



## 血管紧张素 II 对肝癌细胞增殖的影响及其机制研究

全裔, 杨峻, 农林琳, 王秀娟, 王丽兰, 胡玉芳

引用本文:

全裔, 杨峻, 农林琳, 等. 血管紧张素 II 对肝癌细胞增殖的影响及其机制研究[J]. 蚌埠医学院学报, 2022, 47(1): 18-21.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2022.01.004>

### 您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

#### PD-L1对肝细胞癌细胞增殖、侵袭及迁移的影响

Effect of PD-L1 on the proliferation, invasion and migration of hepatocellular carcinoma cells

蚌埠医学院学报. 2020, 45(5): 565-568 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.05.002>

#### 黄连碱促进肝细胞自噬及胆固醇外流改善脂肪肝的脂质蓄积

Coptisine promotes hepatocyte autophagy and cholesterol efflux to improve lipid accumulation in fatty liver

蚌埠医学院学报. 2021, 46(4): 421-424,430 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2021.04.001>

#### 华蟾素对非小细胞肺癌细胞株A549细胞增殖及PTEN/AKT/mTOR信号通路表达的影响

Effect of cinobufacin on the proliferation and expression of PTEN/AKT/mTOR signaling pathway in non-small cell lung cancer cell line A549

蚌埠医学院学报. 2020, 45(9): 1159-1162 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.09.004>

#### 重组人内抑素对兔耳增生性瘢痕成纤维细胞内钙离子浓度的影响

Effect of recombinant human endostatin on the intracellular  $Ca^{2+}$  concentration in hypertrophic scar fibroblasts in a rabbit ear model

蚌埠医学院学报. 2020, 45(2): 174-177,180 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.02.010>

#### 右美托咪定对老年肝癌病人术后炎症及认知功能的影响

Effect of dexmedetomidine on the postoperative cognitive function and inflammatory cytokines in elderly patients with cirrhosis

蚌埠医学院学报. 2021, 46(10): 1396-1399 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2021.10.018>

# 血管紧张素 II 对肝癌细胞增殖的影响及其机制研究

全 裔<sup>1</sup>, 杨 峻<sup>1</sup>, 农林琳<sup>2</sup>, 王秀娟<sup>3</sup>, 王丽兰<sup>3</sup>, 胡玉芳<sup>4</sup>

**[摘要]** **目的:** 研究血管紧张素 II 对肝癌 HepG2 细胞增殖的影响及其机制。 **方法:** 采用 CCK-8 法测定不同浓度血管紧张素 II 作用 24、48 h 对 HepG2 细胞增殖的影响。通过蛋白质免疫印迹法测定血管紧张素 II 处理后 HepG2 细胞内细胞外信号调节激酶(ERK)1/2 和血管紧张素 II-1 型受体(AT1R)蛋白表达水平。 **结果:** 作用 24 h,  $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$  mol/L 血管紧张素 II 处理的 HepG2 细胞吸光度值均高于对照组( $P < 0.05$ );  $10^{-5}$  mol/L 血管紧张素 II 处理的 HepG2 细胞吸光度值高于  $10^{-8}$  mol/L 血管紧张素 II 组( $P < 0.05$ )。作用 48 h,  $10^{-8}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$  mol/L 血管紧张素 II 处理的 HepG2 细胞吸光度值均高于对照组( $P < 0.05$ )。  $10^{-7}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$  mol/L 血管紧张素 II 处理的 HepG2 细胞中 AT1R 蛋白表达水平均高于对照组( $P < 0.05$ )。  $10^{-8}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$  mol/L 血管紧张素 II 各亚组比较, HepG2 细胞 AT1R 蛋白表达随着药物浓度的升高而升高( $P < 0.01$ )。  $10^{-6}$  mol/L 血管紧张素 II 处理 HepG2 细胞 5、10、20、30 min 后 ERK1/2 蛋白表达量并无明显改变( $P > 0.05$ ), 而在处理 5、10 min 后磷酸化 ERK1/2 蛋白表达量高于 0、20、30 min( $P < 0.05$ )。 **结论:** 血管紧张素 II 可能通过上调 AT1R 的蛋白表达, 促进 ERK1/2 磷酸化, 以促进肝癌 HepG2 细胞异常增殖。

**[关键词]** 肝肿瘤; 血管紧张素 II; 细胞增殖; 细胞外信号调节激酶; 血管紧张素 1 型受体

[中图法分类号] R 734.2

[文献标志码] A

DOI: 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2022.01.004

## Effect of angiotensin II on the proliferation of hepatoma cells and its mechanism

QUAN Yi<sup>1</sup>, YANG Jun<sup>1</sup>, NONG Lin-lin<sup>2</sup>, WANG Xiu-juan<sup>3</sup>, WANG Li-lian<sup>3</sup>, HU Yu-fang<sup>4</sup>

(1. Department of Laboratory, 4. Department of Radiology, Affiliated Hospital of Guilin Medical College,

Guilin Guangxi 541001; 2. Academic Institute, 3. Medical Laboratory Institute, Guilin Medical College, Guilin Guangxi 541001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effect of angiotensin II on the proliferation of hepatoma HepG2 cells and its mechanism.

**Methods:** CCK-8 method was used to determine the effects of different concentrations of angiotensin II on the proliferation of HepG2 cells treated for 24 and 48 hours. The expression levels of extracellular signal regulated kinase (ERK) 1/2 and angiotensin II type 1 receptor (AT1R) in HepG2 cells treated with angiotensin II were measured by Western blotting. **Results:** The absorbance values of HepG2 cells treated with  $10^{-6}$  and  $10^{-5}$  mol/L angiotensin II for 24 hours were higher than those in control group ( $P < 0.05$ ), which in  $10^{-5}$  mol/L angiotensin II group was higher than that in  $10^{-8}$  mol/L angiotensin II group ( $P < 0.05$ ). The absorbance values of HepG2 cells treated with  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  and  $10^{-4}$  mol/L angiotensin II for 48 hours were higher than those in control group ( $P < 0.05$ ). The expression levels of AT1R protein in HepG2 cells treated with  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  and  $10^{-4}$  mol/L angiotensin II were higher than those in the control group ( $P < 0.05$ ). Among the  $10^{-8}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  and  $10^{-4}$  mol/L angiotensin II groups, the expression of AT1R protein in HepG2 cells increased with the increase of drug concentration ( $P < 0.01$ ). The expression of ERK1/2 protein in HepG2 cells treated with  $10^{-6}$  mol/L angiotensin II for 5, 10, 20 and 30 minutes did not change significantly ( $P > 0.05$ ), but the expression of phosphorylated ERK1/2 protein treated for 5 and 10 minutes was higher than that for 0, 20 and 30 minutes ( $P < 0.05$ ).

**Conclusions:** Angiotensin II may be through upregulating AT1R protein expression and promoting ERK1/2 phosphorylation to promote the abnormal proliferation of hepatoma HepG2 cells.

**[Key words]** liver neoplasms; angiotensin II; cell proliferation; extracellular signal regulated kinase; angiotensin II type 1 receptor

在肝癌病理过程中,多种趋化因子、生长因子和

细胞因子发挥着调控肿瘤细胞增殖和迁移的作用<sup>[1-2]</sup>。血管紧张素 II 是肾素-血管紧张素系统的主要效应分子,具有诱导肝癌细胞增殖、侵袭及转移等多种生物学行为的作用,但其具体机制目前并未阐明<sup>[3]</sup>,而肾素-血管紧张素系统是机体内的一种重要神经-体液调节系统<sup>[4]</sup>。细胞内各种信号分子生物学作用的发挥与细胞外信号调节激酶(extracellular signal regulated kinase, ERK) 1/2 磷酸化密切相关,并且各种刺激活化的 ERK1/2 具有调

[收稿日期] 2020-03-11 [修回日期] 2020-06-11

[基金项目] 广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(2019KY0536)

[作者单位] 桂林医学院附属医院 1. 检验科, 4. 放射科, 广西 桂林 541001; 桂林医学院 2. 基础医学院, 3. 医学检验学院, 广西 桂林 541001

[作者简介] 全 裔(1981-), 男, 硕士, 副主任技师。

[通信作者] 胡玉芳, 硕士, 副主任技师。E-mail: dongchi578852@163.com

控不同细胞生物学行为的作用<sup>[5]</sup>。本研究探讨血管紧张素 II 对肝癌细胞增殖的影响及其相关机制。

## 1 材料与方 法

1.1 实验材料 人肝癌细胞株 HepG2 由中国科学院上海细胞库研究所提供;血管紧张素 II 和血管紧张素 I 型受体(angiotensin II type 1 receptor, AT1R)抗体购自英国 Abcam 公司;胎牛血清与 DMEM 培养基均购自美国 Gibco 公司;CCK-8 试剂盒购自广州研创生物技术发展有限公司;ERK1/2 抗体购自美国 Cell Signaling 公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 取肝癌 HepG2 细胞置于含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基进行培养,培养箱设置 37 ℃、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度环境。每日定期换液,待细胞融合度达 90% 后,采用 0.25% 胰酶消化并进行细胞传代。

1.2.2 细胞增殖实验 取生长状况良好且处于对数生长期细胞,细胞融合度约为 80%。用 0.25% 胰酶消化,制成细胞悬液,对细胞进行计数,调整细胞密度为 25 000/mL。将肝癌细胞以  $1 \times 10^8$ /L 密度置于 96 孔板中,更换培养基(含血管紧张素 II 浓度分别为  $10^{-8}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$  mol/L),设置对照组(不含药物的培养基),分别培养 24、48 h 后取出。加入 CCK-8 试剂,继续培养 90 min 后,采用酶标仪(美国 BIO-RAD 公司)在检测波长 450 nm 处测定各孔的吸光度值。

1.2.3 蛋白质免疫印迹法 经血管紧张素 II 处理 24 h 后,对细胞进行裂解,置于抗凝管中,12 000 r/min 离心 15 min,取上清液。测定蛋白浓度,加入缓冲液,行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳处理,转膜、封闭。加入一抗,4 ℃ 孵育过夜,次日洗膜,加入二抗,室温孵育 2 h,加入化学发光液,化学发光、显影、定影后凝胶图像分析,以目的条带与  $\beta$ -actin 光密度值作为目的条带的相对表达值。

1.3 统计学方法 采用 *t* 检验、方差分析和 *q* 检验。

## 2 结果

2.1 各组 HepG2 细胞增殖情况 作用 24 h,  $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$  mol/L 血管紧张素 II 处理的 HepG2 细胞吸光度值均高于对照组( $P < 0.05$ );  $10^{-5}$  mol/L 血管紧张素 II 处理的 HepG2 细胞吸光度值高于  $10^{-8}$  mol/L 血管紧张素 II 组( $P < 0.05$ )。作用 48 h,  $10^{-8}$ 、

$10^{-7}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$  mol/L 血管紧张素 II 处理的 HepG2 细胞吸光度值均高于对照组( $P < 0.05$ )(见表 1)。

表 1 各组 HepG2 细胞吸光度值比较( $\bar{x} \pm s$ )

分组	<i>n</i>	24 h	48 h	<i>t</i>	<i>P</i>
对照组	5	0.68 ± 0.06	0.71 ± 0.09	0.62	>0.05
血管紧张素 II/(mol/L)					
$10^{-8}$	5	0.74 ± 0.07	1.17 ± 0.14 *	6.14	<0.01
$10^{-7}$	5	0.78 ± 0.14	1.19 ± 0.18 *	4.02	<0.01
$10^{-6}$	5	0.94 ± 0.11 *	1.29 ± 0.07 *	6.00	<0.01
$10^{-5}$	5	0.99 ± 0.12 **	1.24 ± 0.16 *	2.80	<0.05
$10^{-4}$	5	0.83 ± 0.10	1.20 ± 0.15 *	4.59	<0.01
<i>F</i>	—	6.57	11.89	—	—
<i>P</i>	—	<0.01	<0.01	—	—
<i>MS</i> 组内	—	0.011	0.019	—	—

*q* 检验:与对照组比较 \* $P < 0.05$ ;与  $10^{-8}$  mol/L 比较# $P < 0.05$

2.2 各组 HepG2 细胞 AT1R 蛋白表达比较  $10^{-7}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$  mol/L 血管紧张素 II 处理的 HepG2 细胞中 AT1R 蛋白表达水平均高于对照组( $P < 0.05$ )。  $10^{-8}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$  mol/L 血管紧张素 II 各亚组比较,HepG2 细胞 AT1R 蛋白表达随着药物浓度的升高而升高( $P < 0.01$ )(见表 2)。

表 2 各组 HepG2 细胞 AT1R 蛋白表达比较( $\bar{x} \pm s$ )

分组	<i>n</i>	AT1R 蛋白表达
对照组	5	0.43 ± 0.07
血管紧张素 II/(mol/L)		
$10^{-8}$	5	0.55 ± 0.09
$10^{-7}$	5	0.62 ± 0.04 *
$10^{-6}$	5	0.68 ± 0.08 *
$10^{-5}$	5	0.75 ± 0.09 **
$10^{-4}$	5	0.93 ± 0.12 **▲■△
<i>F</i>	—	20.41
<i>P</i>	—	<0.01
<i>MS</i> 组内	—	0.007

*q* 检验:与对照组比较 \* $P < 0.05$ ;与  $10^{-8}$  mol/L 比较# $P < 0.05$ ;与  $10^{-7}$  mol/L 比较▲ $P < 0.05$ ;与  $10^{-6}$  mol/L 比较■ $P < 0.05$ ;与  $10^{-5}$  mol/L 比较△ $P < 0.05$

2.3 各组 HepG2 细胞 ERK1/2 蛋白及磷酸化 ERK1/2 蛋白表达的比较  $10^{-6}$  mol/L 血管紧张素 II 处理 HepG2 细胞 5、10、20、30 min 后 ERK1/2 蛋白表达量并无明显改变( $P > 0.05$ ),而在处理 5、10 min 后磷酸化 ERK1/2 蛋白表达量高于 0、20、30 min( $P < 0.05$ )(见表 3)。

表3 各组 HepG2 细胞 ERK1/2 蛋白及磷酸化 ERK1/2 蛋白表达的比较 ( $n=5; \bar{x} \pm s$ )

时间/min	ERK1/2 蛋白	磷酸化 ERK1/2 蛋白
0	1.00 ± 0.06	0.91 ± 0.09
5	1.01 ± 0.12	1.23 ± 0.16*
10	1.03 ± 0.09	1.20 ± 0.13*
20	1.05 ± 0.12	0.95 ± 0.11#▲
30	1.07 ± 0.14	0.89 ± 0.12#▲
<i>F</i>	0.34	8.85
<i>P</i>	>0.05	<0.01
<i>MS</i> <sub>组内</sub>	0.012	0.015

*q* 检验:与 0 min 比较 \* $P < 0.05$ ;与 5 min 比较# $P < 0.05$ ;与 10 min 比较 ▲ $P < 0.05$

### 3 讨论

既往研究<sup>[6-7]</sup>证实,血管紧张素 II 可通过诱导子宫内腺癌、乳腺癌、肺癌等多种癌细胞血管内皮生长因子的表达而诱导肿瘤新生血管的形成,最终可诱导肿瘤生长和转移。血管紧张素 II 具有调节血管平滑肌收缩、促使血压水平升高<sup>[8]</sup>。动物实验<sup>[9]</sup>研究表明,血管紧张素 II 与去甲肾上腺素共同作用可促使大鼠心肌细胞胰岛素受体  $\beta$  亚基酪氨酸磷酸化水平下降,使得胰岛素受体底物 1 酪氨酸磷酸化水平增高,同时血管紧张素 II 含量增加是引起胰岛素受体底物 1 酪氨酸磷酸化水平上升的可能原因。而在细胞增殖方面,研究认为可能与 AT1R 相关<sup>[10]</sup>。AT1R 广泛分布于人体各个组织,AT1R 属于 G 蛋白受体,本身不具备内在酪氨酸激酶活性,但因具有类似于表皮生长因子受体基序 YLPP、血小板源性生长因子受体基序 YIIP 的 YIPP,因此,能够与酪氨酸激酶结合,并激活 MAPK 通路通过级联效应调控细胞生长、增殖。本研究结果显示,10<sup>-7</sup>、10<sup>-6</sup>、10<sup>-5</sup>、10<sup>-4</sup> mol/L 血管紧张素 II 处理的 HepG2 细胞中 AT1R 蛋白表达水平均高于对照组,提示血管紧张素 II 可调控 AT1R 蛋白表达水平。

既往研究<sup>[11-12]</sup>证实,AT1R 与肿瘤细胞增殖和迁移等行为存在密切关系。本研究结果显示,10<sup>-6</sup>、10<sup>-5</sup> mol/L 血管紧张素 II 处理 HepG2 细胞 24 h,其吸光度值均高于对照组。与 AT1R 蛋白表达在 10<sup>-8</sup> ~ 10<sup>-4</sup> mol/L 均呈上升趋势相比,HepG2 细胞吸光度至 10<sup>-5</sup> mol/L 便不再升高,提示血管紧张素 II 调控 HepG2 细胞增殖有上限。ERK 是一种重要的信号激酶,其主要通过 Ras/Raf/ERK 1/2 途径进行酶促级联反应<sup>[13]</sup>,进而调控细胞的生长、发育和

分化。既往研究<sup>[14]</sup>证实,MEK、Raf、ERK1 等信号通路与肝癌的发生、发展密切相关。另有研究<sup>[15]</sup>表明,ERK1/2 信号通路可通过血管紧张素 II 诱导乳腺癌细胞的增殖。本实验中,以 10<sup>-6</sup> mol/L 血管紧张素 II 干预 HepG2 细胞,HepG2 细胞经药物处理 5、10、20、30 min 后,磷酸化 ERK1/2 蛋白表达量明显上调,且在 5、10 min 时表达水平上调最为明显。提示,血管紧张素 II 可通过 ERK1/2 信号通路进而参与肝癌细胞的增殖。本研究结果也显示,尽管磷酸化 ERK1/2 蛋白表达量差异有统计学意义,但 ERK1/2 蛋白并无明显差异,提示血管紧张素 II 可能通过促进 ERK1/2 磷酸化而参与肝癌细胞生长、分化。

综上,血管紧张素 II 可能通过上调 AT1R 的蛋白表达,促进 ERK1/2 磷酸化,以促进肝癌 HepG2 细胞异常增殖。

### [ 参 考 文 献 ]

- [1] HWANG DG, PARK H. Proliferation rates of cancer and normal liver cells under alternative magnetic stimulation [J]. J Korean Magnetism Soci, 2020, 30(5):162.
- [2] 赵惠柳,舒宏,欧超,等.原发性肝癌病人血清高尔基蛋白 73、铁蛋白,甲胎蛋白联合检测的早期诊断价值分析[J].蚌埠医学院学报,2020,45(2):112.
- [3] LIU L, YANG X, LI NF, et al. Circ\_0015756 promotes proliferation, invasion and migration by microRNA-7-dependent inhibition of FAK in hepatocellular carcinoma [J]. Cell Cycle, 2019, 18(21):2939.
- [4] PIDIKOVA P, SVITOK P, HERICHOVA L, et al. Sex and salt intake dependent renin-angiotensin plasticity in the liver of the rat. [J]. Endocr Regul, 2019, 53(3):178.
- [5] 康生朝,杨婉,郑英,等.苦参碱抑制 HepG2 肝癌细胞的靶点——ERK 信号通路[J].肝脏,2019,24(2):187.
- [6] QIAN YF, XU WG, WU J. Angiotensin receptor blockers and breast cancer risk: a meta-analysis [J]. Panminerva Med, 2017, 59(3):269.
- [7] LUAN Z, LIU B, SHI L. Angiotensin II-induced micro RNA-21 culprit for non-small-cell lung adenocarcinoma [J]. Drug Dev Res, 2019, 80(8):1031.
- [8] MAO Y, PEI N, CHEN X, et al. Angiotensin 1-7 overexpression mediated by a capsid-optimized AAV8 vector leads to significant growth inhibition of hepatocellular carcinoma in vivo [J]. Int J Biol Sci, 2018, 14(1):57.
- [9] 刘扬,李竹琴,张志刚.去甲肾上腺素及血管紧张素 II 对大鼠心肌细胞胰岛素受体及胰岛素受体底物 1 酪氨酸磷酸化的综合效应[J].蚌埠医学院学报,2018,43(2):146.
- [10] HO CM, LEE CH, LEE MC, et al. Comparative effectiveness of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor blockers in chemoprevention of hepatocellular carcinoma: a nationwide high-risk cohort study [J]. BMC Cancer, 2018, 18(1):401.



# 丹酚酸 A 对心肌成纤维细胞在高浓度葡萄糖刺激下 Wnt 信号通路的影响

韩路拓<sup>1,2</sup>, 关 瑜<sup>1</sup>, 任钧国<sup>2</sup>, 刘建勋<sup>2</sup>, 郭宏伟<sup>1</sup>, 杨佳妹<sup>2</sup>, 王 攀<sup>2</sup>

**[摘要]** 目的:探讨丹酚酸 A 对高浓度葡萄糖诱导的心肌成纤维细胞(CFs) Wnt 信号通路的影响及作用机制。方法:采用高浓度葡萄糖刺激 CFs 构建细胞增殖模型,以 22 mg/L 卡托普利为西药对照,不同浓度丹酚酸 A 处理 CFs。MTT 比色法检测细胞的增殖能力,流式细胞术分析细胞增殖周期,ELISA 法测定细胞中 I 型、III 型胶原的生成和转化生长因子- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)蛋白的分泌,蛋白质印迹法检测  $\beta$ -catenin、GSK-3 $\beta$ 、p-GSK-3 $\beta$  蛋白的表达水平。结果:干预 24、48 h,与模型对照组相比,25、50、100 mg/L 丹酚酸 A 均可明显抑制细胞增殖( $P < 0.01$ )。与模型对照组相比,25、50、100 mg/L 丹酚酸 A 均能抑制 CFs I 型胶原和 III 型胶原的分泌( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ );50、100 mg/L 丹酚酸 A 均能明显抑制 TGF- $\beta$ 1 的合成及  $\beta$ -catenin 的表达( $P < 0.01$ );100 mg/L 丹酚酸 A 可以上调 p-GSK-3 $\beta$  的表达( $P < 0.05$ )。结论:丹酚酸 A 可抑制高浓度葡萄糖诱导的 CFs 增殖、胶原蛋白分泌和 TGF- $\beta$ 1 的合成,其机制可能与抑制 Wnt 信号通路有关。

**[关键词]** 丹酚酸 A;心肌成纤维细胞;高浓度葡萄糖;Wnt 信号通路

**[中图分类号]** R 285 **[文献标志码]** A **DOI:** 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2022.01.005

## Effects of salvianolic acid A on Wnt signaling pathway in cardiac fibroblasts stimulated by high concentration glucose

HAN Lu-tuo<sup>1,2</sup>, GUAN Yu<sup>1</sup>, REN Jun-guo<sup>2</sup>, LIU Jian-xun<sup>2</sup>, GUO Hong-wei<sup>1</sup>, YANG Jia-mei<sup>2</sup>, WANG Pan<sup>2</sup>

(1. Museum of Chinese Medicine, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin Heilongjiang 150040;

2. Institute of Basic Medical Sciences of Xi Yuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing Key Laboratory of Pharmacology of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100091, China)

**[Abstract] Objective:** To investigate the effect and mechanism of salvianolic acid A on Wnt signaling pathway in cardiac fibroblasts (CFs) induced by high concentration glucose. **Methods:** Cell proliferation model was established by stimulating CFs with high concentration glucose, 22 mg/L captopril was used as western medicine control, and CFs were treated with different concentrations of salvianolic acid A. MTT assay was used to detect the proliferation ability of cells, flow cytometry was applied to analyze the cell proliferation cycle, and ELISA was employed to determine the production of type I collagen, type III collagen and protein secretion of transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), and Western blotting was performed to detect the protein expression level of  $\beta$ -catenin, GSK-3 $\beta$  and p-GSK-3 $\beta$ . **Results:** After treatment for 24 and 48 hours, compared with the model control group, 25, 50 and 100 mg/L salvianolic acid A could significantly inhibit cell proliferation ( $P < 0.01$ ). Compared with the model control group, 25, 50 and 100 mg/L salvianolic acid A inhibited the secretion of type I collagen and type III collagen in CFs ( $P < 0.05$  to  $P < 0.01$ ); 50 and 100 mg/L salvianolic acid A significantly inhibited the TGF- $\beta$ 1 production and  $\beta$ -catenin expression ( $P < 0.01$ ); 100 mg/L salvianolic acid A

**[收稿日期]** 2020-12-01 **[修回日期]** 2021-03-28

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(H2809);黑龙江省经济社会发展重点研究课题(20415)

**[作者单位]** 1. 黑龙江中医药大学 中医药博物馆, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 中国中医科学院西苑医院 基础医学研究所, 中药药理北京市重点实验室, 北京 100091

**[作者简介]** 韩路拓(1986-),女,锡伯族,博士,实验师。

**[通信作者]** 任钧国, 博士研究生导师, 研究员。E-mail: reek2003@163.com

[11] DAHER S, MASSARWA M, BENSON AA, *et al.* Current and future treatment of hepatocellular carcinoma: all updated comprehensive review[J]. J Clin Transl Hepatol, 2018, 6(1): 69.

[12] 蒋智, 张建淮, 屠道远, 等. 肝癌肿瘤标志物的研究进展[J]. 中国临床研究, 2018, 31(2): 270.

[13] TIAN JL, YAO GD, ZHANG YY, *et al.* Pyran-2-one derivatives from Croton crassifolius as potent apoptosis inducers in HepG2 cells via p53-mediated Ras/Raf/ERK pathway[J]. Bioorg Chem, 2018, 79(1): 355.

[14] XIE YX, LIAO R, PAN L, *et al.* ERK pathway activation contributes to the tumor-promoting effects of hepatic stellate cells in hepatocellular carcinoma[J]. Immunol Lett, 2017, 188(1): 116.

[15] ZHANG Q, LU S, LI T, *et al.* ACE2 inhibits breast cancer angiogenesis via suppressing the VEGFa/VEGFR2/ERK pathway [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 173.

(本文编辑 赵素容)