

人参皂苷 Rh2 和 Rg3 对胃癌细胞增殖和侵袭的影响[△]

刘元媛^{1*}, 王欢^{1#}, 周平², 刘海林¹ (1. 重庆两江新区第一人民医院药剂科, 重庆 401147; 2. 重庆医科大学中医药学院, 重庆 400010)

中图分类号 R96 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2022)05-0539-05

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2022.05.005

摘要 目的:探讨人参皂苷 Rh2 和 Rg3 在免疫微环境中通过调节程序性死亡蛋白配体 1(PD-L1)对胃癌细胞增殖和侵袭的影响。方法:将胃癌细胞 MGC-803 分为三组,即对照组、Rh2+Rg3 组(采用 40 μg/mL 混合有人参皂苷 Rh2 和 Rg3 的培养基)和 Rh2+Rg3+PD-L1 组(将转染 PD-L1 载体质粒以 3×10^3 的密度经过质量浓度为 40 μg/mL 的人参皂苷 Rh2 和 Rg3 处理)。采用定量反转录聚合酶链反应和蛋白质印迹法检测 PD-L1 的表达;采用 Annexin-V 检测胃癌细胞 MGC-803 的凋亡情况;采用 EdU 方法检测胃癌细胞 MGC-803 的增殖情况;采用 Transwell 检测胃癌细胞 MGC-803 的迁移和侵袭情况。结果:Rh2+Rg3 组的 PD-L1 mRNA 和蛋白的表达水平明显低于对照组, Rh2+Rg3+PD-L1 组的 PD-L1 mRNA 和蛋白的表达水平明显高于 Rh2+Rg3 组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。Rh2+Rg3 组的细胞凋亡率明显高于对照组, Rh2+Rg3+PD-L1 组的细胞凋亡率明显低于 Rh2+Rg3 组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。Rh2+Rg3 组的细胞克隆数量明显低于对照组, Rh2+Rg3+PD-L1 组的细胞克隆数量明显高于 Rh2+Rg3 组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。Rh2+Rg3 组的细胞增殖能力明显低于对照组, Rh2+Rg3+PD-L1 的细胞增殖能力明显高于 Rh2+Rg3 组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。Rh2+Rg3 组的迁移细胞数和侵袭细胞数明显少于对照组, Rh2+Rg3+PD-L1 组的迁移细胞数和侵袭细胞数明显多于 Rh2+Rg3 组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论:人参皂苷 Rh2 和 Rg3 通过调节 PD-L1 的表达抑制胃癌肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭。

关键词 人参皂苷 Rh2; 人参皂 Rg3; 程序性死亡蛋白配体 1; 胃癌; 增殖

Effects of Ginsenoside Rh2 and Rg3 on the Proliferation and Invasion of Gastric Cancer Cells[△]

LIU Yuanyuan¹, WANG Huan¹, ZHOU Ping², LIU Hailin¹ (1. Dept. of Pharmacy, the First People's Hospital of Liangjiang New Area, Chongqing 401147, China; 2. School of Traditional Chinese Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To probe into the effects of ginsenoside Rh2 and Rg3 on the proliferation and invasion of gastric cancer cells through regulating programmed death ligand-1 (PD-L1) in the immune microenvironment. **METHODS:** Gastric cancer cells MGC-803 were divided into three groups, including control group, Rh2+Rg3 group (treated with 40 μg/mL ginsenoside Rh2 and Rg3) and Rh2+Rg3+PD-L1 group (transfected PD-L1 carrier vector was treated with 40 μg/mL ginsenoside Rh2 and Rg3 at a density of 3×10^3). Quantitative reverse transcription polymerase chain reaction and Western blotting were used to detect the expression of PD-L1; Annexin-V was used to detect the apoptosis of MGC-803; EdU method was used to detect the proliferation of gastric cancer cells MGC-803; Transwell was used to detect the migration and invasion of gastric cancer cells MGC-803. **RESULTS:** The expression levels of PD-L1 mRNA and protein of the Rh2+Rg3 group were significantly lower than those of the control group, and the expression levels of PD-L1 mRNA and protein of the Rh2+Rg3+PD-L1 group were significantly higher than those of the Rh2+Rg3 group, with statistically significant differences ($P < 0.05$). The cell apoptosis rate of the Rh2+Rg3 group was significantly higher than that of the control group, and the cell apoptosis rate of the Rh2+Rg3+PD-L1 group was significantly lower than that of the Rh2+Rg3 group, with statistically significant differences ($P < 0.05$). The number of cell clones of the Rh2+Rg3 group was significantly less than that of the control group, and the number of cell clones of the Rh2+Rg3+PD-L1 group was significantly more than that of the Rh2+Rg3 group, with statistically significant differences ($P < 0.05$). The cell reproductive capacity of the Rh2+Rg3 group was significantly lower than that of the control group, and the cell reproductive capacity of the Rh2+Rg3+PD-L1 group was significantly higher than that of the Rh2+Rg3 group, with statistically significant differences ($P < 0.05$). The number of migrating and invading cells

△ 基金项目:全国中医药创新骨干人才项目(No. 国中医药人教函[2019]128号);重庆市科技局项目(No. cstc2019jcsx-msxmX0096)

* 药师。研究方向:药理学。E-mail:343299728@qq.com

通信作者:药师。研究方向:药理学。E-mail:496615038@qq.com

of the Rh2+Rg3 group was significantly less than that of the control group, and the number of migrating and invading cells of the Rh2 + Rg3 + PD-L1 group was significantly more than that of the Rh2 + Rg3 group, with statistically significant differences ($P<0.05$). CONCLUSIONS: Ginsenosides Rh2 and Rg3 can inhibit the proliferation, migration and invasion of gastric cancer cells by regulating the expression of PD-L1.

KEYWORDS Ginsenoside Rh2; Ginsenoside Rg3; Programmed death ligand-1; Gastric cancer; Proliferation

胃癌的发生率在恶性肿瘤中居第4位^[1]。胃癌的发生和发展是遗传、环境和表观遗传等多种因素作用的过程,与抑癌基因的失活、原癌基因的激活以及多种分子水平和基因水平的变化密切相关^[2-3]。对于胃癌的治疗通常以手术和辅助放疗为主,但对于晚期侵袭和转移的患者治疗效果不佳。人参皂苷 Rh2 和 Rg3 是人参抗肿瘤的主要活性成分^[4]。相关研究表明,人参皂苷 Rh2 和 Rg3 可以诱导细胞分化,阻滞细胞周期,抑制转移,诱导凋亡,调节免疫功能等^[5]。程序性死亡蛋白配体 1 (PD-L1) 为肿瘤免疫逃逸机制的核心调控分子,在适应性免疫抵抗中发挥着重要作用^[6]。慢性感染引发 T 细胞持续性活化可促使 PD-L1 大量表达,影响 T 细胞的增殖能力和杀伤活性,导致 T 淋巴细胞耗竭^[7]。因此,本研究选取人参皂苷 Rh2 和 Rg3 为研究对象,初步探讨其对胃癌细胞系 MGC-803 增殖和侵袭的影响,并探讨可能的发生机制。

1 材料

1.1 实验细胞

胃癌细胞系 MGC-803 (中国科学院上海细胞典藏库)。

1.2 仪器

CO2 培养箱 (美国 Thermo Scientific 公司); 高速冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司); 蛋白质印迹电泳仪、电泳槽 (美国 Bio-Rad 公司); -80 ℃ 低温冰箱 (美国 Thermo Scientific 公司); Transwell 小室 (美国 Corning 公司)。

1.3 药品与试剂

人参皂苷 Rh2 和人参皂苷 Rg3 (吉林大学有机化学教研室, 质量分数>98%, 批号: 201808-1); PD-L1 载体质粒 (美国 Merck Millipore 公司, 批号: NAF1321); RMP1A 1640 培养基、胎牛血清 (美国 Gibco 公司, 批号: J17008、181221); 蛋白裂解液 RIPA (上海碧云天生物技术有限公司, 批号: 9224); 胎牛血清 (吉玛基因公司, 批号: A115121); Trizol 试剂 (上海生工生物工程有限公司, 批号: 180519); 显色液、BCA 试剂 (美国 TaKaRa 公司, 批号: 190215、190127); RNA 提取试剂盒 (广州拓科达生物技术有限公司); 反转录试剂盒 (广州威佳科技有限公司, 货号: 556129); Lipofectamine 2000 转染试剂盒 (美国 Invitrogen 公司); Annexin V-FTIC/PI 试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司)。

2 方法

2.1 细胞的培养及分组处理

于 450 mL 的 RMP1A 1640 培养基中加入浓度为 10% 的胎牛血清 50 mL、100 U/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素 5 mL, 把胃癌细胞 MGC-803 加入培养基中, 在 5% CO₂ 培养箱中培养, 温度保持在 37 ℃。处于对数生长期的细胞, 经胰酶消化处理, 以 3 000 r/min 离心 (离心半径 10 cm) 5 min, 然后去上清液, 培养基重悬细胞后置于培养箱中常规培养, 24 h 以后更换液体。

将胃癌细胞 MGC-803 分为对照组、Rh2+Rg3 组和 Rh2+Rg3+PD-L1 组。未经过人参皂苷 Rh2 和 Rg3 处理的 MGC-803 细胞设为对照组。确定药物对细胞的半抑制浓度 (IC_{50}), Rh2+Rg3 组给予 40 μg/mL 混合有 Rh2 和 Rg3 的培养基, 培养细胞 24 h。将转染 PD-L1 载体质粒以 3×10^3 的密度经过质量浓度为 40 μg/mL 的人参皂苷 Rh2 和 Rg3 处理的 MGC-803 细胞设为 Rh2+Rg3+PD-L1 组, 具体转染操作参照 Lipofectamine 2000 转染试剂盒的操作说明书。

2.2 细胞计数试剂盒 8 (CCK-8) 法检测胃癌细胞 MGC-803 的增殖情况

采用 CCK-8 法检测胃癌细胞 MGC-803 的增殖情况, 观察 Rh2+Rg3 和 PD-L1 对胃癌细胞增殖的调节作用。加入 40 μg/mL 的人参皂苷 Rh2 和 Rg3 或者 PD-L1 载体质粒以 3×10^3 的密度转染细胞, 接种在 96 孔板上, 并在 37 ℃ 和 5% CO₂ 中孵育。每隔 24 h, 向每个孔中加入 CCK-8 溶液, 至第 5 日结束, 并使用酶标仪测定 450 nm 波长下的细胞数。最终, 生成 5 d 的细胞生长曲线。

2.3 定量反转录聚合酶链反应 (qRT-PCR) 检测胃癌细胞 MGC-803 中 PD-L1 mRNA 表达

各组的胃癌细胞 MGC-803 转染 48 h 后, 进行收集, 采用 Trizol 法从细胞中提取总 RNA, 利用反转录试剂盒从上述 RNA 反转录 cDNA, 最后利用由武汉巴菲尔公司合成 PD-L1 引物和 GAPDH 引物在应用生物系统 7500 实时 PCR 系统上进行 PCR 实验, 反应条件为 95 ℃ 预变性 4 min, 90 ℃ 变性 20 s, 45 ℃ 退火 20 s, 60 ℃ 延伸 20 s, 共设置 45 个循环。PD-L1 引物序列: 5'-ACCGGTTTACTGTGCGCAT-3' (正向) 和 3'-CCTCTGCTCTGTGGGC-5' (反向); GAPDH 引物序列: 5'-GATGAAGTCCCA CAGTGC-3' (正向) 和 5'-TCTGAGAGGC AGGGATG-3' (反向), 按照试剂盒的使用说明书进行严格操作, 采用 ABI 7500 实时 PCR 进行测量, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 PD-L1 的相对表达量, 以 GAPDH 为内参。

2.4 蛋白质印迹法检测胃癌细胞 MGC-803 中 PD-L1 蛋白表达

各组的胃癌细胞 MGC-803 转染 48 h 后, 进行收集, 通过加入 RIPA 裂解缓冲液进行裂解, 用 10% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分离蛋白, 然后转移到聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜上。转膜完全后拿出 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉中封闭 1 h, PD-L1 (1:500 稀释) 一抗孵育, 4 ℃ 冰箱中放置一夜, HRP 二抗 (1:5 000 稀释) 避光孵育 1 h, TBST 洗 3 次, 滴加 ECL 发光液, 凝胶成像仪拍照显影。

2.5 Annexin-V 检测胃癌细胞 MGC-803 的凋亡情况

将各组的胃癌细胞 MGC-803 接种于 6 孔板中 72 h 后, 进行细胞收集, 洗涤、固定和透化, 按照 Annexin V-FTIC/PI 试剂盒说明书的操作步骤进行细胞染色, 应用流式细胞仪检测, 用

FlowJo 软件处理数据。

2.6 克隆形成实验

将各组的胃癌细胞 MGC-803 接种于琼脂覆盖的培养基的 96 孔板上,细胞在 37℃ 的 CO₂ 培养箱中培养 72 h,12 d 后,使用 Leica CTR MIC 显微镜捕获每个孔中胃癌细胞的克隆图像,并使用 Image J 1.49 软件量化克隆数量。

2.7 Transwell 检测胃癌细胞 MGC-803 的迁移情况

将 Transwell 小室取出,弃液体,PBS 漂洗 5 min,再用 4% 多聚甲醛固定 15 min,在胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中培养 24 h,将 100 μL 细胞 (1×10⁵/mL) 接种至 24 孔板中,然后放入含有 20% FBS 的 RPMI-1640 600 μL,在 37℃、5%CO₂ 培养箱中孵育,用棉签轻轻擦去上室未迁移的细胞或未侵袭的细胞,迁移的细胞或入侵细胞用 70% 甲醛溶液固定 30 min,并使用 0.1% 的结晶紫染色 20 min,使用显微镜捕获每个孔中迁移的细胞的图像。

2.8 Transwell 检测胃癌细胞 MGC-803 的侵袭情况

Matrigel 胶稀释,取 50 μL 加入 Transwell 上室内,37℃ 培养箱中过夜,将 Matrigel 胶吸出,PBS 冲洗,将各组的胃癌细胞 MGC-803 以 1×10⁴/mL 接种于上室,孵育 24 h,加入无血清培养液,下室加入含 20% FBS 培养液,孵育 48 h,去除 Transwell 小室内的培养液,PBS 冲洗,4% 多聚甲醛固定,1% 结晶紫染色侵袭的细胞,室温下放置 20 min 后,PBS 冲洗,选取 5 个视野,倒置显微镜下观察,比较侵袭的细胞数目。

2.9 统计学方法

采用 SPSS 24.0 软件进行统计分析,符合正态分布的连续变量采用 $\bar{x} \pm s$ 表达,多组间对比采用单因素方差分析,采用 LSD-*t* 检验比较两组间的差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组胃癌细胞 MGC-803 增殖能力情况

第 1 日,三组胃癌细胞 MGC-803 的增殖能力无明显变化,差异无统计学意义 ($P > 0.05$);第 2—3 日,Rh2+Rg3 组的细胞增殖能力明显低于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);第 4—5 日,Rh2+Rg3 组的细胞增殖能力明显低于对照组,Rh2+Rg3+PD-L1 的细胞增殖能力明显高于 Rh2+Rg3 组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 1。

3.2 各组胃癌细胞 MGC-803 中 PD-L1 的表达情况

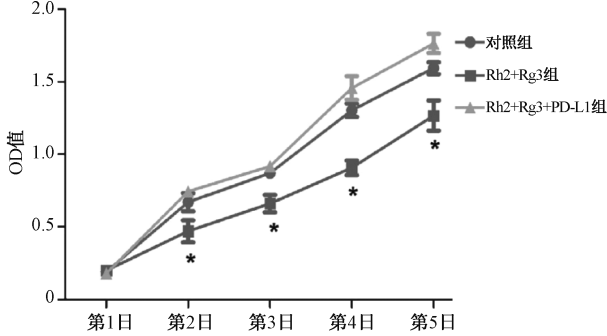
Rh2+Rg3 组胃癌细胞 MGC-803 中 PD-L1 mRNA 和蛋白的表达明显低于对照组,Rh2+Rg3+PD-L1 组的 PD-L1 mRNA 和蛋白的表达明显高于 Rh2+Rg3 组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 1、图 2。

表 1 人参皂苷 Rh2+Rg3 对胃癌细胞 MGC-803 中 PD-L1 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

Tab 1 Effect of ginsenoside Rh2+Rg3 on the expression of PD-L1 in gastric cancer cell MGC-803 ($\bar{x} \pm s, n = 9$)		
组别	PD-L1 mRNA/2 ^{-ΔΔCt}	PD-L1 蛋白/kDa
对照组	1.04±0.29	1.19±0.32
Rh2+Rg3 组	0.43±0.07 *	0.62±0.08 *
Rh2+Rg3+PD-L1 组	2.05±0.59 **	1.97±0.46 **

注:与对照组相比,* $P < 0.05$;与 Rh2+Rg3 组相比,# $P < 0.05$

Note: vs. the control group, * $P < 0.05$; vs. the Rh2+Rg3 group, # $P < 0.05$

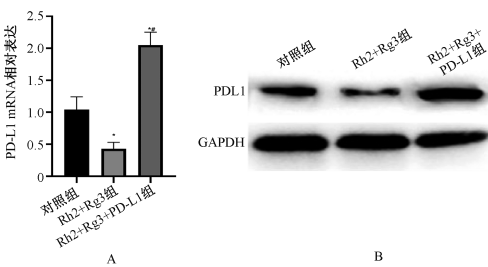


与对照组相比,* $P < 0.05$

vs. the control group, * $P < 0.05$

图 1 人参皂苷 Rh2+Rg3 通过抑制 PD-L1 对胃癌细胞 MGC-803 增殖能力的影响 ($n = 9$)

Fig 1 Effect of ginsenoside Rh2+Rg3 on the proliferation capacity of gastric cancer cell MGC-803 by inhibiting PD-L1 ($n = 9$)



A. PD-L1 mRNA;B. PD-L1 蛋白;与对照组相比,* $P < 0.05$;与 Rh2+Rg3 组相比,# $P < 0.05$

A. PD-L1 mRNA;B. PD-L1 protein;vs. the control group, * $P < 0.05$; vs. the Rh2+Rg3 group, # $P < 0.05$

图 2 人参皂苷 Rh2+Rg3 对胃癌细胞 MGC-803 中 PD-L1 表达的影响

Fig 2 Effect of ginsenoside Rh2+Rg3 on the expression of PD-L1 in gastric cancer cell MGC-803

3.3 各组胃癌细胞 MGC-803 的凋亡情况

Rh2+Rg3 组胃癌细胞 MGC-803 的凋亡率明显高于对照组,Rh2+Rg3+PD-L1 组的细胞凋亡率明显低于 Rh2+Rg3 组,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 2、图 3。

表 2 人参皂苷 Rh2+Rg3 通过抑制 PD-L1 对胃癌细胞 MGC-803 凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

Tab 2 Effects of ginsenoside Rh2+Rg3 on the apoptosis of gastric cancer cell MGC-803 by inhibiting PD-L1 ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

组别	细胞凋亡率/%
对照组	27.68±3.79
Rh2+Rg3 组	53.51±5.35 *
Rh2+Rg3+PD-L1 组	15.23±2.97 **

注:与对照组相比,* $P < 0.05$;与 Rh2+Rg3 组相比,# $P < 0.05$

Note: vs. the control group, * $P < 0.05$; vs. the Rh2+Rg3 group, # $P < 0.05$

3.4 各组胃癌细胞 MGC-803 克隆形成情况

Rh2+Rg3 组胃癌细胞 MGC-803 克隆数量明显低于对照组,Rh2+Rg3+PD-L1 组的细胞克隆数量明显高于 Rh2+Rg3 组,

差异均有统计学意义($P<0.05$),见表3、图4。

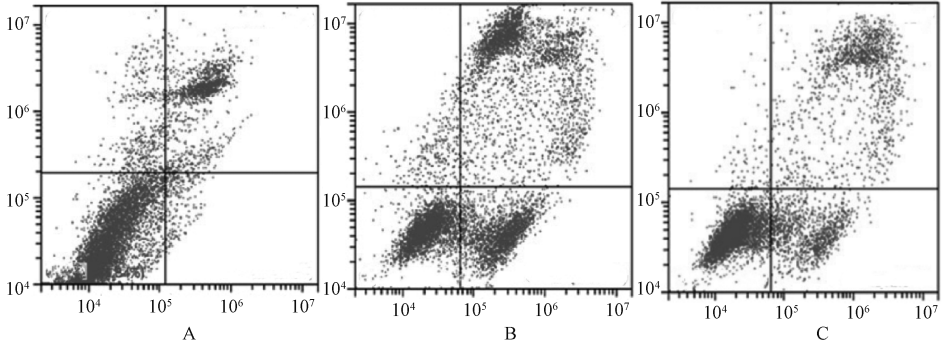
表3 人参皂苷 Rh2+Rg3 通过抑制 PD-L1 对胃癌细胞 MGC-803 克隆形成的影响 ($\bar{x}\pm s, n=9$)

Tab 3 Effect of ginsenoside Rh2+Rg3 on clone formation of gastric cancer cell MGC-803 by inhibiting PD-L1 ($\bar{x}\pm s, n=9$)

组别	细胞克隆数量/个
对照组	163 ± 11
Rh2+Rg3 组	124 ± 6 *
Rh2+Rg3+PD-L1 组	186 ± 12 * #

注:与对照组相比, * $P<0.05$;与 Rh2+Rg3 组相比, # $P<0.05$

Note: vs. the control group, * $P<0.05$; vs. the Rh2+Rg3 group, # $P<0.05$

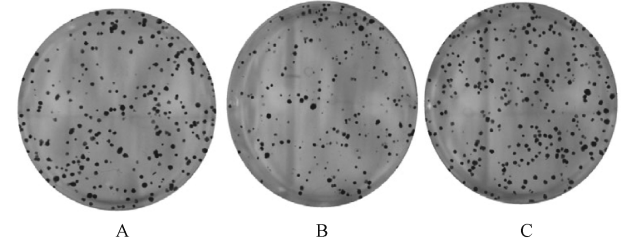


A. 对照组; B. Rh2+Rg3 组; C. Rh2+Rg3+PD-L1 组

A. control group; B. Rh2+Rg3 group; C. Rh2+Rg3+PD-L1 group

图3 人参皂苷 Rh2+Rg3 通过抑制 PD-L1 对胃癌细胞 MGC-803 凋亡的影响

Fig 3 Effect of ginsenoside Rh2+Rg3 on the apoptosis of gastric cancer cell MGC-803 by inhibiting PD-L1



A. 对照组; B. Rh2+Rg3 组; C. Rh2+Rg3+PD-L1 组

A. control group; B. Rh2+Rg3 group; C. Rh2+Rg3+PD-L1 group

图4 人参皂苷 Rh2+Rg3 通过抑制 PD-L1 对胃癌细胞 MGC-803 克隆形成的影响

Fig 4 Effects of ginsenoside Rh2+Rg3 on clone formation of gastric cancer cell MGC-803 by inhibiting PD-L1

表4 人参皂苷 Rh2+Rg3 通过抑制 PD-L1 对胃癌细胞 MGC-803 迁移和侵袭的影响 ($\bar{x}\pm s, n=9$)

Tab 4 Effects of ginsenoside Rh2+Rg3 on the migration and invasion of gastric cancer cell MGC-803 by inhibiting PD-L1 ($\bar{x}\pm s, n=9$)

组别	迁移细胞数/个	侵袭细胞数/个
对照组	116 ± 3	71 ± 3
Rh2+Rg3 组	73 ± 2 *	53 ± 1 *
Rh2+Rg3+PD-L1 组	136 ± 5 * #	85 ± 4 * #

注:与对照组相比, * $P<0.05$;与 Rh2+Rg3 组相比, # $P<0.05$

Note: vs. the control group, * $P<0.05$; vs. the Rh2+Rg3 group, # $P<0.05$

Rh2 和 Rg3 已被阐明在肿瘤的发生中发挥着主要作用^[9]。本研究结果发现,人参皂苷 Rh2 和 Rg3 抑制了胃癌细胞的增殖、

3.5 各组胃癌细胞 MGC-803 的迁移和侵袭情况

Rh2+Rg3 组胃癌细胞 MGC-803 的迁移细胞数和侵袭细胞数明显低于对照组, Rh2+Rg3+ PD-L1 组的迁移细胞数和侵袭细胞数明显高于 Rh2+Rg3 组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表4、图5。

4 讨论

人参皂苷 Rh2 和 Rg3 是人参抗肿瘤的活性成分。相关研究表明,人参皂苷 Rh2 和 Rg3 可以抑制肿瘤细胞的增殖,诱导细胞分化和肿瘤细胞的凋亡,抑制肿瘤细胞的侵袭和转移,逆转肿瘤细胞耐药,抑制肿瘤血管的形成^[8]。人参皂苷

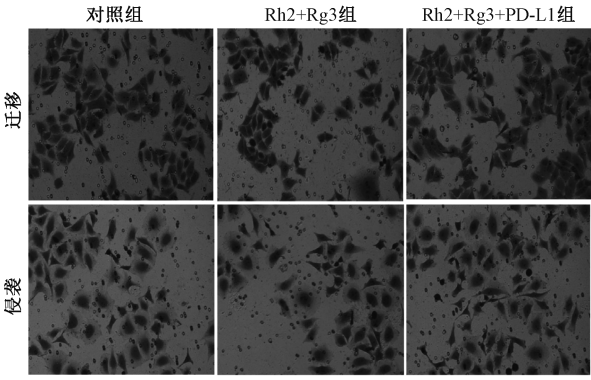


图5 人参皂苷 Rh2+Rg3 通过抑制 PD-L1 对胃癌细胞 MGC-803 迁移和侵袭的影响

Fig 5 Effects of ginsenoside Rh2+Rg3 on the migration and invasion of gastric cancer cell MGC-803 by inhibiting PD-L1

迁移和侵袭,促进了胃癌细胞凋亡,而大量 PD-L1 的加入则减弱了上述作用,表明人参皂苷 Rh2 和 Rg3 在胃癌中起抑癌作用,而 PD-L1 为肿瘤启动因子。人参皂苷 Rh2、Rg3 和 PD-L1 相互作用的研究,为了解人参皂苷 Rh2、Rg3 和 PD-L1 在胃癌中的作用机制提供了新的视角。

人参皂苷 Rg3 属于二萜皂苷,是人参中稀有的皂苷,具有抗炎、抗肿瘤、增强免疫能力和抑制血管生成等作用^[10]。其与人参皂苷 Rh2 共同作用,可增强药效。根据本研究结果,人参皂苷 Rh2 和 Rg3 可能是胃癌患者治疗药物的潜在候选。PD-L1 在维持正常机体保护性免疫和免疫耐受的平衡中起着

至关重要的作用,PD-L1 的表达上调是通过细胞内多种信号传导途径进行调节的,在肿瘤微环境免疫效应发挥着调控作用。在肿瘤微环境中,PD-L1 表达上调,从而激活程序性死亡蛋白-1 (PD-1)/PD-L1 通路,介导肿瘤的免疫逃逸。PD-1/PD-L1 是免疫抑制效应的调控因子,在胃癌方面已得到应用^[11]。本研究以人参皂苷 Rh2 和 Rg3 为研究对象,发现其能够抑制胃癌 MGC-803 细胞中 PD-L1 mRNA 和蛋白的表达。本研究通过 PD-L1 载体质粒转染人参皂苷 Rh2 和 Rg3 处理的胃癌 MGC-803 细胞,发现 PD-L1 能够促进胃癌 MGC-803 细胞的增殖、迁移和侵袭,促进克隆形成,抑制 MGC-803 细胞凋亡。本研究结果说明 PD-L1 是肿瘤的启动因子,进一步证实了 PD-L1 对肿瘤具有促进作用。有研究表明,PD-L1 抗体可以抑制免疫细胞和肿瘤细胞之间的相互作用,从而维护免疫细胞对肿瘤细胞的细胞毒性^[12-13]。本研究中,人参皂苷 Rh2 和 Rg3 能够明显降低胃癌 MGC-803 细胞中 PD-L1 mRNA 和蛋白的表达,即人参皂苷 Rh2 和 Rg3 能够显著抑制肿瘤的启动因子,阻止肿瘤的发生和发展。相关研究表明,人参皂苷 Rh2 和 Rg3 能对喉鳞癌、胃癌和肝癌等多种肿瘤细胞发挥抗肿瘤作用^[14-15]。虽然目前化疗仍是主要手段,但化疗对正常细胞也会造成一定的影响。而人参皂苷 Rh2 和 Rg3 属于天然药物,不仅具有较强的抗肿瘤活性,还能够起到抗肿瘤信号通路的作用^[16-17]。有研究结果认为,PD-L1 与胃癌的发生有关,可能是胃癌患者临床诊断、免疫治疗和预后的有效靶点^[18]。特别值得一提的是,PD-L1 单克隆抗体的临床试验已经顺利进行,并表现出良好的抗肿瘤活性^[19-20]。本研究还证实了 PD-L1 的肿瘤促进作用。

综上所述,人参皂苷 Rh2 和 Rg3 通过调节 PD-L1 的表达,抑制胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭。提示 PD-L1 可能是胃癌患者诊断、治疗和预后的潜在靶点。

参考文献

[1] DU H Z, LIU Y, CHEN X D, et al. DT-13 synergistically potentiates the sensitivity of gastric cancer cells to topotecan via cell cycle arrest *in vitro* and *in vivo*[J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 818: 124-131.

[2] WANG Y, LV Y, LIU T S, et al. Cordycepin suppresses cell proliferation and migration by targeting CLEC2 in human gastric cancer cells via Akt signaling pathway[J]. *Life Sci*, 2019, 223: 110-119.

[3] MIWA T, KANDA M, UMEDA S, et al. Homeobox C10 influences on the malignant phenotype of gastric cancer cell lines and its elevated expression positively correlates with recurrence and poor survival[J]. *Ann Surg Oncol*, 2019, 26(5): 1535-1543.

[4] CONG Z Y, ZHAO Q, YANG B, et al. Ginsenoside Rh3 inhibits proliferation and induces apoptosis of colorectal cancer cells[J]. *Pharmacology*, 2019, 105(5/6): 329-338.

[5] HU Y B, WANG N, YAN X C, et al. Ginsenoside Re impacts on biotransformation products of ginsenoside Rb1 by *Cellulosimicrobium*

cellulans sp. 21 and its mechanisms[J]. *Process Biochem*, 2019, 77: 57-62.

[6] TONG G L, CHENG B R, LI J Z, et al. MACC1 regulates PDL1 expression and tumor immunity through the c-Met/AKT/mTOR pathway in gastric cancer cells[J]. *Cancer Med*, 2019, 8(16): 7044-7054.

[7] 丁思思, 黄莉莉, 梁含思, 等. PD-L1 在胃癌患者手术前后外周血 T 细胞和单核细胞上的表达及意义[J]. *中国免疫学杂志*, 2018, 34(5): 718-722.

[8] 郭奕维, 郭秀臣, 张静波, 等. 人参皂苷 Rg3 增强 PD-1 抑制剂对弥漫大 B 细胞淋巴瘤免疫治疗作用的体外研究[J]. *中医药学报*, 2018, 46(5): 24-29.

[9] 陈芳玲, 楼雅楠, 孔祥倩, 等. 三萜类化合物抗肿瘤及其作用机制的研究进展[J]. *中医药导报*, 2018, 24(17): 45-49.

[10] HOU J G, XUE J J, WANG Z, et al. Ginsenoside Rg3 and Rh2 protect trimethyltin-induced neurotoxicity via prevention on neuronal apoptosis and neuroinflammation [J]. *Phytother Res*, 2018, 32(12): 2531-2540.

[11] LI J, ZHANG X H, BEI S H, et al. PD-1/PD-L1 antagonists in gastric cancer: current studies and perspectives[J]. *World J Meta Anal*, 2019, 7(3): 101-109.

[12] HASANPOOR Z, MOSTAFAIE A, NIKOKAR I, et al. Curcumin-human serum albumin nanoparticles decorated with PDL1 binding peptide for targeting PDL1-expressing breast cancer cells[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 159: 137-153.

[13] SONG M J, CHEN X F, WANG L P, et al. Future of anti-PD-1/PD-L1 applications: combinations with other therapeutic regimens [J]. *Chin J Cancer Res*, 2018, 30(2): 157-172.

[14] 田君海, 米楠楠, 孔祥苓, 等. 低氧条件下人参皂苷 Rg3 对人喉鳞癌细胞分泌性 VEGF 的影响[J]. *疑难病杂志*, 2018, 17(2): 180-183, 封 3.

[15] 石燕燕, 李树才, 孙军. 人参皂苷 Rg3 通过 PI3K/AKT 信号系统调控 CaM 基因表达促进胃癌 BGC-823 细胞的凋亡[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(6): 590-594.

[16] LI L, NI J Y, LI M, et al. Ginsenoside Rg3 micelles mitigate doxorubicin-induced cardiotoxicity and enhance its anticancer efficacy [J]. *Drug Deliv*, 2017, 24(1): 1617-1630.

[17] 乔雪涵, 岳丽玲, 朱文斌. 人参皂苷 Rg3 的抗肿瘤作用研究现状[J]. *中国临床药理学杂志*, 2021, 37(10): 1272-1276.

[18] REN S X, AMAR N, YU H, et al. Abstract 3636: the immune checkpoint, HVEM, is associated with PDL1 expression in lung cancer cell lines [J]. *Cancer Res*, 2018, 78(13_Supplement): 3636.

[19] 王倩蓉, 李宝生. PD-1/PD-L1 单抗联合放疗治疗实体瘤研究进展[J]. *中华放射肿瘤学杂志*, 2016, 25(12): 1375-1378.

[20] 赵文华, 于起涛. 抗 PD-1/PD-L1 单抗在非小细胞肺癌治疗中的研究进展[J]. *广西医科大学学报*, 2016, 33(3): 553-557.

(收稿日期:2021-08-15 修回日期:2022-01-26)