艾迪注射液对大鼠原代肝细胞中 CYP1A2、CYP3A2 酶活性的影响

陆 苑[1,2,3]， 潘 洁[1,2]， 杨淑婷[1,2]， 刘 亭[1,2]， 李勇军[2,4]， 孙 佳[1,2*]
(1. 贵州医科大学，贵州省药物制剂重点实验室，贵州 贵阳 550004；2. 贵州医科大学药学院，贵州 贵阳 550004；3. 贵州医科大学，国家苗药工程技术研究中心，贵州 贵阳 550004；4. 贵州医科大学，民族药与中药开发应用教育部工程研究中心，贵州 贵阳 550004)

摘要：目的 评价艾迪注射液对大鼠原代肝细胞中 CYP1A2、CYP3A2 酶活性的影响。**方法** 采用两步胶原酶循环灌流法分离大鼠原代肝细胞，建立体外肝细胞温孵体系，选择非那西丁、咪达唑仑分别作为 CYP1A2、CYP3A2 的探针药物，建立同时测定肝细胞中代谢物对乙酰氨基酚、α-羟基咪达唑仑的 UPLC-MS/MS 法。将阳性诱导剂奥美拉唑和苯巴比妥、不同浓度艾迪注射液、空白溶剂分别作用肝细胞 2 d，给予探针药物孵育 60 min 后，测定各探针代谢物生成量，计算相对阳性对照活性，评价艾迪注射液对 CYP1A2 和 CYP3A2 酶活性的影响。**结果** 艾迪注射液对大鼠原代肝细胞中 CYP1A2、CYP3A2 亚型酶的相对阳性对照活性均小于 40% 。**结论** 艾迪注射液对大鼠原代肝细胞中 CYP1A2、CYP3A2 亚型酶活性无明显影响。

关键词：艾迪注射液；CYP1A2；CYP3A2；原代肝细胞；UPLC-MS/MS
中图分类号：R285.5 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-1528(2018)09-1920-06
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.09.005

Effects of Aidi Injection on CYP1A2 and CYP3A2 enzyme activities in primary rat hepatocytes

LU Yuan[1,2,3], PAN Jie[1,2], YANG Shu-ting[1,2], LIU Ting[1,2], LI Yong-jun[2,4], SUN Jia[1,2*]
(*1. Guizhou Provincial Key Laboratory for Pharmaceutics, Guizhou Medcial University, Guiyang 550004, China; 2. School of Pharmaceutical Sciences, Guizhou Medcial University, Guiyang 550004, China; 3. National Engineering Research Center of Miao's Medicines, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 4. Ministry of Education Engineering Research Center for the Development and Application of Ethnic Medicine and TCM, Guizhou Medcial University, Guiyang 550004, China*)

ABSTRACT: AIM To evaluate the effects of Aidi Injection on CYP1A2 and CYP3A2 enzyme activities in primary rat hepatocytes. **METHODS** The primary rat hepatocytes isolated by two step collagenase perfusion were used to help establish an *in vitro* hepatocytes warm incubation system, and phenacetin and midazolam were selected as CYP1A2 and CYP3A2 substrates, respectively. The simultaneous determination of acetaminophen, alpha hydroxy midazolam in hepatocytes was accomplished by UPLC-MS/MS method. The primary rat hepatocytes undergone 2-day treatment of omeprazole, or phenobarbital, or multiple concentrations of Aidi Injection were subsequently incubated with the probe drugs for 60 min, and had the amount of metabolites (acetaminophen and alpha hydroxy midazolam) determined, and the relative positive control activity calculated to evaluate the effects of Aidi Injection on CYP1A2 and CYP3A2 enzyme. **RESULTS** Aidi Injection showed a less than 40% relative positive control activity on CYP1A2 and CYP3A2 isoforms in primary rat hepatocytes. **CONCLUSION** Aidi Injection has no signifi-

收稿日期：2017-08-09
基金项目：贵州省中药现代化科技产业研究开发专项项目（黔科合 ZY 字［2013］3020）；贵州省科技厅联合基金项目（黔科合 LH 字［2015］7361）；贵阳市科技计划项目（筑科合同［20141001］09）；大学生创新创业训练计划项目（201510660006）；贵州省科学技术厅人才团队项目（黔科合平台人才［2016］5613\5677）。
作者简介：陆 苑（1989—），女，博士，从事中药药效物质基础与药代动力学研究。Tel：（0851）86908468，E-mail：314521537@qq.com
*通信作者：孙 佳（1986—），女，副教授，从事中药药效物质基础与药代动力学研究。Tel：（0851）86908468，E-mail：392828662@qq.com

cant effects on the activity of CYP1A2 and CYP3A2 isoforms in primary rat hepatocytes *in vitro*.

KEY WORDS: Aidi Injection; CYP1A2; CYP3A2; primary hepatocytes; UPLC-MS/MS

艾迪注射液（斑蝥、人参、黄芪、刺五加）是贵州益佰制药股份有限公司独家品种，具有清热解毒、消瘀散结之功效，临床广泛用于原发性肝癌、肺癌、胃癌、直肠癌、妇科恶性肿瘤等，同时作为晚期癌症放、化疗的常用辅助药[1]，目前已上市销售多年，但在其使用说明书中并未提及药物相互作用。临床上，常将艾迪注射液与其他抗肿瘤药物合并用药，但盲目联用是否会导致药效相互拮抗或毒性成分蓄积，从而引起疗效下降或毒副作用尚未引起足够重视。前期研究发现，艾迪注射液对大鼠肝微粒体中主要的细胞色素 P450（CYP450）亚型酶（CYP1A2、CYP2E1、CYP2D4、CYP2C19、CYP2C11）活性存在不同程度的弱抑制作用[2]，为进一步明确其对 CYP450 亚型酶活性的影响，本实验将通过改良的 Seglen 两步胶原酶灌注法[3-4]分离大鼠原代肝细胞，建立可行的底物-酶反应体系，经 UPLC-MS/MS 检测分析，进而评价对大鼠原代肝细胞中 CYP1A2、CYP3A2 亚型酶活性的影响，为该制剂临床合并用药提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器 超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱联用仪（UPLC-TQD，美国 Waters 公司）；680 酶标仪（伯乐生命医学产品有限公司）；Allegra 64R 低温高速离心机（美国 Beckman Coulter 公司）；CO_2 细胞培养箱（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）；TS-100F 倒置显微镜（日本 Nikon 公司）；超净工作台（北京东联哈尔仪器制造有限公司）。

1.2 试药 艾迪注射液由贵州益佰制药股份有限公司提供（10 mL/支，批号 20150627）。非那西丁购于美国 Sigma 公司（批号 81105）；咪达唑仑购于江苏恩华药业股份有限公司（批号 20150120）；对乙酰氨基酚（批号 100018-200408）、葛根素对照品（批号 0752-9605）购于中国食品药品检定研究院；α-羟基咪达唑仑购于美国 Cerilliant 公司（批号 FN101512-07）；1640 培养基、双抗购于美国 Gibco 公司；FBS 胎牛血清购于德国 Sera 公司；Ⅳ型胶原酶、DMSO、台盼蓝试剂盒、MTS 试剂盒、RIPA 裂解液、PBS 缓冲盐溶液均购于北京索莱宝科技有限公司。乙腈、甲醇为色谱纯，购于德国默克公司。

1.3 动物 雄性 SD 大鼠，SPF 级，体质量（220 ± 20）g，由湖南长沙天勤生物技术有限公司提供，实验动物质量合格证许可证号 SCXK（湘）2014-0011。

2 方法与结果

2.1 溶液配制

2.1.1 探针代谢物标准溶液 精密称取对乙酰氨基酚、α-羟基咪达唑仑适量，甲醇溶解并定容至 10 mL，即得（质量浓度分别为 1.002、0.1 mg/mL），于 -20 ℃下贮存。

2.1.2 混合探针药液 精密称取非那西丁、咪达唑仑各 10 mg，甲醇定容至 10 mL，作为贮备液。临用前，分别精密吸取适量，混合后于 40 ℃氮气中吹干，加入适量 DMSO（< 0.1%）溶解残渣，再加入 PBS 缓冲溶液（pH 7.4）定容至一定体积，于超净台中经 0.22 μm 过滤器过滤后，置于37 ℃、5% CO_2 培养箱中预热待用，所得混合探针底物溶液中非那西丁、咪达唑仑浓度分别为 1、0.5 mmol/L。

2.1.3 内标溶液 精密称取葛根素对照品 10.0 mg，甲醇溶解并定容至 25 mL，取 1 mL，甲醇稀释并定容至 100 mL，即得（质量浓度为 4.0 μg/mL）。

2.2 原代肝细胞分离提取

2.2.1 操作 采用改良的 Seglen 两步循环灌流法[3-4]分离提取大鼠原代肝细胞。

2.2.2 原代肝细胞活率测定 将新鲜肝细胞悬液、0.4% 台盼蓝溶液各 100 μL 混合，采用血细胞计数板计算细胞活率，重复 3 次，测得平均值可达 98% 。

2.2.3 形态观察 将新鲜提取的大鼠原代肝细胞接种至预先用Ⅰ型胶原酶蛋白包被的 6 孔板内，于饱和湿度、37 ℃、5% CO_2 培养箱中培养，6 h 时更换 1 次培养液（1640 培养基双抗 FBS 血清比例为 8.9∶0.1∶1），之后每天更换 1 次，在倒置显微镜下观察形态（0、6、24 h），结果见图 1，可知与文献［5］报道一致。

2.3 原代肝细胞体外底物-酶反应体系及样品前处理方法 将培养 24 h 后的原代肝细胞分别给予一定浓度的阳性对照药和不同浓度艾迪注射液，共同孵育 2 d 后，每天更换 1 次培养介质，于第 3 天吸去药液，37 ℃ PBS 缓冲液洗涤 2 次以除去死细胞

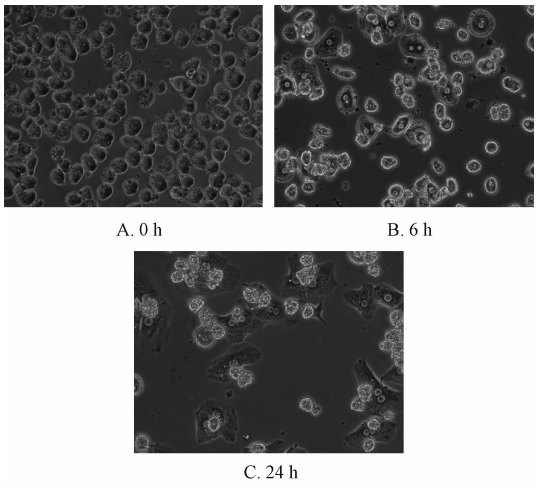


图 1 大鼠原代肝细胞形态（×200）

Fig. 1 Morphologies of primary rat hepatocytes（×200）

与杂质，再加入混合探针药液，于培养箱中反应 60 min 后吸去药液，再用冰冷 PBS 缓冲液洗涤 2 次，最后加入冰冷 RIPA 裂解液，于 -20 ℃下放置 1 h 以充分裂解细胞，12 000 r/min 离心 10 min，分离上清液，即得细胞裂解液。取 250 μL 置于 1.5 mL 离心管中，加入 50 μL 内标溶液，涡旋混合 1 min，加入 400 mL 甲醇沉淀蛋白，涡旋振荡 3 min，12 000 r/min 离心 10 min，取上清液，通过 UPLC-MS/MS 法分析。

2.4 UPLC-MS/MS 法分析

2.4.1 色谱条件 Waters BEH C_{18} 色谱柱（2.1 mm×50 mm，1.7 μm）；流动相 0.1% 甲酸乙腈（A）-0.1% 甲酸水（B），梯度洗脱（0 ~ 3 min，10% ~ 65% A；3 ~ 3.5 min，65% ~ 90% A；3.5 ~ 4 min：90% ~ 10% A）；体积流量 0.35 mL/min；柱温 45 ℃；进样量 1 μL。

2.4.2 质谱条件 电喷雾电离源（ESI）；毛细管电压 3 kV；离子源温度 120 ℃；去溶剂气温度 350 ℃；去溶剂气 N_2，体积流量 650 L/h；反吹气 N_2，体积流量 50 L/h；碰撞气 Ar，体积流量 0.16 mL/min；质谱数据采集及处理软件为 MassLynx V 4.1 工作站，扫描方式为多反应离子监测模式（MRM）。具体见表 1。

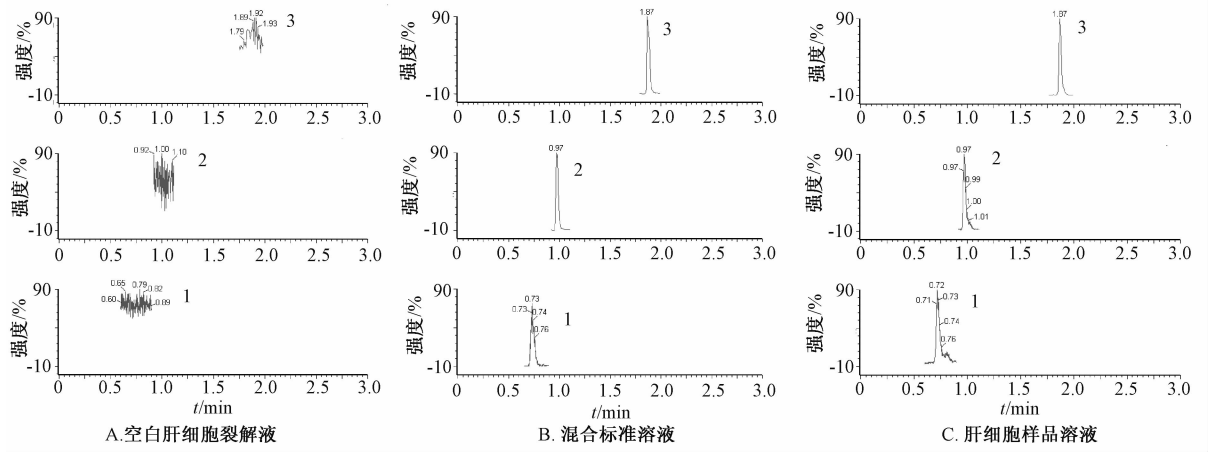
表 1 质谱条件

Tab. 1 MS conditions

检测物	正负模式	母离子 *m/z*	子离子 *m/z*	锥孔电压/V	碰撞电压/eV
对乙酰氨基酚	+	152.0	110.0	30	15
α-羟基咪达唑仑	+	342.0	324.0	35	20
葛根素（内标）	+	417.0	267.0	40	30

2.5 方法学考察

2.5.1 专属性考察 取空白肝细胞裂解液、混合标准溶液、肝细胞样品溶液适量，在“2.4.1”、“2.4.2”项条件下进样分析，结果见图 2。由图可知，对乙酰氨基酚、葛根素、α-羟基咪达唑仑的相对保留时间分别为 0.73、0.97、1.87 min，分离度良好，阴性无干扰。



1. 对乙酰氨基酚 2. 葛根素 3. α-羟基咪达唑仑

1. paracetamol 2. puerarin 3. α-OH midazolam

图 2 各成分典型质谱图

Fig. 2 Typical chromatograms of various constituents

2.5.2 线性关系考察 取 50 μL 代谢产物系列标准溶液，加入 250 μL 空白肝细胞裂解液，按“2.3”项下方法处理肝细胞样品。以待测物浓度为横坐标（*X*），待测物、内标峰面积之比为纵坐标（*Y*）进行回归，以 S/N≥3 为最低检测限，得到对乙酰氨基酚、α-羟基咪达唑仑回归方程分别为

$Y = 1.159\ 2X - 0.007\ 3$、$Y = 0.731\ 2X - 0.003\ 7$（$r > 0.999\ 0$），分别在 0.08 ~ 10、0.63 ~ 80 μmol/L 范围内线性关系良好，最低检测限分别为 32.5、0.57 nmol/L，可满足后续实验对细胞样品的检测要求。

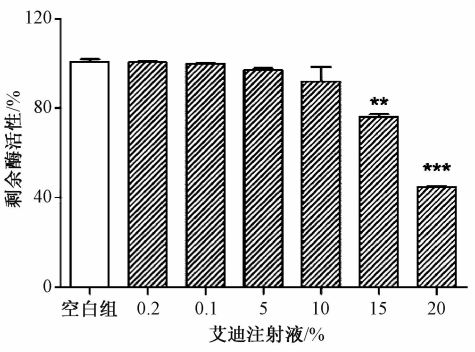
2.5.3 回收率试验 按“2.4.2”项下配制低、中、高 3 个浓度的质控样品（$n = 6$），作为样品 A；另取空白肝细胞裂解液，除不加混合标准溶液与内标外，其余按“2.3”项下方法操作，向沉淀蛋白后的上清液中加入相应低、中、高浓度混合标准溶液和内标溶液，作为样品 B；最后用初始流动相配制与上述对应低、中、高浓度的混合标准溶液和内标溶液，作为样品 C。结果，低、中、高 3 个浓度下各代谢物的加样提取回收率（样品 A、B 色谱峰面积之比）均 > 80%，基质效应（样品 B、C 色谱峰面积之比）均 > 85%，表明该方法回收率良好，无明显基质效应。

2.5.4 精密度、准确度试验 按“2.4.2”项下配制低、中、高 3 个浓度的质控样品（$n = 6$），连续测定 3 d。结果，各代谢物准确度均 > 80%，日内、日间精密度 RSD 均 < 10.0%，表明该方法精密度、准确度良好。

2.5.5 稳定性试验 按“2.4.2”项下方法配制低、中、高 3 个浓度的质控样品（$n = 6$），置于自动进样器中，分别于 0 h、12 h、4 ℃下冷藏 24 h、冻融循环 3 次后检测。结果，各代谢物在上述条件下的稳定性均良好。

2.6 安全浓度考察 将新鲜提取的大鼠原代肝细胞按 20×10^4/mL 密度接种至预先用Ⅰ型胶原酶蛋白包被的 96 孔板内，每孔 200 μL，置于 37 ℃、5% CO_2、饱和湿度条件下培养 24 h 后，吸去培养液，用预热至 37 ℃的 PBS 缓冲液洗涤，分别加入不同浓度艾迪注射液（0.05%、0.2%、1%、5%、10%、15%、20%）与等体积空白溶剂，每个浓度设置 6 个复孔，每孔 100 μL，置于培养箱培养 4 h。然后，按照 MTS 试剂盒操作方法处理，酶标仪测定各孔在 490 nm 波长处的吸光度，计算剩余酶活性后，采用 SPSS 18.0 软件进行单因素方差分析，并通过 Graphpad v5.0 软件作图，结果见图 3。由图可知，艾迪注射液在大鼠原代肝细胞中的安全浓度范围为 0 ~ 10%。

2.7 探针药物反应时间优化 将新鲜提取的大鼠原代肝细胞按 3×10^5/mL 密度接种至预先包被的 6 孔板内，每孔 2 mL，培养 3 d，于第 4 天吸去培养液，洗涤 2 次以除去死细胞，每孔加入 500 μL 混合探针药液，置于培养箱中，分别于 0、30、60、90、120、240 min 时吸去药液以终止反应，其余操作同“2.3”项。然后，测定代谢物生成量，通过 Graphpad v5.0 软件拟合时间-产物浓度曲线，结果见图 4。由图可知，各代谢物生成量随孵育时间延长逐渐趋于饱和，综合考虑，选择 60 min 作为孵育时间。



注：与空白组比较，$^{**}P < 0.01$，$^{***}P < 0.001$

图 3 艾迪注射液在大鼠原代肝细胞中的安全浓度

Fig. 3 Safe concentrations of Aidi Injection to primary rat hepatocytes

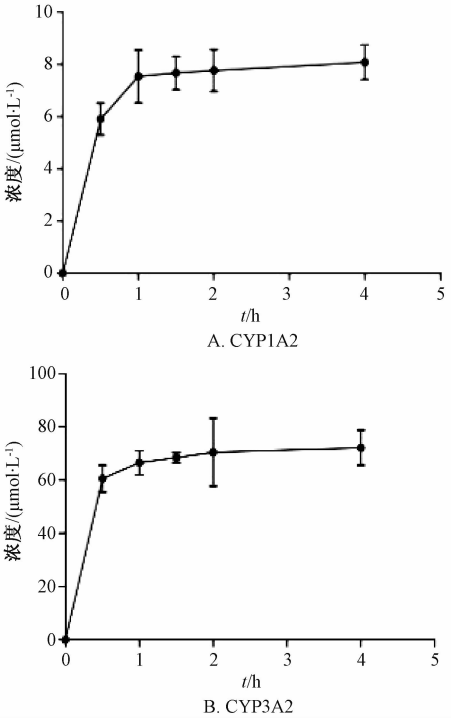


图 4 混合探针药物在大鼠原代肝细胞中的孵育时间

Fig. 4 Incubation time of mixed probe drugs in primary rat hepatocytes

2.8 艾迪注射液对大鼠原代肝细胞中 CYP1A2、CYP3A2 酶活性的影响 将培养 24 h 后的肝细胞随

机分为艾迪注射液给药组（0、0.5%、1%、5%、10%）、阳性诱导组（100 μmol/L 苯巴比妥、50 μmol/L奥美拉唑）、空白溶剂组（艾迪注射液给药组、阳性诱导组的空白溶剂），每组设置 6 个复孔，于 37 ℃、5% CO_2、饱和湿度条件下培养，每隔 1 d 更换 1 次相应培养介质，于第 3 天吸去培养介质并洗涤 2 次，每孔加入 500 μL 混合探针药液，于培养箱中反应 60 min，其余操作同“2.3”项，计算相对阳性对照活性，结果见表 2。由表可知，在艾迪注射液安全浓度范围内（0 ~ 10%），CYP1A2、CYP3A2 亚型酶的相对阳性对照活性均 <40%[6]，表明该制剂对以上 2 种亚型酶活性无明显影响。

表 2 艾迪注射液对 CYP1A2、CYP3A2 酶活性的影响（$\bar{x} \pm s$）

Tab. 2 Effects of Aidi Injection on CYP1A2 and CYP3A2 enzyme activities（$\bar{x} \pm s$）

组别	剂量/%	相对阳性对照活性/%	
		CYP1A2	CYP3A2
艾迪注射液给药组	10	5.12 ± 1.80	24.54 ± 4.69
艾迪注射液给药组	5	5.67 ± 0.87	18.6 ± 2.39
艾迪注射液给药组	1	7.62 ± 1.68	15.2 ± 3.34
艾迪注射液给药组	0.5	9.48 ± 4.67	5.8 ± 1.28
艾迪注射液给药组	0	—	—
阳性诱导组	—	100 ± 14.11	99.95 ± 34.67

3 讨论

3.1 CYP450 亚型酶选择 FDA 在 2012 年发布的《药物相互作用研究指导原则》[7]中报道，目前尚未发现 CYP2D6 亚型酶（大鼠 CYP2D4）被诱导的情况。由于孕烷 X 受体（PXR）活化可导致 CYP3A、CYP2C 共诱导，故如果体外 CYP3A 的评价结果为阴性，则不再需要对两者进行额外的体外或体内评价[8]。CYP1A2 诱导由芳香烃受体（AhR）介导，而不与 CYP3A 共诱导，因此无论 CYP3A 体外评价结果如何，都应该进行对 CYP1A2 诱导能力的评价[8]。另外，CYP2E1 的诱导剂难以获得，虽然文献［9-10］报道乙醇与异烟肼可诱导其活性，但前者对原代肝细胞的影响较大，而后者较难购买。在前期预实验中发现，CYP2E1 亚型酶对应的底物氯唑沙宗代谢物较少，测定时易受干扰，故本实验只考察了艾迪注射液对 CYP1A2、CYP3A2 亚型酶活性的影响。

3.2 底物孵育形式及诱导作用判定标准 本实验采用非那西丁、咪达唑仑 2 种探针药物，用于评价艾迪注射液对 CYP1A2、CYP3A2 亚型酶活性的影响。亚型酶活性的测定可在孵育液中加入混合探针底物进行温孵（又称为“原位”孵育），随后测定底物或代谢物的浓度变化；也可在诱导期结束后收集细胞，制备微粒体后与底物孵育，这 2 种方法测定结果无显著差异[8]，但前者操作简单，影响因素较后者小，故本实验采用“原位”孵育法。FDA 指南草案推荐用相对阳性对照活性 >40% 作为指标，以判定受试物是否为 CYP 酶活性诱导剂；其诱导能力还可用达到 50% 最大诱导水平的药物浓度 EC_{50}，以及体外最大诱导效应 E_{max} 来表示[7]。由于本实验设置了阳性诱导组，故采用相对阳性对照活性作为判定标准。

4 结论

本实验采用大鼠原代肝细胞模型，通过 UPLC-MS/MS 法评价艾迪注射液对大鼠原代肝细胞中 CYP1A2、CYP3A2 亚型酶活性的影响，该方法灵敏准确，专属性良好。结果表明，在艾迪注射液安全浓度范围内，该制剂对以上 2 种亚型酶活性无明显诱导作用，与前期体外抑制作用研究结果吻合[2]。由此初步确定，临床上艾迪注射液与经人体内 CYP1A2、CYP2E1、CYP2D6、CYP2C19、CYP2C9、CYP3A4 亚型酶代谢的药物联用时，不会发生因酶诱导作用而产生的疗效降低，但需监测是否会出现因酶抑制作用而引起的不良反应。

由于体外诱导作用是在安全浓度范围内通过直接作用于单个细胞来影响酶活性，故体外抑制作用是先给予成人每日最大剂量来直接作用于亚型酶，再与特异底物共同竞争活性中心，从而进一步产生抑制作用，孵育时间短（1 h）。但两者酶活性（原代肝细胞）与酶数量（肝微粒体）有限，因此需再参考临床剂量与临床治疗周期，通过大鼠体内实验验证长期给予艾迪注射液对肝 CYP450 酶活性的影响。

参考文献：

[1] 徐 洁，居文政，谈恒山. 艾迪注射液药理作用及临床应用研究概况[J]. 药学与临床研究，2012，20(1)：48-52.

[2] 潘 洁，陆 苑，孙 佳，等. 艾迪注射液对体外人和大鼠肝微粒体中 CYP450 酶的抑制作用[J]. 中成药，2016，38(11)：2332-2337.

[3] Seglen P O. Preparation of isolated rat liver cells[J]. *Methods Cell Biol*，1976，13：29-83.

[4] 陈 宁，覃 霞，朱 樑. 大鼠原代肝细胞分离与培养[J]. 胃肠病学和肝病学杂志，2011，20(6)：568-570.

[5] 倪 慧，王玲玲，韩 涛，等. 大鼠原代肝细胞培养方法的建立[J]. 现代农业科技，2013(12)：226-227.

[6] 曾 苏. 药物代谢学[M]. 杭州：浙江大学出版社，2007.
[7] U. S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Clinical drug interaction studies-study design, data analysis, and clinical implications guidance for industry [S/OL]. [2017-10-24]. https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm292362.%20pdf.
[8] Hewitt N J, Lecluyse E L, Ferguson S S. Induction of hepatic cytochrome P450 enzymes: methods, mechanisms, recommendations, and *in vitro-in vivo* correlations [J]. *Xenobiotica*, 2007, 37(10-11): 1196-1224.
[9] Laetitia K, Véronique D, Nathalie V, *et al*. Mitochondrial CYP2E1 is sufficient to mediate oxidative stress and cytotoxicity induced by ethanol and acetaminophen[J]. *Toxicology in Vitro*, 2011, 25(2): 475-484.
[10] Hassan H M, Guo H, Yousef B A, *et al*. Role of inflammatory and oxidative stress, cytochrome P450 2E1, and bile acid disturbance in rat liver injury induced by isoniazid and lipopolysaccharide cotreatment[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60(9): 5285-5293.

人参皂苷 CK 对 MCF-7 细胞增殖、凋亡、上皮间质转化、PI3K/Akt 信号通路的影响

姜 爽[1]， 任艳平[2]， 魏 琳[1]， 孙晓琦[1]， 武天琦[1]， 郭 焱[1]， 刘 智[1]， 宋 伍[1*]
(1. 长春中医药大学，吉林 长春 130117；2. 修正药业集团长春高新制药有限公司，吉林 长春 130021)

摘要：目的 探讨人参皂苷 CK 对人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖、凋亡、上皮间质转化、PI3K/Akt 信号通路的影响。**方法** MCF-7细胞经不同浓度的人参皂苷 CK 处理后，MTT 法检测细胞增殖，流式细胞术检测细胞凋亡，real-time qPCR 法检测 E-钙黏蛋白、N-钙黏蛋白、波形蛋白 mRNA 表达，Western blot 法检测 p-PI3K、p-Akt 蛋白表达。**结果** 与对照组比较，10 μmol/L 人参皂苷 CK 处理 72 h，20、40、80 μmol/L 人参皂苷 CK 处理 24、48、72 h 后，对细胞增殖的抑制率显著增加（$P<0.05$）；20、40、80 μmol/L 人参皂苷 CK 处理 48 h 后，细胞凋亡率和 E-钙黏蛋白 mRNA 表达显著增加（$P<0.05$）；20、40、80 μmol/L 人参皂苷 CK 处理 48 h 后，N-钙黏蛋白、波形蛋白 mRNA 表达，以及 p-PI3K、p-Akt 蛋白表达显著降低（$P<0.05$）。**结论** 人参皂苷 CK 可抑制 MCF-7 细胞增殖、上皮间质转化，并诱导细胞凋亡，这可能与抑制 PI3K/Akt 信号通路相关。

关键词：人参皂苷 CK；MCF-7 细胞；增殖；凋亡；上皮间质转化；PI3K/Akt 信号通路
中图分类号：R966 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-1528(2018)09-1925-05
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.09.006

Effects of ginsenoside CK on the proliferation, apoptosis, epithelial-mesenchymal transition and PI3K/Akt signaling pathway of MCF-7 cells

JIANG Shuang[1], REN Yan-ping[2], WEI Lin[1], SUN Xiao-qi[1], WU Tian-qi[1], GUO Yan[1], LIU Zhi[1], SONG Wu[1*]
(*1. Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China; 2. Xiuzheng Pharmaceutical Group Changchun High-tech Pharmaceutical Co., Ltd., Changchun 130021, China*)

ABSTRACT: AIM To explore the effects of ginsenoside CK on the proliferation, apoptosis, epithelial-mesenchymal transition and PI3K/Akt signaling pathway of human breast cancer MCF-7 cells. **METHODS** The breast cancer MCF-7 cells treated with different concentrations of ginsenoside CK had their cell proliferation, cell apopto-

收稿日期：2017-12-28
基金项目：吉林省教育厅“十三五”科学技术研究项目（吉教科合字［2016］第 27 号）
作者简介：姜 爽（1982—），博士，副教授，从事中医药防治肿瘤研究。Tel：17804315103，E-mail：jiangshuang_2000@163.com
*通信作者：宋 伍（1984—），男，博士，副教授，从事中医药防治肿瘤研究。Tel：18626619519，E-mail：five841110@126.com