

地榆皂苷 I 调控 *IGFL2-AS1/miR-138-5p* 抑制卵巢癌细胞增殖、侵袭和迁移

许运巧¹, 刚小清², 李金锋¹

1. 驻马店市中心医院 妇产科, 河南 驻马店 463000

2. 河南省人民医院 妇产科, 河南 郑州 450000

摘要: **目的** 探讨地榆皂苷 I 对卵巢癌细胞增殖、侵袭和迁移的影响及分子机制。**方法** 人卵巢癌 A2780 细胞分别用 7.5、15.0、30.0 $\mu\text{mol/L}$ 的地榆皂苷 I 处理, 同时设置 si-NC 组、si-*IGFL2-AS1* 组、地榆皂苷 I+pcDNA-*IGFL2-AS1* 组、地榆皂苷 I+pcDNA 组; MTT 检测细胞增殖抑制率; 克隆形成实验检测细胞克隆形成数; Transwell 法检测迁移和侵袭细胞数; Western blotting 法检测 E-钙黏蛋白 (E-cadherin) 和 N-钙黏蛋白 (N-cadherin) 表达; 双荧光素酶报告实验检测 *IGFL2-AS1* 和 *miR-138-5p* 的靶向关系。**结果** 不同浓度的地榆皂苷 I 处理 A2780 细胞后, 细胞增殖、迁移和侵袭能力显著减弱 ($P < 0.05$), E-cadherin 和 *miR-138-5p* 表达上调 ($P < 0.05$), N-cadherin 和 *IGFL2-AS1* 表达下调 ($P < 0.05$), 呈剂量相关性。下调 *IGFL2-AS1* 抑制 A2780 增殖、迁移及侵袭 ($P < 0.05$)。 *IGFL2-AS1* 靶向调控 *miR-138-5p*, 过表达 *IGFL2-AS1* 可减弱地榆皂苷 I 对 A2780 细胞增殖、迁移和侵袭的作用 ($P < 0.05$)。**结论** 地榆皂苷 I 通过调控 *IGFL2-AS1/miR-138-5p* 抑制卵巢癌细胞增殖、侵袭和迁移。

关键词: 地榆皂苷 I; *IGFL2-AS1*; *miR-138-5p*; 卵巢癌; 增殖; 侵袭; 迁移

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)04-1248-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.04.018

Ziyuglycoside I inhibits proliferation, invasion and migration of ovarian cancer cells by regulating *IGFL2-AS1/miR-138-5p*

XU Yunqiao¹, GANG Xiaoqing², LI Jinfeng¹

1. Obstetrics and Gynecology Department, Zhumadian Central Hospital, Zhumadian 463000, China

2. Obstetrics and Gynecology Department, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450000, China

Abstract: Objective To explore the effect and molecular mechanism of ziyuglycoside I on proliferation, invasion and migration of ovarian cancer cells. **Methods** Ovarian cancer cells A2780 were treated with 7.5, 15.0, 30.0 $\mu\text{mol/L}$ of ziyuglycoside I. At the same time, si-NC group, si-*IGFL2-AS1* group, ziyuglycoside I + pcDNA-*IGFL2-AS1* group and ziyuglycoside I + pcDNA group were set up. MTT was used to detect proliferation inhibition rate of cells; Clone formation experiment was used to detect cell clone formation number; Transwell method was used to detect the numbers of migrating and invading cells; Western blotting was used to detect E-cadherin and N-cadherin protein expressions; Dual luciferase reporter experiment was used to detect the targeting relationship between *IGFL2-AS1* and *miR-138-5p*. **Results** After treatment of A2780 cells with different concentrations of ziyuglycoside I, cell proliferation, migration and invasion were significantly weakened ($P < 0.05$), expressions of E-cadherin and *miR-138-5p* were up-regulated ($P < 0.05$), and the expressions of N-cadherin and *IGFL2-AS1* were down-regulated in a dose-dependent manner ($P < 0.05$). After down-regulating *IGFL2-AS1*, the proliferation, migration and invasion of A2780 cells were inhibited ($P < 0.05$). *IGFL2-AS1* targeted and regulated *miR-138-5p*. Overexpression of *IGFL2-AS1* could attenuate the effects of ziyuglycoside I on proliferation, migration and invasion of A2780 cells ($P < 0.05$). **Conclusion** Ziyuglycoside I inhibits the proliferation, invasion and migration of ovarian cancer cells by regulating *IGFL2-AS1/miR-138-5p*.

Key words: ziyuglycoside I; *IGFL2-AS1*; *miR-138-5p*; ovarian cancer; proliferation; invasion; migration

卵巢癌是死亡率最高的妇科肿瘤, 严重威胁女性健康。中药在抗肿瘤治疗中发挥重要的作用, 能够直接抑制肿瘤细胞生长, 具有多靶点、综合调节、不良反应少的优点, 使用包括植物化学物质在内的

收稿日期: 2023-08-04

作者简介: 许运巧, 硕士, 主治医师, 研究方向为妇产科。E-mail: qiao128hui@163.com

天然产品是一种潜在且有用的癌症治疗方法^[1-2]。地榆药材为蔷薇科植物地榆 *Sanguisorba officinalis* L. 或长叶地榆 *S. officinalis* L. var. *longifolia* (Bert.) Yu et Li 的干燥根, 是一种常见的草本植物, 广泛分布于我国和其他亚洲国家, 具有多种药用价值, 地榆中含有多种皂苷类化合物, 主要包括地榆皂苷 I、II, 其中以地榆皂苷 I 含量最高, 具有较强的抗氧化、抗炎、抗肿瘤活性, 应用前景广阔^[3]。研究报道, 地榆皂苷 II 可诱导人结肠癌细胞凋亡^[4]; 地榆皂苷 II 可抑制三阴性乳腺癌细胞的迁移和侵袭^[5]; 地榆皂苷 I 可通过激活线粒体通路抑制人甲状腺乳头状癌细胞生长^[6], 但其对卵巢癌细胞肿瘤特性的影响尚不清楚。

miR-138-5p 在卵巢癌组织和细胞中下调表达, *miR-138-5p* 上调可抑制卵巢癌进展, 且其受 lncRNA *TRPM2-AS* 调控^[7]。*IGFL2-AS1* 表达下调限制胃癌细胞增殖及转移^[8]。生物学软件预测发现 *miR-138-5p* 与 *IGFL2-AS1* 有结合位点。而 *IGFL2-AS1* 对卵巢癌细胞增殖、侵袭迁移的影响及其与 *miR-138-5p* 的关系也尚未可知。本研究旨在探讨地榆皂苷 I 对卵巢癌细胞增殖、侵袭迁移的影响是否涉及 *IGFL2-AS1* 和 *miR-138-5p*。

1 材料

1.1 细胞

人卵巢癌 A2780 细胞购自上海雅吉生物科技有限公司。

1.2 药品与试剂

地榆皂苷 I (质量分数 $\geq 98\%$, 批号 35286-58-9) 购自四川精萃天成药物科技有限公司; RPMI 1640 培养基 (批号 R101)、E-钙黏蛋白 (E-cadherin, 批号 147301) 一抗、N-钙黏蛋白 (N-cadherin, 批号 350802) 一抗、磷酸缓冲盐溶液 (批号 CC0005) 购自上海雅吉生物科技有限公司; MTT 试剂盒 (批号 OX01472)、pcDNA3.1 (+) 载体 (批号 MZ0157) 购自上海圻明生物科技有限公司; 带有基质胶的 Transwell 小室 (批号 3407) 购自美国 Corning 公司; 胎牛血清 (批号 AB20180244D) 购自上海诺娃医药科技有限公司; 胰蛋白酶 (批号 T8150)、二抗 (批号 SE131、SE134)、qRT-PCR 试剂 (批号 SR1111) 双荧光素酶报告基因检测试剂盒 (批号 D0011)、RIPA 裂解液 (批号 R0010)、Trizol 试剂 (批号 15596018) 吉姆萨 (批号 51811-82-6) 购自北京索莱宝科技有限公司。

1.3 仪器

CKX53 型倒置显微镜 (日本 Olympus 公司); TG16 型离心机 (上海卢湘仪实验室仪器有限公司); Synergy H1 型酶标仪 (美国伯腾公司); XCell4 SureLock 型电泳仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); IQ5 型 qRT-PCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 MTT 检测细胞增殖

A2780 细胞用 RPMI 1640 培养, 收集处于对数生长期的细胞并调整密度, 以 3×10^3 个/孔接种于 96 孔板, 分别加入不同浓度 (7.5、15.0、30.0 $\mu\text{mol/L}$) 的地榆皂苷 I, 另设置不含药物的对照组, 培养至铺满孔底, 每孔加入 MTT 溶液 20 μL , 培养 4 h, 小心吸去培养液, 加入二甲基亚砜, 采用酶标仪测定吸光度 (*A*) 值, 计算细胞增殖抑制率。

$$\text{细胞增殖抑制率} = 1 - A_{\text{实验}} / A_{\text{对照}}$$

2.2 克隆形成实验检测细胞克隆形成

将处于对数生长期的 A2780 细胞重悬成细胞悬液, 以 500~700 个/孔接种于 6 孔板, 分别加入不同浓度 (7.5、15.0、30.0 $\mu\text{mol/L}$) 的地榆皂苷 I, 另设置不含药物的对照组, 培养直至出现肉眼可见克隆, 甲醇固定, 吉姆萨染色, 磷酸缓冲液洗涤细胞并晾干, 计数 > 50 个细胞的集落。

2.3 Transwell 实验检测细胞迁移和侵袭能力

取对数生长期的 A2780 细胞, 用无血清培养液稀释, 调整细胞密度, 接种至 Transwell 小室上层, 用镊子将小室置于培养板内, 分别加入不同浓度 (7.5、15.0、30.0 $\mu\text{mol/L}$) 的地榆皂苷 I, 另设置不含药物的对照组, 培养 24 h, 甲醇固定, 结晶紫染色, 用磷酸缓冲液除去没有结合的结晶紫, 并用棉签轻轻擦掉上层细胞, 显微镜下随机观察并记数迁移细胞数。用无血清培养基稀释 Matrigel 胶, 并涂于上室的聚碳酸酯膜表面, 其余步骤同迁移实验, 分析细胞侵袭能力。

2.4 Western blotting 检测 E-cadherin 和 N-cadherin 蛋白表达

将处于对数生长期的 A2780 细胞重悬成细胞悬液, 以 2×10^5 个/孔接种于 6 孔板, 分别加入不同浓度 (7.5、15.0、30.0 $\mu\text{mol/L}$) 的地榆皂苷 I, 另设置不含药物的对照组, 培养 24 h。用细胞刮刮下各组细胞, 加入 RIPA 裂解液提取蛋白, 蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 于封闭液中缓慢摇荡 1 h, 分别加入 E-cadherin、

N-cadherin 一抗后孵育过夜；加入二抗室温孵育，滴加化学发光液显影。

2.5 qRT-PCR 检测 *IGFL2-AS1* 和 *miR-138-5p* 的表达

将处于对数生长期的 A2780 细胞重悬成细胞悬液，以 2×10^5 个/孔接种于 6 孔板，分别加入不同浓度（7.5、15.0、30.0 $\mu\text{mol/L}$ ）的地榆皂苷 I，另设置不含药物的对照组，培养 24 h。收集细胞，加入 Trizol 试剂提取 RNA，测定 RNA 浓度和纯度后加入逆转录酶合成 cDNA，进行 qRT-PCR 分析，用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算相对表达量。以 *GAPDH* 和 *U6* 为内参，引物序列见表 1。

2.6 细胞转染

将 *IGFL2-AS1* 干扰表达载体及阴性对照转染至 A2780 细胞，记为 si-NC 组、si-*IGFL2-AS1* 组；

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequences

基因	引物序列 (5'-3')
<i>IGFL2-AS1</i>	F: CTGGCCAGATCAACAGAAT R: TAACACGTCCTGGGTTGACA
<i>miR-138-5p</i>	F: GCCGGATAAGTGTGTGGTCTGA R: ACTGAGCAAGCACTACCACCAGCA
<i>GAPDH</i>	F: TGTGGCCATCAATCACCCTT R: CTCCACGACGTACTCAGCG
<i>U6</i>	F: CTCGCTTCGGCAGCACA R: AACGCTTCACGAATTTGCGT

将 *IGFL2-AS1* 过表达载体及阴性对照转染至 A2780 细胞，然后用 30 $\mu\text{mol/L}$ 的地榆皂苷 I 处理，记为地榆皂苷 I+pcDNA-*IGFL2-AS1* 组、地榆皂苷 I+pcDNA 组。分别检测细胞活性、增殖、迁移、侵袭、*IGFL2-AS1*、*miR-138-5p* mRNA 表达和 E-cadherin、N-cadherin 蛋白表达。

2.7 双荧光素酶报告实验

设置 *miR-138-5p* 与 MUT-*IGFL2-AS1* 组、*miR-138-5p* 与 WT-*IGFL2-AS1* 组、*miR-NC* 与 MUT-*IGFL2-AS1* 组以及 *miR-NC* 与 WT-*IGFL2-AS1* 组。用转染试剂依据分组情况将载体转染 A2780 细胞中，按照说明书分析荧光素酶活性。

2.8 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析，本研究相关数据均为计量资料，且符合正态分布，用 $\bar{x} \pm s$ 表示，两组比较行 *t* 检验，多组间比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 地榆皂苷 I 对 A2780 细胞增殖、迁移、侵袭和 E-cadherin、N-cadherin 蛋白表达的影响

如图 1 和表 2 所示，不同浓度的榆皂苷 I 处理 A2780 细胞后，细胞增殖抑制率和 E-cadherin 蛋白表达水平均显著升高 ($P < 0.05$)，克隆形成数、迁移细胞数、侵袭细胞数和 N-cadherin 蛋白表达水平均显著降低 ($P < 0.05$)，呈剂量相关性。

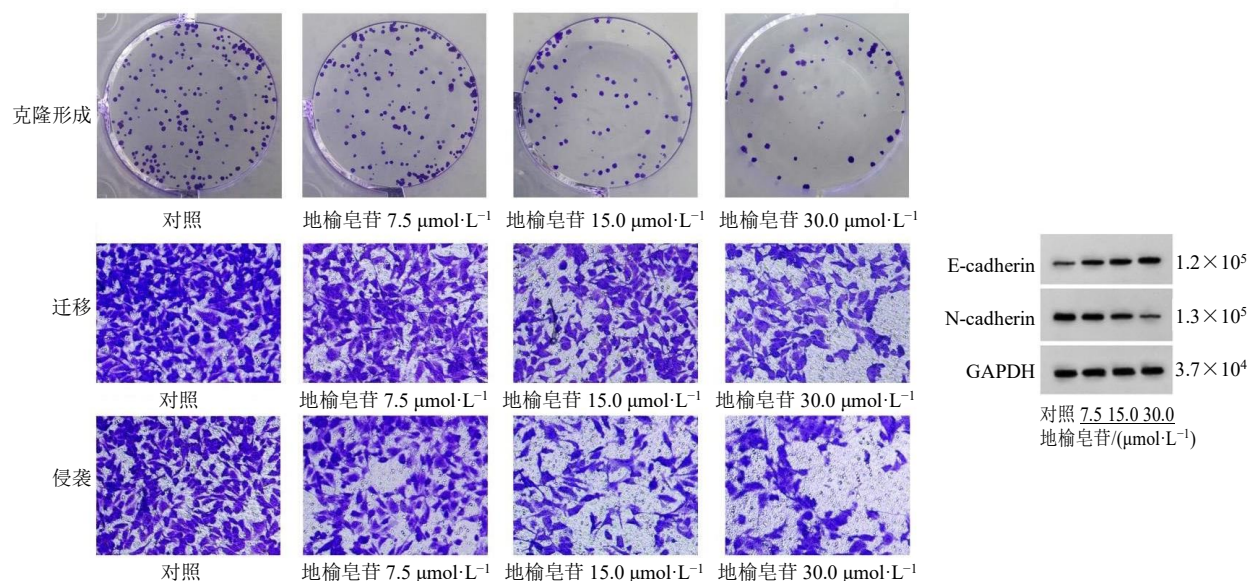


图 1 地榆皂苷 I 对 A2780 细胞克隆形成、迁移和侵袭以及 E-cadherin、N-cadherin 蛋白表达的影响

Fig. 1 Effect of ziyuglycoside I on colony formation, migration, invasion and E-cadherin, N-cadherin protein expressions in A2780 cells

表 2 地榆皂苷 I 抑制 A2780 细胞增殖、迁移和侵袭 ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

Table 2 Inhibit of proliferation, migration and invasion of A2780 cells by ziyuglycoside I ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

组别	剂量/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	抑制率/%	克隆形成数/个	细胞数/个		蛋白相对表达量	
				迁移	侵袭	E-cadherin	N-cadherin
对照	—	0.00 ± 0.00	115.22 ± 5.61	168.44 ± 8.00	135.33 ± 6.09	0.15 ± 0.01	0.65 ± 0.05
地榆皂苷 I	7.5	18.31 ± 1.12*	92.56 ± 4.14*	136.56 ± 4.25*	103.89 ± 5.66*	0.29 ± 0.04*	0.50 ± 0.04*
	15.0	31.92 ± 1.66*#	71.00 ± 4.42*#	92.22 ± 4.68*#	81.89 ± 4.28*#	0.48 ± 0.04*#	0.34 ± 0.03*#
	30.0	55.81 ± 1.99*#&	52.33 ± 2.31*#&	68.22 ± 3.97*#&	57.67 ± 3.92*#&	0.71 ± 0.06*#&	0.15 ± 0.01*#&

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与地榆皂苷 I ($7.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 组比较: # $P < 0.05$; 与地榆皂苷 I ($15.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 组比较: & $P < 0.05$, 表 3 同。

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs ziyuglycoside I ($7.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) group; & $P < 0.05$ vs ziyuglycoside I ($15.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) group, same as table 3.

3.2 地榆皂苷 I 对 A2780 细胞 *IGFL2-AS1* 和 *miR-138-5p* mRNA 表达的影响

如表 3 所示, 与对照组比较, 地榆皂苷 I 显著抑制 A2780 细胞 *IGFL2-AS1* mRNA 表达($P < 0.05$), 促进 *miR-138-5p* mRNA 表达 ($P < 0.05$), 呈剂量相关性。

3.3 *IGFL2-AS1* 转染效率的检测

如表 4 所示, 与 si-NC 组比较, si-*IGFL2-AS1* 组 *IGFL2-AS1* mRNA 表达水平显著降低($P < 0.05$);

表 3 地榆皂苷 I 对 A2780 细胞 *IGFL2-AS1* 和 *miR-138-5p* mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

Table 3 Effect of ziyuglycoside I on *IGFL2-AS1* and *miR-138-5p* mRNA expressions in A2780 cells ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

组别	剂量/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	mRNA 相对表达量	
		<i>IGFL2-AS1</i>	<i>miR-138-5p</i>
对照	—	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
地榆皂苷 I	7.5	0.75 ± 0.04*	1.59 ± 0.09*
	15.0	0.51 ± 0.05*#	2.16 ± 0.13*#
	30.0	0.25 ± 0.03*#&	3.01 ± 0.16*#&

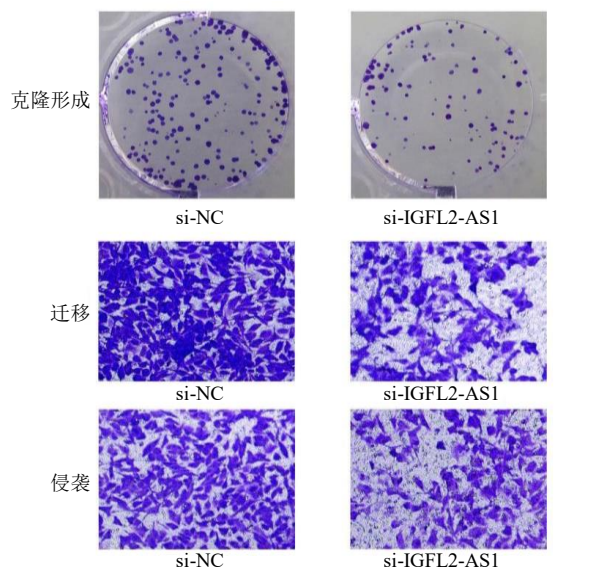


图 2 下调 *IGFL2-AS1* 对 A2780 细胞克隆形成、迁移和侵袭以及 E-cadherin、N-cadherin 蛋白表达的影响

Fig. 2 Effect of down-regulation of *IGFL2-AS1* on colony formation, migration, invasion and E-cadherin, N-cadherin protein expressions in A2780 cells

表 4 各组 *IGFL2-AS1* mRNA 表达 ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

Table 4 *IGFL2-AS1* mRNA expression in each group

($\bar{x} \pm s, n = 9$)

组别	<i>IGFL2-AS1</i> mRNA 相对表达量
si-NC	1.00 ± 0.00
si- <i>IGFL2-AS1</i>	0.34 ± 0.03*
pcDNA	1.00 ± 0.00
pcDNA- <i>IGFL2-AS1</i>	3.21 ± 0.06#

与 si-NC 组比较: * $P < 0.05$; 与 pcDNA 组比较: # $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs si-NC group; # $P < 0.05$ vs pcDNA group.

与 pcDNA 组比较, pcDNA-*IGFL2-AS1* 组 *IGFL2-AS1* mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.05$)。

3.4 下调 *IGFL2-AS1* 对 A2780 细胞增殖、迁移和侵袭的影响

如图 2 和表 5 所示, *IGFL2-AS1* 表达下调显著增加 *miR-138-5p* 表达、增殖抑制率以及 E-cadherin 蛋白表达 ($P < 0.05$), 但减少克隆形成数、迁移细胞数、侵袭细胞数和 N-cadherin 蛋白表达 ($P < 0.05$)。

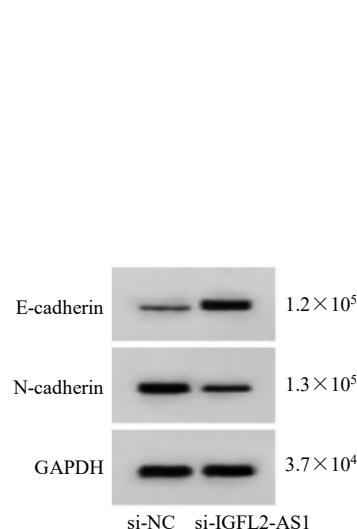


表 5 下调 *IGFL2-AS1* 抑制 A2780 细胞增殖、迁移和侵袭 ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

组别	<i>miR-138-5p</i> mRNA 相对表达量	抑制率/%	克隆形成数/个	细胞数/个		蛋白相对表达量	
				迁移	侵袭	E-cadherin	N-cadherin
si-NC	1.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	114.33 ± 6.31	165.67 ± 4.85	136.44 ± 7.79	0.16 ± 0.01	0.66 ± 0.05
si-IGFL2-AS1	2.62 ± 0.09*	46.51 ± 2.59*	61.44 ± 2.71*	78.67 ± 4.71*	67.22 ± 2.97*	0.59 ± 0.05*	0.24 ± 0.02*

与 si-NC 组比较: * $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs si-NC group.

3.5 *IGFL2-AS1* 和 *miR-138-5p* 的靶向关系

Starbase 在线软件预测显示 *IGFL2-AS1* 和 *miR-138-5p* 有互补序列 (图 3)。如表 6 所示, *miR-138-5p* 与 WT-*IGFL2-AS1* 共转染后细胞荧光素酶活性降低, 而 *miR-138-5p* 与 MUT-*IGFL2-AS1* 共转染后细胞荧光素酶活性无显著变化。

3.6 过表达 *IGFL2-AS1* 对地榆皂苷 I 处理的 A2780 细胞增殖、迁移和侵袭的影响

如图 4 和表 7 所示, 与地榆皂苷 I+pcDNA 组比较, 地榆皂苷 I+pcDNA-*IGFL2-AS1* 组 *miR-138-5p* mRNA 表达、增殖抑制率和 E-cadherin 蛋白表达水平均显著降低 ($P < 0.05$), 克隆形成数、迁移细胞数、侵袭细胞数和 N-cadherin 蛋白表达水平均显著升高 ($P < 0.05$)。

WT-*IGFL2-AS1* 5'-GUCGUUGAUUCUGCAGCACCAGCA-3'
|||||
miR-138-5p 3'-GCCGACUAAG-UGUUGUGGUCGA-5'

MUT-*IGFL2-AS1* 5'-GUCGUUGAUUCUGCAGCAAGCAA-3'

图 3 *IGFL2-AS1* 和 *miR-138-5p* 的结合位点以及 *IGFL2-AS1* 突变位点

Fig. 3 Binding site of *IGFL2-AS1* for *miR-138-5p* and mutated site of *IGFL2-AS1*

表 6 荧光素酶活性分析 ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

Table 6 Analysis of luciferase activity ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

组别	荧光素酶活性	
	WT- <i>IGFL2-AS1</i>	MUT- <i>IGFL2-AS1</i>
<i>miR-NC</i>	0.95 ± 0.06	1.00 ± 0.09
<i>miR-138-5p</i>	0.38 ± 0.04*	1.02 ± 0.12

与 *miR-NC* 组比较: * $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs *miR-NC* group.

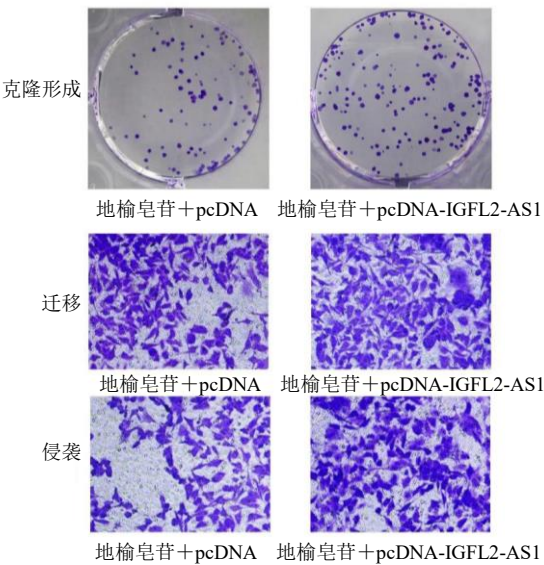


图 4 过表达 *IGFL2-AS1* 对地榆皂苷 I 处理的 A2780 细胞克隆形成、迁移和侵袭以及 E-cadherin、N-cadherin 蛋白表达的影响

Fig. 4 Effect of overexpression of *IGFL2-AS1* on colony formation, migration, invasion and E-cadherin, N-cadherin protein expressions in A2780 cells treated with ziyuglycoside I

4 讨论

中药抗肿瘤有其独特的优势, 能改善患者生活质量, 延长生存期, 或能够为卵巢癌的维持治疗提供新的思路^[9-10]。因此, 开发可用于防治卵巢癌的中

药及有效成分有助于卵巢癌的治疗。研究报道, 地榆皂苷 II 可抑制肝癌细胞的增殖和转移^[11]; 地榆皂苷 II 可抑制人舌鳞癌 CAL27 细胞的增殖^[12]; 地榆皂苷 I 通过诱导 p53 介导的 G₂/M 细胞周期阻滞

表 7 过表达 *IGFL2-AS1* 对地榆皂苷 I 处理的 A2780 增殖、迁移和侵袭的作用 ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

Table 7 Effect of overexpression of *IGFL2-AS1* on proliferation, migration and invasion of A2780 cells treated with ziyuglycoside I ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

组别	剂量/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	<i>miR-138-5p</i> mRNA 相对表达量	抑制率/%	克隆形成数/ 个	细胞数/个		蛋白相对表达量	
					迁移	侵袭	E-cadherin	N-cadherin
地榆皂苷 I+pcDNA	30	1.00 $\pm$ 0.00	55.99 $\pm$ 2.20	52.22 $\pm$ 3.52	70.22 $\pm$ 4.13	58.33 $\pm$ 3.92	0.69 $\pm$ 0.04	0.15 $\pm$ 0.02
地榆皂苷 I+pcDNA- <i>IGFL2-AS1</i>	30	0.37 $\pm$ 0.04*	21.21 $\pm$ 1.67*	85.22 $\pm$ 4.41*	121.22 $\pm$ 5.09*	90.33 $\pm$ 5.23*	0.35 $\pm$ 0.03*	0.43 $\pm$ 0.03*

与地榆皂苷 I+pcDNA 组比较: * $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs ziyuglycoside I + pcDNA group.

和细胞凋亡,抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的增殖^[13];地榆皂苷 I 可以抑制细胞活力并诱导视网膜母细胞瘤 WERI-Rb-1 细胞的凋亡^[14]。本研究结果显示,地榆皂苷 I 处理 A2780 细胞后,细胞增殖、迁移和侵袭能力减弱,E-cadherin 和 *miR-138-5p* 表达上调,N-cadherin 和 *IGFL2-AS1* 表达下调,呈剂量相关性;表明地榆皂苷 I 抑制 A2780 细胞增殖、迁移和侵袭。然而,尚未知地榆皂苷 I 在卵巢癌的分

子机制。

lncRNA *IGFL2-AS1* 可以通过竞争性结合 miRNA 来解除靶下游靶点的表达抑制,进而调控人类肿瘤的进展。研究报道,*IGFL2-AS1* 在结直肠癌细胞和组织中显著上调,敲低 *IGFL2-AS1* 抑制了舌鳞状细胞癌细胞的增殖、迁移、侵袭通过靶向调控 *miR-433-3p* 的表达^[15]。同时,过表达的 *IGFL2-AS1* 可以促进胃癌细胞的生长和转移通过竞争性结合 *miR-802* 调控环磷酸腺苷调节的磷酸蛋白 19 (cyclic adenosine monophosphate-regulated phosphoprotein 19, ARPP19)^[8]。本研究结果表明 *IGFL2-AS1* 沉默可抑制 A2780 细胞增殖、迁移和侵袭。此外,通过 Starbase 预测网站发现,*miR-138-5p* 在 *IGFL2-AS1* 上存在结合位点,随后,本研究证实 *miR-138-5p* 是 *IGFL2-AS1* 的靶基因。此外,一些研究表明 *miR-138-5p* 在人类多种癌症中发挥抑癌作用。过表达 *miR-138-5p* 可通过靶向细胞周期蛋白依赖性激酶 6 (cyclin-dependent kinase 6, CDK6) 使抗性上皮性卵巢癌细胞对紫杉醇敏感^[16]。同时,研究报道敲除 lncRNA HOTAIR 可以通过抑制 *miR-138-5p* 调控的 zeste 增强子同源物 2 (enhancer of zeste homolog 2, EZH2) 和沉默信息调节因子 1 (silent information regulator factor 1, SIRT1) 逆转卵巢癌细胞的顺铂耐药^[17]。本研究发现 *IGFL2-AS1* 靶向调控 *miR-138-5p*。提示 *IGFL2-AS1* 可能通过调控 *miR-138-5p* 影响卵巢癌进展。

本研究用不同浓度的地榆皂苷 I 处理 A2780 细胞后,*IGFL2-AS1* 表达水平降低,*miR-138-5p* 表达水平逐渐升高,表明地榆皂苷 I 可调控 *IGFL2-AS1* 和 *miR-138-5p* 的表达。且本研究还发现过表达 *IGFL2-AS1* 可减弱地榆皂苷 I 对 A2780 细胞增殖、迁移和侵袭的作用。综上,地榆皂苷 I 可通过抑制 *IGFL2-AS1* 的表达来促进 *miR-138-5p* 产生,进而抑制卵巢癌细胞肿瘤特性。提示 *IGFL2-AS1* 可能是卵巢癌的潜在治疗靶点。但本研究仅限于体外实验,其在体内的作用还有待进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李梦皎,夏雷. 中药治疗卵巢癌的作用机制研究现状 [J]. 国际中医中药杂志, 2020, 42(5): 501-503.
- [2] 刘亚利,王小霞,李红霞. 中药有效抗卵巢癌作用成分研究综述 [J]. 临床医学进展, 2020(7): 1457-1462.
- [3] 秦肖菲,陈永新. 地榆皂苷抗肿瘤机制及药物递送研究进展 [J]. 中国药理学杂志, 2020, 18(3): 180-186.
- [4] Lkhagvasuren K, Kim J K. Ziyuglycoside II induces caspases-dependent and caspases-independent apoptosis in human colon cancer cells [J]. *Toxicol In Vitro*, 2019, 59: 255-262.
- [5] Wang K, Zou P, Zhu X, et al. Ziyuglycoside II suppresses the aggressive phenotype of triple negative breast cancer cells through regulating Src/EGFR-dependent ITGB4/FAK signaling [J]. *Toxicol In Vitro*, 2019, 61: 104653.
- [6] 高芸,王柯,朱雪,等. 地榆皂苷 I 诱导人甲状腺乳头状癌细胞 BCPAP 凋亡的实验研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2018, 38(1): 80-84.
- [7] Ding Y, Tan X Y, Abasi A, et al. LncRNA TRPM2-AS promotes ovarian cancer progression and cisplatin resistance by sponging *miR-138-5p* to release SDC3 mRNA [J]. *Aging*, 2021, 13(5): 6832-6848.
- [8] Ma Y, Liu Y, Pu Y S, et al. LncRNA *IGFL2-AS1* functions as a ceRNA in regulating ARPP19 through competitive

- binding to miR-802 in gastric cancer [J]. *Mol Carcinog*, 2020, 59(3): 311-322.
- [9] 孙彤, 邹永辉. 卵巢癌的中医证治思路和优势 [J]. 世界最新医学信息文摘: 连续型电子期刊, 2020, 20(34): 205.
- [10] 付春燕, 蔡平平. 中医药治疗卵巢癌研究概况 [J]. 世界最新医学信息文摘: 连续型电子期刊, 2020, 20(24): 93-94.
- [11] Liao W Q, Fan L X, Zheng Z G, *et al*. Ziyuglycoside II exerts antiproliferative and antimetastasis effects on hepatocellular carcinoma cells [J]. *Anticancer Drugs*, 2020, 31(8): 819-827.
- [12] 吴泽承, 张嘉嘉, 彭紫嫣, 等. 地榆皂苷 II 对人舌鳞癌细胞 CAL27 增殖能力的影响 [J]. 生物化工, 2021, 7(1): 81-83.
- [13] Zhu X, Wang K, Zhang K, *et al*. Ziyuglycoside I inhibits the proliferation of MDA-MB-231 breast carcinoma cells through inducing p53-mediated G₂/M cell cycle arrest and intrinsic/extrinsic apoptosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(11): 1903.
- [14] Zhu X, Wang K, Yao Y, *et al*. Triggering p53 activation is essential in ziyuglycoside I-induced human retinoblastoma WERI-Rb-1 cell apoptosis [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2018, 32(1): e22001.
- [15] Liu S, Wang X J, Zhang J, *et al*. LncRNA IGFL2-AS1 as a ceRNA promotes HCT116 cell malignant proliferation via the miR-433-3p/PAK4 axis [J]. *Turk J Gastroenterol*, 2023, 34(5): 497-507.
- [16] Liang M, Li Q, Shi S, *et al*. Overexpression of miR-138-5p sensitizes taxol-resistant epithelial ovarian cancer cells through targeting cyclin-dependent kinase 6 [J]. *Gynecol Obstet Invest*, 2021, 86(6): 533-541.
- [17] Zhang Y, Ai H, Fan X, *et al*. Knockdown of long non-coding RNA HOTAIR reverses cisplatin resistance of ovarian cancer cells through inhibiting miR-138-5p-regulated EZH2 and SIRT1 [J]. *Biol Res*, 2020, 53(1): 18.

[责任编辑 李亚楠]