25 $\mu\text{mol/L}$ 且处理时间为 24 h 时, 其抑制增殖的作用较小, 故选择 5、10、25 $\mu\text{mol/L}$ 浓度且处理时间 24 h 开展后续研究。肿瘤的转移和侵袭是一个多步骤的发展过程, 由多基因、多因素决定, 黏附即肿瘤细胞与胞外基质中 FN 和层黏连蛋白 (LN) 相黏附, 是肿瘤转移和侵袭的第一个阶段^[10]。本研究结果发现, 荷包牡丹碱能显著抑制 MHCC97-H 细胞与 FN 的黏附, 初步证实荷包牡丹碱对 MHCC97-H 细胞的转移及侵袭具有潜在的抑制作用。通过经典的细胞划痕及 Transwell 小室实验检测, 进一步明确了荷包牡丹碱对 MHCC97-H 细胞转移及侵袭的抑制作用。

肝癌的转移、侵袭过程复杂, 需经细胞变形、逃离瘤组织、避开免疫系统等过程, 然后随淋巴液或血液流动转移, 在此过程中还需要穿过各种细胞外基质^[11]。因而, 基底膜和细胞外基质的降解是肿瘤细胞迁移、侵袭的关键环节。基质金属蛋白酶 (MMPs) 家族对于降解细胞外基质具有重要的作用, 其表达量升高有助于肿瘤细胞侵袭及迁移的发生^[12]。MMPs 众多家族成员中, MMP-2 和 MMP-9 最为重要, 主要行使细胞外基质基本骨架 IV 型胶原蛋白的降解作用^[13]。在肝癌患者中 MMP-2 和 MMP-9 往往处于异常升高的表达状态, 对肝癌术后患者 MMP-2 和 MMP-9 表达的监测有助于预后和复发的评估^[14]。此外, 肿瘤的转移和生长依赖于新生血管提供的营养, 而血管内皮生长因子 (VEGF) 对肿瘤新生血管的形成具有明显的促进作用^[15]。本实验通过 qRT-PCR 检测发现, 荷包牡丹碱对

MHCC97-H 细胞 VEGF、MMP-2 及 MMP-9 基因的表达均有明显的抑制作用,表明 VEGF、MMP-2 及 MMP-9 表达下调是荷包牡丹碱发挥肝癌细胞迁移和侵袭抑制作用的潜在机制。

JAKs/STATs 信号通路广泛参与多种重要生长因子的信号转导,备受关注,其中肿瘤发生发展过程与 JAK2/STAT3 信号通路密切相关^[16]。JAK2/STAT3 信号通路的激活,在调控肿瘤细胞异常增殖、血管生成、免疫逃逸及转移侵袭中扮演重要角色^[17]。研究显示^[18],STAT3 可以与 VEGF 基因启动子区域结合,而 STAT3 磷酸化程度异常升高能诱导 VEGF 的表达,促进肿瘤新生血管生成;用 STAT3 的反义寡核苷酸或显性负性突变体抑制 JAK2/STAT3 信号通路,可以下调 VEGF 的表达,进而抑制肿瘤的侵袭转移。此外,JAK2/STAT3 信号通路的活化也可以促进 MMPs 的表达,Xie 等^[19]研究发现,在黑色素瘤模型小鼠中,STAT3 的异常磷酸化可直接转录上调 MMP-2 及 MMP-9 的表达,促进黑色素瘤的侵袭转移。本实验采用蛋白免疫印迹实验检测发现,荷包牡丹碱可以显著下调 MHCC97-H 细胞 p-JAK2 及 p-STAT3 的表达,此结果表明抑制 JAK2/STAT3 信号通路的活化也是荷包牡丹碱发挥肝癌细胞迁移和侵袭抑制作用的潜在机制。

综上,荷包牡丹碱可以抑制人肝癌 MHCC97-H 细胞的转移及侵袭,该作用与下调 VEGF、MMP-2、MMP-9 基因表达及抑制 JAK2/STAT3 信号通路的活化有关。

参考文献

- [1] Chun S, Rhie S Y, Ki C S, *et al.* Evaluation of alpha-fetoprotein as a screening marker for hepatocellular carcinoma in hepatitis prevalent areas [J]. *Ann Hepatol*, 2015, 14(6): 882-888.
- [2] Gao Y, Zheng Q C, Xu S, *et al.* Theranostic nanodots with aggregation-induced emission characteristic for targeted and image-guided photodynamic therapy of hepatocellular carcinoma [J]. *Theranostics*, 2019, 9(5): 1264-1279.
- [3] Yoshida M, Ogino H, Iwata H, *et al.* Transient increases in serum α fetoprotein and protein induced by vitamin K antagonist II levels following proton therapy does not necessarily indicate progression of hepatocellular carcinoma [J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(3): 3026-3034.
- [4] 刘岩,张虹,金雪,等.荷包牡丹碱对人肺癌 A549 细胞生长及端粒酶活性的抑制作用 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2011, 25(6): 543-546.
- [5] Ding Z, Tang S C, Weerasinghe P, *et al.* The alkaloid sanguinarine is effective against multidrug resistance in human cervical cells via bimodal cell death [J]. *Biochem Pharmacol*, 2002, 63(8): 1415-1421.
- [6] 汪诗卉,陈剑群,董秋菊,等.荷包牡丹碱对人胃癌 SGC-7901 细胞生长的作用及机制初探 [J]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2013, 7(11): 4898-4901.
- [7] 刘岩,张虹,金雪,等.荷包牡丹碱诱导人肺癌细胞 A549 凋亡及其机制初探 [J]. *中国药理学杂志*, 2011, 46(24): 1890-1893.
- [8] Kumagai H, Tajima M, Ueno Y. Effect of cyclic RGD peptide on cell adhesion and tumor metastasis [J]. *Biochem Biophys Res Comm*, 1991, 177(1): 74-82.
- [9] 刘敏,熊成名,王子豫,等.丹参酮 II_A 对肝癌细胞 MHCC97-H Smad3/Smad7 蛋白及上皮间质转化的影响 [J]. *中医药导报*, 2017, 23(10): 30-34.
- [10] Zhang Y, Wu Z, Yu H, *et al.* Chinese Herbal medicine Wenxia Changfu Formula reverses cell adhesion-mediated drug resistance via the integrin β 1-PI3K-AKT pathway in lung cancer [J]. *J Cancer*, 2019, 10(2): 293-304.
- [11] Zhuang X F, Zhao L X, Guo SP, *et al.* miR-34b inhibits the migration/invasion and promotes apoptosis of non-small-cell lung cancer cells by YAF2 [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(5): 2038-2046.
- [12] Xian J, Shao H, Chen X, *et al.* Nucleophosmin mutants promote adhesion, migration and invasion of human leukemia THP-1 cells through MMPs up-regulation via Ras/ERK MAPK signaling [J]. *Int J Biol Sci*, 2016, 12(2): 144-155.
- [13] Wang X, Wang B, Xie J, *et al.* Melatonin inhibits epithelial-to-mesenchymal transition in gastric cancer cells via attenuation of IL-1 β /NF- κ B/MMP2/MMP9 signaling [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(4): 2221-2228.
- [14] Tabouret E, Bertucci F, Pierga J Y, *et al.* MMP2 and MMP9 serum levels are associated with favorable outcome in patients with inflammatory breast cancer treated with bevacizumab-based neoadjuvant chemotherapy in the BEVERLY-2 study [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(14): 18531-18540.
- [15] Lee S Y, Kim H J, Oh S C, *et al.* Genipin inhibits the invasion and migration of colon cancer cells by the suppression of HIF-1 α accumulation and VEGF expression [J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 116(Pt B): 70-76.
- [16] 吴剑锋,沈佐君. JAK/STAT 信号通路及其与肿瘤侵袭、转移的关系 [J]. *生命的化学*, 2009, 29(2): 176-179.
- [17] 陈明霞,刘建勋,武曲星,等.桂皮醛经 JAK2/STAT3 通路抑制 VEGF 诱导的内皮细胞增殖、迁移及成管 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(8): 28-33.
- [18] Fang X, Hong Y, Dai L, *et al.* CRH promotes human colon cancer cell proliferation via IL-6/JAK2/STAT3 signaling pathway and VEGF-induced tumor angiogenesis [J]. *Mol Carcinog*, 2017, 56(11): 2434-2445.
- [19] Xie T X, Huang F J, Aldape K D, *et al.* Activation of stat3 in human melanoma promotes brain metastasis [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(6): 3188-3196.