

[宫颈癌防控专题研究]

槐耳多糖对宫颈癌 CaSki 细胞增殖、凋亡、迁移侵袭的影响及其作用机制研究

陈良凤^{1,2}, 吕小慧³, 王建³, 马园园⁴

(1.安康市中心医院妇产科,陕西 安康 725000;2.安康市高新医院妇产科,陕西 安康 725000;3.空军军医大学
第一附属医院妇产科,陕西 西安 710032;4.延安市人民医院妇产科,陕西 延安 716000)

[摘要]目的 探讨槐耳多糖(HP)对宫颈癌 CaSki 细胞生物学行为的影响及其作用机制。方法 体外培养人正常宫颈上皮细胞 HcerEpic 及宫颈癌细胞 CaSki,根据不同处理方法将 CaSki 分为 Con 组、HP-L 组、HP-M 组、HP-H 组、pcDNA 组、pcDNA-非受体型蛋白质酪氨酸磷酸酶 9(PTPN9)组、HP-H+si-NC 组、HP-H+si-PTPN9 组。采用实时定量 PCR(qRT-PCR)分析 PTPN9 在 HcerEpic 细胞及各组 CaSki 细胞中的表达情况;利用甲基噻唑基四唑(MTT)法评估细胞增殖能力;通过克隆形成实验测定细胞克隆生成效率;应用流式细胞术检测细胞凋亡水平;划痕实验用于观察细胞迁移能力,Transwell 小室实验则评估细胞的侵袭行为;Western blot 技术用于检测细胞 PTPN9、活化半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3(cleaved-caspase 3)、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、活化半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 9(cleaved-caspase 9)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)表达水平。结果 与人正常宫颈上皮细胞 HcerEpic 相比,PTPN9 mRNA、PTPN9 蛋白在宫颈癌 CaSki 细胞中表达水平显著降低($t=18.665, 9.758, P<0.05$);与 Con 组比较,细胞凋亡率、PTPN9 mRNA、PTPN9 蛋白、cleaved-caspase 3 蛋白、cleaved-caspase 9 蛋白表达水平在 HP-L、HP-M、HP-H 组显著升高,且 HP-H 组>HP-M 组>HP-L 组($F=114.333, 104.110, 45.244, 101.093, 88.405, P<0.05$), (24h, 48h, 72h)吸光度(OD)值、细胞克隆形成数、划痕愈合率、侵袭细胞数、MMP-2 蛋白、MMP-9 蛋白水平在 HP-L、HP-M、HP-H 组显著降低,且 HP-H 组<HP-M 组<HP-L 组($F=34.286, 17.209, 18.749, 40.868, 44.577, 27.125, 110.816, 60.721, P<0.05$);与 Con 组、pcDNA 组相比,pcDNA-PTPN9 组细胞凋亡率、PTPN9 mRNA、PTPN9 蛋白、cleaved-caspase 3 蛋白、cleaved-caspase 9 蛋白表达水平较高($F=226.034, 217.858, 95.392, 196.636, 168.796, P<0.05$), (24h, 48h, 72h)OD 值、侵袭细胞数、划痕愈合率、MMP-2 蛋白、MMP-9 蛋白水平、细胞克隆形成数较低($F=21.828, 19.793, 15.525, 31.634, 49.353, 109.400, 65.314, 42.140, P<0.05$);与 HP-H、HP-H+si-NC 组相比,HP-H+si-PTPN9 组细胞凋亡率、PTPN9 mRNA、PTPN9 蛋白、cleaved-caspase 3 蛋白、cleaved-caspase 9 蛋白表达水平较低($F=100.025, 74.414, 46.500, 69.500, 63.495, P<0.05$), (24h, 48h, 72h)OD 值、侵袭细胞数、划痕愈合率、MMP-9 蛋白、MMP-2 蛋白水平、细胞克隆形成数较高($F=28.773, 35.559, 22.211, 74.114, 75.064, 111.636, 102.091, 56.908, P<0.05$)。结论 槐耳多糖可能通过调控 PTPN9 的表达进而调控宫颈癌 CaSki 细胞的增殖、凋亡、迁移侵袭。

[关键词]槐耳多糖;非受体型蛋白质酪氨酸磷酸酶 9;宫颈癌细胞;增殖;迁移;侵袭;凋亡

Doi:10.3969/j.issn.1673-5293.2025.11.003

[中图分类号]R173

[文献标识码]A

[文章编号]1673-5293(2025)11-0015-08

Study on effect of Huai'er polysaccharide on proliferation, apoptosis, migration and invasion of cervical cancer CaSki cells and its mechanism

CHEN Liangfeng^{1,2}, LV Xiaohui³, WANG Jian³, MA Yuanyuan⁴

(1.Department of Gynecology and Obstetrics, Ankang Municipal Central Hospital, Shaanxi Ankang 725000, China;

2.Department of Gynecology and Obstetrics, Ankang Gaoxin Hospital, Shaanxi Ankang 725000, China; 3.Department of

Gynecology and Obstetrics, The First Affiliated Hospital of The Air Force Military Medical University, Shaanxi Xi'an 710032,

China; 4.Department of Gynecology and Obstetrics, Yan'an Municipal Central Hospital, Shaanxi Yan'an 716000, China)

[Abstract] Objective To investigate effect of Huai'er polysaccharide (HP) on biological behavior of cervical cancer CaSki cells and its mechanism. **Methods** Human normal cervical epithelial cells HcerEpic and cervical cancer Caski cells were cultured in vitro. The cervical cancer CaSki cells were divided into Con group, HP-L group, HP-M group, HP-H group, pcDNA group, pcDNA-PTPN9

[收稿日期]2024-08-08

[基金项目]国家自然科学基金(81172458);陕西省自然科学基金研究计划重点项目(2024JC-ZDXM-52)

[作者简介]陈良凤(1981—),女,副主任医师,硕士,主要从事妇科肿瘤及子宫内膜异位症的基础研究。

[通讯作者]马园园,副主任医师。

group, HP-H + si-NC group and HP-H + si-PTPN9 group according to different treatment methods. Real-time quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to detect expression levels of protein tyrosine phosphatase non-receptor type 9 (PTPN9) in HcerEpic cells and various groups of CaSki cells. Methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay was used to detect proliferation activity of the cells in each group. Cell clone formation experiment was used to detect number of cell clones formed. Flow cytometry was used to determine apoptosis rate of the cells. The scratch test was used to detect cell migration. The Transwell experiment was used to detect number of cell invasion. Western blot assay was used to detect expression levels of PTPN9, cleaved-caspase 3, matrix metalloproteinase 2 (MMP-2), cleaved-caspase 9 and matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) in the cells. **Results** Compared with normal cervical epithelial cells HcerEpic, the expression levels of PTPN9 mRNA and PTPN9 protein in the cervical cancer CaSki cells were significantly lower ($t=18.665$ and 9.758 respectively, both $P<0.05$). Compared with the Con group, the apoptosis rate and the expression levels of PTPN9 mRNA, PTPN9 protein, cleaved-caspase 3 protein and cleaved-caspase 9 protein in the HP-L group, the HP-M group and the HP-H group were significantly higher, and the data in the HP-H group $>$ those in the HP-M group $>$ those in the HP-L group ($F=114.333, 104.110, 45.244, 101.093$ and 88.405 respectively, all $P<0.05$). Optical density (OD) values (at 24h, 48h, 72h), number of cell clones formed, scratch healing rate, number of invasive cells, expression levels of MMP-2 protein and MMP-9 protein in the HP-L group, the HP-M group and the HP-H group were significantly lower, and the data in the HP-H group $<$ those in the HP-M group $<$ those in the HP-L group ($F=34.286, 17.209, 18.749, 40.868, 44.577, 27.125, 110.816$ and 60.721 respectively, all $P<0.05$). Compared with the Con group and the pcDNA group, apoptosis rate and expression levels of PTPN9 mRNA, PTPN9 protein, cleaved-caspase 3 protein and cleaved-caspase 9 protein in the pcDNA-PTPN9 group were higher ($F=226.034, 217.858, 95.392, 196.636$ and 168.796 respectively, all $P<0.05$), while OD values (at 24h, 48h, 72h), number of invasive cells, scratch healing rate, expression levels of MMP-2 protein and MMP-9 protein and number of cell clones formed were lower ($F=21.828, 19.793, 15.525, 31.634, 49.353, 109.400, 65.314$ and 42.140 respectively, all $P<0.05$). Compared with the HP-H group and the HP-H + si-NC group, apoptosis rate and expression levels of PTPN9 mRNA, PTPN9 protein, cleaved-caspase 3 protein and cleaved-caspase 9 protein in the HP-H + si-PTPN9 group were lower ($F=100.025, 74.414, 46.500, 69.500$ and 63.495 respectively, all $P<0.05$), while OD values (at 24h, 48h, 72h), number of invasive cells, scratch healing rate, expression levels of MMP-9 protein and MMP-2 protein, and number of cell clones formed were higher ($F=28.773, 35.559, 22.211, 74.114, 75.064, 111.636, 102.091$ and 56.908 respectively, all $P<0.05$). **Conclusion** HP may regulate proliferation, apoptosis, migration and invasion of the cervical cancer CaSki cells by regulating expression of PTPN9.

[Key words] Huai'er polysaccharide; non-receptor protein tyrosine phosphatase 9; cervical cancer cell; proliferation; migration; invasion; apoptosis

宫颈癌为女性常见恶性肿瘤之一,其发病率、致死率均较高,且发病率呈逐年增高的趋势^[1-2]。目前临床治疗宫颈癌主要是通过手术治疗,但其效果不甚理想,且术后并发症较多,近年来中医药在宫颈癌中发挥着较好的治疗效果^[3]。槐耳多糖(Huai'er polysaccharide, HP)为槐耳提取物,研究显示,HP可抑制胰腺癌^[4]、骨肉瘤^[5]、乳腺癌^[6]等癌细胞的恶性生物学行为,发挥抑癌作用。非受体型蛋白质酪氨酸磷酸酶 9 (protein tyrosine phosphatase non-receptor type 9, PTPN9) 属于蛋白酪氨酸磷酸酶 (protein tyrosine phosphatase, PTPs) 家族成员,在宫颈癌组织中低表达,上调其表达可抑制宫颈癌细胞的增殖、迁移和侵袭,促进细胞凋亡^[7]。但 HP 对宫颈癌 CaSki 细胞增殖、凋亡、迁移侵袭及其作用机制,且是否通过调控 PTPN9 的表达发挥其相应的生物学作

用也尚未见相关报道,因此本文旨在通过分析 HP 对宫颈癌 CaSki 细胞生物学行为的影响及可能机制,以期对宫颈癌的治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞与试剂

人正常宫颈上皮细胞 HcerEpic (美国 ATCC, 货号: AC340 374)、宫颈癌细胞 CaSki (上海研生实业有限公司, 货号: YS-ATCC085); 槐耳多糖 (上海源叶生物科技有限公司); DMEM 培养液、胰蛋白酶、DMEM/F12 培养基、胎牛血清 (美国 Gibco); LipofectamineTM 2000 试剂盒、Annexin V-FITC/PI 试剂盒 (北京索莱宝); miRNA 提取试剂盒 (美国 Ambion); qRT-PCR 试剂盒、逆转录试剂盒 (北京奥莱博科技有限公司); 甲基噻唑基四唑法 (methyl

thiazolyl tetrazolium, MTT) 试剂盒(上海晶抗生物工程有限公司); PTPN9、活化半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (cleaved-caaspase 3)、基质金属蛋白酶-2 (matrixmetalloproteinase 2, MMP-2)、活化半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 9 (cleaved-caaspase 9)、基质金属蛋白酶-9 (matrixmetalloproteinase 9, MMP-9) 抗体(美国 Abcam 公司); si-NC、si-PTPN9、pcDNA、pcDNA-PTPN9(上海 GenePharma); GAPDH 二抗(美国 CST); Western blot 自动检测分析仪、BD CALIBUR 流式细胞仪(上海天能生物); Synergy H1 Hybrid Reader 全自动酶标仪(美国 BioTek); StepOnePlus qRT-PCR 仪(美国 Applied Biosystems)。本研究通过伦理审核(编号:20241183)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养

人正常宫颈上皮细胞 HcerEpic 及宫颈癌细胞 CaSki 细胞经含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液进行培养,培养条件为 37℃、5% CO₂,期间需每隔 24h 换液一次,用胰蛋白酶进行消化传代。取第 3 代细胞用作后续实验。

1.2.2 细胞分组与转染

将转染与未转染的 CaSki 细胞进行如下分组:未进行任何处理的细胞(记为 Con 组),未转染的 CaSki 细胞用分别用含 1、3、5 μg/mL 的 HP^[8] 处理 48h 分别记为 HP-L 组、HP-M 组、HP-H 组;转染 pcDNA、pcDNA-PTPN9 的细胞分别记为 pcDNA 组、pcDNA-PTPN9 组;转染 si-NC、si-PTPN9 后再用 5 μg/mL 的 HP 处理 48h 的细胞分别记为 HP-H+si-NC 组、HP-H+si-PTPN9 组。

1.2.3 qRT-PCR 法检测 PTPN9 mRNA 表达

各组细胞中总 RNA 用 miRNA 提取试剂盒进行提取,按照荧光定量 PCR 试剂盒使用说明进行 qRT-PCR, GAPDH 作为 PTPN9 的内参基因。PTPN9 mRNA 引物序为 F: 5'-ATGTGCTCCGTGCCATAGAATTG-3', R: 5'-GAGGATCTGAGACGAAGAGGTTCC-3'; GAPDH 引物序列为 F: 5'-TGTTGCATCAATGACCCCTT-3', R: 5'-CTCCACGACGTACTCAGCG-3',引物均由上海生工合成。2^{-ΔΔCt} 法计算相对表达量。

1.2.4 MTT 法检测细胞增殖活力

将不同处理组的 CaSki 细胞接种于 96 孔板中,在 24h、48h 与 72h 分别加入 20 μL MTT 试剂,于避光条件下孵育 2 小时后,采用酶标仪在 490nm 波长处测定吸光度(optical density, OD)值,反映细胞活性水平。

1.2.5 细胞克隆形成实验

各组 CaSki 细胞(每孔接种 500 个)接种于 6 孔板,连续培养 15 天,随后用甲醇固定细胞并以 0.5% 结晶紫染色 30 分钟,在光学显微镜下进行克隆数量统计。

1.2.6 划痕实验检测细胞迁移能力

将细胞均匀铺于 24 孔板中(每孔 200 μL),待融合形成单层后,使用 20 μL 枪头在孔板背面垂直划线造成划痕,弃去原培养液并更换新鲜培养基。设划痕起始时间为 0h,培养 24h 后拍照记录,通过测量划痕宽度变化计算迁移率。

1.2.7 Transwell 实验检测细胞侵袭能力

将各组 CaSki 细胞(5 × 10⁵ 个)接种至 Transwell 上室,底部加入 600 μL 含 10% 胎牛血清的培养基以作为趋化因子,孵育 24 小时后,用 70% 乙醇固定穿膜细胞,1% 结晶紫染色,镜下计数侵袭细胞数量。

1.2.8 流式细胞术检测各组细胞凋亡率

将 500 μL 结合缓冲液加入培养 48h 的各组 CaSki 细胞,混合均匀,加入 5 μL Annexin V-FITC 及 5 μL PI 染液后再次混匀,室温下避光培养 15min,应用流式细胞仪检测各组细胞凋亡率。

1.2.9 Western blot 检测蛋白表达水平

采用 RIPA 裂解液提取细胞总蛋白,经 10% SDS-PAGE 分离后转膜至 PVDF 膜上,以 5% 脱脂奶粉封闭 2 小时。分别加入 PTPN9、cleaved-caspase 3、cleaved-caspase 9、MMP-2、MMP-9 及内参 GAPDH 抗体(均为 1:1 000 稀释),于 4℃ 孵育过夜;次日加入 HRP 标记的二抗(1:2 000),室温孵育 1 小时后用 ECL 显色,蛋白条带灰度值由 Image J 软件进行定量分析。

1.3 统计学分析

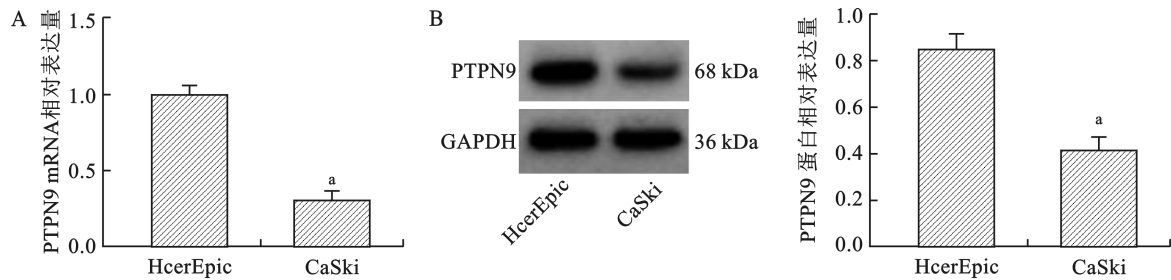
采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析。计量资

料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。数据正态性通过 Shapiro-Wilk 检验;方差齐性通过 Levene 检验验证。若数据符合正态分布且方差齐性满足,两组比较行 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD- t 检验。若数据非正态或方差不齐,则改用非参数检验(Mann-Whitney U 检验代替 t 检验)。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PTPN9 在 HcerEpic 细胞及 CaSki 细胞中的表达水平

与人正常宫颈上皮细胞 HcerEpic 相比,PTPN9 mRNA、PTPN9 蛋白在宫颈癌 CaSki 细胞中表达水平显著降低($t = 18.665, 9.758, P < 0.05$),见图 1。



注:A为 PTPN9 mRNA 在 HcerEpic 细胞及 CaSki 细胞中的表达;B为 PTPN9 蛋白在 HcerEpic 细胞及 CaSki 细胞中的表达。

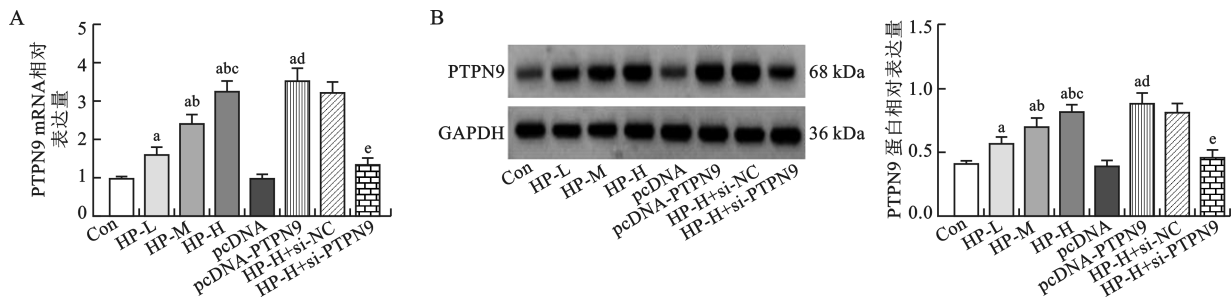
图 1 PTPN9 在 HcerEpic 细胞及 CaSki 细胞中的表达

Fig.1 Expression of PTPN9 in the HcerEpic cells and the CaSki cells

2.2 各组 CaSki 细胞中 PTPN9 表达水平比较

与 Con 组比较,PTPN9 mRNA、PTPN9 蛋白表达水平在 HP-L、HP-M、HP-H 组显著升高,且 HP-H 组 > HP-M 组 > HP-L 组 ($F = 104.110, 45.244, P < 0.05$);与 Con 组、pcDNA 组相比,

pcDNA-PTPN9 组 PTPN9 mRNA、PTPN9 蛋白表达水平较高($F = 217.858, 95.392, P < 0.05$);HP-H + si-PTPN9 组 PTPN9 mRNA、PTPN9 蛋白表达水平较 HP-H、HP-H + si-NC 组低 ($F = 74.414, 46.500, P < 0.05$),见图 2。



注:A为各组 CaSki 细胞中 PTPN9 mRNA 表达;B为各组 CaSki 细胞中 PTPN9 蛋白表达。

图 2 各组 CaSki 细胞中 PTPN9 表达

Fig.2 Expression of PTPN9 in the eight groups of CaSki cells

2.3 各组 CaSki 细胞增殖情况比较

与 Con 组比较,HP-L、HP-M、HP-H 组的 (24h、48h、72h)OD 值及细胞克隆形成数显著降低,且 HP-H 组 < HP-M 组 < HP-L 组 ($F = 34.286, 17.209, 18.749, 40.868, P < 0.05$),与 Con 组、pcDNA 组相比,pcDNA-PTPN9 组的 (24h、48h、72h)OD 值及细胞克隆形成数明显降低 ($F = 21.828, 19.793, 15.525, 42.140, P < 0.05$);与 HP-H、HP-H + si-NC 组相比,HP-H + si-PTPN9 组的

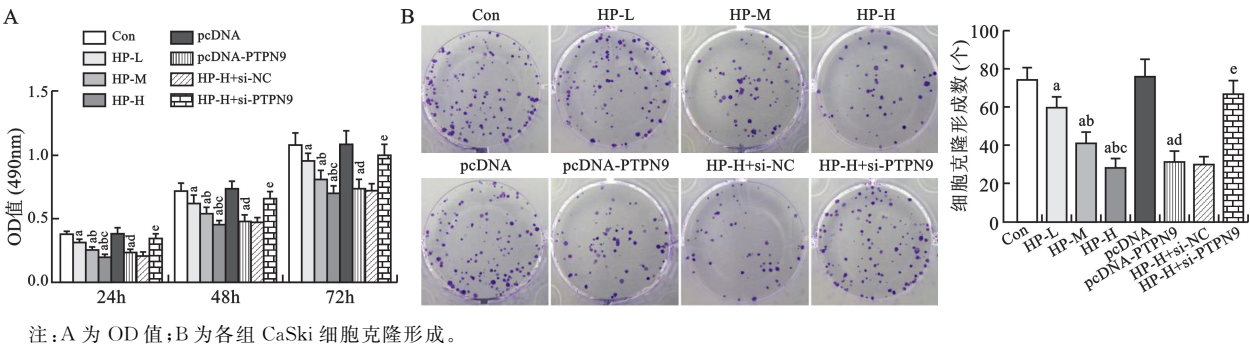
(24h、48h、72h)OD 值及细胞克隆形成数明显升高 ($F = 28.773, 35.559, 22.211, 56.908, P < 0.05$),见图 3。

2.4 各组 CaSki 细胞凋亡情况比较

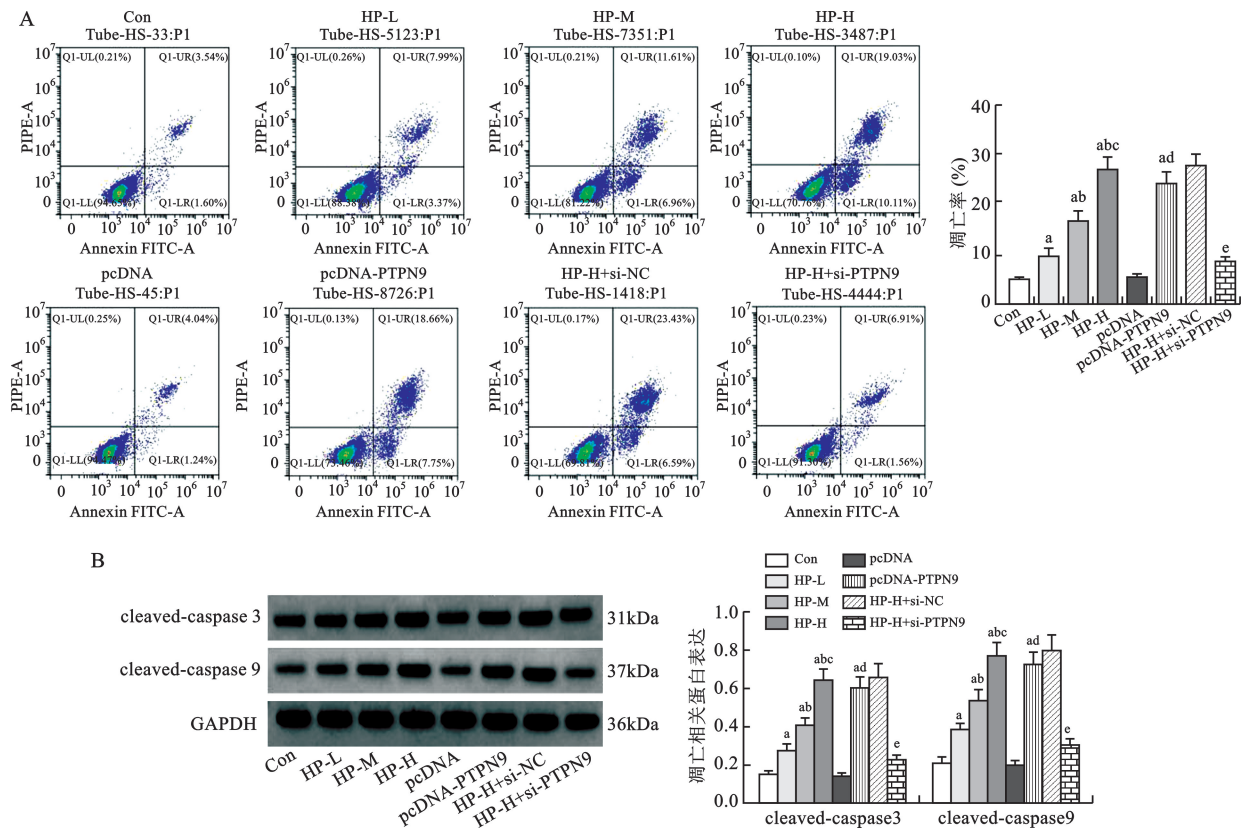
与 Con 组比较,HP-L、HP-M、HP-H 组细胞凋亡率、cleaved-caspase 3 蛋白、cleaved-caspase 9 蛋白相对表达量显著升高,且 HP-H 组 > HP-M 组 > HP-L 组 ($F = 114.333, 101.093, 88.405, P < 0.05$),与 Con 组、pcDNA 组相比,pcDNA-PTPN9 组细胞凋亡率、cleaved-caspase 3 蛋白、cleaved-caspase 9

蛋白相对表达量明显升高 ($F = 226.034, 196.636, 168.796, P < 0.05$); 与 HP-H、HP-H + si-NC 组相比, HP-H + si-PTPN9 组细胞凋亡率、cleaved-

caspase 3 蛋白、cleaved-caspase 9 蛋白相对表达量明显降低 ($F = 100.025, 69.500, 63.495, P < 0.05$), 见图 4。



注: A 为 OD 值; B 为各组 CaSki 细胞克隆形成。
图 3 各组 CaSki 细胞增殖情况比较
Fig.3 Comparison of proliferation of the Caski cells among the eight groups of CaSki cells



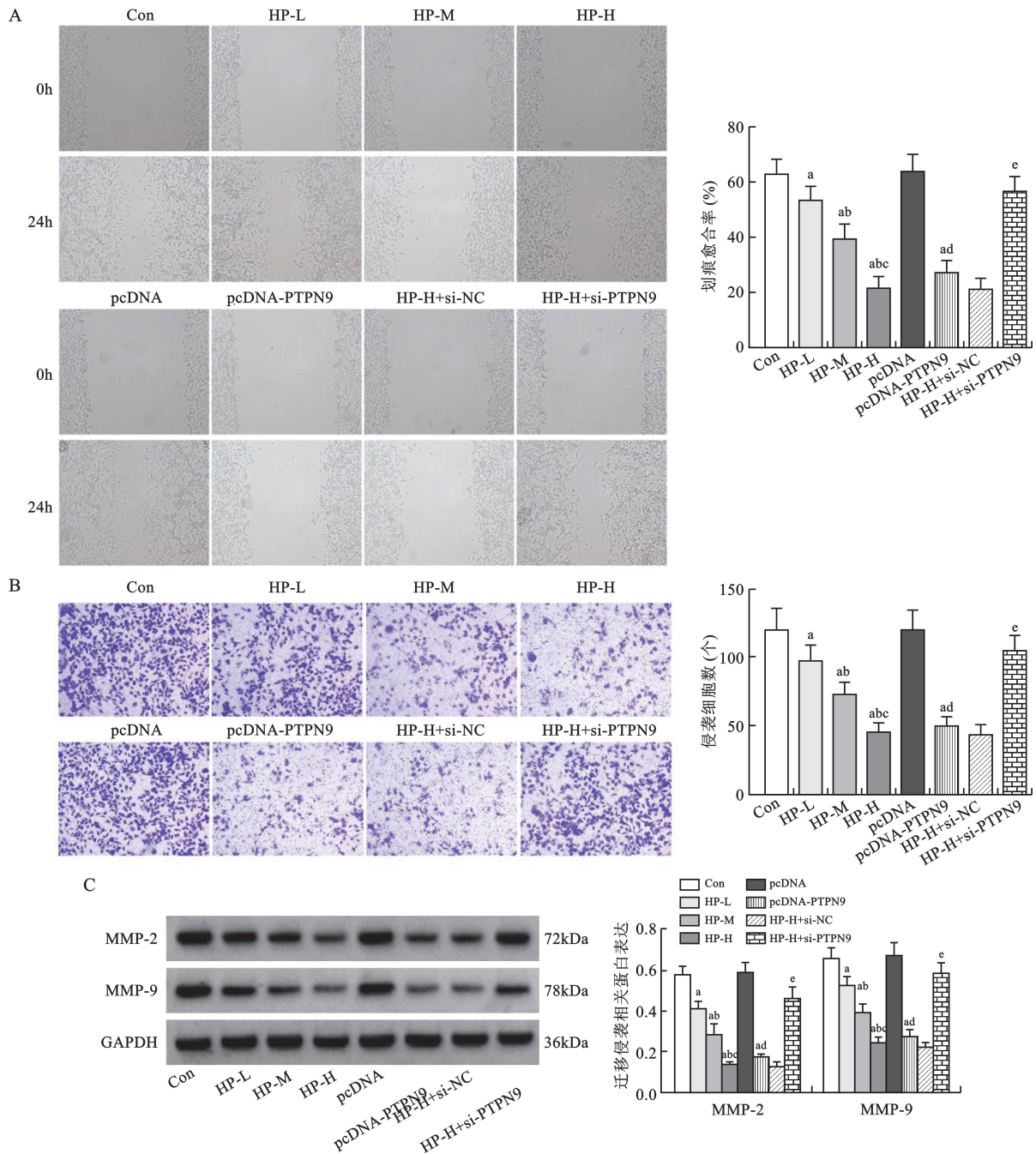
注: A 为各组 CaSki 细胞凋亡率; B 为各组细胞凋亡相关蛋白表达。
图 4 各组 CaSki 细胞凋亡情况比较

Fig.4 Comparison of apoptosis rate and expression of apoptosis related proteins among the eight groups of Caski cells

2.5 各组 CaSki 细胞迁移侵袭情况比较

HP-L、HP-M、HP-H 组侵袭细胞数、细胞划痕愈合率、MMP-9 蛋白、MMP-2 蛋白相对表达量较 Con 组明显降低, 且 HP-H 组 < HP-M 组 < HP-L 组 ($F = 27.125, 44.577, 60.721, 110.816, P < 0.05$), pcDNA-PTPN9 组细胞侵袭细胞数、划痕愈合率、

MMP-9 蛋白、MMP-2 蛋白相对表达量较 Con 组、pcDNA 组明显降低 ($F = 31.634, 49.353, 65.314, 109.400, P < 0.05$); HP-H + si-PTPN9 组侵袭细胞数、细胞划痕愈合率、MMP-9 蛋白、MMP-2 蛋白相对表达量较 HP-H、HP-H + si-NC 组明显升高 ($F = 74.114, 75.064, 111.636, 102.091, P < 0.05$), 见图 5。



注:A为CaSki细胞划痕图;B为CaSki细胞侵袭图;C为各组CaSki细胞中迁移侵袭相关蛋白表达。

图5 各组CaSki细胞迁移侵袭情况比较

Fig.5 Comparison of migration and invasion of among the eight groups CaSki cells

3 讨论

宫颈癌为发病率较高的妇科恶性肿瘤之一,手术及放化疗为治疗宫颈癌常用方式,但治疗上具有一定的局限性。近年来,中医药在肿瘤中的治疗日渐突出。但关于HP在宫颈癌中的治疗效果及其可能作用机制目前尚未可知,因而本研究旨在通过分析HP对宫颈癌细胞增殖、迁移、侵袭、凋亡的影响

及其可能作用机制为临床治疗提供参考。

3.1 PTPN9在肿瘤细胞中的表达

PTPN9参与细胞的生物学进程,其异常表达与肿瘤的发生发展密切相关^[9]。研究表明,PTPN9在结直肠癌组织中显著下调表达,过表达PTPN9可通过阻滞信号转导和转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, Stat3)激活进而抑制癌细胞的增殖、克隆形成,促进细胞凋亡^[10]。

PTPN9可抑制非小细胞肺癌细胞的增殖、迁移、侵袭,促进细胞凋亡^[11]。Zhu L等^[12]研究显示,PTPN9在肺腺癌中具有抑癌作用。过表达PTPN9可抑制宫颈癌细胞的增殖和克隆形成^[13]。本研究结果显示,PTPN9在宫颈癌细胞中的表达水平较正常宫颈上皮细胞低,说明PTPN9在宫颈癌中可能发挥抑癌基因作用。

3.2 HP参与PTPN9表达

HP是从槐耳中提取的活性成分,可通过多种途径发挥相应的生物学作用。研究表明,HP可通过诱导自噬及抑制上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)途径进而阻滞三阴性乳腺癌细胞的迁移、侵袭^[14]。Bao H等研究提示,HP可通过p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)途径阻滞肝细胞癌细胞周期、促进细胞凋亡^[15]。HP在胃肠道肿瘤中具有抗癌作用^[16]。本文结果表明,HP处理宫颈癌细胞后,PTPN9表达水平随剂量的增加而显著升高,由此推测,HP可能通过上调PTPN9表达发挥其相应的生物学功能。干扰PTPN9表达后可部分逆转HP-H对宫颈癌细胞中PTPN9蛋白表达的作用,该结果进一步验证HP-H可能是通过上调PTPN9的表达从而发挥其相应作用。

本研究结果显示不同浓度的HP处理后宫颈癌细胞(24h、48h、72h)OD值及细胞克隆形成数显著降低,且随着使用剂量的增加而显著降低,提示HP抑制宫颈癌细胞的增殖,且呈剂量依赖性。过表达PTPN9后可降低宫颈癌细胞(24h、48h、72h)OD值、细胞克隆形成数,说明PTPN9在可抑制宫颈癌细胞的增殖,与Li WT等^[17]研究结果相似。干扰PTPN9表达后可部分逆转HP-H对宫颈癌细胞增殖的作用,该结果进一步验证HP-H可能是通过上调PTPN9的表达从而发挥其对宫颈癌细胞增殖的抑制作用。

3.3 CaSki细胞的增殖、凋亡与迁移侵袭

Caspase 3、caspase 9属于caspases家族成员,为细胞凋亡诱导因子,可通过降解聚腺苷二磷酸核糖聚合酶,参与细胞的凋亡过程^[18-20],caspase 3、caspase 9活化为cleaved-caspase 3、cleaved-caspase 9后发挥促细胞凋亡作用^[21]。本研究结果显示,

HP处理宫颈癌细胞后细胞cleaved-caspase 9蛋白、cleaved-caspase 3蛋白水平、细胞凋亡率明显升高,且随着剂量的增加而显著升高,提示HP可促进宫颈癌细胞凋亡,且呈剂量依赖性。过表达PTPN9后可升高cleaved-caspase 9、cleaved-caspase 3蛋白表达水平及细胞凋亡率。干扰PTPN9表达后可部分逆转HP-H对宫颈癌细胞凋亡率及相关蛋白表达的作用,该结果进一步验证HP-H可能是通过上调PTPN9的表达从而发挥其对宫颈癌细胞凋亡的促进作用。

细胞外基质及基底膜酶解反应在细胞迁移侵袭过程中具有重要作用,作为基质金属蛋白酶家族成员,MMP-9、MMP-2可通过诱导细胞外基质及基底膜发生酶解进而促进细胞的迁移及侵袭^[22-23]。研究表明,MMP-2、MMP-9对在宫颈癌的转移中具有重要作用^[24]。本研究结果显示,HP处理后,宫颈癌细胞MMP-9、MMP-2蛋白水平、侵袭细胞数、细胞划痕愈合率显著降低,且随剂量的增殖显著降低,说明HP可抑制宫颈癌细胞的迁移侵袭能力。过表达PTPN9后可降低宫颈癌细胞划痕愈合率、侵袭细胞数、MMP-9、MMP-2蛋白表达水平。干扰PTPN9表达后可部分逆转HP-H对宫颈癌细胞迁移、侵袭及相关蛋白表达的作用,该结果进一步验证HP-H可能是通过上调PTPN9的表达从而发挥其对宫颈癌细胞迁移、侵袭的抑制作用。

综上所述,HP可能通过调控PTPN9的表达从而抑制宫颈癌细胞的增殖、凋亡、迁移及侵袭,为宫颈癌的治疗提供新的方向及靶点。

[参考文献]

- [1]高飞,王永存,尹纪来,等.miRNA-182水平与宫颈癌患者临床病理特征及预后的关系[J].中国妇幼健康研究,2025,36(3):21-29.
- [2]窦丹彬,张新.IL-6/STAT3在宫颈癌发生发展中作用的研究进展[J].现代妇产科进展,2023,32(5):397-398,400.
- [3]汪军坚,方静,赵春.益气托毒生肌汤联合铜绿假单胞菌治疗宫颈癌淋巴结清扫术后淋巴漏的效果观察[J].浙江医学,2023,45(15):1626-1630,1646.
- [4]雷蕾,高彦茹,蔡洲,等.槐耳多糖通过抑制AKT/GSK3 β /Snail信号通路抑制胰腺癌细胞增殖和上皮间质转化[J].现代肿瘤医学,2023,31(24):4536-4541.
- [5]陈嘉丽,韩梦媛,王冬明.槐耳多糖调节YAP/TAZ信号

- 通路对骨肉瘤细胞生物学行为的影响[J].西部医学, 2024,36(3):344-350.
- [6]Hu B, Yan W, Wang M, et al. Huaier polysaccharide inhibits the stem-like characteristics of ER α -36high triple negative breast cancer cells via inactivation of the ER α -36 signaling pathway[J]. Int J Biol Sci, 2019, 15(7): 1358-1367.
- [7]李月华, 曹爽. 过表达 PTPN9 基因抑制宫颈癌细胞恶性表型的机制研究[J]. 中国性科学, 2020, 29(10): 30-34.
- [8]张泽敏, 庞岚. 槐耳多糖抑制 AEG-1 表达对子宫内膜癌细胞生物学行为的影响[J]. 川北医学院学报, 2023, 38(10): 1299-1305.
- [9]Zhao L, Liu J, Li K, et al. PTPN9 dephosphorylates FGFR2 pY656/657 through interaction with ACAP1 and ameliorates pemigatinib effect in cholangiocarcinoma [J]. Hepatology, 2024, 79(4): 798-812.
- [10]Wang D, Cheng Z, Zhao M, et al. PTPN9 induces cell apoptosis by mitigating the activation of Stat3 and acts as a tumor suppressor in colorectal cancer[J]. Cancer Manag Res, 2019, 8(11): 1309-1319.
- [11]Chen J, Ding C, Yang X, et al. BMSCs-Derived Exosomal MiR-126-3p Inhibits the Viability of NSCLC Cells by Targeting PTPN9[J]. J BUON, 2021, 26(5): 1832-1841.
- [12]Zhu L, Guo T, Chen W, et al. CircMMD_007 promotes oncogenic effects in the progression of lung adenocarcinoma through microRNA-197-3p/protein tyrosine phosphatase non-receptor type 9 axis [J]. Bioengineered, 2022, 13(3): 4991-5004.
- [13]Ma X, Shi W, Peng L, et al. MiR-96 enhances cellular proliferation and tumorigenicity of human cervical carcinoma cells through PTPN9[J]. Saudi J Biol Sci, 2018, 25(5): 863-867.
- [14]Tian Y, Wu J, Zeng L, Zhou L, et al. Huaier polysaccharides suppress triple-negative breast cancer metastasis and epithelial-mesenchymal transition by inducing autophagic degradation of Snail[J]. Cell Biosci, 2021, 11(1): 170-182.
- [15]Bao H, Liu P, Jiang K, et al. Huaier polysaccharide induces apoptosis in hepatocellular carcinoma cells through p38 MAPK[J]. Oncol Lett, 2016, 12(2): 1058-1066.
- [16]Ma Y, Wang C, Zhang Q, et al. The effects of polysaccharides from *Auricularia auricula* (Huaier) in adjuvant anti-gastrointestinal cancer therapy: A systematic review and network meta-analysis [J]. Pharmacol Res, 2018, 132(2): 80-89.
- [17]Li W T, Wang B L, Yang C S, et al. MiR-613 promotes cell proliferation and invasion in cervical cancer via targeting PTPN9[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(13): 4107-4114.
- [18]Zhang X, Sun K, Wang X, et al. Chlorpyrifos induces apoptosis and necroptosis via the activation of CYP450s pathway mediated by nuclear receptors in LMH cells [J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2023, 30(1): 1060-1071.
- [19]Wang H, Liu Y, Guo Z, et al. Aconitine induces cell apoptosis via mitochondria and death receptor signaling pathways in hippocampus cell line [J]. Res Vet Sci, 2022, 143(1): 124-133.
- [20]Kazazi I, Ashrafi F, Malekloo M. Synthesis of Gingerol-loaded Uio-66 nanoparticles and its anti-cancer effect against gastric cancer cell line (AGS) [J]. Mol Biol Rep, 2023, 50(4): 3503-3513.
- [21]Zhang Y, Lin L, Wang Y, et al. Saikosaponin B4 Suppression Cancer Progression by Inhibiting SW480 and SW620 Cells Proliferation via the PI3K/AKT/mTOR Pathway in Colon Cancer [J]. Curr Cancer Drug Targets, 2022, 22(11): 889-903.
- [22]陈良凤, 吕小慧, 王建, 等. 基于 LDHA 基因和 Wnt/ β -catenin 信号通路探讨自噬在卵巢癌细胞侵袭和迁移及糖酵解中的作用[J]. 中国妇幼健康研究, 2025, 36(2): 37-46.
- [23]Muscella A, Vetrugno C, Cossa L G, et al. TGF- β 1 activates RSC96 Schwann cells migration and invasion through MMP-2 and MMP-9 activities [J]. J Neurochem, 2020, 153(4): 525-538.
- [24]李侠, 肖维. 多层螺旋 CT 联合血清 MMP-2、MMP-9 在宫颈癌淋巴结转移诊断中的价值分析[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2021, 19(9): 108-110.

[专业责任编辑:高艳娥]

[中文编辑:牛惠;英文编辑:杨周岐]