· 基础研究 ·

清解扶正颗粒对大肠癌 SW620 细胞
增殖、凋亡和迁移的影响朱晓勤^{1,2}, 杨 弘¹, 黄 彬^{1,2}, 魏丽慧^{1,2}, 林久茂^{1,2*}

1 福建中医药大学中西医结合研究院, 福建 福州 350122;

2 福建省中西医结合老年性疾病重点实验室, 福建 福州 350122

* 通信作者: 林久茂, E-mail: jiumaolin@hotmail.com

收稿日期: 2019-09-10; 接受日期: 2019-11-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(81703913); 福建省自然科学基金项目(2017J01846); 福建省中医药科研课题项目(2017FJZY203); 福建省卫生计生中青年骨干人才培养项目(2016-ZQN-67)

DOI: 10.3724/SP.J.1329.2020.01010

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

摘要 目的:探讨清解扶正颗粒(QFG)对大肠癌 SW620 细胞增殖、凋亡和迁移的影响及作用机制。**方法:**体外培养人大肠癌 SW620 细胞,用不同浓度的 QFG(0、0.5、1、2 mg/mL)作用于细胞,采用 MTT 法检测 24、48 h 后 QFG 对细胞增殖的抑制能力;在倒置显微镜下观察 24 h 后细胞形态变化;采用流式细胞术检测 24 h 后细胞周期;通过 Hoechst 33258 染色实验检测 24 h 后细胞凋亡情况;采用划痕实验检测 0、6、12、24 h 后细胞的迁移能力;通过 Western blot 方法检测 24 h 后细胞 Ki-67、MMP-2 及 Cleaved-Caspase-3 蛋白的表达。**结果:**① 0、0.5、1、2 mg/mL 浓度范围内,QFG 对大肠癌 SW620 细胞增殖抑制率随时间及浓度的增加而增大,明显高于同一时间点对照组的细胞,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。② 0.5、1、2 mg/mL QFG 作用 SW620 细胞 24 h 后,细胞形态发生明显的改变,随着给药浓度的增高,细胞密度逐渐减少,悬浮细胞增多,部分细胞皱缩变圆。③ 流式细胞术检测细胞周期发现,0.5、1、2 mg/mL QFG 组细胞 G1 期降低,S 期增高,而 G2 期并没有明显的变化,各时期百分比与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$),但并不呈剂量依赖关系。④ Hoechst 33258 染色结果显示,随着 QFG 作用浓度增加,SW620 细胞凋亡的形态学表现越明显。⑤ 划痕实验发现,0.5、1、2 mg/mL QFG 能降低 SW620 细胞的迁移能力,划痕愈合率随着作用时间和 QFG 浓度增加而逐渐降低,呈现明显的时间和剂量依赖作用;与对照组比较,12 h 和 24 h 划痕愈合率差异有统计学意义($P < 0.01$)。⑥ 与对照组比较,0.5、1、2 mg/mL QFG 能显著降低 Ki-67 和 MMP-2 的蛋白表达,增加 Cleaved-Caspase-3 的蛋白表达,且呈现明显的剂量依赖性,差异有统计学意义($P < 0.01$)。**结论:**QFG 具有抑制大肠癌 SW620 细胞增殖、诱导凋亡及抑制迁移的作用,其作用机制可能与下调 Ki-67 和 MMP-2 蛋白表达及上调 Cleaved-Caspase-3 蛋白表达有关。

关键词 大肠癌;清解扶正颗粒;增殖;凋亡;迁移

大肠癌(colorectal cancer,CRC)在我国是继肺癌、胃癌后第三高发恶性肿瘤,其发病率和死亡率高,严重危害了人类健康^[1]。临床上,手术及放化疗是 CRC 的主要治疗方法,能有效控制 CRC 的发展,但术后并发症多,复发率及转移率高。同时,放化疗所产生的恶心、呕吐、脱发等毒副作用不可小觑,明

显降低了患者的生存质量^[2]。因此,寻求一种疗效确切、毒副作用小的抗肿瘤药物成为了当今国内外研究的热点。而中医药治疗 CRC 因其不良反应少,临床疗效肯定,日益受到人们的认可和青睐^[3]。清解扶正颗粒(Qingjie Fuzheng Granules,QFG)由白花蛇舌草、半枝莲、炙黄芪、炒麦芽等中药组成,具有清

引用格式:朱晓勤,杨弘,黄彬,等.清解扶正颗粒对大肠癌 SW620 细胞增殖、凋亡和迁移的影响[J].康复学报,2020,30(1):46-51.

ZHU X Q,YANG H,HUANG B,et al. Effects of Qingjie Fuzheng Granules on proliferation,apoptosis and migration of colorectal cancer SW620 cells [J]. Rehabilitation Medicine,2020,30(1):46-51.

DOI: 10.3724/SP.J.1329.2020.01010

热解毒、益气健脾消食等功效,临床用于治疗大肠癌等恶性肿瘤疗效确切^[4],但其对大肠癌细胞生长的影响及其机制尚未明确。因此,本实验拟通过体外实验探讨 QFG 对大肠癌细胞增殖、凋亡和迁移的影响及其可能的作用机制,为其临床运用提供实验依据。

1 实验材料

1.1 药物与细胞株

QFG 由福建中医药大学药学院制剂室提供,用磷酸盐缓冲液(PBS)配成以颗粒量为 200 mg/mL 的储存液, -20℃ 保存。实验使用时,超声 30 min 助溶,用 0.45 μm 过滤器过滤一遍,并用培养基配成所需浓度(对照组为 0 mg/mL,实验组分别为 0.5、1、2 mg/mL)。大肠癌细胞株(SW620)购自中国科学院上海生科院细胞资源中心。

1.2 主要试剂与仪器

1.2.1 主要试剂 RPMI 1640 培养基、双抗(青霉素、链霉素)、胎牛血清(FBS)、0.25%胰蛋白酶、二甲亚砜(DMSO)(美国 Gibco 公司);四甲基偶氮唑蓝(MTT)干粉(北京索莱宝科技有限公司);PBS(美国 Hyclone 公司);Hoechst 33258 染色试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);细胞周期试剂盒(南京凯基生物技术有限公司);Ki-67、MMP-2、Cleaved-Caspase-3 以及 β-actin 抗体(美国 Cell Signaling Technology 公司);SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒(北京康为世纪公司);化学发光试剂盒、BCA 蛋白定量分析试剂盒(美国 Thermo 公司)。

1.2.2 仪器 超净工作台(苏州净化设备公司);CO₂ 培养箱、-80℃ 超低温冰箱(美国 Thermo 公司);多功能酶标仪(奥地利 TECAN 公司);倒置显微镜系统(德国 Leica 仪器有限公司);形态学显微图像分析系统 LAS V4.1、Countstar 全自动细胞计数仪(美国 Life 公司);电泳仪、电泳槽、ChemiDoc XRS+ 化学发光成像系统(美国 Bio-Rad 公司)。

2 实验方法

2.1 细胞培养与分组

SW620 细胞株培养于含有 10% FBS、1% 双抗(含 100 U/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素)的 RPMI 1640 完全培养基中,于 37℃、5% CO₂ 及饱和湿度的细胞培养箱内培养。将对数生长期的 SW620 细胞随机分为对照组(0 mg/mL QFG 组)、0.5 mg/mL QFG 组、1 mg/mL QFG 组、2 mg/mL QFG 组。

2.2 指标检测

2.2.1 MTT 法检测细胞活力 取对数生长期的

SW620 细胞,按每孔 1.5×10^5 个/mL 细胞密度接种于 96 孔培养板中,每孔 100 μL,放置在培养箱中培养,当细胞汇合度达到 50%~60%时,吸走孔中原培养基,每孔加入 100 μL 含有不同浓度 QFG(终浓度分别为 0、0.5、1、2 mg/mL)的完全培养基,继续培养 24 h 或 48 h 后吸弃各孔溶液,每孔加入 100 μL 浓度为 0.5 mg/mL 的 MTT 溶液,培养箱孵育 4 h 后轻轻吸走各孔中的液体,加入 DMSO 100 μL/孔,采用全自动酶标仪于 570 nm 波长处测定各孔吸光度值(A 值),并计算细胞生长抑制率。

细胞生长抑制率(%) = $(1 - \text{实验组 A 值} / \text{对照组 A 值}) \times 100\%$

2.2.2 细胞形态观察 取对数生长期的 SW620 细胞,按每孔 2.5×10^5 个/mL 细胞密度接种于 6 孔板中,每孔 2 mL,细胞培养箱中培养,细胞汇合度达到 50%~60%时,吸弃孔中原培养基,重新加入 2 mL 不同浓度 QFG(终浓度分别为 0、0.5、1、2 mg/mL)干预 24 h,在倒置显微镜下观察细胞形态变化并拍照记录。

2.2.3 流式细胞术检测细胞周期 取对数生长期的 SW620 细胞,按每孔 2.5×10^5 个/mL 细胞密度接种于 6 孔板中,每孔 2 mL,细胞培养箱中培养,细胞汇合度达到 50%~60%时,吸弃孔中原培养基,重新加入 2 mL 不同浓度 QFG(终浓度分别为 0、0.5、1、2 mg/mL)干预 24 h,分别收集每孔细胞,用预冷的 75% 的乙醇 4℃ 固定 4 h, PBS 清洗 3 遍后加入 PI 500 μL, 4℃ 避光染色 0.5 h,流式细胞仪检测细胞周期。

2.2.4 Hoechst 33258 染色检测细胞凋亡 取对数生长期的 SW620 细胞,按每孔 2.5×10^5 个/mL 细胞密度接种于 6 孔板中,每孔 2 mL,细胞培养箱中培养,细胞汇合度达到 50%~60%时,吸弃孔中原培养基,重新加入 2 mL 不同浓度 QFG(终浓度分别为 0、0.5、1、2 mg/mL)干预 24 h 后,吸走原培养基, PBS 清洗 1 遍, 4% 多聚甲醛室温固定 10 min,吸走孔中多聚甲醛, PBS 清洗 1 遍,加入 200 μL Hoechst 33258 工作液染色, 4℃ 避光反应 15 min, PBS 清洗细胞 2~3 次。在荧光显微镜下观察细胞凋亡情况并拍照(200×)。

2.2.5 划痕实验检测细胞迁移能力 取对数生长期的 SW620 细胞,按每孔 2.5×10^5 个/mL 细胞密度接种于 6 孔板中,每孔 2 mL,细胞培养箱中培养,细胞汇合度达到 80%~90%时,进行划痕, PBS 洗 2 遍,重新加入 2 mL 不同终浓度的 QFG(终浓度分别为 0、0.5、1、2 mg/mL)培养,并于 0、6、12、24 h 时分别在显微镜下观察细胞划痕修复情况(200×)。

划痕愈合率(%) = $(0 \text{ h 划痕面积} - 6 \text{ h}/12 \text{ h}/24 \text{ h})$

划痕面积)/0 h 划痕面积×100%

划痕愈合率越高,表示细胞迁移能力越强。

2.2.6 Western blot 检测 Cleaved-Caspase-3、Ki-67、MMP-2 蛋白表达 取对数生长期的 SW620 细胞,按每孔 2.5×10^5 个/mL 细胞密度接种于 6 孔板中,每孔 2 mL,细胞培养箱中培养,细胞汇合度达到 50%~60%时,吸弃孔中原培养基,重新加入 2 mL 不同浓度 QFG(终浓度分别为 0、0.5、1、2 mg/mL)干预 24 h。吸弃培养基,用预冷的 PBS 清洗 2 遍并吸干,每孔加入 80 μ L 裂解液,冰置 15 min,用刮刀刮取细胞使细胞充分裂解,放入预先标记好的 1.5 mL EP 管中,4 $^{\circ}$ C,14 000 r/min,离心 20 min,取上清于 EP 管中即为提取的细胞总蛋白;随后用 BCA 法测定蛋白质浓度;加入一定量的 loading buffer 并 99 $^{\circ}$ C 金属浴 5 min 后进行凝胶电泳,转膜,5%脱脂奶粉封闭 2 h;将膜放入按一定比例稀释的特异性抗体(一抗)中 4 $^{\circ}$ C 摇床孵育 16~24 h 后取出膜,TB-ST 洗去多余一抗,加入相对应的二抗,室温摇床孵育 1 h,TBST 洗去多余的二抗,随后将膜置于显影板上。等体积混匀 ECL 的 A 液和 B 液滴加至膜上,采用 Bio-Rad ChemiDoc XRS+化学发光成像系统中进行显示观察,以 β -actin 作为内参,用 Image J 软件进行灰度值分析,然后对其他指标进行分析。

2.3 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行数据处理,计量资料服从正态分布采用($\bar{x} \pm s$)表示,多组数据比较采用单因素方差分析,多组间的两两比较采用 LSD-t 检

验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 QFG 对 SW620 细胞活力的影响

MTT 法检测结果显示,不同浓度的 QFG 对大肠癌 SW620 细胞的生长均有明显的抑制作用,并呈浓度和作用时间依赖性。与对照组比较,不同剂量 QFG 组对细胞增殖抑制率的差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 QFG 对 SW620 细胞增殖抑制率比较($n=8, \bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of the inhibitory rate of QFG on SW620 cell proliferation ($n=8, \bar{x} \pm s$) %

QFG/(mg/mL)	24 h	48 h
0	0	0
0.5	14.54 $\pm$ 5.97 ¹⁾	35.81 $\pm$ 3.00 ¹⁾
1	51.32 $\pm$ 4.32 ¹⁾	76.76 $\pm$ 1.79 ¹⁾
2	79.92 $\pm$ 4.01 ¹⁾	88.83 $\pm$ 0.69 ¹⁾

注:与对照组(0 mg/mL)比较,1) $P < 0.05$ 。
Note: Compared with the control group (0 mg/mL), 1) $P < 0.05$.

3.2 QFG 对 SW620 细胞形态的影响

在倒置显微镜下观察结果显示,大肠癌 SW620 细胞经不同浓度的 QFG 干预 24 h 后,随着药物浓度的增加,SW620 细胞密度逐渐减少,悬浮细胞增多,部分细胞皱缩变圆。该结果进一步证实 QFG 对 SW620 细胞生长具有明显的抑制作用。见图 1。

图 1 QFG 对 SW620 细胞形态的影响($\times 200$)

Figure 1 Effect of QFG on morphology of SW620 cells($\times 200$)

3.3 QFG 对 SW620 细胞周期的影响

与对照组相比,不同浓度的 QFG 干预大肠癌细胞 24 h 后,其 G1 期降低,S 期增高,而 G2 期并没有明显的变化,差异有统计学意义($P < 0.01$),但并不呈剂量依赖关系。该结果表明 QFG 通过使 SW620 细胞周期阻滞在 S 期,DNA 合成受阻,细胞生长停滞而达到抑制大肠癌 SW620 细胞增殖的作用。见图 2。

3.4 QFG 对 SW620 细胞凋亡的影响

Hoechst 33258 染色结果显示,与对照组相比,QFG 干预 SW620 细胞 24 h 后,细胞核呈致密浓染,形态

异常,颜色发白,凋亡细胞随着 QFG 浓度增加而逐渐增多。研究结果表明 QFG 具有诱导大肠癌 SW620 细胞凋亡的作用。见图 3。

3.5 QFG 对 SW620 细胞迁移能力的影响

划痕实验结果显示,对照组的 SW620 细胞有明显的迁移。不同浓度的 QFG 干预细胞 6、12、24 h 后,细胞迁移能力受到抑制,划痕愈合率随着作用时间及 QFG 浓度增加而逐渐降低,呈现明显的时间和剂量依赖作用,12 h 和 24 h 划痕愈合率差异有统计学意义($P < 0.01$)。见图 4。

注:与对照组(0 mg/mL)比较,1) $P<0.01$ 。
Note: Compared with the control group (0 mg/mL), 1) $P<0.01$.

图2 QFG对SW620细胞周期的影响($\times 200$)

Figure 2 Effect of QFG on cell cycle of SW620 cells ($\times 200$)

图3 QFG对SW620细胞凋亡的影响($\times 200$)

Figure 3 Effect of QFG on apoptosis of SW620 cells ($\times 200$)

注:与对照组(0 mg/mL)比较,1) $P<0.01$ 。
Note: Compared with the control group (0 mg/mL), 1) $P<0.01$.

图4 QFG对SW620细胞迁移能力的影响($\times 200$)

Figure 4 Effect of QFG on migration ability of SW620 cells ($\times 200$)

3.6 QFG对SW620细胞相关蛋白表达的影响

Western blot 实验结果显示,QFG 干预 SW620 细胞 24 h 后,与对照组比较,细胞内 Ki-67、MMP-2

蛋白表达下调,Cleaved-Caspase-3 蛋白表达上调,且呈现剂量依赖趋势,差异有统计学意义($P<0.01$)。见图 5。

注:与对照组(0 mg/mL)比较,1) $P<0.01$ 。

Note: Compared with the control group (0 mg/mL), 1) $P<0.01$.

图 5 QFG 对 SW620 细胞 Cleaved-Caspase-3、Ki-67、MMP-2 蛋白表达的影响

Figure 5 Effect of QFG on the Cleaved-Caspase-3, Ki-67, MMP-2 protein expression of SW620 cells

4 讨论

大肠癌是我国常见的消化道恶性肿瘤之一。近年来,随着环境、生活方式、饮食习惯等的改变,我国的大肠癌发病率不断增长,严重影响了人们的健康和生活质量^[5]。目前研究发现,中医药治疗大肠癌疗效确切、不良反应少、作用靶点多,能有效地改善患者的生存质量,具有良好的应用前景^[6]。

中医学认为大肠癌属于“肠覃”“肠癖”“肠积”“脏毒”“积聚”等病证范畴,以脾虚、肾亏、正气不足为其本,以热毒、湿邪、瘀滞为其标^[7]。因此,大肠癌的中医治则主要是清热解毒、益气扶正。QFG 正是根据大肠癌中医药治疗理论及多年临床实践总结出来的基础方,临床上用于治疗大肠癌疗效确切,能有效提高患者的生活质量。目前,QFG 治疗大肠癌的作用机制尚不明确,本研究通过体外培养人大肠癌 SW620 细胞,探讨 QFG 对大肠癌 SW620 细胞增殖、凋亡及迁移的影响及作用机制。

有关研究发现,癌症之所以难以控制,癌细胞的无限增殖是其中的主要原因之一^[8]。所以,抑制大肠癌细胞的增殖是抑制大肠癌发生发展的有效手段。在本研究中,细胞形态学观察及 MTT 法检测结果显示,QFG 对大肠癌细胞的增殖有明显的抑制作用,且呈一定的时间和浓度依赖性。流式细胞术检测细胞周期结果显示,QFG 能使大肠癌细胞周期阻滞于 S 期,引起 G2/M 细胞周期停滞,降低细胞增殖速率。Ki-67 是一种增殖细胞相关的核抗原,在增殖细胞的细胞核中表达,是评价细胞增殖活性的良好指标。目前,Ki-67 已广泛用于多种肿瘤细胞增殖活性的检测。Ki-67 的表达量越高,说明肿瘤细胞的增

殖能力越强,肿瘤生长越快,恶性程度越高。本研究通过 Western blot 实验显示 QFG 能下调大肠癌细胞内 Ki-67 的蛋白表达,进一步验证了 QFG 有抑制大肠癌细胞增殖的作用。

肿瘤的无限增殖是肿瘤细胞凋亡受到抑制的结果,因而细胞凋亡抑制是癌症发展的重要机制^[8]。凋亡的过程是多基因多途径参与的复杂过程,某些体内外的因素能够导致细胞中的癌基因以及原癌基因被激活并过度表达,这一过程能够直接促进癌细胞的生长,并且阻断癌细胞凋亡,从而使癌细胞大量增加^[9]。因此,抑制大肠癌发生发展的另一关键是诱导大肠癌细胞凋亡。半胱氨酸蛋白酶 Caspase 家族在细胞凋亡过程中发挥着重要作用,Caspase-3 是该家族的核心成员,切割激活 Caspase-3 酶原后,活化的 Caspase-3 (Cleaved-Caspase-3) 高表达能够诱发细胞的凋亡^[10-12]。所以,本实验采用 Hoechst 33258 染色检测细胞凋亡,结果显示 QFG 能够诱导大肠癌细胞的凋亡,且呈剂量依赖性;随后,运用 Western blot 实验检测 QFG 对大肠癌 SW620 细胞内凋亡主要蛋白 Cleaved-Caspase-3 表达的影响,结果进一步验证了 QFG 能够诱导大肠癌 SW620 细胞的凋亡,且呈剂量依赖作用。

肿瘤细胞侵袭转移是大多数恶性肿瘤患者死亡的主要原因之一。基质金属蛋白酶(MMPs)家族是一组蛋白水解酶,MMPs 可特异性降解基底膜中的有效成分及细胞外基质,从而参与肿瘤侵袭、转移^[13]。MMP-2 蛋白是 MMPs 家族中重要成员,有报道显示其表达异常与结直肠癌恶性肿瘤的浸润和转移关系密切^[14-15]。本研究采用划痕实验观察 QFG 对 SW620 细胞迁移能力的影响,其结果显示 QFG 能

明显地抑制大肠癌 SW620 细胞的迁移能力,且呈一定的时间和剂量依赖性。Western blot 实验结果表明,QFG 显著降低大肠癌 SW620 细胞内 MMP-2 蛋白的表达,抑制大肠癌 SW620 细胞的迁移,且呈一定的剂量依赖性。

综上所述,QFG 具有抑制大肠癌细胞增殖、诱导凋亡及抑制迁移能力的作用,其作用机制可能与下调 Ki-67 和 MMP-2 蛋白表达及上调 Cleaved-Caspase-3 蛋白表达有关。

参考文献

- [1] 王振军,付李缘. 大肠癌筛查共识与争议[J]. 临床外科杂志, 2018,26(10):721-723.
- [2] SOERJOMATARAM I, LORTET-TIEULENT J, PARKIN D M, et al. Global burden of cancer in 2008: a systematic analysis of disability-adjusted life-years in 12 world regions [J]. Lancet, 2012,380(9856):1840-1850.
- [3] 李嘉俊,赵杰,赫兰晔. 大肠癌的中医药治疗进展[J]. 现代中西医结合杂志,2018,27(21):2391-2394.
- [4] 华杭菊,林久茂,任丽萍,等. 清解扶正方联合 mFOLFOX4 方案治疗晚期大肠癌的疗效观察[J]. 福建中医药,2019,50(1):20-24.
- [5] 郑晓金,李凯,欧凤荣. 结直肠癌相关危险因素研究进展[J]. 实用药物与临床,2018,21(10):1196-1199.
- [6] 谢培生,白广德. 中医药防治结直肠癌的近况概述[J]. 内蒙古中医药,2016,35(6):115-116.
- [7] 唐琪琳,杨帆,王学岭. 大肠癌中医药证治探讨[J]. 山东中医杂志,2016,35(8):685-687.
- [8] 张守亮. 大肠癌细胞凋亡研究进展[J]. 实用癌症杂志,2004,19(1):96-98.
- [9] HAN S, PAN Y. Can mitochondria DNA provide a novel biomarker for evaluating the risk and prognosis of colorectal cancer? [J]. Dis Markers, 2017,2017:5189803.
- [10] 李永宁,肖晶晶,赵建勇. Caspase-3 及 Cleaved-Caspase-3 在氟中毒大鼠肝脏中表达[J]. 贵州医药,2016,40(3):239-240.
- [11] 朱军义,马繁华,徐亚辉. 龙葵碱调控 p-AKT、Cleaved caspase-3 和 p53 蛋白表达抑制卵巢癌细胞增殖实验研究[J]. 陕西中医,2019,40(5):556-560.
- [12] AMPTOULACH S, LAZARIS A C, GIANNPOULOU I, et al. Expression of caspase-3 predicts prognosis in advanced noncardiac gastric cancer [J]. Med Oncol, 2015,32(1):416-417.
- [13] 杨锡彤,秦燕,王光明. MMPs 和 TIMPs 与肿瘤关系的研究进展[J]. 广东医学,2018,39(16):2538-2541.
- [14] 梁辰,戴静,周福祥,等. 苦参碱促进胃癌细胞凋亡及对 STAT3、Cleaved-caspase 3、MMP-2 蛋白表达的影响[J]. 肿瘤药学,2017,7(1):28-32.
- [15] 毕利萍,李玉军,郭茜,等. FOLFOX4 新辅助化疗对直肠癌组织 Ki-67、MMP-2 和 Fas 表达的影响[J]. 胃肠病学,2017,12(11):658-661.

Effect of Qingjie Fuzheng Granules on Proliferation, Apoptosis and Migration of Colorectal Cancer SW620 Cells

ZHU Xiaoqin^{1,2}, YANG Hong¹, HUANG Bin^{1,2}, WEI Lihui^{1,2}, LIN Jiumao^{1,2*}

¹ Fujian Academy of Integrative Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350122, China;

² Fujian Key Laboratory of Integrative Medicine on Geriatrics, Fuzhou, Fujian 350122, China

*Correspondence: LIN Jiumao, E-mail:jiumaolin@hotmail.com

ABSTRACT Objective: To investigate the effects and mechanisms of Qingjie Fuzheng Granules (QFG) on colorectal cancer SW620 cells in proliferation, apoptosis and migration. **Methods:** Colorectal cancer SW620 cells in vitro were treated with 0, 0.5, 1 and 2 mg/mL QFG. The inhibitory effect of QFG on cell proliferation was detected by MTT assay after 24 h and 48 h. The morphology of SW620 cells was observed with inverted microscope after 24 h. The cell cycle after 24 h was measured by flow cytometry. Apoptosis of SW620 cells after 24 h was detected by Hoechst 33258 staining test. The migration ability of cells after 0 h, 6 h, 12 h and 24 h was detected by scratching test. The expressions of Ki-67, MMP-2 and Cleaved-Caspase-3 proteins were detected by Western blot assay after 24 h. **Results:** (1) In the concentration range of 0, 0.5, 1, 2 mg/mL, QFG significantly reduced the cell proliferation in a time and dose-dependent manner. The differences were statistically significant when compared with the control group in the same time ($P < 0.05$). (2) After treatment with 0.5, 1, 2 mg/mL QFG for 24 hours, the morphology of the cells changed significantly. With the increase of the concentration, the cell density decreased gradually, the suspended cells increased, and some cells got shrank and rounded. (3) The result of flow cytometry showed that the G1 phase of the QFG group in the 0.5, 1, 2 mg/mL concentration was decreased, but the S phase was increased and the G2 phase was not significantly changed. The percentage of each period was significantly different from that of the control group ($P < 0.01$), but not dose dependent. (4) The Hoechst 33258 staining results showed that the cell morphological manifestations of apoptosis were more obvious with the increase of QFG concentration. (5) The scratch test showed that QFG in the 0.5, 1, 2 mg/mL concentration could reduce the migration ability of SW620 cells, and the scratch healing rate decreased gradually with the increase of intervention time and QFG concentration, showing a time and dose-dependent effect. Compared with the control group, the difference of 12 h and 24 h was statistically significant ($P < 0.01$). (6) In addition, compared with the control group, QFG in the 0.5, 1, 2 mg/mL concentration significantly reduced the protein expression of Ki-67 and MMP-2, increased the protein expression of Cleaved-Caspase-3, and showed a dose-dependent, the difference was statistically significant ($P < 0.01$). **Conclusion:** QFG can inhibit the proliferation, induce apoptosis and inhibit migration of colorectal cancer SW620 cells, and its mechanism may be related to down-regulation of Ki-67 and MMP-2 protein expression and up-regulation of Cleaved-Caspase-3 protein expression.

KEY WORDS colorectal cancer; Qingjie Fuzheng Granules (QFG); proliferation; apoptosis; migration

DOI: 10.3724/SP.J.1329.2020.01010