

竹节参皂苷IVa调控DNMT1表达影响肝细胞癌细胞株增殖、迁移、侵袭及干性特征研究

冯变莹, 陈静奇, 郝湘文, 宗 鸣, 陈 皓, 满秋红(同济大学附属上海市第四人民医院检验科, 上海 200434)

摘要: **目的** 探究竹节参皂苷IVa(CsIVa)调控肝细胞癌细胞生长、转移及干细胞特性的功能及机制。**方法** qRT-PCR和Western blot检测DNA甲基转移酶1(DNMT1)mRNA和蛋白在肝细胞癌细胞株HepG2、Huh7、Hep3B、MHCC97-H和人肝细胞LO2中的表达。HepG2细胞分为CsIVa 0、50、100、200 $\mu\text{mol/L}$ 组和CsIVa 200 $\mu\text{mol/L}$ + DNMT1组。CCK-8、流式细胞术和细胞成球实验检测各组细胞增殖、凋亡和干性, Transwell法检测细胞迁移和侵袭能力。Western blot检测各组细胞干性标志物(Nanog、Sox2、Oct4、KLF4和CD133)蛋白表达。**结果** MHCC97-H、Hep3B、Huh7和HepG2中DNMT1 mRNA和蛋白表达水平均显著高于其在LO2中的DNMT1 mRNA和蛋白表达($t_{\text{mRNA}}=8.10\sim 45.09$, $t_{\text{蛋白}}=4.63\sim 22.66$, 均 $P<0.05$)。与CsIVa 0 $\mu\text{mol/L}$ 组比较, CsIVa 50、100和200 $\mu\text{mol/L}$ 组HepG2细胞DNMT1表达、细胞增殖、迁移、侵袭、细胞成球数显著降低, 差异具有统计学意义($t=4.32\sim 36.18$, 均 $P<0.05$), Nanog、Sox2、Oct4、KLF4和CD133蛋白表达显著降低, 差异具有统计学意义($t=4.09\sim 39.27$, 均 $P<0.05$), 细胞凋亡率显著增加($t=7.12\sim 18.34$, 均 $P<0.05$)。与CsIVa 200 $\mu\text{mol/L}$ 组比较, CsIVa 200 $\mu\text{mol/L}$ + DNMT1组HepG2细胞DNMT1表达、细胞增殖、迁移、侵袭、细胞成球数显著增加, 差异具有统计学意义($t=7.42\sim 16.35$, 均 $P<0.05$), Nanog、Sox2、Oct4、KLF4和CD133蛋白表达显著增加, 差异具有统计学意义($t=10.79\sim 24.80$, 均 $P<0.05$), 细胞凋亡率显著降低($t=4.48$, $P<0.05$)。**结论** CsIVa下调DNMT1表达而抑制肝细胞癌细胞生长和转移能力以及干细胞特性。

关键词: 竹节参皂苷IVa; 肝细胞癌; DNA甲基转移酶1; 增殖; 迁移; 侵袭; 干性特征

中图分类号: R735.7; R730.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2026)05-046-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2026.05.008

The Research of Chikusetsusaponin IVa Regulated DNMT1 Expression to Affect Proliferation, Migration, Invasion, and Stemness of Hepatocellular Carcinoma Cells

FENG Bianying, CHEN Jingqi, HAO Xiangwen, ZONG Ming, CHEN Hao, MAN Qihong (Department of Laboratory Medicine, Shanghai Fourth People's Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200434, China)

Abstract: Objective To explore the function and mechanism of chikusetsusaponin IVa (CsIVa) in regulating the growth, metastasis, and stemness characteristics of hepatocellular carcinoma cells. **Methods** qRT-PCR and Western blot were used to detect the mRNA and protein expression of DNA Methyltransferase 1(DNMT1) in hepatocellular carcinoma cell lines HepG2, Huh7, Hep3B, and MHCC97-H, as well as in human hepatocytes LO2. HepG2 cells were divided into groups treated with 0, 50, 100, or 200 $\mu\text{mol/L}$ CsIVa, and a group treated with 200 $\mu\text{mol/L}$ CsIVa + DNMT1 overexpression. CCK-8 assay, flow cytometry, and cell spheroid formation assay were used to assess cell proliferation, apoptosis, and stemness characteristics, respectively. Transwell assay was used to evaluate cell migration and invasion abilities. Western blot was used to detect the protein expression of stemness markers (Nanog, Sox2, Oct4, KLF4, and CD133) in each group of cells. **Results** The expression levels of DNMT1 mRNA and protein in MHCC97-H, Hep3B, Huh7, and HepG2 were significantly higher than those in LO2 ($t_{\text{mRNA}}=8.10\sim 45.09$, $t_{\text{protein}}=4.63\sim 22.66$, all $P<0.05$). Compared with the CsIVa 0 $\mu\text{mol/L}$ group, the CsIVa 50, 100, and 200 $\mu\text{mol/L}$ groups showed significantly reduced DNMT1 expression, cell proliferation, migration, invasion, and cell spheroid formation in HepG2 cells ($t=4.32\sim 36.18$, all $P<0.05$), the protein levels of Nanog, Sox2, Oct4, KLF4, and CD133 were also significantly decreased ($t=4.09\sim 39.27$, all $P<0.05$), and the apoptosis rate was significantly increased ($t=7.12\sim 18.34$, all $P<0.05$). Compared with the CsIVa 200 $\mu\text{mol/L}$ group, the CsIVa 200 $\mu\text{mol/L}$ + DNMT1 group showed significantly increased DNMT1 expression, cell proliferation, migration, invasion, and cell spheroid formation in HepG2 cells ($t=7.42\sim 16.35$, all $P<0.05$), the protein levels of Nanog, Sox2, Oct4, KLF4, and CD133 were also significantly increased ($t=10.79\sim 24.80$, all $P<0.05$), and the apoptosis rate was significantly reduced ($t=4.48$, $P<0.05$). **Conclusions** CsIVa downregulates DNMT1 expression to inhibit the growth, and metastatic potential, and stemness characteristics of hepatocellular carcinoma cells.

基金项目: 上海市第四人民医院科研启动专项(sykyqd02201)。

作者简介: 冯变莹(1985-), 女, 硕士研究生, 主管技师, 研究方向: 细胞蛋白组学标志物筛选, E-mail: fengbianying@outlook.com。

Keywords: Chikusetsusaponin IVa; hepatocellular carcinoma; DNA methyltransferase 1; proliferation; migration; invasion; stemness characteristics

肝细胞癌是常见的原发性恶性肿瘤,其死亡率位居恶性肿瘤的第四位^[1-2];肝癌的发病因素复杂,与感染、代谢、肥胖以及遗传等密切相关^[3],并且由于发病隐匿,多数患者确诊时已处于中晚期,错过手术切除或肝移植治疗的关键时期^[4]。目前,肝细胞癌的主要治疗方式为化疗、放疗、手术以及靶向治疗等^[5],但疗效及患者的耐受性有限,并且存在肿瘤复发和耐药等问题^[6],因此,探究新型的治疗药物,对肝细胞癌的治疗具有重大意义。中药及中药单体由于其安全有效的特点在抗肿瘤药物的研发中发挥重要的作用^[7],而竹节参是五加科人参属中药,具有抗炎、抗肿瘤、保护血管和保护神经的功能^[8]。竹节参的主要活性成分为竹节参皂苷,竹节参皂苷IVa(Chikusetsusaponin IVa, CsIVa)是主要的中药单体^[9],研究指出,CsIVa可抑制乳腺癌细胞的生长和转移^[10]。SONG等^[11]研究指出,CsIVa可诱导肝癌细胞HepG2的凋亡。CsIVa对肝细胞癌多种恶性生物学行为的影响尚不清楚,且需要深入探究CsIVa对肝细胞癌的影响。DNA甲基转移酶1(DNA methyltransferase 1, DNMT1)通过催化DNA分子中CpG二核苷酸的5'胞嘧啶甲基化,调控基因的表达^[12]。LI等^[13]研究指出,抑制DNMT1可抑制肝癌细胞的凋亡及干细胞特性,但CsIVa是否是通过抑制DNMT1而影响肝癌细胞的凋亡尚不明确,本文即探究了CsIVa对DNMT1表达及其对肝细胞癌生长、转移及干细胞特性的影响,旨在为肝细胞癌治疗药物的发现提供帮助。

1 材料与方法

1.1 研究对象 人肝细胞LO2、人肝癌细胞株HepG2、Huh7、Hep3B和MHCC97-H购于湖南丰晖生物科技有限公司。

1.2 试剂及仪器 Lipofectamine™ 3000试剂(美国赛默飞世尔科技有限公司);竹节参皂苷IVa(CsIVa)(纯度>98%,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);HiScript IV All-in-One Ultra RT SuperMix试剂盒和ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix试剂盒(南京诺唯赞生物科技有限公司);细胞增殖和细胞凋亡检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);血清替代物B27、碱性成纤维细胞生长因子(basic fFibroblast Growth Factor, bFGF)和表皮细胞生长因子(Epidermal Growth Factor, EGF)(上海翊圣生物科技有限公司);Nanog、Sox2、Oct4、KLF4、CD133、GAPDH抗体和山羊抗鼠IgG二抗(华安生物科技有限公司)。Miltenyi Biotec流式细胞仪(德国美天旎公司);Quantstudio 3 qPCR仪(美国Thermo Fisher公司)。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养: LO2、HepG2、Huh7、Hep3B和MHCC97-H细胞均培养于含10g/dl胎牛血清的RPMI 1640完全培养基中,细胞生长至汇合度约80%时进行胰酶消化并传代。

1.3.2 细胞分组及转染: HepG2细胞分为CsIVa 0、50、100、200 μmol/L组(分别与0、50、100、200 μmol/L CsIVa共孵育24 h)和CsIVa 200 μmol/L+ DNMT1组(转染DNMT1过表达质粒后与200 μmol/L CsIVa共孵育24h),按照上述分组采用Lipofectamine™ 3000试剂进行转染。

1.3.3 qRT-PCR检测细胞DNMT1 mRNA相对表达量: Trizol提取细胞中总RNA。HiScript IV All-in-One Ultra RT SuperMix试剂盒进行逆转录反应合成cDNA,反应体系为: mRNA 1 μg、4 × All-in-One Ultra qRT SuperMix 5 μl,补充RNase-free ddH₂O至20 μl,反应程序为: 50℃ 5 min、85℃ 5s。ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix试剂盒继续qPCR反应,反应体系为: 2 × ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 10 μl、上、下游引物各0.4 μl、cDNA模板2 μl、RNase-free ddH₂O 7.2 μl;反应程序为: 95℃ 预变性30s; 95℃ 10s, 60℃ 10s, 40次循环。记录Ct值,以GAPDH为内参,使用2^{-ΔΔCt}法计算DNMT1 mRNA相对表达量。引物序列见表1。

表 1 DNMT1 和 GAPDH 引物序列	
基因	引物序列 (5'-3')
DNMT1	正向: GGGGACGACGGGAAGACCT;
	反向: CCGGCCAATTCGGTAGGG
GAPDH	正向: GGCAAATTCATGGCACCGT;
	反向: GCATCGCCCCACTTGATTTT

1.3.4 CCK-8法检测细胞增殖: CsIVa 0、50、100、200 μmol/L组HepG2细胞接种至96孔板,细胞贴壁后将96孔板中培养基更换为含CsIVa 0、50、100、200 μmol/L的新鲜培养基。CsIVa 200 μmol/L+ DNMT1组细胞转染DNMT1 siRNA后接种至96孔板,贴壁后培养基更换为含CsIVa 200 μmol/L的新鲜培养基,上述各组细胞接种密度为1 × 10³个/孔,每组3个复孔(n=3),96孔板置于培养箱中,分别在0、24、48、72 h取出对应的96孔板,每孔加入10 μl的CCK-8溶液,37℃孵育4h,酶标仪检测450nm波长下各孔吸光度(A)值。

1.3.5 流式细胞术检测细胞凋亡: 取各组HepG2细胞1 × 10⁶个于流式管中,并用100 μl无菌PBS重悬,每管加入5 μl Annexin-FITC和5 μl PI染料,4℃避光染

色30 min,清洗1次后,用500 μl PBS重悬,每组3个复孔($n=3$),并使用流式细胞仪检测各组HepG2细胞凋亡率。

1.3.6 Transwell法检测细胞迁移和侵袭:取各组HepG2细胞用不含血清的RPMI 1640培养基稀释至 5×10^4 个/ml,取100 μl上述细胞悬液接种至Transwell小室(用于检测细胞侵袭能力的小室铺50 μl Matrigel胶)中,小室置于24孔板中,各孔分别加入600 μl含10g/dl胎牛血清的RPMI 1640培养基,每组3个复孔($n=3$),培养箱中共孵育24h,取出Transwell小室,底部使用4g/dl多聚甲醛固定30 min,使用结晶紫溶液染色10 min,显微镜下观察并拍照,使用Image J软件统计细胞迁移和细胞数。

1.3.7 细胞成球实验:将HepG2细胞或转染DNMT1过表达质粒后的HepG2细胞用于干细胞培养基(为RPMI 1640+1 × B27+20ng/ml bFGF+20ng/ml EGF)重悬,并稀释为 2.5×10^3 个/ml, CsIVa 0、50、100、200 μmol/L组和CsIVa 200 μmol/L+ DNMT1组分别加入对应浓度的CsIVa,低吸附的6孔板中每孔接种2 ml细胞悬液,每组3个复孔($n=3$),培养板置于培养箱中培养1周,隔天补充培养液,显微镜下观察并拍照,Image J软件统计细胞成球数。

1.3.8 Western blot检测干细胞相关蛋白表达:RIPA蛋白裂解液提取细胞总蛋白,BCA蛋白定量,各组取10 μg蛋白进行SDS-聚丙烯酰胺凝胶,湿法转膜,聚偏二氟乙烯(PVDF)膜与Nanog(1:1 000)、Sox2

(1:1 000)、Oct4(1:1 000)、KLF4(1:1 000)、CD133(1:1 000)和GAPDH(2:1 000)抗体4℃孵育过夜,洗膜后与山羊抗鼠二抗(1:5 000)室温孵育1 h,洗膜后,使用ECL发光液显影,Image J软件计算灰度值,以GAPDH为内参,比较蛋白相对表达量。

1.4 统计学分析 使用Graphpad prism 9.0软件进行绘图及统计学分析,实验数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较使用单因素方差分析,两组间比较使用 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 竹节参皂苷IVa对肝细胞癌细胞DNMT1表达水平的影响 Western blot和qRT-PCR检测结果均显示,肝细胞癌细胞株MHCC97-H、Hep3B、Huh7和HepG2中DNMT1 mRNA和蛋白表达水平均显著高于其在人肝细胞LO2中的DNMT1 mRNA和蛋白表达($t_{\text{mRNA}}=26.82、39.20、8.10、45.09; t_{\text{蛋白}}=4.63、11.75、19.70、22.66$,均 $P < 0.05$), HepG2细胞中DNMT1 mRNA和蛋白表达水平最低(见表2),选择HepG2细胞用于后续实验。Western blot检测结果显示, CsIVa 50、100、200 μmol/L组HepaG2细胞DNMT1蛋白表达($0.61 \pm 0.04、0.30 \pm 0.04$ 和 0.11 ± 0.02)均显著低于CsIVa 0 μmol/L组(0.91 ± 0.03)($t=10.88、22.19、36.18$,均 $P < 0.05$),且呈剂量依赖性。并且CsIVa 200 μmol/L+ DNMT1组细胞DNMT1蛋白表达(0.33 ± 0.03)显著高于CsIVa 200 μmol/L组($t=11.67, P < 0.05$)。

表2 LO2、HepG2、Huh7、Hep3B和MHCC97-H中DNMT1 mRNA和蛋白表达水平比较 [$\bar{x} \pm s, n=3$]

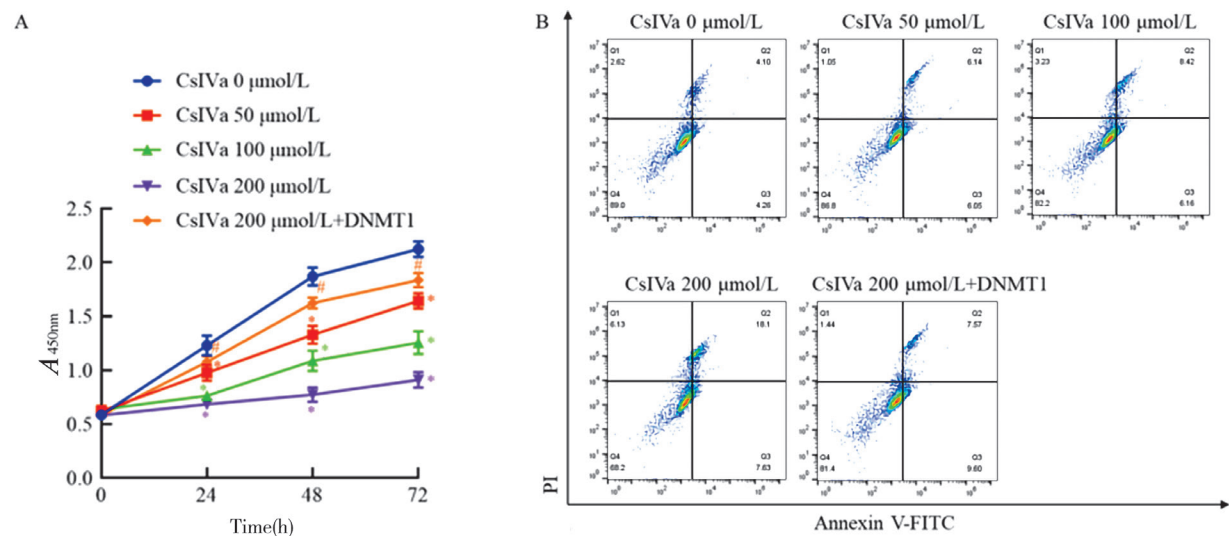
项目	LO2	HepG2	Huh7	Hep3B	MHCC97-H
DNMT1 mRNA	1.00 ± 0.01	1.68 ± 0.04 [*]	1.86 ± 0.03 [*]	2.24 ± 0.27 [*]	2.74 ± 0.07 [*]
DNMT1 蛋白	0.07 ± 0.01	0.17 ± 0.04 [*]	0.52 ± 0.07 [*]	0.65 ± 0.05 [*]	0.81 ± 0.06 [*]

注:与LO2细胞比较, ^{*} $P < 0.05$ 。

2.2 竹节参皂苷IVa调控DNMT1对肝细胞癌细胞增殖和凋亡的影响 细胞增殖检测结果(图1A)显示,培养72h时, CsIVa 50、100、200 μmol/L组HepaG2细胞增殖能力均显著低于CsIVa 0 μmol/L组($t=8.20、11.77、20.77$,均 $P < 0.05$),且增殖能力降低呈剂量依赖性, CsIVa 200 μmol/L+DNMT1组HepaG2细胞增殖能力显著高于CsIVa 200 μmol/L组($t=16.35, P < 0.05$)。流式细胞术检测结果(图1B)显示, CsIVa 50、100、200 μmol/L组HepaG2细胞凋亡水平 $12.40\% \pm 0.99\%、14.59\% \pm 0.52\%$ 和 $23.51\% \pm 2.70\%$ 均显著高于CsIVa 0 μmol/L组 $8.13\% \pm 0.31\%$,差异具有统计学意义($t=7.12、18.34、8.13$,均 $P < 0.05$),且

凋亡增加呈剂量依赖性, CsIVa 200 μmol/L+DNMT1组HepaG2细胞凋亡水平 $15.82\% \pm 1.23\%$ 显著低于CsIVa 200 μmol/L组,差异具有统计学意义($t=4.48, P < 0.05$)。

2.3 竹节参皂苷IVa调控DNMT1对肝细胞癌细胞迁移和侵袭能力的影响 见表3。Transwell检测结果显示, CsIVa 50、100、200 μmol/L组HepaG2细胞迁移和侵袭数均显著低于CsIVa 0 μmol/L组($t_{\text{迁移}}=7.09、10.93、20.76, t_{\text{侵袭}}=4.32、10.27、14.04$,均 $P < 0.05$),并且CsIVa 200 μmol/L+DNMT1组HepaG2细胞迁移和侵袭数显著高于CsIVa 200 μmol/L组,差异具有统计学意义($t=9.02、7.42$,均 $P < 0.05$)。



与 CsIVa 0 μmol/L 组比较, **P* < 0.05; 与 CsIVa 200 μmol/L 组比较, #*P* < 0.05。

图1 CsIVa 对 HepG2 细胞增殖 (A) 和凋亡 (B) 的影响

表3 CsIVa 0、50、100、200 μmol/L 组和 CsIVa 200 μmol/L+DNMT1 组 HepG2 细胞迁移数和侵袭数比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	CsIVa 0 μmol/L 组	CsIVa 50 μmol/L 组	CsIVa 100 μmol/L 组	CsIVa 200 μmol/L 组	CsIVa 200 μmol/L+ DNMT1 组
细胞迁移数 (个)	244.30 ± 10.02	196.00 ± 6.25*	171.70 ± 5.69*	107.00 ± 5.57*	207.30 ± 18.45#
细胞侵袭数 (个)	184.70 ± 6.11	165.00 ± 5.00*	125.00 ± 8.00*	96.33 ± 9.02*	170.30 ± 14.74#

注: 与 CsIVa 0 μmol/L 组比较, **P* < 0.05; 与 CsIVa 200 μmol/L 组比较, #*P* < 0.05。

2.4 竹节参皂苷 IVa 调控 DNMT1 对肝细胞癌细胞干性特征的影响 细胞成球实验结果显示, CsIVa 50、100、200 μmol/L 组 HepaG2 细胞成球数为 8.33 ± 1.52 、 5.00 ± 1.00 、 3.00 ± 1.00 个均显著低于 CsIVa 0 μmol/L 组 15.33 ± 1.53 个 ($t=5.61$ 、 9.80 、 11.70 , 均 *P* < 0.05), CsIVa 200 μmol/L+DNMT1 组 HepaG2 细胞成球数为 11.67 ± 1.53 个显著高于 CsIVa 200 μmol/L 组 ($t=8.22$, *P* < 0.05)(见图2)。Western blot 检测结果(表4) 显示,

CsIVa 50、100、200 μmol/L 组 HepaG2 细胞 Nanog、Sox2、Oct4、KLF4 和 CD133 蛋白表达均显著低于 CsIVa 0 μmol/L 组 ($t_{\text{Nanog}}=7.23$ 、 20.79 、 22.29 , $t_{\text{Sox2}}=19.31$ 、 38.17 、 39.27 , $t_{\text{Oct4}}=4.09$ 、 23.14 、 31.18 , $t_{\text{KLF4}}=4.43$ 、 10.28 、 38.33 , $t_{\text{CD133}}=6.67$ 、 15.70 、 34.10 , 均 *P* < 0.05), CsIVa 200 μmol/L+DNMT1 组 HepaG2 细胞 Nanog、Sox2、Oct4、KLF4 和 CD133 蛋白均显著高于 CsIVa 200 μmol/L 组 ($t=24.80$ 、 12.30 、 18.84 、 13.48 、 10.79 , 均 *P* < 0.05)。

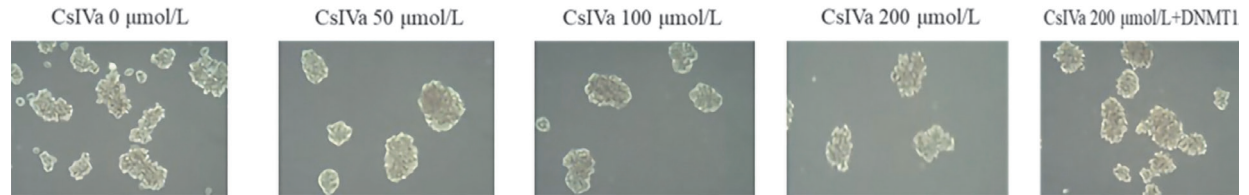


图2 CsIVa 对 HepG2 细胞成球数的影响 (200 ×)

表4 HepG2 细胞 Nanog、Sox2、Oct4、KLF4 和 CD133 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	CsIVa 0 μmol/L 组	CsIVa 50 μmol/L 组	CsIVa 100 μmol/L 组	CsIVa 200 μmol/L 组	CsIVa 200 μmol/L+ DNMT1 组
Nanog	1.32 ± 0.07	0.95 ± 0.05*	0.37 ± 0.03*	0.15 ± 0.05*	0.98 ± 0.03#
Sox2	0.87 ± 0.03	0.28 ± 0.05*	0.20 ± 0.02*	0.11 ± 0.02*	0.49 ± 0.05#
Oct4	0.86 ± 0.04	0.71 ± 0.05*	0.17 ± 0.03*	0.11 ± 0.01*	0.60 ± 0.04#
KLF4	1.09 ± 0.03	0.99 ± 0.02*	0.87 ± 0.02*	0.22 ± 0.03*	0.89 ± 0.08#
CD133	1.86 ± 0.06	1.36 ± 0.11*	1.19 ± 0.03*	0.48 ± 0.02*	1.06 ± 0.09#

注: 与 CsIVa 0 μmol/L 组比较, **P* < 0.05; 与 CsIVa 200 μmol/L 组比较, #*P* < 0.05。

3 讨论

目前,肝细胞癌的临床主要的治疗方式为手术和化疗,但存在肿瘤复发、转移和免疫逃逸等问题^[14-15]。研究指出,中医药抗肝癌具有良好的效果及安全性,对于肝癌的临床治疗具有重要意义,探究多种对肝癌具有治疗作用的中药组分或者中药单体具有重要意义^[16]。

竹节参属于五加科人参属传统中药,其药理功能包括抗炎、镇痛和免疫调节等^[17]。GUI等^[18]研究发现,竹节参可调节肿瘤免疫而影响结肠癌的进展;PU等^[19]研究发现,竹节参可调控巨噬细胞极化而影响肿瘤的生长。竹节参的活性成分包括人参皂苷Ro和CsIVa等^[20],其中CsIVa具有诱导肝细胞癌HepG2的凋亡的功能^[11]。本文即探究了CsIVa对肝细胞癌细胞恶性生物学行为的影响及机制,首先,本研究发现在CsIVa作用下,HepG2细胞增殖、迁移、侵袭均显著降低,细胞凋亡数显著增加,提示CsIVa具有应用于肝细胞癌治疗的潜在价值。

肿瘤细胞干性是肿瘤细胞自我更新和多向分化等发展过程的基础,可驱动肿瘤细胞的生长和转移等恶性生物学行为^[21]。本研究发现,在CsIVa作用下,HepG2细胞成球数降低,Nanog、Sox2、Oct4、KLF4和CD133蛋白表达亦均显著下调,Nanog、Sox2、Oct4、KLF4和CD133为肿瘤细胞干性标志物^[22],提示CsIVa具有对于肝细胞癌细胞干性调控的功能。

DNMT1是催化DNA甲基化的关键酶,具有调控细胞周期、抑癌基因表达和肿瘤细胞干性的功能,与肿瘤发生、转移和耐药等密切相关^[23-24]。DNMT1在肝癌中发挥重要的调控功能,ZHU等^[25]研究发现,DNMT1通过甲基化沉默miR-378a-3p促进肝细胞癌细胞的血管新生。CHEN等^[26]研究发现,mTOR信号激活可上调DNMT1而促进肝细胞癌的进展。LI等^[27]研究指出,DNMT1可调控干细胞相关基因Nanog和Oct4的表达,本文通过检测发现DNMT1在肝细胞癌细胞中高表达。YU等^[28]研究发现,DNMT1可通过诱导RAI2 DNA甲基化而促进肝细胞癌的生长和转移功能。而本研究亦发现在CsIVa作用下,HepG2细胞DNMT1表达显著下调,所以推测CsIVa通过下调DNMT1表达而抑制肝细胞癌的恶性生物学行为。在HepG2细胞与200 μ mol/L CsIVa共孵育同时过表达DNMT1,发现过表达DNMT1后可显著逆转CsIVa对HepG2细胞增殖、迁移、侵袭以及细胞成球能力的抑制,同时上调干性标志物的表达,即说明CsIVa调控DNMT1影响肝细胞癌的恶性生物学行为。

综上所述,本研究发现了CsIVa可抑制肝细胞癌细胞的生长、转移以及干性,并且CsIVa可通过抑

制DNMT1可影响肝细胞癌细胞的生长、转移以及干性。在后续的研究中,本团队会通过分子模拟结合基因测序的方法挖掘CsIVa与DNMT1直接或间接作用的方式,为CsIVa调控肝细胞癌恶性生物学行为的机制探究提供参考。

参考文献:

- [1] 张乔盟,杨蕊菲,冯飞雪,等.原发性肝细胞癌相关风险评估模型的最新研究进展[J].现代检验医学杂志,2025,40(1): 203-207.
ZHANG Q M, YANG R F, FENG F X, et al. Latest research progress on risk scoring models for primary hepatocellular carcinoma[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2025, 40(1): 203-207.
- [2] RIZZO A, BRUNETTI O, BRANDI G. Hepatocellular carcinoma immunotherapy: predictors of response, issues, and challenges[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(20): 11091.
- [3] COUZINET A, SUZUKI T, NAKATSURA T. Progress and challenges in glypican-3 targeting for hepatocellular carcinoma therapy[J]. Expert Opinion on Therapeutic Targets, 2024, 28(10): 895-909.
- [4] SATO-ESPINOZA K, VALDIVIA-HERRERA M, CHOTIPRASIDHI P, et al. Hepatocellular carcinoma in patients without cirrhosis[J]. World Journal of Gastroenterology, 2025, 31(23): 107100.
- [5] BLOOM M, PODDER S, DANG H, et al. Advances in immunotherapy in hepatocellular carcinoma[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2025, 26(5): 1936.
- [6] YEO Y H, ABDELMALEK M, KHAN S, et al. Current and emerging strategies for the prevention of hepatocellular carcinoma[J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2025, 22(3): 173-190.
- [7] LIU Y W, LUO R Y, LIU A Q, et al. Identification of chikusetsusaponin IVa as a novel lysine-specific demethylase 1 inhibitor that ameliorates high fat diet-induced MASLD in mice[J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2025, 46(3): 632-652.
- [8] YANG Y S, JIANG Y F, QIAN D Y, et al. Chikusetsusaponin IVa improves osseointegration by inhibiting osteoblast ferroptosis via the GSK3 β /NRF2/GPX4 pathway[J]. Biochemical Pharmacology, 2025, 242(Pt 1): 117227.
- [9] LIANG Y T, FAN T T, BAI M, et al. Chikusetsu Saponin IVa liposomes modified with a retro-enantio peptide penetrating the blood-brain barrier to suppress pyroptosis in acute ischemic stroke rats[J]. Journal of Nanobiotechnology, 2024, 22(1): 393.
- [10] XIE Q, LIU Y, LONG Y, et al. Hybrid-cell membrane-coated nanocomplex-loaded chikusetsusaponin IVa methyl ester for a combinational therapy against breast cancer assisted by Ce6[J]. Biomater Sci, 2021, 9(8): 2991-3004.
- [11] SONG X M, WANG W, ZHANG X, et al. Deglucose chikusetsusaponin IVa isolated from Rhizoma Panacis Majoris induces apoptosis in human HepG2 hepatoma cells[J]. Molecular Medicine Reports, 2015, 12(4): 5494-5500.
- [12] TÓTH D M, SZERI F, ASHABER M, et al. Tissue-specific roles of de novo DNA methyltransferases[J]. Epi-

- genetics & Chromatin, 2025, 18(1): 5.
- [13] LI J W, CHENG X Z, HUANG D G, et al. Six2 regulates the malignant progression and 5-FU resistance of hepatocellular carcinoma through the PI3K/AKT/mTOR pathway and DNMT1/E-cadherin methylation mechanism[J]. Neoplasma, 2024, 71(5): 451-462.
- [14] HAN B, YAO F. Alcohol and hepatocellular carcinoma[J]. Clinics in Liver Disease, 2024, 28(4): 633-646.
- [15] ZHONG B Y, FAN W Z, GUAN J J, et al. Combination locoregional and systemic therapies in hepatocellular carcinoma[J]. Lancet Gastroenterology Hepatology, 2025, 10(4): 369-386.
- [16] SHA M, LI X H, LIU Y, et al. Comparative chemical characters of *Pseudostellaria heterophylla* from geographical origins of China[J]. Chinese Herbal Medicines, 2023, 15(3): 439-446.
- [17] YANG Y, WEN L, JIANG Z Z, et al. Chemical properties, preparation, and pharmaceutical effects of cyclic peptides from *Pseudostellaria heterophylla*[J]. Molecules, 2025, 30(12): 2521-2540.
- [18] GUI Y, WU H, FAN H. *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax, a traditional folk medicine, ameliorates colorectal cancer by remodeling the tumor immune microenvironment [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2025, 342: 119362.
- [19] PU Y W, ZHU J M, XU J, et al. Antitumor effect of a polysaccharide from *Pseudostellaria heterophylla* through reversing tumor-associated macrophages phenotype[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 220: 816-826.
- [20] LI H, WANG S Y, YANG Z S, et al. Advances in *Pseudostellaria heterophylla* research: current status and future directions[J]. Molecules, 2025, 30(17): 3656.
- [21] ZHOU L Y, HE L Y, LIU C H, et al. Liver cancer stem cell dissemination and metastasis: uncovering the role of NRCAM in hepatocellular carcinoma[J]. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 2023, 42(1): 311.
- [22] CHEN J S, ZHANG H X, XIU C Y, et al. METTL3 promotes pancreatic cancer proliferation and stemness by increasing stability of ID2 mRNA in a m6A-dependent manner[J]. Cancer Letters, 2023, 565: 216222.
- [23] YAN L, GENG Q, CAO Z W, et al. Insights into DNMT1 and programmed cell death in diseases[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2023, 168: 115753.
- [24] QIN S K, CHEN H H, TIAN C C, et al. NS1-mediated DNMT1 degradation regulates human bocavirus 1 replication and RNA processing[J]. PLOS Pathogens, 2024, 20(11): e1012682.
- [25] ZHU B, CHEN J J, FENG Y, et al. DNMT1-induced miR-378a-3p silencing promotes angiogenesis via the NF- κ B signaling pathway by targeting TRAF1 in hepatocellular carcinoma[J]. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 2021, 40(1): 352.
- [26] CHEN M K, FANG Y, LIANG M N, et al. The activation of mTOR signalling modulates DNA methylation by enhancing DNMT1 translation in hepatocellular carcinoma[J]. Journal of Translational Medicine, 2023, 21(1): 276.
- [27] LI K J, NING T, WANG H, et al. Nanosecond pulsed electric fields enhance mesenchymal stem cells differentiation via DNMT1-regulated OCT4/NANOG gene expression[J]. Stem Cell Research & Therapy, 2020, 11(1): 308.
- [28] YU Y, LU X H, YAN Y, et al. The lncRNA KIF9-AS1 accelerates hepatocellular carcinoma growth by recruiting DNMT1 to promote RAI2 DNA methylation[J]. Journal of Oncology, 2022, 2022: 3888798.
- 收稿日期: 2025-10-22
修回日期: 2025-12-14

(上接第45页)

- DONG Y M, LU N, ZHANG C. Advances in innate immune evasion strategies of enterovirus 71[J]. Chinese Journal of Microbiology and Immunology, 2021, 41(6): 493-500.
- [15] 许兆杰, 吴京学, 王娇, 等. 大连地区健康成年人外周血T淋巴细胞15种免疫表型分析研究[J]. 现代检验医学杂志, 2025, 40(1): 1-6, 12.
- XU Z J, WU J X, WANG J, et al. Analysis of 15 immunophenotypes of peripheral blood T lymphocytes in Dalian area[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2025, 40(1): 1-6, 12.
- [16] WANG C, HUANG M H, GUO B Y, et al. Severe enterovirus A71 infection is associated with dysfunction of T cell immune response and alleviated by Astragaloside A[J]. Virologica Sinica, 2025, 40(3): 451-461.
- [17] WANG P T Q, KLJAVIN N, NGUYEN T T T, et al. Adrenergic nerves regulate intestinal regeneration through IL-22 signaling from type 3 innate lymphoid cells[J]. Cell Stem Cell, 2023, 30(9): 1166-1178, e8.
- [18] ZHANG H Y, SONG Z G, ZOU J Y, et al. An infectious clone of enterovirus 71(EV71) that is capable of infecting neonatal immune competent mice without adaptive mutations[J]. Emerging Microbes & Infections, 2020, 9(1): 427-438.
- [19] 张颖, 秦红, 刘凤霞, 等. 手足口病患儿血清LTB4和COX2水平表达与疾病严重程度及预后的相关性研究[J]. 现代检验医学杂志, 2022, 37(5): 143-147.
- ZHANG Y, QIN H, LIU F X, et al. Correlation between serum LTB4 and COX2 levels expression and disease severity, prognosis in children with hand, foot and mouth disease[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2022, 37(5): 143-147.
- [20] ZHANG W J, HUANG Z G, HUANG M Y, et al. Predicting severe enterovirus 71-infected hand, foot, and mouth disease: cytokines and chemokines[J]. Mediators of Inflammation, 2020, 2020: 9273241.
- [21] ZHANG C, TANG S, ZONG X, et al. Anti-IL-22 neutralizing antibodies decrease inflammation lesions and reduce mortality in enterovirus 71-infected mice[J]. Cellular and Molecular Biology, 2023, 69(15): 254-258.
- [22] DONG Y M, LIU J, LU N, et al. Enterovirus 71 antagonizes antiviral effects of type III interferon and evades the clearance of intestinal intraepithelial lymphocytes[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 806084.
- 收稿日期: 2025-10-11
修回日期: 2026-02-03