

洛伐他汀联合顺铂对人肝癌 HepG2 细胞生物学特性的影响及其机制

郑小红^{1,2}, 邓庆华^{1,2}, 杨延音², 谭娇², 刘小东^{1,2*} (1.重庆市药物制剂工程技术中心, 重庆 401331; 2.重庆医药高等专科学校药学院, 重庆 401331)

摘要: 目的 研究洛伐他汀单用或与化疗药物顺铂联用对人肝癌 HepG2 细胞生物学特性的影响, 初步探索其抗肿瘤作用机制。方法 不同浓度洛伐他汀、洛伐他汀联合顺铂处理细胞 48 h 后, CCK-8 法检测 HepG2 细胞的增殖抑制作用, 金氏公式计算联合应用效果; 平板克隆形成试验评价药物作用于肝癌细胞的远期效应; 划痕试验检测药物对细胞迁移能力的影响; Transwell 小室法检测药物对细胞侵袭能力的影响; 流式细胞术检测药物处理后细胞周期和凋亡情况; Western blotting 检测凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax、caspase-3 的表达水平变化。结果 洛伐他汀呈浓度依赖性抑制 HepG2 细胞的增殖, 金氏公式计算结果显示洛伐他汀可协同增强顺铂的抗肿瘤作用; 平板克隆形成试验结果表明洛伐他汀能显著抑制 HepG2 细胞克隆形成率; 划痕试验提示洛伐他汀能显著降低肝癌细胞的迁移率; Transwell 小室侵袭实验结果发现洛伐他汀能明显减少穿膜细胞数量; 流式细胞检测发现洛伐他汀可引起 G₀/G₁ 期细胞增加, S 期细胞减少, 细胞凋亡率增加; Western blotting 检测结果显示洛伐他汀可下调 Bcl-2 蛋白表达, 同时上调 Bax 和 caspase-3 蛋白表达。结论 洛伐他汀可明显抑制 HepG2 细胞增殖、迁移和侵袭能力, 与顺铂联用可增强顺铂体外抗肿瘤效果, 通过线粒体途径诱导肿瘤细胞凋亡是其可能的抗肿瘤作用机制之一。

关键词: 洛伐他汀; 肝癌; 克隆形成; 迁移; 侵袭; 凋亡

中图分类号: R965.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2020)19-2317-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.19.003

引用本文: 郑小红, 邓庆华, 杨延音, 等. 洛伐他汀联合顺铂对人肝癌 HepG2 细胞生物学特性的影响及其机制[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(19): 2317-2322.

Effect and Its Mechanism of Lovastatin Combined with Cisplatin on Biological Characteristics of Human Hepatic Cancer Cells HepG2

ZHENG Xiaohong^{1,2}, DENG Qinghua^{1,2}, YANG Yanyin², TAN Jiao², LIU Xiaodong^{1,2*} (1.Chongqing Engineering Research Center of Pharmaceutical Sciences, Chongqing 401331, China; 2.School of Pharmacy, Chongqing Medical and Pharmaceutical College, Chongqing 401331, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effect of lovastatin separately or in combination with cisplatin on biological characteristics of human hepatic cancer cells HepG2 and to explore the molecular mechanisms. **METHODS** After 48 h of treatment cells with different concentrations of lovastatin and lovastatin combined with cisplatin, the proliferation inhibitory effect on HepG2 cells was assessed by CCK-8 assay. Jin's *Q* value was adopted to judge the efficacy of the joint-medicinal application. The long-term effects of drugs on hepatoma cells was studied by plate cloning test. The motile ability was detected by wound healing test and invasion ability was determined by Transwell assay. The cell cycle changes and apoptotic ratio was detected by flow cytometry. The expression of Bcl-2, Bax, and caspase-3 was examined with Western blotting. **RESULTS** Lovastatin inhibited the proliferation of HepG2 cells in a concentration-dependent manner. The results of Jin's *Q* value showed that lovastatin could enhance the anti-tumor effect of cisplatin. Plate cloning test showed that lovastatin could significantly inhibit HepG2 cells clone formation rate. Wound healing assay showed that lovastatin can significantly reduce the mobility of hepatocellular carcinoma cells. Transwell cell invasion test showed that lovastatin significantly reduced the number of perforating cells. The flow cytometry showed that lovastatin caused cell cycle arrest at G₀/G₁ phase with the reduction of S phase cell, the apoptotic ratio was increased by lovastatin. Western blotting assay confirmed that lovastatin could decrease the expression of Bcl-2, and increase the expression of Bax and caspase-3. **CONCLUSION** Lovastatin can inhibit the ability of proliferation, migration and invasion of HepG2 cells. The combination of lovastatin and cisplatin can enhance the anti-tumor effect of cisplatin *in vitro*. The mechanisms may be induce apoptosis through mitochondrial pathway.

KEYWORDS: lovastatin; hepatocellular carcinoma; clone formation; migration; invasion; apoptosis

基金项目: 重庆市教育委员会科学技术研究项目(KJ1726395); 重庆市自然科学基金项目(cstc2018jcyjAX0722); 重庆市教育委员会青年项目(KJQN201802805)

作者简介: 郑小红, 女, 博士, 副教授 Tel: (023)86253691 E-mail: zxh10760@163.com *通信作者: 刘小东, 男, 博士, 讲师 Tel: 13896107062 E-mail: 35607352@qq.com

他汀类药物是 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A(简称“羟甲戊二酰辅酶 A”)还原酶的竞争性抑制剂,因可减少内源性胆固醇的合成,被作为一线降脂药广泛应用于临床^[1]。

近年来,越来越多体内外研究表明,他汀类药物具有抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡等有效性,与化疗药物联用时能增加肿瘤细胞对化疗药物的敏感性^[2]。

肝癌是全球尤其是中国最常见的恶性肿瘤之一,肝癌死亡率居全球恶性肿瘤死亡率第 3 位^[3],目前中国肝癌患者年发病及死亡人数分别占全球年发病和死亡人数的一半以上^[4]。造成肝癌死亡率高的主要原因是其具有很强的侵袭转移能力^[5]。由于多数患者在诊断明确时已进展到中晚期,丧失了手术治疗最佳时机,化疗作为根治性治疗手段之一仍然是中晚期肝癌治疗的主要方法之一^[6]。大多数化疗药物存在的主要问题是长期使用细胞毒性明显且肿瘤细胞易出现耐药性,如何提高化疗药物的敏感性、减轻化疗药物的不良反应是肿瘤化疗研究领域研究的热点和难点之一^[7]。

本实验初步研究了洛伐他汀单用或与肝癌常用化疗药物(顺铂)联用时对肿瘤细胞生物学特性的影响,并初步探索其抗肿瘤作用机制,为今后中晚期肝癌的临床研究和治疗提供新思路。

1 材料

洛伐他汀(重庆大新药业股份有限公司,批号:20120501);顺铂(Adamas,批号:P1194443);HepG2 细胞由陆军军医大学第一附属医院中心实验室惠赠。CCK-8 试剂盒(货号:C0039)、Annexin V-FITC/PI 双染试剂盒(货号:C1062M)均购自上海碧云天生物技术有限公司;Matrigel(美国 Corning 公司,货号:354234);DMEM 培养液(美国 Gibco 公司,批号:8117167);Bcl-2(批号:ab32505)、Bax(批号:ab196495)、caspase-3(批号:ab32351)抗体均购自英国 Abcam 公司。

4111 型二氧化碳细胞培养箱、1510 型酶标仪(美国 Thermo 公司);3120000844 型微量移液器、5804R 型低温高速离心机(德国 Eppendorf 公司);DYCZ-24F 型电泳仪(北京六一生物科技有限公司);CX41 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养

HepG2 细胞用含 10%胎牛血清的 DMEM 培养

液,置于 37℃、5% 二氧化碳细胞培养箱常规培养,0.2%胰酶消化传代,取对数生长期细胞用于后续试验。

2.2 CCK-8 法检测细胞增殖抑制率

取对数生长期 HepG2 细胞,调整细胞浓度,96 孔板中每孔接种 4 000 个细胞,置于 37℃、5% 二氧化碳细胞培养箱待细胞贴壁后更换含不同药物浓度的 DMEM 完全培养基处理。实验设细胞对照组、试剂对照组(二甲基亚砜终浓度为 0.1%)、洛伐他汀处理组(终浓度为 1,2,4,8,16 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、顺铂处理组(终浓度为 0.5,1,2,4 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)和联合用药组(0.5,1,2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 顺铂+3 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 洛伐他汀),每组 4 个复孔。各组药物添加完毕后置入二氧化碳细胞培养箱培养,48 h 后,每孔加入 10 μL CCK-8 试剂,置入细胞培养箱继续培养 2 h,酶标仪测定 450 nm 下的吸光度 A 。细胞增殖抑制率($\%$)= $(1-A_{\text{给药组}}/A_{\text{对照组}})\times 100\%$ 。

以抑制率对药物浓度作直线回归,用直线方程计算各药物的 IC_{50} 值。以上实验独立重复 3 次。采用金氏公式评估两药联合效应^[8]: $Q=E_{a+b}/(E_a+E_b-E_a\times E_b)$,公式中 E_{a+b} 为联合用药组抑制率, E_a 、 E_b 为 a 药和 b 药单独处理的抑制率,即公式中分母表示期望联合效应,分子表示实际联合效应。若 Q 值在 0.85~1.15 为相加作用;若 $Q>1.15$ 为增强作用;若 $Q<0.85$ 为拮抗作用。

2.3 平板克隆形成实验

取对数生长期的细胞,按照每孔 100 个细胞接种于 6 孔板,待细胞贴壁后,各孔更换含不同药物的 DMEM 完全培养基,实验设对照组、洛伐他汀组(5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、顺铂组(终浓度为 0.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)和联合用药组(5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 洛伐他汀+0.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 顺铂),药物分别作用 48 h 后,更换不含药物的 DMEM 完全培养基,2 d 更换 1 次培养基,继续培养 10 d,吸去培养基,用 PBS 洗 3 遍,4%多聚甲醛固定,PBS 洗去固定液,1%结晶紫染色 10 min,PBS 漂洗掉多余的染料,孔板倒扣晾干,统计克隆形成数量,比较各组克隆形成的差异。

2.4 细胞迁移能力检测

取对数生长期的细胞,24 孔板内每孔接种 2×10^4 个细胞,DMEM 完全培养基培养至细胞生长融合至 80%,用 200 μL 无菌枪头在培养板底部呈“—”字形划痕,PBS 漂洗掉脱落的细胞,更换含不同药物的 DMEM 完全培养基(实验分组及药

物浓度同“2.3”项),活细胞工作站上机,间隔 12 h 取照 1 次,持续 48 h。细胞迁移能力以细胞迁移率表示。细胞迁移率(%)=(原划痕面积-现划痕面积)/原划痕面积×100%,实验重复 3 次,采用 Image J 软件计算划痕面积。

2.5 细胞侵袭能力检测

采用 Corning 小室铺胶原蛋白:使用前 30 min,将 24 孔板和小室置于-20℃冰箱预冷,取出后将小室放入 24 孔板内,24 孔板置于冰上,每小室均匀加入 10 μL Matrigel 液(DMEM:Matrigel=8:1),置于孵箱 30 min 使 Matrigel 聚合,制作基底膜。取对数生长期细胞,将每 5 000 个细胞加入 200 μL 预先配制好的含不同药物的无血清 DMEM 培养基中备用(实验分组及药物浓度同“2.3”项),24 孔板从孵箱取出,下室加入 600 μL 完全 DMEM 培养基,上室加入 200 μL 上述细胞悬液,置于孵箱培养,48 h 后,取出小室,PBS 洗 3 次,4%多聚甲醛固定,PBS 洗 3 次,1%结晶紫染色 30 min,弃染液,PBS 洗 3 次,用棉签轻轻擦拭去内室没有侵袭的细胞及基质胶,干燥后,倒置显微镜下观察移至外室的细胞,随机选取 5 个视野细胞拍照。实验重复 3 次,采用 Image J 软件对细胞进行计数分析。

2.6 细胞周期检测

取对数生长期的细胞,按照每孔 1×10^5 个细胞接种于 6 孔板,DMEM 完全培养基培养,置于孵箱,待细胞贴壁后,更换含不同药物浓度的 DMEM 完全培养基[实验分对照组及洛伐他汀组($5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)],48 h 后,按照说明书处理细胞样品,流式细胞仪进行检测。

2.7 细胞凋亡检测

取对数生长期的细胞,按照每孔 1×10^5 个细胞接种于 6 孔板,细胞贴壁后,更换含不同药物的 DMEM 完全培养基(实验分组及药物浓度同“2.6”项),各组分别处理 48 h 后,收集细胞沉淀,冷 PBS 洗涤细胞 3 次后,加入 Annexin V-FITC 和 PI 混匀,按照试剂盒说明书处理细胞样品,流式细胞仪进行细胞凋亡情况检测。

2.8 Western blotting 法检测凋亡蛋白表达

HepG2 细胞经不同药物处理 48 h 后(实验分对照组及洛伐他汀 $3, 5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组),收集细胞沉淀,提取蛋白,Bradford 法测定蛋白浓度,样品采用 12% 聚丙烯酰胺分离胶和 5%浓缩胶进行电泳分离后湿法转移至 PVDF 膜上,室温封闭 1 h 后,将一抗用

封闭液稀释至相应浓度,将封闭后的膜放入一抗工作液中 4℃杂交过夜,TBST 洗膜 3 次,每次 10 min,将洗涤后的膜放入二抗工作液(1:5 000)中,室温避光孵育 1 h, TBST 洗膜 3 次,每次 10 min,显影,用 Image J 软件进行光密度值分析。

2.9 统计学处理

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,实验数据采用 SPSS 15.0 软件进行统计分析,不同组间比较采用完全随机设计的单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 CCK-8 法检测细胞增殖抑制率结果

1, 2, 4, 8, $16 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 洛伐他汀作用 48 h 后,经 CCK-8 法检测,洛伐他汀处理各组 HepG2 细胞的增殖抑制率随药物浓度增大而逐渐增高,呈明显的浓度依赖性。将各组药物浓度(x)对其抑制率(y)作线性回归,得直线方程为 $y = 0.05x + 0.18 (R^2 = 0.91)$,经计算洛伐他汀的 IC_{50} 值为 $6.67 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。经统计学分析,联合用药组的细胞抑制率较单独用药组明显增高($P < 0.05$),金氏法计算结果显示各联合组 Q 值均 > 1.15 ,说明洛伐他汀与顺铂具有协同抑制肿瘤细胞增殖的作用,结果见表 1。

表 1 CCK-8 法检测洛伐他汀对 HepG2 细胞增殖抑制的影响($n=3$)

Tab. 1 Effect of lovastatin on the proliferation of HepG2 cells determined by CCK-8 assay($n=3$)

洛伐他汀/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	顺铂/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	抑制率/%	Q 值
1	0	14.37±3.21	
2	0	22.37±4.69	
4	0	44.42±5.54	
8	0	68.85±2.30	
16	0	87.69±2.98	
0	0.5	40.20±1.90	
0	1	60.39±1.01	
0	2	72.00±3.02	
0	4	91.71±1.60	
3	0.5	72.05±6.04 ¹⁾²⁾	1.20
3	1	86.09±3.05 ¹⁾²⁾	1.17
3	2	94.19±1.80 ¹⁾²⁾	1.16

注:与洛伐他汀 $3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组(计算值)比较,¹⁾ $P < 0.05$;与相应浓度顺铂处理组比较,²⁾ $P < 0.05$ 。

Note: Compared with lovastatin $3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ group(calculated value),¹⁾ $P < 0.05$; compared with corresponding concentration of value cisplatin group,²⁾ $P < 0.05$.

3.2 平板克隆形成试验结果

洛伐他汀处理肿瘤细胞 48 h 后,与对照组比较克隆形成率明显减少($P < 0.05$),联合用药组 HepG2 细胞在药物处理 48 h 后不能形成肉眼可见的细胞克隆,结果见图 1。

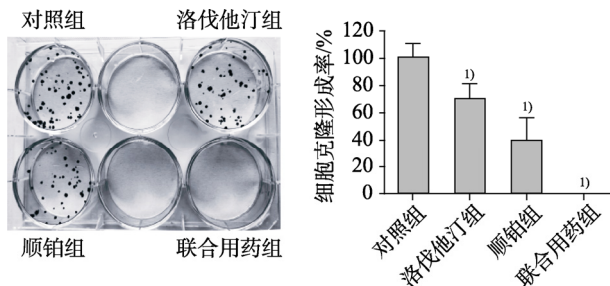


图1 洛伐他汀治疗对 HepG2 细胞克隆形成率的影响($n=3$)与对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 1 Effect on colony formation ratio of HepG2 after treatment with lovastatin($n=3$) Compared with the control group, ¹⁾ $P<0.05$.

3.3 划痕试验结果

洛伐他汀处理细胞 12 h 后, 与对照组相比, 迁移率没有明显变化。继续增加作用时间, 处理 24 h 后, 各用药组迁移率明显较对照组变小 ($P<0.05$), 随作用时间的延长, 洛伐他汀对 HepG2 细胞的迁移抑制率逐渐增加 ($P<0.05$)。联合用药组作用 36 h 后, 与单用洛伐他汀或顺铂组相比, 迁移率明显下降 ($P<0.05$)。联合用药组处理 48 h 后, 由于细胞生长被明显抑制, 因此迁移率呈负增长趋势, 结果见图 2。

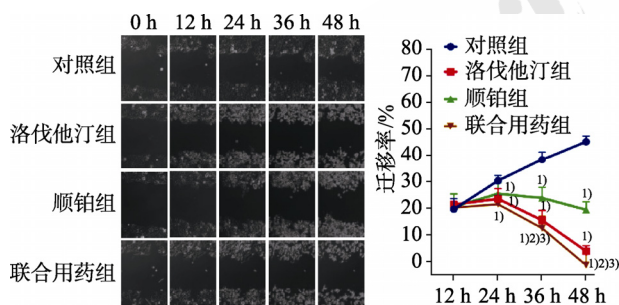


图2 洛伐他汀治疗对 HepG2 细胞迁移能力的影响 ($n=3$)与对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与洛伐他汀组比较, ²⁾ $P<0.05$; 与顺铂组比较, ³⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 2 Effects on migration of HepG2 cells after treatment with lovastatin($n=3$) Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with lovastatin group, ²⁾ $P<0.05$; compared with cisplatin group, ³⁾ $P<0.05$.

3.4 Transwell 小室检测侵袭能力结果

洛伐他汀处理 48 h 后, 穿膜细胞为(161 ± 24)个, 与未经药物处理的对照组细胞相比, 穿膜细胞数明显减少 ($P<0.01$)。当洛伐他汀与顺铂联用时, 检测到穿膜细胞数明显少于单用洛伐他汀或单用顺铂时穿膜细胞数 ($P<0.01$), 结果见图 3。

3.5 细胞周期及凋亡检测结果

洛伐他汀处理 HepG2 细胞 48 h 后, 与对照组相比, 可引起 G_0/G_1 期细胞显著增加 ($P<0.05$), S

期细胞明显减少 ($P<0.05$)。对照组细胞常规培养 48 h 后凋亡率为 3.74%, 洛伐他汀处理 48 h 后, 细胞凋亡率增至 52.55%, 且早期凋亡比晚期凋亡增加更加明显 ($P<0.05$)。结果见图 4。

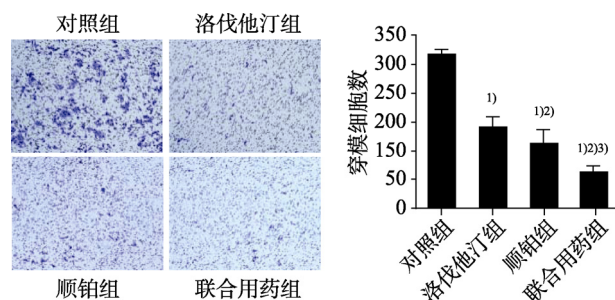


图3 洛伐他汀治疗对 HepG2 细胞侵袭能力的影响($n=3$)与对照组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与洛伐他汀组比较, ²⁾ $P<0.01$; 与顺铂组比较, ³⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 3 Effects on invasion of HepG2 cells after treatment with lovastatin($n=3$)

Compared with control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with lovastatin group, ²⁾ $P<0.01$; compared with cisplatin group, ³⁾ $P<0.01$.

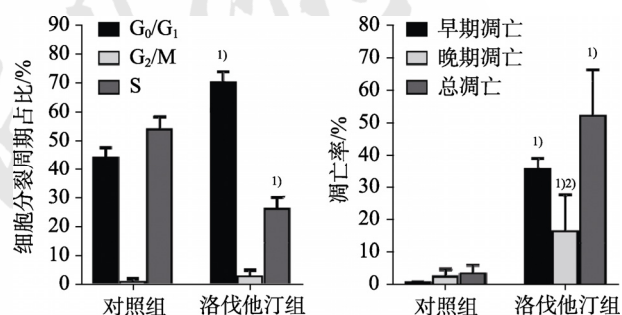


图4 洛伐他汀治疗对细胞周期分布和凋亡的影响($n=3$)与对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与早期凋亡比较, ²⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 4 Effects on cell cycle distribution and apoptosis of HepG2 cells after treatment with lovastatin($n=3$) Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with early apoptotic cell, ²⁾ $P<0.05$.

3.6 Western blotting 检测结果

相比于对照组, $3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 洛伐他汀处理 48 h 后, 抗凋亡蛋白 Bcl-2、促凋亡蛋白 Bax 和 caspase-3 的表达没有明显影响; 随药物浓度增加, $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 洛伐他汀处理 48 h 则可下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达水平 ($P<0.05$), 同时上调促凋亡蛋白 Bax 和 caspase-3 表达水平 ($P<0.05$), 结果见图 5。

4 讨论

国内外研究资料表明, 他汀类药物可多靶点、多途径影响肿瘤的发生、发展和预后, 在辅助治疗肿瘤方面具有较大的优势^[9]。研究人员对他汀类药物长达 10 年的随访数据研究显示, 服用他汀类药物的肿瘤患者死亡率明显低于服用安慰剂的肿

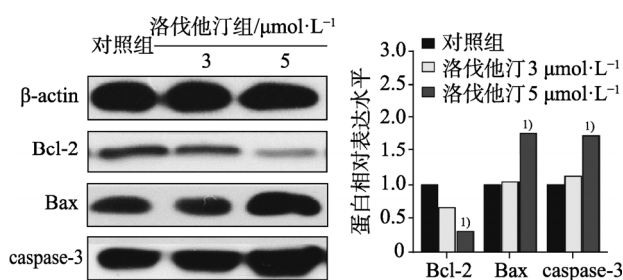


图5 洛伐他汀治疗对 HepG2 细胞凋亡相关蛋白表达影响 (n=3)
与对照组比较, ¹⁾P<0.05。

Fig. 5 Effects on the expression of apoptosis protein of HepG2 cells after treatment with lovastatin(n=3)
Compared with control group, ¹⁾P<0.05.

瘤患者^[10]。在抗肿瘤作用机制方面,他汀类药物可通过抑制甲羟戊酸通路的限速步骤而减少甲羟戊酸及其下游产物的生成,对细胞膜结构、信号转导、蛋白合成与细胞周期等重要细胞功能产生影响,进而调控肿瘤细胞血管生成、增殖、迁移、侵袭和凋亡等过程^[11-12],对多种肿瘤具有生长抑制作用,但也有资料表明他汀类药物对肿瘤生长具有双向调节作用^[13-14]。

洛伐他汀属于临床常用的他汀类降血脂药物,通过文献查阅,发现近年来国内、外对洛伐他汀主要集中在乳腺癌^[15]、宫颈癌^[16]、肺癌^[17]、前列腺癌^[18]、骨肉瘤^[19]等实体瘤的体外抗肿瘤作用研究方面。目前对洛伐他汀抗肝癌的作用研究较少^[12],洛伐他汀联合使用顺铂时对肝癌的体内外研究尚未见系统报道。

本实验采用 CCK-8 法、平板克隆形成试验、划痕试验、Transwell 侵袭实验及流式细胞术等,发现洛伐他汀单用可以明显改变 HepG2 细胞的生物学行为,尤其在与顺铂联用时可以明显抑制肿瘤细胞的增殖,降低肝癌细胞的迁移及侵袭能力,并诱导 HepG2 细胞产生凋亡。

细胞凋亡是多基因、多因素共同作用的结果,线粒体是细胞发生凋亡的重要场所。Caspase-3 作为 caspase 家族的重要的一员,是直接执行凋亡程序的重要信号分子^[20],其中抗凋亡蛋白 Bcl-2 与促凋亡蛋白 Bax 在诱导凋亡过程中也发挥着关键作用,Bcl-2 可与 Bax 相互作用,共同参与线粒体凋亡途径^[21],本实验通过 Western blotting 发现洛伐他汀可下调 Bcl-2,同时上调 Bax 和 caspase-3,提示洛伐他汀通过线粒体途径诱导肝癌细胞凋亡,是其可能的抗肿瘤作用机制之一。

局部浸润和远处转移是肝癌治疗的难点,RhoA 在促进肿瘤细胞侵袭及转移中扮演了重要角色^[22],研究发现降低肝癌细胞中 RhoA 蛋白表达后可显著抑制肿瘤细胞的侵袭和转移^[23],而激活 RhoA 则会明显促进肝癌的侵袭和转移^[24],Fromigué 等^[25]研究发现,阿托伐他汀可通过抑制 RhoA-JNK-c-jun-MMP2 信号通路,从而抑制骨肉瘤细胞的侵袭与转移。RhoA 介导的细胞骨架调控,除了参与侵袭与转移外,也可能参与了肿瘤细胞增殖、屏障功能及凋亡等活动。当然,肿瘤细胞的迁移和侵袭能力受多种信号控制,如有研究也发现洛伐他汀可通过 SREBP-2/miR-33a/CYR61 途径抑制骨肉瘤细胞的侵袭和转移^[19]。洛伐他汀降低肝癌 HepG2 细胞的迁移和侵袭能力具体通过哪条通路还需进一步实验验证。

洛伐他汀作为降脂药在临床上被广泛使用,大量实验发现其具有抗肿瘤作用,通过与化疗药物联合使用,可减少化疗药物的剂量,减轻细胞毒性以及化疗药物所导致的不良反应^[26-27]。本研究发现洛伐他汀在体外不管是单用还是与顺铂联用均可抑制肝癌细胞增殖,降低肝癌细胞迁移和侵袭能力,此结果可为洛伐他汀在临床抗肿瘤作用方面的应用提供实验数据的支撑,同时也为今后肝癌的临床研究和治疗提供新思路和新方法。当然,洛伐他汀是否可用于肝癌的临床治疗,还需要进行更详细、更符合临床要求的各项实验进行深入研究。

REFERENCES

- [1] BONOVA S. Statins: do they have a potential role in cancer prevention and modifying cancer-related outcomes [J]. *Drugs*, 2014, 74(16): 1841-1848.
- [2] STRYKOWSKA-GÓRA A, KARCZMAREK-BOROWSKA B, GÓRA T, et al. Statins and cancers [J]. *Contemp Oncol (Pozn)*, 2015, 19(3): 167-175.
- [3] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87-108.
- [4] CHEN W Q, ZHENG R S, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
- [5] EL-SERAG H B. Hepatocellular carcinoma [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(12): 1118-1127.
- [6] SHAO Y, GUAN J Z. Progress in treatment of primary liver cancer [J]. *Infect Dis Info(传染病信息)*, 2016, 29(4): 248-252.
- [7] IWAMOTO T. Clinical application of drug delivery systems in cancer chemotherapy: Review of the efficacy and side effects of approved drugs [J]. *Biol Pharm Bull*, 2013, 36(5): 715-718.
- [8] JIN Z J. Addition in drug combination [J]. *Acta Pharmaeol Sin*,

- 1980, 1(2): 70.
- [9] DENG J L, ZHANG R, TANG J, et al. Research progress on the anti-tumor effects of statins [J]. *Chin J Clin Pharmacol Ther*(中国临床药理学与治疗学), 2017, 22(1): 92-99.
 - [10] NIELSEN S F, NORDESTGAARD B G, BOJESSEN S E. Statin use and reduced cancer-related mortality [J]. *N Engl J Med*, 2012, 367(19): 1792-1802.
 - [11] HE J Z, LI Q, TANG F Y, et al. Study progress about the effects of statin on tumor [J]. *Sichuan J Physiol Sci*(四川生理科学杂志), 2015, 37(3): 142-146.
 - [12] WU B A, LIANG L J, LI S Q, et al. Effects of lovastatin on differentially expressed genes in HepG2 cells [J]. *Chin J Pathophysiol*(中国病理生理杂志), 2006, 22(4): 781-785.
 - [13] WANG C Y, SHUI H A, CHANG T C. *In vivo* evidence of duality effects for lovastatin in a nude mouse cancer model [J]. *Int J Cancer*, 2010, 126(2): 578-582.
 - [14] ETEBARI M, NASIRI M, JAFARIAN-DEHKORDI A, et al. Lovastatin prevents bleomycin-induced DNA damage to HepG2 cells [J]. *Res Pharma Sci*, 2016, 11(6): 470.
 - [15] YAO H, DENG X Y, FANG Q, et al. Chemosensitizing effect of lovastatin on breast cancer stem cells *in vitro* [J]. *J Hunan Normal Univ*(湖南师范大学学报), 2015, 12(5): 1-3.
 - [16] LIN C K, LIU S T, CHANG C C, et al. Regulatory mechanisms of fluvastatin and lovastatin for the p21 induction in human cervical cancer HeLa cells [J]. *PLoS One*, 2019, 14(4): e0214408. Doi: 10.1371/journal.pone.0214408.
 - [17] WALTHER U, EMMRICH K, RAMER R, et al. Lovastatin lactone elicits human lung cancer cell apoptosis via a COX-2/PPAR γ -dependent pathway [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(9): 10345-10362.
 - [18] YANG L, WANG Y, LV T J, et al. Effects of clinically effective dose of lovastatin on prostate cancer PC3 cells [J]. *J Peking Univ(Health Sci)*(北京大学学报: 医学版), 2010, 42(4): 391-395.
 - [19] HUANG Y Z, ZHANG J, SHAO H Y, et al. miR-33a mediates the anti-tumor effect of lovastatin in osteosarcoma by targeting CYR61 [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 51(2): 938-948.
 - [20] D'AMELIO M, SHENG M, CECCONI F. Caspase-3 in the central nervous system: Beyond apoptosis [J]. *Trends Neurosci*, 2012, 35(11): 700-709.
 - [21] WENG X D. Quercetin increased the sensitivity of cisplatin-resistant bladder cancer cells to cisplatin through the Bim-Bak/Bax pathway [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2017, 34(4): 515-520.
 - [22] WANG X, WANG W L, REN Y, et al. Effects of RhoA-regulated cytoskeleton in the tumorigenesis [J]. *Chin J Cell Biol*(中国细胞生物学学报), 2014, 36(2): 267-273.
 - [23] WANG B G, LI J S, LIU Y F, et al. MicroRNA-200b suppresses the invasion and migration of hepatocellular carcinoma by downregulating RhoA and circRNA_000839 [J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(7). Doi: 10.1177/1010428317719577.
 - [24] HU W, DONG Z Y, WU D H. FAT10 promotes invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma through activating RhoA [J]. *Chin J Clin Oncol*(中国肿瘤临床), 2015(14): 689-694.
 - [25] FROMIGUÉ O, HAMIDOUCHE Z, MARIE P J. Blockade of the RhoA-JNK-c-Jun-MMP2 cascade by atorvastatin reduces osteosarcoma cell invasion [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(45): 30549-30556.
 - [26] HENNINGER C, HUELSENBECK J, HUELSENBECK S, et al. The lipid lowering drug lovastatin protects against doxorubicin-induced hepatotoxicity [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 261(1): 66-73.
 - [27] ZIEGLER V, ALBERS A, FRITZ G. Lovastatin protects keratinocytes from DNA damage-related pro-apoptotic stress responses stimulated by anticancer therapeutics [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(6): 1082-1092.

收稿日期: 2019-09-04
(本文责编: 李艳芳)