

论著 • 基础研究

紫草素影响 Let-7c 的表达调控宫颈癌细胞 C-33A 生物学特性的研究

文 蓉¹, 李树玺^{2△}

(1. 无锡市妇幼保健院妇产科, 江苏无锡 214000; 2. 葛洲坝集团中心医院检验科, 湖北宜昌 443000)

摘要:目的 研究紫草素通过影响 Let-7c 的表达对宫颈癌细胞增殖、侵袭和迁移的影响。方法 采用 qPCR 检测宫颈癌组织和正常宫颈组织, 宫颈癌细胞 C-33A 和正常宫颈细胞 Ect1/E6E7 中 Let-7c 的表达水平。以不同浓度的紫草素干预 C-33A 细胞, 采用 MTT 法检测细胞增殖能力, Transwell 实验检测细胞侵袭和迁移能力, qPCR 检测细胞中 Let-7c 的表达水平。一组 C-33A 细胞通过细胞转染法上调 Let-7c 的表达, 另一组 C-33A 细胞通过转染 Let-7c inhibitor 后施加紫草素干预, 然后均以同样的方法检测 C-33A 细胞增殖、侵袭和迁移能力。构建宫颈癌 C-33A 细胞裸鼠移植瘤模型, 并予瘤内注射 Let-7c inhibitor 及紫草素, 处理 28 d 后处死, 称取瘤重。结果 Let-7c 在宫颈癌组织和细胞中的表达显著低于正常宫颈组织和细胞 ($P < 0.05$)。紫草素可呈浓度依赖性地抑制 C-33A 细胞增殖、侵袭和迁移的能力 ($P < 0.05$); 能够促进 C-33A 细胞中 Let-7c 的表达 ($P < 0.05$), 具有一定的浓度依赖关系。上调 Let-7c 的表达可抑制 C-33A 细胞增殖、侵袭和迁移的能力 ($P < 0.05$)。紫草素能够回调由 anti-Let-7c 导致的细胞增殖、侵袭和迁移能力的升高 ($P < 0.05$)。紫草素可抑制 anti-Let-7c 对肿瘤生长的促进作用 ($P < 0.05$)。结论 紫草素能够通过上调 Let-7c 的表达抑制宫颈癌细胞的增殖、侵袭和迁移。

关键词: 紫草素; Let-7c; 宫颈癌 C-33A 细胞; 生物学特性**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.23.002**中图法分类号:** R285.5; Q25**文章编号:** 1673-4130(2019)23-2822-06**文献标识码:** A**Study on the effect of shikonin on the expression of Let-7c and the biological characteristics of cervical cancer cell line C-33A**WEN Rong¹, LI Shuxi^{2△}

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Wuxi Maternal and Child Health Hospital, Wuxi, Jiangsu 214000, China; 2. Department of Laboratory, Gezhouba Group Central Hospital, Yichang, Hubei 443000, China)

Abstract: Objective To study the effects of shikonin on the proliferation, invasion and migration of cervical cancer cells by affecting the expression of Let-7c. **Methods** The expression of Let-7c in cervical cancer tissues and normal cervical tissues, as well as cervical cancer cells C-33A and normal cervical cells Ect1/E6E7 were detected by qPCR. C-33A cells were intervened with different concentrations of shikonin. The effect of cell proliferation was detected by MTT assay. The effect of cell invasion and migration was detected by Transwell assay. The effect of qPCR on the expression of Let-7c in C-33A cells was detected. The expression of Let-7c in C-33A cells was up-regulated by cell transfection, and the effects on proliferation, invasion and migration of C-33A cells were detected by the same method. After transfection of Let-7c inhibitor in C-33A cells, shikonin was applied to investigate the effect of shikonin on the proliferation, invasion and migration of C-33A cells by affecting the expression of Let-7c. The nude mice xenograft model of cervical cancer C-33A cells was constructed and intratumorally injected with Let-7c inhibitor and shikonin. After treatment for 28 days, the tumor was weighed and weighed. **Results** The expression of Let-7c in cervical cancer tissues and cells was significantly lower than that in normal cervical tissues and cells ($P < 0.05$). Shikonin can inhibit the proliferation of C-33A cells in a concentration-dependent manner, inhibit the invasion and migration of cells ($P < 0.05$), and promote the expression of Let-7c in C-33A cells in a concentration-dependent manner ($P < 0.05$). Up-regulation of the expression of Let-7c inhibits the ability of C-33A cells to proliferate, invade and migrate ($P < 0.05$). Shikonin is able to upregulate the increase in cell proliferation, invasion and migration caused by

作者简介: 文蓉, 女, 主治医师, 主要从事妇产科相关的研究。△ **通信作者,** E-mail: 41703845@qq.com。

本文引用格式: 文蓉, 李树玺. 紫草素影响 Let-7c 的表达调控宫颈癌细胞 C-33A 生物学特性的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(23):

anti-Let-7c ($P < 0.05$). Shikonin inhibits the growth of anti-Let-7c on tumor growth. **Conclusion** Shikonin can inhibit the proliferation, invasion and migration of cervical cancer cells by up-regulating the expression of Let-7c.

Key words: shikonin; Let-7c; cervical cancer C-33A cells; biological characteristics

宫颈癌是女性生殖系统中常见的恶性肿瘤之一,其发病率呈逐年上升的趋势,对患者的健康和生命造成严重的影响^[1]。目前对宫颈癌的治疗主要以外科手术、放疗和化疗,但放疗和化疗的毒副作用极大,对患者身心造成严重的危害^[2]。因此,寻找高效、毒副作用较小的药物和治疗方法是治疗宫颈癌迫切需要解决的问题。紫草素是天然植物紫草根中的主要有效成分,具有广泛的抗炎、抗氧化、抗肿瘤等多种药理功效^[3]。目前的研究显示,紫草素能够显著抑制喉癌、大肠癌、宫颈癌等多种肿瘤细胞的增殖、侵袭和迁移,抑制肿瘤发展,有抗癌作用^[4-5]。多项研究表明,紫草素具有良好的抑制宫颈癌细胞生长的作用,且能够抑制裸鼠移植瘤的生长^[6-8]。微小 RNA(miRNA)是一种在进化上高度保守的长度约为 21 个核苷酸的非编码 RNA,在肿瘤的发生和发展过程中具有至关重要的作用^[9-10]。研究表明 Let-7c 在肝癌、非小细胞肺癌、乳腺癌等多种肿瘤中具有抑制肿瘤细胞增殖、侵袭的功能,发挥抗癌作用^[11-13]。研究显示,Let-7c 在宫颈癌细胞中呈低表达,而在正常细胞中呈高表达^[14],提示其可能参与宫颈癌的发生和发展。本研究首次探讨了中药紫草素可能通过影响 Let-7c 的表达来调控细胞增殖、迁移和侵袭等过程,为中药治疗宫颈癌的分子机制研究提供了新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 组织标本 为本院 2016 年 8 月至 2018 年 12 月妇产科病理学确认的人宫颈癌组织以及对应正常宫颈组织标本各 25 例,标本采集经所有患者及家属知情同意。本研究已经本院伦理会审核并批准。

1.1.2 细胞株 宫颈癌细胞株 C-33A 及正常宫颈细胞株 Ect1/E6E7 购于中国科学院上海生命科学院细胞库。

1.1.3 实验动物 40 只雌性健康 SPF 级 BALB/c-nu 裸鼠,体质量 17~22 g,5~7 周龄,购自中国科学院上海实验动物中心。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 主要仪器 酶联免疫检测仪购自美国 Thermo 公司;实时荧光定量 PCR 仪购自美国 Stratagene 公司;倒置显微镜购自上海蔡康光学仪器有限公司;流式细胞仪购自美国 Becton Dickinson 公司。

1.2.2 主要试剂 紫草素购自中国药品生物制品检定所,纯度 $\geq 99\%$;Trizol 提取试剂盒、反转录试剂盒购自碧云天生物技术研究;实时荧光定量 PCR 检测 2×SYBR Green Master Mix 试剂盒购自日本

TaKaRa 公司;实验所用引物均有上海生工生物工程股份有限公司合成;Let-7c mimics、mimics control、Let-7c inhibitor、inhibitor control 均购自上海吉玛制药技术有限公司;Lipofectamine™ 2000 转染试剂购自美国 Invitrogen 公司;Matrigel 购自美国 BD 公司;Transwell 小室购自美国 Corning 公司。

1.3 方法

1.3.1 qPCR 检测 使用 Trizol 法提取宫颈癌组织及正常宫颈组织和宫颈癌细胞株 C-33A 及正常宫颈细胞株 Ect1/E6E7 中总 RNA,采用反转录试剂盒进行反转录反应合成 cDNA。以合成 cDNA 为模板采用 2×SYBR Green Master Mix 检测试剂盒进行荧光定量 PCR 扩增。以 U6 为内参,采用相对定量 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 分析 Let-7c 的相对表达水平。

1.3.2 细胞分组和转染 宫颈癌 C-33A 细胞接种于含 10%FBS 的 DMEM 培养基(含 100 g/L 青霉素和 100 g/L 链霉素)中,置于 CO₂ 体积分数为 5%湿度为 95%的 37℃培养箱中培养。每隔 1 d 换液一次,待细胞生长汇合度达 90%时用胰蛋白酶消化传代,取处于对数生长期的细胞用于转染。转染前 24 h 更换成不添加抗生素的培养基培养,将细胞接种于 6 孔板中,继续培养约 12 h,当细胞生长汇合度至 40%~60%时采用 Lipofectamine™ 2000 转染试剂进行细胞转染。转染操作步骤参照转染试剂说明书进行。将转染 Let-7c mimics 的 C-33A 细胞记为 Let-7c 组,将转染 Let-7c inhibitor 的 C-33A 细胞记为 anti-Let-7c 组,将转染其阴性对照 mimics control 的 C-33A 细胞记为对照组。转染后的 C-33A 细胞置于 37℃培养箱中继续培养。转染 24 h 后,以终浓度为 40 μmol/L 的紫草素处理 anti-Let-7c 组细胞,记为 anti-Let-7c+紫草素组。

1.3.3 MTT 法检测宫颈癌 C-33A 细胞增殖能力 采用 MTT 法检测不同处理的宫颈癌细胞增殖能力,即在待测每孔细胞中加入浓度为 5 g/L MTT 10 μL,置于 37℃培养箱中继续培养 3 h,除去上清液,每孔细胞中加入 150 μL DMSO,于震荡仪上避光震荡至结晶紫完全溶解,在酶标仪上 492 nm 处测定各孔细胞吸光度值(A 值)。以时间为横轴,测得的 A 值为纵轴,绘制细胞生长曲线,观察细胞增殖情况。

1.3.4 Transwell 实验检测宫颈癌细胞迁移和侵袭能力 用无血清的培养基稀释 Matrigel 胶,铺于 Transwell 小室的上室中,每孔 40 μL,将小室置于 24 孔板中,在 37℃培养箱中静置,待基质胶完全风干后取出。将待检测的各组 C-33A 细胞饥饿处理 24 h,用胰

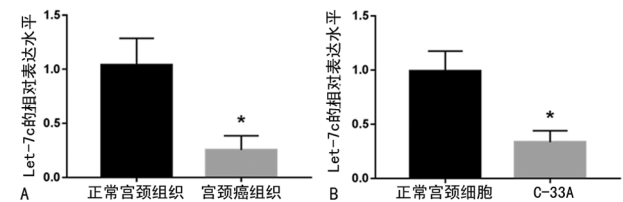
酶消化并收集细胞,以无血清培养液重悬细胞,制成浓度为 $2 \times 10^5/\text{mL}$ 的单细胞悬液。在 Transwell 小室的上室加入 $200 \mu\text{L}$ 细胞悬液,下室加入 $600 \mu\text{L}$ 含 10%FBS 的培养基, 37°C 培养箱中继续培养 48 h。取出 Transwell 小室,用棉签轻轻拭去未侵袭的细胞,以甲醇固定 10 min,结晶紫染色 15 min,洗涤后晾干,在倒置显微镜下随机选取 5 个视野进行拍照,计数。以穿膜细胞数表示细胞侵袭能力。以同样的方法检测细胞迁移能力,不同之处在于所用的 Transwell 小室的上室不加 Matrigel 基质胶涂层。

1.3.5 裸鼠体内移植瘤实验 取对数生长期的宫颈癌 C-33A 细胞接种到新鲜培养基中,继续培养 24 h,将细胞浓度调整为 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 的单细胞悬液,分别取 0.2 mL 细胞悬液接种于 40 只雌性健康 SPF 级 BALB/c-nu 裸鼠右侧颈背部皮下。将接种的裸鼠随机分为 4 组,每组 10 只,分别为对照组、anti-Let-7c 组、紫草素组和 anti-Let-7c+紫草素组。裸鼠接种瘤细胞 24 h 后,对照组采用瘤体内注射同体积生理盐水;anti-Let-7c 组采用瘤体内注射 Let-7c inhibitor 质粒 10 mg/(kg·d);紫草素组瘤体内注射 $40 \mu\text{mol/L}$ 紫草素 10 mg/(kg·d);anti-Let-7c+紫草素组瘤体内注射 Let-7c inhibitor 质粒及 $40 \mu\text{mol/L}$ 紫草素 10 mg/(kg·d)。连续处理 28 d 后处死裸鼠,测量肿瘤质量。

1.4 统计学处理 应用 SPSS21.0 统计学软件进行分析,实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,SNK-*q* 检验分析组间差异,多组间比较采用单因素方差分析,每组数据通过 3 个生物学重复检测获得,若 $P < 0.05$ 则差异有统计学意义。

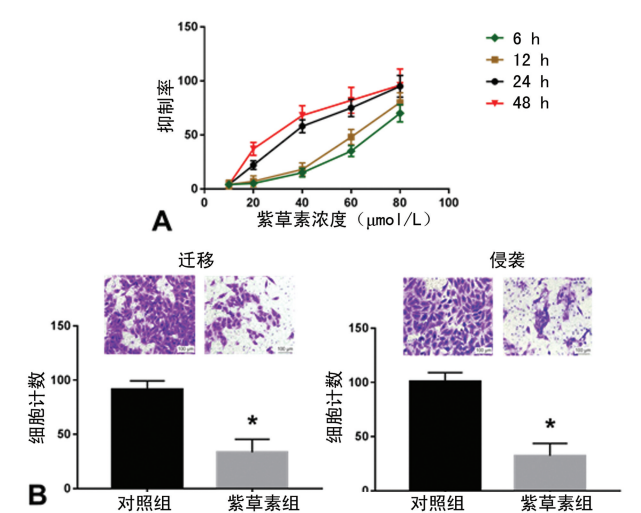
2 结 果

2.1 qPCR 检测 Let-7c 在不同组织和细胞中的表达情况 采用 qPCR 检测 Let-7c 在宫颈癌组织、正常宫颈组织、宫颈癌 C-33A 细胞及正常宫颈细胞(Ect1/E6E7 细胞)中的表达水平。与正常宫颈组织 Let-7c 的相对表达水平(1.035 ± 0.109)相比,宫颈癌组织(0.257 ± 0.046)中 Let-7c 的表达水平显著降低,差异有统计学意义($t = 20.795, P < 0.05$)。与正常宫细胞的 Let-7c 表达水平(0.993 ± 0.059)相比,宫颈癌 C-33A 细胞(0.334 ± 0.034)的 Let-7c 表达水平明显降低,差异有统计学意义($t = 30.603, P < 0.05$),见图 1。



注:与正常宫颈组织或细胞比较,* $P < 0.05$
图 1 qPCR 法检测不同组织和细胞中 Let-7c 的表达水平

2.2 紫草素对宫颈癌 C-33A 细胞增殖、侵袭和迁移的影响 用不同浓度的紫草素(10、20、40、60、80 $\mu\text{mol/L}$)干预 C-33A 细胞,在干预 6、12、24、48 h 后分别通过 MTT 法检测细胞增殖情况。随着紫草素浓度的升高,对 C-33A 细胞增殖抑制作用增强,在干预 24 h 时 40 $\mu\text{mol/L}$ 的紫草素可显著抑制细胞生长,因此选择浓度为 40 $\mu\text{mol/L}$ 的紫草素用于后续研究,见图 2A。通过 Transwell 实验检测紫草素对 C-33A 细胞迁移和侵袭的影响,见图 2B、2C,与对照组(91.4 ± 3.534 和 100.8 ± 3.707)相比,紫草素组 C-33A 细胞(33.6 ± 5.335 和 32.4 ± 5.115)的迁移和侵袭能力明显下降,差异有统计学意义($F_{\text{迁移}} = 15.644, F_{\text{侵袭}} = 18.754$,均 $P < 0.05$)。提示紫草素有够抑制宫颈癌 C-33A 细胞增殖、迁移和侵袭的能力。



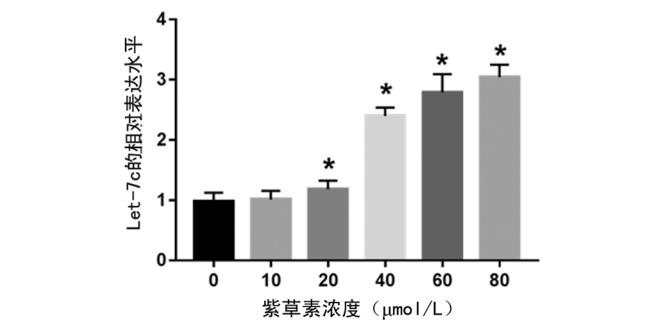
注:A为 MTT 法检测紫草素对 C-33A 细胞增殖能力;B为 Transwell 实验检测紫草素对 C-33A 细胞迁移能力;C为 Transwell 实验检测紫草素对 C-33A 细胞侵袭能力;*表示与对照比较, $P < 0.05$

图 2 紫草素对 C-33A 细胞增殖、侵袭和迁移的影响

2.3 紫草素对 C-33A 细胞中 Let-7c 表达的影响 为探究紫草素对 Let-7c 表达的影响,本实验通过不同浓度的紫草素干预 C-33A 细胞 24 h,通过 qPCR 检测细胞中 Let-7c 的表达情况。结果显示,与浓度为 0 $\mu\text{mol/L}$ 紫草素干预组(0.982 ± 0.064)相比,浓度在 20 $\mu\text{mol/L}$ 以上的紫草素干预可显著促进细胞中 Let-7c 的表达,且呈浓度依赖性增加,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见图 3。说明紫草素能够促进 C-33A 细胞中 Let-7c 的表达。

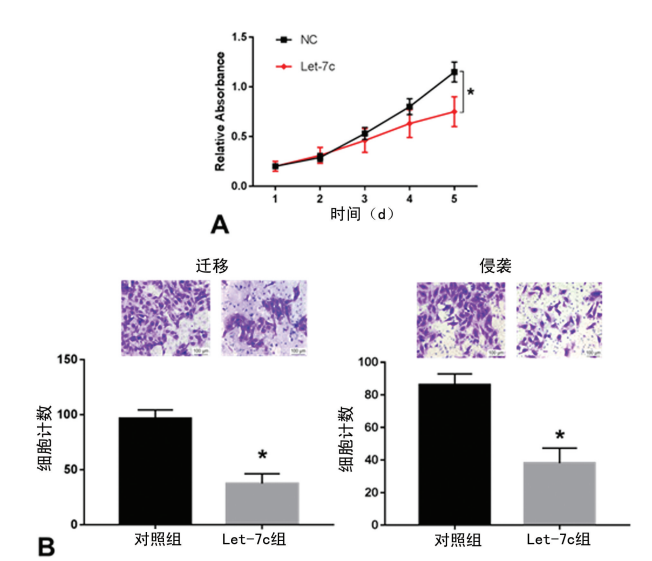
2.4 过表达 Let-7c 对宫颈癌 C-33A 细胞增殖、侵袭和迁移的影响 MTT 法检测 C-33A 细胞转染 Let-7c mimics 后 1、2、3、4、5 d 后细胞增殖情况,见图 4A。与对照组细胞比,Let-7c 组细胞增殖能力显著降低,差异有统计学意义($t_{2d} = 5.282, t_{3d} = 4.849, t_{4d} = 3.899, t_{5d} = 3.642, P < 0.05$)。通过 Transwell 实验检测转染 Let-7c mimics 后对 C-33A 细胞侵袭和迁移能力的影响,见图 4B 和 4C。与对照组细胞比较,Let-7c 组细胞侵袭和迁移能力均显著下降,差异有统计学意

义($t_{\text{迁移}}=19.473, t_{\text{侵袭}}=16.127, P<0.05$)。提示,上调 Let-7c 的表达能够显著抑制宫颈癌 C-33A 细胞的增殖、侵袭和迁移能力。



注: * 表示与 0 μmol/L 紫草素比较, $P<0.05$

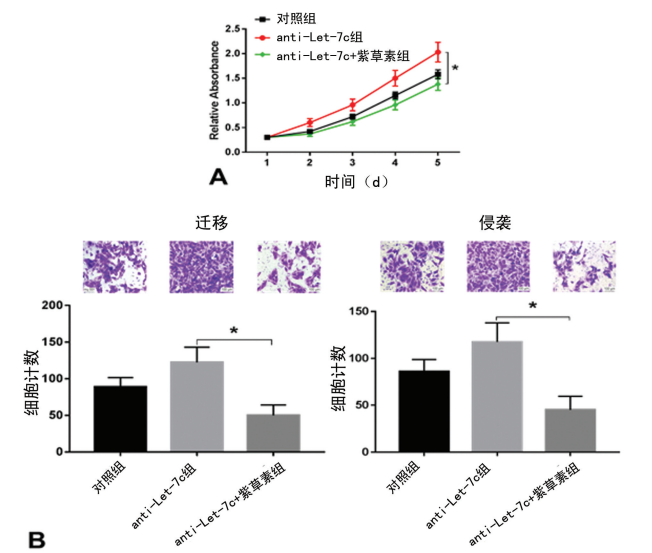
图 3 qPCR 检测不同浓度的紫草素对 C-33A 细胞中 Let-7c 表达的影响



注: A 为 MTT 法检测各组 C-33A 细胞增殖能力; B 为 Transwell 实验检测 C-33A 细胞迁移能力; C 为 Transwell 实验检测 C-33A 细胞侵袭能力; 与对照组比较, * $P<0.05$

图 4 转染 Let-7c mimics 后对 C-33A 细胞增殖、侵袭和迁移的影响

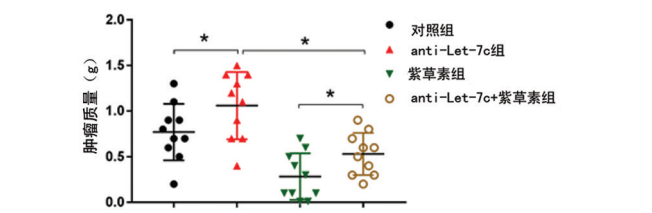
2.5 紫草素通过影响 Let-7c 的表达调控 C-33A 细胞增殖、迁移和侵袭能力 为研究紫草素通过调节 Let-7c 的表达影响宫颈癌细胞增殖、侵袭和迁移能力,本课题组在 C-33A 细胞中转染 Let-7c inhibitor 24 h 后用浓度为 40 μmol/L 的紫草素处理细胞,经 MTT 法检测处理 1、2、3、4、5 d 后细胞的增殖能力,见图 5A。与 anti-Let-7c 组细胞相比,anti-Let-7c+紫草素组细胞增殖能力降低,差异有统计学意义($F_{2d}=15.266, F_{3d}=11.723, F_{4d}=18.740, F_{5d}=16.748, P<0.05$),提示紫草素能够回调由转染 Let-7c inhibitor 导致的细胞增殖能力升高的现象。Transwell 实验检测结果显示,与 anti-Let-7c 组细胞相比,anti-Let-7c+紫草素组细胞迁移和侵袭能力均下降,差异有统计学意义($F_{\text{迁移}}=69.467, F_{\text{侵袭}}=75.039, P<0.05$),提示紫草素能够回调由 anti-Let-7c 导致的细胞迁移和侵袭能力升高的现象。



注: A 为 MTT 法检测各组 C-33A 细胞增殖能力; B 为 Transwell 实验检测各组 C-33A 细胞迁移能力; C 为 Transwell 实验检测各组 C-33A 细胞侵袭能力; 与 anti-Let-7c 组比较, * $P<0.05$

图 5 紫草素通过影响 Let-7c 调控 C-33A 细胞增殖、迁移和侵袭能力

2.6 紫草素通过调节 Let-7c 表达对小鼠移植瘤质量的影响 为进一步研究紫草素通过调节 Let-7c 的表达对宫颈癌细胞的影响,本实验在 SPF 级 BALB/c-nu 裸鼠体内接种宫颈癌 C-33A 细胞,经不同处理观察对移植瘤的影响,见图 6。与对照组裸鼠的移植瘤质量比较[(0.772±0.098)g],anti-Let-7c 组裸鼠移植瘤质量[(1.095±0.118)g]升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。与紫草素组裸鼠[(0.282±0.081)g]相比,anti-Let-7c+紫草素组裸鼠移植瘤质量[(0.534±0.073)g]升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。与 anti-Let-7c 组裸鼠相比,anti-Let-7c+紫草素组裸鼠移植瘤质量显著降低,差异具有统计学意义($F=40.665, P<0.05$)。说明紫草素可回调 anti-Let-7c 对肿瘤生长的促进作用,提示紫草素能够通过促进 Let-7c 的表达抑制移植瘤的生长。



注: * 表示 $P<0.05$

图 6 各组小鼠移植瘤质量的比较

3 讨论 近年来,天然药物在肿瘤治疗中发挥重要的作用,目前已引起国内外广大研究者的广泛关注^[15]。寻求新的天然抗癌药物以及药物抗癌作用靶点成为癌症治疗研究的发展方向。紫草素是从天然中药紫草中提取的一种萘醌类化合物,具有良好的抗癌效果^[16]。紫草素能够在体外抑制人卵巢癌 SKOV-3 细

细胞的增殖,并通过上调 Bax 表达和下调 Bcl-2 表达诱导 SKOV-3 细胞发生凋亡^[17]。紫草素可通过调节凋亡相关 PI3K/PKB 信号通路促进子宫内膜癌 HEC-1B 细胞凋亡,抑制细胞增殖^[18]。体外培养人胃癌 SGC-7901 细胞,以不同浓度的紫草素作用 SGC-7901 细胞后,胃癌 SGC-7901 细胞侵袭、迁移能力降低,qPCR 检测 MMP-2、MMP-7 mRNA 的表达,发现二者的表达显著下调,提示紫草素通过下调 MMP-2、MMP-7 的表达抑制胃癌 SGC-7901 细胞的侵袭和迁移^[19]。紫草素能够呈浓度依赖性抑制人宫颈癌 Hela 细胞的增殖、侵袭和迁移,其作用机制与抑制 FAK 信号通路活化有关^[20]。提示紫草素能够通过调控多种分子及信号通路发挥抗癌作用。本实验在体外培养宫颈癌 C-33A 细胞,以不同浓度的紫草素作用于 C-33A 细胞,在作用的不同时间点检测细胞增殖情况,结果显示,随着紫草素作用浓度的增加,对 C-33A 细胞增殖抑制作用逐渐增强,呈现出一定的浓度依赖关系。Transwell 实验结果显示,紫草素同样可以抑制宫颈癌 C-33A 细胞的迁移和侵袭。提示紫草素能够抑制宫颈癌 C-33A 细胞的增殖、侵袭和迁移,具有抗癌作用,与上述研究相符。此外,本研究还发现,紫草素干预 C-33A 细胞后 Let-7c 的表达量显著升高,这提示紫草素对宫颈癌细胞生物学特性的调控可能与影响 Let-7c 的表达有关。

Let-7c 最早是在线虫中发现的,是线虫发育过程中关键的调节因子^[21]。let-7 家族成员的成熟形式在物种间高度保守,它编码 13 个同源 miRNA 位于人类癌症中经常缺失的基因组位置^[22]。据报道,Let-7c 的上调能够抑制肺癌和前列腺癌细胞的生长,并可减少乳腺癌细胞的转移^[23-25]。然而,Let-7c 在宫颈癌 C-33A 细胞的恶性生物学行为中的作用仍有待进一步阐明。本研究首先检测了宫颈癌组织和正常宫颈组织中 Let-7c 的表达,发现 Let-7c 在宫颈癌组织中呈低表达,与 MALTA 等^[14]的研究一致,而且在宫颈癌细胞的表达较正常宫颈细胞低,这说明 Let-7c 与宫颈癌有一定的相关性,具有一定的研究价值。此外,本研究上调 C-33A 细胞中 Let-7c 的表达后,细胞增殖、侵袭和迁移能力均显著降低,说明 Let-7c 发挥抑制宫颈癌的作用。为探究紫草素对 Let-7c 表达的影响,本研究的 qPCR 检测结果显示,紫草素能够促进 Let-7c 的表达,且具有一定的浓度依赖性。为进一步探究紫草素通过影响 Let-7c 的表达调控宫颈癌细胞生物学特性,本研究转染 Let-7c inhibitor 后施加紫草素,观察对细胞的影响,结果显示,紫草素能够逆转由 Let-7c 下调引起的增殖、侵袭和迁移能力的升高。此外,本研究建立宫颈癌 C-33A 细胞小鼠移植瘤实验,研究紫草素治疗肿瘤的效果。结果发现与单纯注射紫草素的裸鼠移植瘤相比,同时注射 Let-7c inhibitor 和紫草

素的裸鼠移植瘤质量显著增加。与单纯注射 Let-7c inhibitor 的裸鼠移植瘤相比,同时注射 Let-7c inhibitor 和紫草素的裸鼠移植瘤质量显著降低,提示紫草素可回调 anti-Let-7c 对肿瘤生长的促进作用。进一步验证了紫草素通过影响 Let-7c 的表达起到抗肿瘤作用。

4 结 论

紫草素对宫颈癌 C-33A 细胞增殖、侵袭和迁移的抑制作用与下调 Let-7c 的表达有关。提示 Let-7c 很可能是紫草素调控宫颈癌细胞生物学特性的药理靶点之一。

参考文献

- [1] SMALL W, BACON M A, BAJAJ A, et al. Cervical cancer: a global health crisis[J]. *Cancer*, 2017, 123(13): 2404-2412.
 - [2] KESSLER T A. Cervical cancer: prevention and early detection[J]. *Semin Oncol Nurs*, 2017, 33(2): 172-183.
 - [3] 朱梦媛, 王汝冰, 周文, 等. 紫草素及其衍生物抗肿瘤作用研究进展[J]. *药学学报*, 2012, 347(5): 588-593.
 - [4] 鲁昊, 康健. 紫草素对人喉癌 Hep-2 细胞生长的作用研究[J]. *东南大学学报(医学版)*, 2011, 30(2): 350-354.
 - [5] ZHANG L L, ZHAN L, JIN Y D, et al. SIRT2 mediated antitumor effects of shikonin on metastatic colorectal cancer[J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 797(1): 1-8.
 - [6] 徐翊雯, 袁瑞娟, 董洁, 等. 紫草素锌配合物的合成及其对宫颈癌 HeLa 细胞的抑制作用[J]. *中医学报*, 2016, 31(3): 316-318.
 - [7] Dan L U, Qian J, Wei L I, et al. β -hydroxyisovalerylshikonin induces human cervical cancer cell apoptosis via PI3K/AKT/mTOR signaling[J]. *Oncol Lett*, 2015, 10(6): 3434-3442.
 - [8] 郝臻凤, 刘静, 张瑜, 等. 紫草素对宫颈癌 Hela 细胞增殖、侵袭和迁移的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(6): 91-94.
 - [9] RUPAIMOOLE R, CALIN G A, LOPEZ-BERESTEIN G, et al. MicroRNA deregulation in cancer cells and the tumor microenvironment[J]. *Cancer Discov*, 2016, 6(3): 235-246.
 - [10] GANJU A, KHAN S, HAFEEZ B B, et al. MiRNA nanotherapeutics for cancer[J]. *Drug Discov Today*, 2017, 22(2): 424-432.
 - [11] ZHU X M, WU L J, XU J, et al. Let-7c microRNA expression and clinical significance in hepatocellular carcinoma[J]. *J Int Med Res*, 2011, 39(6): 2323-2329.
 - [12] DOU H, WANG Y, SU G, et al. Decreased plasma let-7c and miR-152 as noninvasive biomarker for non-small-cell lung cancer[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(6): 9291-9298.
 - [13] FU X, MAO X, WANG Y, et al. Let-7c-5p inhibits cell proliferation and induces cell apoptosis by targeting ERCC6 in breast cancer[J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(3): 1851-1856.
- (下转第 2831 页)

- sions [J]. Gynakol Rundsch, 1989, 29 (Suppl 3): S44-S53.
- [6] 孙晔. 586 例宫颈疾病患者 HPV 检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(12): 1777-1779.
- [7] DE SANJOSE S, DIAZ M, CASTELLSAGUE X, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis [J]. Lancet Infect Dis, 2007, 7 (7): 453-459.
- [8] 孙聪聪, 梁爽, 蒋鹏, 等. 重庆市女性 HPV 感染情况的流行病学调查[J]. 重庆医学, 2016, 45(36): 5136-5138.
- [9] 赵俊伟, 孙晓旭, 平杰丹, 等. 河南省 63 043 例女性宫颈脱落细胞 HPV 基因分型分析[J]. 医学研究杂志, 2018, 47 (9): 58-62.
- [10] 李霞, 何跃东. 成都地区 HPV 感染情况分析[J]. 四川医药, 2018, 39(4): 435-437.
- [11] WANG YY, LI L, WEI S, et al. Human Papillomavirus (HPV) infection in women participating in cervical cancer screening from 2006 to 2010 in Shenzhen City, South China [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(12): 7483-7487.
- [12] ZHAO JW, XU JJ, YAN M, et al. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus: implications for cancer screening and vaccination in Henan province, China [J]. Rev Soc Bras Med Trop, 2016, 49(2): 237-240.
- [13] 李晓阳, 郭学青. 北京石景山地区人乳头瘤病毒 (HPV) 感染的分子流行病学研究[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(8): 866-868.
- [14] 李凌佳, 张胜, 顾华, 等. HPV 感染基因型分布的回顾性分析[J]. , 2016, 38(1): 5-8.
- [15] 徐帅师, 牛凤霞, 高瑾, 等. 河北地区 26 385 例女性宫颈细 HPV 基因分型分析[J]. 2018, 30(8): 947-950.
- [16] 罗仲秋, 冷平, 刘祥琴, 等. 成都地区妇女 HPV 感染的流行病学特征及与宫颈病变的关系[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2018, 37(1): 49-53.
- [17] 裴蕴经, 经先振, 周娟, 等. 医院就诊人群 HPV 感染的流行病学特征及其与宫颈癌/癌前病变的关系[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2018, 47(3): 349-353.
- [18] GARG A, SURI V, NIJHAWAN R, et al. Prevalence of human papilloma virus infection in young primiparous women during postpartum period: study from a tertiary care center in northern india [J]. J Clin Diagn Res, 2016, 10(10): 6-9.
- [19] 赵俊琴, 石玉萍, 何鸿绯, 等. 2012—2016 年山西阳泉地区妇女门诊宫颈 HPV 感染状况[J]. 中国妇幼保健, 2018, 33(22): 5135-5138.
- [20] 李霓, 代敏. 中国城市妇女人乳头状瘤病毒多重感染情况及其与子宫颈病变的关系[J]. 中华预防医学杂志, 2010, 44(5): 423-426.
- [21] QIAN L, ZHANG Y, CUI D, et al. Analysis of epidemiological trends in human papillomavirus infection among gynaecological outpatients in Hangzhou, China, 2011—2015 [J]. BMC infectious diseases, 2017, 17(1): 393.

(收稿日期: 2019-04-19 修回日期: 2019-08-20)

(上接第 2826 页)

- [14] MALTA M, RIBEIRO J, MONTEIRO P, et al. Let-7c is a candidate biomarker for cervical intraepithelial lesions: a pilot study [J]. Mol Diagn Ther, 2015, 19(3): 191-196.
- [15] 刘雪丽, 周学锋, 王君瑜, 等. 中药抗肿瘤作用机制研究进展[J]. 中国药师, 2016, 19(6): 1158-1162.
- [16] 梁文全, 陈凛, 郝洪庆, 等. 紫草素在消化系统肿瘤中的抗癌机制研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(15): 2977-2980.
- [17] 王汝兴, 鲁艳杰, 周健, 等. 紫草素对人卵巢癌细胞 SK-OV3 细胞增殖和凋亡的影响[J]. 中药药理与临床, 2016, 32(2): 76-79.
- [18] HUANG C, HU G. Shikonin suppresses proliferation and induces apoptosis in endometrioid endometrial cancer cells via modulating miR-106b/PTEN/AKT/mTOR signaling pathway [J]. Biosci Rep, 2018, 38 (2): BSR20171546.
- [19] SHEN X J, WANG H B, MA X Q, et al. β , β -Dimethylacrylshikonin induces mitochondria dependent apoptosis through ERK pathway in human gastric cancer SGC-7901 cells [J]. PLoS One, 2012, 7(7): e41773.
- [20] 郝臻凤, 刘静, 张瑜, 等. 紫草素对宫颈癌 HeLa 细胞增殖、侵袭和迁移的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21 (6): 91-94.
- [21] BAGGA S, BRACHT J, HUNTER S, et al. Regulation by let-7 and lin-4 miRNAs results in target mRNA degradation [J]. Cell, 2005, 122(4): 553-563.
- [22] BOYERINAS B, PARK S M, HAU A, et al. The role of let-7 in cell differentiation and cancer [J]. Endocr Relat Cancer, 2010, 17(1): 19-36.
- [23] ZHAO B, HAN H, CHEN J, et al. MicroRNA let-7c inhibits migration and invasion of human non-small cell lung cancer by targeting ITGB3 and MAP4K3 [J]. Cancer Lett, 2014, 342(1): 43-51.
- [24] NADIMINTY N, TUMMALA R, LOU W, et al. MicroRNA let-7c is downregulated in prostate cancer and suppresses prostate cancer growth [J]. Plos One, 2012, 7(3): e32832.
- [25] LI X X, GAO S Y, WANG P Y, et al. Reduced expression levels of let-7c in human breast cancer patients [J]. Oncology Lett, 2015, 9(3): 1207-1212.

(收稿日期: 2019-03-22 修回日期: 2019-06-22)