

基于 Wnt/ β -catenin 信号对胡椒碱抗肿瘤作用机制的研究

郭丽, 韩晨阳(嘉兴市第二医院, 浙江 嘉兴 314001)

摘要: 目的 研究小剂量胡椒碱通过下调 Wnt/ β -catenin 信号分子的表达调控胃癌细胞 HGC-27 增殖及侵袭的机制。方法 体外培养人胃癌 HGC-27 细胞, 设置梯度浓度的胡椒碱, CCK-8 法检测 24 h 细胞的活力, 流式细胞术检测细胞凋亡率。将细胞分为正常组(HGC-27)细胞、对照组(Wnt/ β -catenin 抑制剂组)、实验组(小剂量胡椒碱)。CCK-8 法检测 12, 24, 48 h 细胞的活力, BrdU 标记流式细胞术检测细胞增殖率、划痕实验检测细胞迁移能力, Transwell 小室检测细胞侵袭能力, Western-blot 法检测 Wnt/ β -catenin 信号分子的表达以及 MMP2、MMP9 和 N-cadherin 的表达水平, RT-qPCR 检测 β -catenin、MMP2、MMP9、N-cadherin 的 mRNA 表达水平。结果 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的胡椒碱可以抑制细胞的增殖但无明显细胞毒性, 可以显著降低 HGC-27 细胞的增殖能力, 且具有时间依赖性, 相比正常组差异具有统计学意义($P<0.05$)。划痕试验和 Transwell 小室试验结果显示, $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的胡椒碱可以降低 HGC-27 细胞的迁移能力和侵袭能力, 相比正常组差异具有统计学意义($P<0.05$)。胡椒碱可以显著下调 Wnt/ β -catenin 信号分子的表达, 以及关键蛋白 MMP2、MMP9、N-cadherin 的表达水平, 相比正常组差异具有统计学意义($P<0.05$)。RT-qPCR 结果显示, β -catenin、MMP2、MMP9、N-cadherin 的 mRNA 表达水平相比正常组显著下调($P<0.05$)。结论 小剂量的胡椒碱可以通过下调 Wnt/ β -catenin 信号分子的表达调控胃癌细胞 HGC-27 的增殖及侵袭, 可能是胡椒碱抗肿瘤的作用机制之一。

关键词: 胡椒碱; Wnt/ β -catenin 信号; 胃癌; 增殖; 侵袭

中图分类号: R965.2 文献标志码: 文章编号: 1007-7693(2019)13-1627-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.13.006

引用本文: 郭丽, 韩晨阳. 基于 Wnt/ β -catenin 信号对胡椒碱抗肿瘤作用机制的研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(13): 1627-1632.

Study on Anti Tumor Mechanism of Piperine Based on Wnt/ β -catenin Signal

GUO Li, HAN Chenyang(*The Second Hospital of Jiaxing, Jiaxing 314001, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the mechanism of piperine at low dose regulating the proliferation and invasion abilities of gastric cancer HGC-27 cells by down-regulating the expression of Wnt/ β -catenin signaling molecules. **METHODS** HGC-27 cells were cultured *in vitro* and exposed to gradient concentration of piperine. The cell viability after 24 h was measured by CCK-8 assay, and apoptotic rate was analyzed by flow cytometry. The cells were divided into normal group(HGC-27 cell), control group(Wnt/ β -catenin inhibitor group) and experimental group(low dose piperine). CCK-8 assay was used to detect cell viability after 12, 24, 48 h. BrdU labeled flow cytometry was used to detect cell proliferation rate, the cell migration ability was detected by scratch test, the cell invasion ability was detected by Transwell assay. The protein expression of Wnt/ β -catenin and the matrix metalloproteinases MMP2, MMP9 and cadherin N-cadherin were determined by Western blot. The mRNA expression of β -catenin, MMP2, MMP9 and N-cadherin was detected by RT-qPCR. **RESULTS** Compared with normal group, piperine at $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ inhibited cell proliferation without obvious cytotoxicity, time-dependently reduced the proliferation of HGC-27 cells with statistical significant($P<0.05$). The results of scratch test and Transwell experiment showed that piperine at $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ reduced the migration and invasion abilities of the HGC-27 cells as compared with normal group($P<0.05$). Piperine significantly reduced the expression of Wnt/ β -catenin signaling molecules, as well as the protein levels of MMP2, MMP9 and N-cadherin as compared with normal group($P<0.05$). RT-qPCR results showed that the mRNA expression levels of β -catenin, MMP2, MMP9 and N-cadherin were significantly lower than those in normal group($P<0.05$). **CONCLUSION** Piperine at low dose can regulate the proliferation and invasion of gastric cancer HGC-27 cells by down-regulating the expression of Wnt/ β -catenin signaling molecules, which may be one of the anti-tumor mechanisms of piperine.

KEYWORDS: piperine; Wnt/ β -catenin signal; gastric cancer; proliferation; invasion

胃癌是我国目前常见的消化道肿瘤之一, 且发病率较高, 可以发生在胃的任何部位, 未经治疗的胃癌患者平均寿命较短, 目前对于胃癌的根

治方法主要是全胃切除+辅助化疗^[1-2]。而在胃癌的治疗中常常会辅以中药方剂等治疗, 从现有的报道中发现, 一些方剂对于胃癌的恢复也有着较好

基金项目: 浙江省科技计划项目(2017C37174)

作者简介: 郭丽, 女, 主管技师 Tel: (0573)82058433 E-mail: taishanlg@126.com

的效果^[3-4]。胡椒碱是黑胡椒科植物中提取的一种单体化合物,是属于桂皮酰胺类的一种生物碱,在自然界中广泛存在,其药理活性较广,现阶段的研究发现,胡椒碱有着较好的抗氧化、调节免疫、抗抑郁等作用^[5-7],而在胃癌的研究中发现,胡椒碱对于胃癌细胞有着良好的抗肿瘤活性,其作用机制和线粒体凋亡等有关^[8-9]。在肿瘤研究中还发现,Wnt/ β -catenin 信号的激活与多种肿瘤细胞的增殖和侵袭有关,而胡椒碱和 Wnt/ β -catenin 信号调节关系尚未见报道。因此,本研究以 Wnt/ β -catenin 信号为切入点研究胡椒碱抗肿瘤作用。

1 材料和方法

1.1 细胞和试剂

人胃癌 HGC-27 细胞株(武汉普诺赛生物技术有限公司,货号:CL0207);胡椒碱对照品(成都瑞芬思生物科技有限公司,批号:S18023577;纯度>99%);Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒(美国 BD 公司,货号:556550);cDNA 试剂盒(凯基生物技术有限公司,批号:KGA1311);实时定量 PCR 试剂盒/SYBR Green Realtime PCR Master Mix(Sinobio,批号:E090);TRIzol 法总 RNA 提取试剂盒(BioTeKe 公司,批号:RP2041);CCK-8 试剂盒(碧云天生物技术有限公司,货号:C0037);抗 β -连环蛋白(β -catenin)、基质金属蛋白酶 2(matrix metalloproteinase 2, MMP2)、MMP9、N-钙黏附蛋白(N-cadherin)的 I 抗和 HRP 标记的 II 抗(Abcam 公司,货号:32572, 37150, 76003, 76057)。RT-qPCR 试验 mRNA 的引物由大连宝生物技术有限公司合成。

1.2 仪器

ME204E 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);DP11 型显微镜(日本奥林巴斯公司);BS97MyCycler 型 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司);1658001 型 Western-blot 电泳仪、ChemiDoc MP 凝胶成像分析系统(美国 Bio-Rad 公司);FACS Canto II 流式细胞仪(美国 BD 公司);FACS Canto II 型全自动酶标仪(Thermo Fisher 公司)。

1.3 方法

1.3.1 细胞毒性剂量的确定 体外培养 HGC-27 细胞,待细胞长至 80%左右后传代,设置 1, 2, 5, 10, 20, 40, 80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的胡椒碱进行干预,24 h 后采用 CCK-8 法检测细胞活力,流式细胞术检测细胞凋亡率(采用 Annexin FITC-PI 双染进行检

测),确定干预 24 h 后最小毒性浓度。

1.3.2 细胞试验分组 体外培养 HGC-27 细胞,待细胞长至 80%左右后传代,将细胞分为正常组(HGC-27 细胞)、对照组(Wnt/ β -catenin 抑制剂组)、实验组(小剂量胡椒碱)。其中正常组为常规培养的 HGC-27 细胞,对照组为使用 Wnt/ β -catenin 抑制剂 salinomycin 163 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 干预,而实验组使用 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的胡椒碱干预。

1.3.3 CCK-8 法检测细胞活力 在 HGC-27 细胞进行分组后,药物干预并设置时间点为 12, 24, 48 h,干预完成后加入 CCK-8 试剂 10 μL ,继续孵育 4 h 后在 480 nm 处检测吸光度。

1.3.4 BrdU 标记流式细胞术检测细胞增殖率 在 HGC-27 细胞进行分组后,药物干预并设置时间点为 12, 24, 48 h 并加入 BrdU 标记,药物干预后收集标记细胞,PBS 洗 2 次后采用 BrdU 抗体标记后流式细胞术检测细胞增殖率。

1.3.5 划痕试验检测细胞迁移能力 在 HGC-27 细胞进行分组后,接种至 6 孔板中,待细胞贴壁之后用无菌针头划一笔直的直线,无菌棉签拭去多余的细胞后进行药物干预,并设置时间点为 24 h,镜下观察细胞迁移的结果,计算迁移细胞迁移率。

1.3.6 Transwell 小室试验检测细胞侵袭能力 在 HGC-27 细胞进行分组后,接种至 Transwell 小室,设置时间为 24 h,采用结晶紫染色后镜下观察。

1.3.7 Western-blot 法检测 β -catenin、MMP2、MMP9、N-cadherin 的蛋白表达水平 在 HGC-27 细胞进行分组后,药物干预并设置时间点为 24 h,收集细胞后采用 PBS 洗 2 次后,采用 NP-40 裂解液在冰上裂解 30 min 后,3 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心后取上清液,经过 BCA 试剂盒蛋白定量后调整蛋白浓度后经过 SDS-PAGE 凝胶电泳、转膜、孵育、显色后在 Quantity One 软件下进行灰度统计。

1.3.8 RT-qPCR 检测 β -catenin、MMP2、MMP9、N-cadherin 的 mRNA 表达水平 在 HGC-27 细胞进行分组后,药物干预并设置时间点为 24 h,收集细胞后采用 PBS 洗 2 次后,按照 TRIzol 试剂盒操作,提取组织中总 RNA,UV 检测总浓度,定量后按照 AMV First cDNA Synthesis Kit 试剂盒方法进行反转录,得到的 cRNA 在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,最后利用 qPCR 检测 β -catenin、MMP2、MMP9、N-cadherin 的 mRNA 表达。每个样本设置 3 个复

孔, 计算平均 C_t 值, 设置阴性对照。采用 $2^{-(\Delta\Delta C_t)}$ 计算拷贝数, 并且以 GAPDH 为内参。引物设计见表 1。

表 1 RT-qPCR 引物序列

Tab. 1 Sequences of the primers for RT-qPCR

基因	引物	引物序列(5'-3')
GAPDH	Forward	GGTTGTCTCCTGCGACTTCA
	Reverse	TGGTCCAGGTTTCTTACTCC
β -catenin	Forward	CACTCTCGAGATGGCTACTCAAGCTG
	Reverse	CTGCGGATCCTTACAGGTCAGTATCAAAC
MMP2	Forward	AGACATACATCTTTGCTGGAGACA
	Reverse	CTTGAAGAAGTAGCTGTGACCG
MMP9	Forward	ATCCCCAACCTTTACCA
	Reverse	TCAGAACCGACCCTACAA
N-cadherin	Forward	ATGAAAGACCCATCCACG
	Reverse	CCTGCTCACCACCACTAC

1.4 统计学方法

采用 SPSS 17.0 软件进行统计学处理。实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA), 并用 Bonferoni 校正的 t 检验进行组间两两比较。以 $P < 0.05$ 视为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胡椒碱细胞毒性的观察

在胡椒碱梯度浓度 1, 2, 5, 10, 20, 40, 80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 干预下, 胡椒碱浓度 $\leq 5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时无明显细胞凋亡, 而 10~80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 内随着浓度的增高, 细胞凋亡率显著增高。胡椒碱浓度 $\leq 5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 虽然无明显细胞毒性, 但是可以抑制细胞活力。结果见图 1~2。

2.2 小剂量胡椒碱对 HGC-27 细胞活力和增殖率的影响

采用 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的胡椒碱干预 HGC-27 细胞后, 在 12, 24, 48 h 后检测细胞活力, 结果显示, 对照组和实验组细胞在各时间点的细胞活力和增殖率均显著低于正常组($P < 0.05$), 结果见图 3~4。

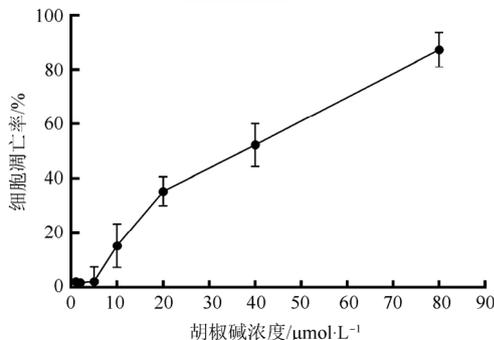


图 1 胡椒碱对于 HGC-27 的细胞毒性($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 1 Results of cytotoxicity of piperine on HGC-27 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

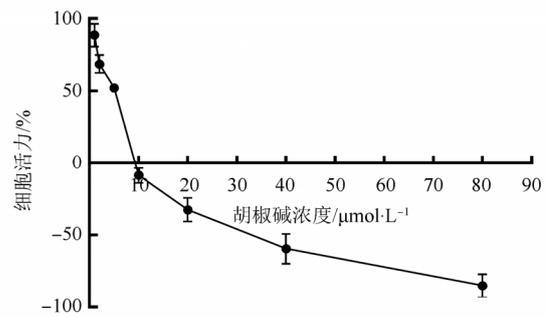


图 2 胡椒碱对 HGC-27 细胞活力的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 2 Effect of piperine on HGC-27 cell viability($\bar{x} \pm s, n=3$)

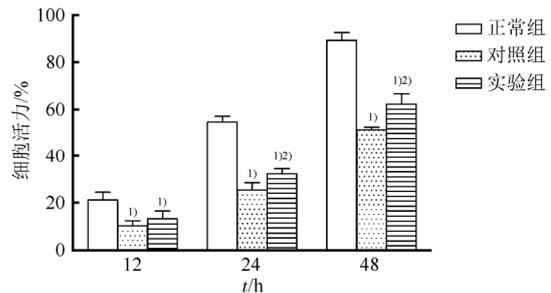


图 3 小剂量胡椒碱对 HGC-27 细胞活力的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

同一时间点, 与正常组比较, $^1)P < 0.05$; 与对照组比较, $^2)P < 0.05$ 。

Fig. 3 Effect of small dose piperine on HGC-27 cell viability($\bar{x} \pm s, n=3$)

At the same time point, compared with normal group, $^1)P < 0.05$; compared with control group, $^2)P < 0.05$.

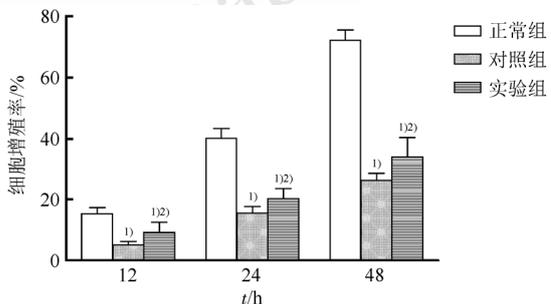


图 4 小剂量胡椒碱对 HGC-27 细胞增殖的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

同一时间点, 与正常组比较, $^1)P < 0.05$; 与对照组比较, $^2)P < 0.05$ 。

Fig. 4 Effect of small dose piperine on HGC-27 cell proliferation($\bar{x} \pm s, n=3$)

At the same time point, compared with normal group, $^1)P < 0.05$; compared with control group, $^2)P < 0.05$.

2.3 细胞迁移和侵袭能力的试验结果

划痕试验结果显示, HGC-27 细胞 24 h 内迁移率较高, 显著高于对照组和实验组($P < 0.05$), 而对照组迁移能力显著低于实验组($P < 0.05$)。侵袭实验结果显示, HGC-27 细胞侵袭能力显著高于对照组和实验组($P < 0.05$), 而对照组侵袭能力低于实验组($P < 0.05$)。说明 Wnt/ β -catenin 信号抑制可以降低细胞迁移和侵袭能力, 结果见图 5~6。

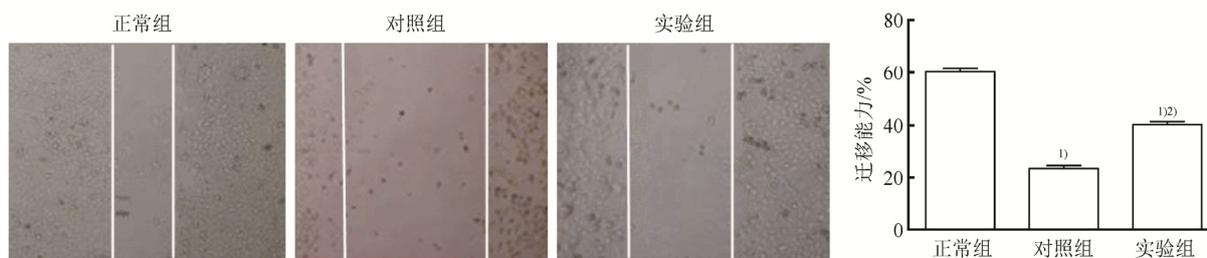


图5 细胞迁移能力试验结果($\bar{x} \pm s, n=3$)
与正常组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与对照组比较, ²⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 5 Results of cell migration ability test($\bar{x} \pm s, n=3$)
Compared with normal group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with control group, ²⁾ $P<0.05$.

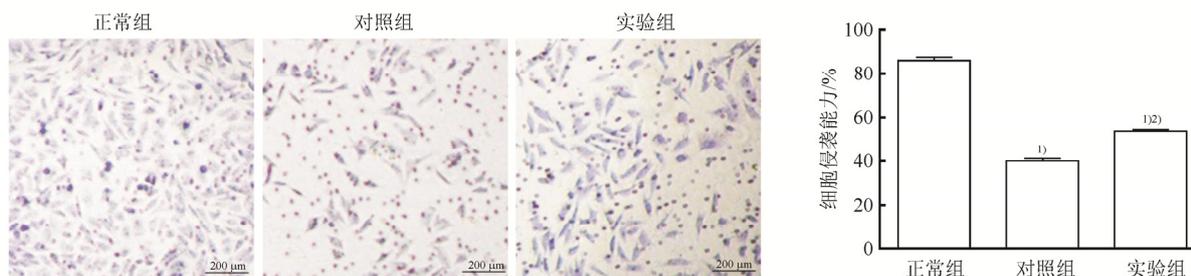


图6 细胞侵袭能力试验结果($\bar{x} \pm s, n=3$)
与正常组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与对照组比较, ²⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 6 Results of cell invasion ability test($\bar{x} \pm s, n=3$)
Compared with normal group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with control group, ²⁾ $P<0.05$.

2.4 细胞中 β -catenin、MMP2、MMP9、N-cadherin 的表达水平结果

正常组 HGC-27 细胞中 β -catenin、MMP2、MMP9、N-cadherin 的表达水平相对对照组和实验组显著较高, 且具有统计学差异($P<0.05$), 而对照组中 β -catenin、MMP2、MMP9、N-cadherin 的表达水平显著低于实验组, 差异具有统计学意义($P<0.05$)。结果见图 7。

2.5 细胞中 β -catenin、MMP2、MMP9、N-cadherin 的 mRNA 表达水平

正常组 HGC-27 细胞中 β -catenin、MMP2、MMP9、N-cadherin 的 mRNA 表达水平相对对照组和实验组较高, 差异具有统计学意义($P<0.05$), 而对照组中 β -catenin、MMP2、MMP9、N-cadherin 的 mRNA 表达水平相比实验组较低, 差异具有统计学意义($P<0.05$), 结果见图 8。

3 讨论

胡椒碱是一种食品添加剂, 近年来研发出较多以胡椒碱为主要成分的食品, 对免疫、胃溃疡、癫痫、动脉硬化等具有调节和辅助治疗的作用^[10-11]。在抗肿瘤的研究中发现, 胡椒碱在体内和体外均

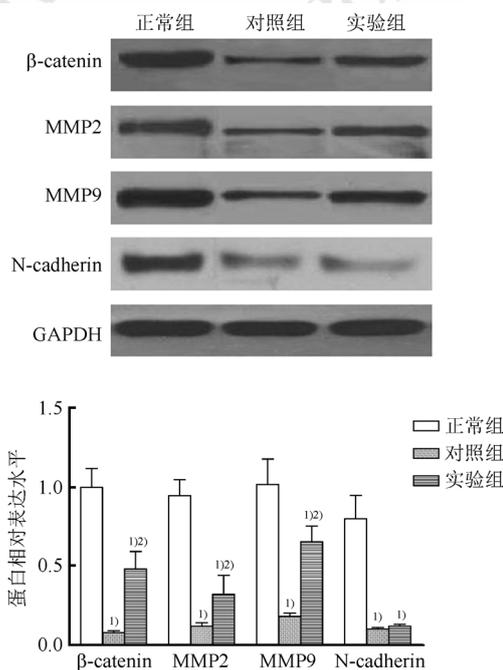


图7 细胞中 β -catenin、MMP2、MMP9、N-cadherin 的表达水平($\bar{x} \pm s, n=3$)

与正常组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与对照组比较, ²⁾ $P<0.05$ 。
Fig. 7 Expression levels of β -catenin, MMP2, MMP9, N-cadherin in cells($\bar{x} \pm s, n=3$)
Compared with normal group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with control group, ²⁾ $P<0.05$.

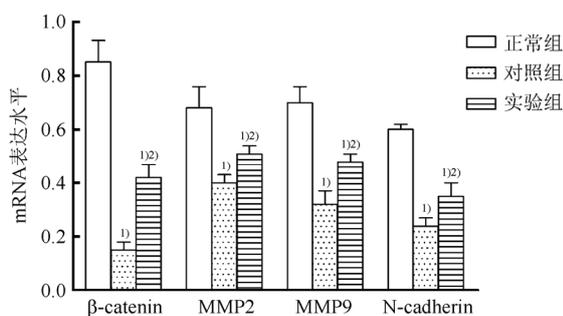


图 8 细胞中 β -catenin、MMP2、MMP9、N-cadherin 的 mRNA 表达水平 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

与正常组比较, ¹⁾ $P < 0.05$; 与对照组比较, ²⁾ $P < 0.05$ 。

Fig. 8 mRNA expression levels of β -catenin, MMP2, MMP9, N-cadherin in cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Compared with normal group, ¹⁾ $P < 0.05$; compared with control group, ²⁾ $P < 0.05$.

有良好的抗肿瘤特性, 其作用与 NF- κ B、c-FOS、ATF-2、CREB 的抑制有关, 还可以通过抑制蛋白激酶磷酸化来抑制肿瘤血管的形成, 抑制转移生长因子和炎症因子的产生来抑制金属蛋白酶的活性等^[12-13]。在剂量的研究中发现, 大剂量的胡椒碱对于肿瘤细胞凋亡有着诱导作用, 其机制和线粒体凋亡信号的激活有关^[9]。在人类前列腺癌的研究中发现, 胡椒碱可以抑制 DU145、PC-3 生长且有剂量依赖性, 在一定剂量范围内随着剂量增高, 对细胞周期的抑制作用明显^[14]。在骨肉瘤的研究中也发现, 胡椒碱可以抑制金属蛋白酶的活性, 增加 TIMP-1/2 的表达起到抗肿瘤活性^[15]。但是胡椒碱的抗肿瘤作用是否和剂量有关, 目前尚未有报道, 在以往的研究中已经发现胡椒碱对于胃癌有着细胞毒性, 其作用与 caspase 家族蛋白过表达引起的凋亡信号激活相关, 但是在不同时间点下, 细胞毒性的 IC_{50} 值 $15 \sim 100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 可以说明高剂量的胡椒碱有着明确的细胞毒性, 但是在使用剂量的考察上, 虽然已经发现低剂量的胡椒碱无明显细胞毒性, 但是是否可以通过其他信号或靶点起到抗肿瘤作用尚未被揭示。

本研究在筛选胡椒碱的毒性剂量时, 以 24 h 为时间点, 通过梯度浓度的胡椒碱干预后发现, $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的胡椒碱作用 24 h 无细胞毒性, 而 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下细胞毒性较为明显, 所以选择 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为实验剂量, 在后续的研究中发现, $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的胡椒碱可以降低胃癌细胞 HGC-27 的细胞活力和增殖率, 而抑制作用和 Wnt/ β -catenin 信号的抑制有关。Wnt/ β -catenin 信号在进化上高

度保守, 参与调节细胞增殖、细胞极性和细胞黏附等多种调节^[16], 研究发现 Wnt/ β -catenin 信号转导通路对于肿瘤细胞的侵袭和转移具有重要作用, 在大肠癌、乳腺癌、肝癌等均有作用, β -catenin 蛋白通过 Wnt 蛋白激活而蓄积, 其水平的增高可以进一步与 T 细胞因子结合, 促进靶基因的转录, 激活下游信号, 促进肿瘤细胞的增殖、抑制其凋亡^[17-19]。而在本研究中发现, 小剂量的胡椒碱可以很好地抑制细胞的迁移和侵袭, 机制和 Wnt/ β -catenin 信号抑制有关, 同时还可以降低细胞迁移和侵袭能力, 而在胡椒碱抑制侵袭的机制中发现, 小剂量的胡椒碱可以降低 β -catenin 蛋白的表达, 进一步减少金属蛋白酶和 N-cadherin 的表达。其结果和 Wnt/ β -catenin 信号抑制剂相一致。结果提示, 小剂量的胡椒碱可以通过下调 Wnt/ β -catenin 信号转导通路抑制胃癌细胞迁移和侵袭。

综上所述, 小剂量的胡椒碱对于胃癌细胞无显著的直接细胞毒性, 但是可以通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号转导通路抑制胃癌细胞的增殖和侵袭。

REFERENCES

- [1] ZHENG Z D, WANG S Y, SONG N S. Safety and efficacy of Xiaoaiping combined with docetaxel plus oxaliplatin in the second-line treatment of advanced gastric cancer [J]. Chin J Hosp Pharm (中国医院药学杂志), 2017, 37(22): 2292-2295.
- [2] GRAZIANO F, GALLUCCIO N, LORENZINI P, et al. Genetic activation of the MET pathway and prognosis of patients with high-risk, radically resected gastric cancer [J]. J Clin Oncol, 2011, 29(36): 4789-4795.
- [3] MU J S, LIU T R, JIANG L, et al. The traditional Chinese medicine baicalein potently inhibits gastric cancer cells [J]. J Cancer, 2016, 7(4): 453-461.
- [4] LIU X, XIU L J, JIAO J P, et al. Traditional Chinese medicine integrated with chemotherapy for stage IV non-surgical gastric cancer: a retrospective clinical analysis [J]. J Integr Med, 2017, 15(6): 469-475.
- [5] GORGANI L, MOHAMMADI M, NAJAFPOUR G D, et al. Piperine-the bioactive compound of black pepper: from isolation to medicinal formulations [J]. Compr Rev Food Sci Food Saf, 2017, 16(1): 124-140.
- [6] YOON Y C, KIM S H, KIM M J, et al. Piperine, a component of black pepper, decreases eugenol-induced cAMP and calcium levels in non-chemosensory 3T3-L1 cells [J]. FEBS Open Bio, 2015(5): 20-25.
- [7] ZHAI W J, ZHANG Z B, XU N N, et al. Piperine plays an anti-inflammatory role in *Staphylococcus aureus* endometritis by inhibiting activation of NF- κ B and MAPK pathways in mice [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2016(2016): 8597208.

- [8] 陈婷婷. 胡椒碱通过线粒体通路诱导人胃癌 BGC-823 细胞凋亡的机制研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2016.
- [9] 曹卓. 胡椒碱对人胃癌细胞增殖、凋亡及顺铂敏感性的作用及机制研究[D]. 武汉: 武汉大学, 2014.
- [10] LEE E B, SHIN K H, WOO W S. Pharmacological study on piperine[J]. Arch Pharm Res, 1984, 7(2): 127-132.
- [11] PEI Y Q. A review of pharmacology and clinical use of piperine and its derivatives [J]. Epilepsia, 1983, 24(2): 177-182.
- [12] VERMA A, KUSHWAHA H N, SRIVASTAVA A K, et al. Piperine attenuates UV-R induced cell damage in human keratinocytes via NF-kB, Bax/Bcl-2 pathway: An application for photoprotection [J]. J Photochem Photobiol B, Biol, 2017(172): 139-148.
- [13] PRADEEP C R, KUTTAN G. Piperine is a potent inhibitor of nuclear factor-kappaB (NF-kappaB), c-Fos, CREB, ATF-2 and proinflammatory cytokine gene expression in B16F-10 melanoma cells [J]. Int Immunopharmacol, 2004, 4(14): 1795-1803.
- [14] OUYANG D Y, ZENG L H, PAN H, et al. Piperine inhibits the proliferation of human prostate cancer cells via induction of cell cycle arrest and autophagy [J]. Food Chem Toxicol, 2013, 60: 424-430.
- [15] ZHANG J, ZHU X B, LI H Y, et al. Piperine inhibits proliferation of human osteosarcoma cells via G2/M phase arrest and metastasis by suppressing MMP-2/-9 expression [J]. Int Immunopharmacol, 2015, 24(1): 50-58.
- [16] TONG Y L, LIU Y T, ZHENG H M, et al. Artemisinin and its derivatives can significantly inhibit lung tumorigenesis and tumor metastasis through Wnt/ β -catenin signaling [J]. Oncotarget, 2016, 7(21): 31413-31428.
- [17] IWAI S, YONEKAWA A, HARADA C, et al. Involvement of the Wnt- β -catenin pathway in invasion and migration of oral squamous carcinoma cells [J]. Int J Oncol, 2010, 37(5): 1095-1103.
- [18] YUAN Z X, YU X H, NI B B, et al. Overexpression of long non-coding RNA-CTD903 inhibits colorectal cancer invasion and migration by repressing Wnt/ β -catenin signaling and predicts favorable prognosis [J]. Int J Oncol, 2016, 48(6): 2675-2685.
- [19] XU M, WANG S S, SONG Y, et al. Apigenin suppresses colorectal cancer cell proliferation, migration and invasion via inhibition of the Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. Oncol Lett, 2016, 11(5): 3075-3080.

收稿日期: 2018-07-27

(本文责编: 李艳芳)