

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.13.010
文章编号: 1005-8982 (2022) 13-0056-07

实验研究·论著

银杏叶提取物通过 JAK2/STAT3 信号通路调控食管癌细胞 EC9706 增殖、凋亡、侵袭、迁移的研究

照日格吐¹, 孙志刚¹, 焦杰¹, 刘悦²

[1. 内蒙古自治区人民医院 胸外科, 内蒙古 010020; 2. 湖北文理学院附属医院 (襄阳市中心医院) 消化内科, 湖北 襄阳 441021]

摘要: **目的** 探讨银杏叶提取物对食管癌细胞 EC9706 增殖、凋亡、侵袭、迁移的影响及机制。**方法** 食管癌细胞 EC9706 分为对照组(不做任何处理)、不同浓度银杏叶提取物组(100 mg/L、200 mg/L、400 mg/L 银杏叶提取物)、银杏叶提取物+白细胞介素-6 (IL-6) 组(20 ng/ml IL-6 和 400 mg/L 银杏叶提取物)。采用 CCK-8 法检测各组细胞的光密度(OD)值; 采用流式细胞术检测各组细胞凋亡率; Transwell 实验检测各组细胞的迁移和侵袭; Western blotting 检测细胞增殖核抗原 Ki-67、裂解的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (Cleaved-caspase-3)、基质金属蛋白酶-2 (MMP-2)、基质金属蛋白酶-9 (MMP-9)、磷酸化酪氨酸激酶 2 (p-JAK2)、磷酸化信号转导和转录激活因子 3 (p-STAT3) 蛋白相对表达量。**结果** 对照组, 100 mg/L、200 mg/L、400 mg/L 银杏叶提取物组, 银杏叶提取物+IL-6 组细胞 OD 值比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与对照组相比, 不同浓度银杏叶提取物组 EC9706 细胞 OD 值均降低 ($P < 0.05$), 细胞活性降低, 且呈浓度依赖性; 银杏叶提取物+IL-6 组较 400 mg/L 银杏叶提取物组 EC9706 细胞活性升高 ($P < 0.05$)。5 组的细胞凋亡率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与对照组相比, 不同浓度银杏叶提取物组 EC9706 细胞凋亡率升高 ($P < 0.05$), 且呈浓度依赖性; 银杏叶提取物+IL-6 组 EC9706 细胞凋亡率较 400 mg/L 银杏叶提取物组降低 ($P < 0.05$)。5 组细胞的 Ki-67、Cleaved-caspase-3 蛋白相对表达量比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 不同浓度银杏叶提取物组 Ki-67 蛋白相对表达量较对照组均降低 ($P < 0.05$), 银杏叶提取物+IL-6 组 Ki-67 蛋白相对表达量较 400 mg/L 银杏叶提取物组升高 ($P < 0.05$); 不同浓度银杏叶提取物组 Cleaved-caspase-3 蛋白相对表达量较对照组均升高 ($P < 0.05$), 银杏叶提取物+IL-6 组 Cleaved-caspase-3 蛋白相对表达量较 400 mg/L 银杏叶提取物组降低 ($P < 0.05$)。对照组、400 mg/L 银杏叶提取物组、银杏叶提取物+IL-6 组细胞的 MMP-2、MMP-9、p-JAK2、p-STAT3 蛋白相对表达量比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 400 mg/L 银杏叶提取物组较对照组均降低 ($P < 0.05$), 银杏叶提取物+IL-6 组较 400 mg/L 银杏叶提取物组均升高 ($P < 0.05$)。对照组、400 mg/L 银杏叶提取物组及银杏叶提取物+IL-6 组 EC9706 细胞迁移数、细胞侵袭数比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 400 mg/L 银杏叶提取物组 EC9706 细胞迁移数、细胞侵袭数较对照组减少 ($P < 0.05$), 银杏叶提取物+IL-6 组 EC9706 细胞迁移数、细胞侵袭数较 400 mg/L 银杏叶提取物组增多 ($P < 0.05$)。**结论** 银杏叶提取物可能通过阻断 JAK2/STAT3 信号通路抑制食管癌细胞 EC9706 增殖、侵袭、迁移, 促进细胞凋亡。

关键词: 食管癌; 银杏叶提取物; JAK/STAT3 信号通路; 增殖; 凋亡; 侵袭; 迁移

中图分类号: R735.1

文献标识码: A

Ginkgo biloba extract regulates the proliferation, apoptosis, invasion and migration of esophageal cancer cell EC9706 through JAK2/STAT3 signaling pathway and its clinical significance

收稿日期: 2021-12-10

[通信作者] 刘悦, E-mail: 523468211@qq.com

Ri Ge-tu Zhao¹, Zhi-gang Sun¹, Jie Jiao¹, Yue Liu²

(1. Department of Thoracic Surgery, People's Hospital of Inner Mongolia Autonomous Region, Inner Mongolia 010020 China; 2. Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Hubei University of Arts and Science, Xiangyang Central Hospital, Xiangyang, Hubei 441021, China)

Abstract: Objective To explore the effect and mechanism of Ginkgo biloba extract on proliferation, apoptosis, invasion and migration of esophageal cancer cell EC9706. **Methods** Esophageal cancer cells EC9706 were divided into control group (without any treatment), Ginkgo biloba extract group (400 mg/L Ginkgo biloba extract), and different concentrations of Ginkgo biloba extract group (100 mg/L, 200 mg/L, 400 mg/L Ginkgo biloba extract), Ginkgo biloba extract + IL-6 group (20 ng/mL IL-6 and 400 mg/L Ginkgo biloba extract). Western blot detection of cell proliferation nuclear antigen Ki-67 (Ki-67), cleaved cysteine-containing aspartate-specific proteases-3 (Cleaved-caspase-3), matrix metalloprotein (MMP) -2, MMP-9, phosphorylated tyrosine kinase (p-JAK2), phosphorylation signal transduction and transcription activator 3 (p-STAT3) protein expression; cell counting kit 8 (CCK-8) to detect cell activity; flow cytometry to detect apoptosis; Transwell detects cell migration and invasion. **Results** Compared with the NC group, the expression level of Ki-67 in EC9706 cells of different concentrations of Ginkgo biloba extract group was decreased ($P < 0.05$), cell activity was decreased ($P < 0.05$), and Cleaved-caspase-3 expression level was increased ($P < 0.05$), cell apoptosis rate was increased ($P < 0.05$), and was concentration-dependent. Compared with the NC group, the levels of MMP-2 and MMP-9 expression of EC9706 cells in the 400 mg/L Ginkgo biloba extract group were decreased ($P < 0.05$), the number of cell migration ($P < 0.05$), and the number of invasions were decreased ($P < 0.05$), p-JAK2 level and p-STAT3 expression level were decreased ($P < 0.05$). Compared with the Ginkgo biloba extract group, the EC9706 cell activity in the Ginkgo biloba extract + IL-6 group was increased ($P < 0.05$), the apoptosis rate was reduced ($P < 0.05$), the number of cell migration ($P < 0.05$), and the number of invasions increased ($P < 0.05$), Ki-67 level, MMP-2 level, MMP-9 expression level were increased ($P < 0.05$), Cleaved-caspase-3 level, p-JAK2 level, p-STAT3 expression level were decreased ($P < 0.05$) **Conclusions** Ginkgo biloba extract may inhibit the proliferation, invasion and migration of esophageal cancer cell EC9706 by blocking JAK/STAT3 signaling pathway and promote apoptosis.

Keywords: esophageal neoplasma; Ginkgo biloba extract; JAK/STAT3 signaling pathway; proliferation; apoptosis; invasion; migration

食管癌是临床常见的消化道恶性肿瘤。外科手术是早期患者主要的治疗方法, 中晚期患者以放化疗为主, 但效果欠佳, 且毒副作用会加重患者痛苦; 中医药治疗可帮助食管癌患者术后的调理和恢复, 并能配合西医, 改善患者的生活质量、延长生命, 且毒副作用小, 有相辅相成之效^[1-4]。银杏叶提取物是从银杏叶中提取的有药理活性的混合物, 主要成分包括黄酮类、萜内脂类、有机酸类等, 具有保护神经系统、抗氧化和抗肿瘤等作用^[5-6]。有研究报道银杏叶提取物能诱导乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡, 抑制肿瘤细胞增殖^[7]; 还可能通过抑制核转录因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路抑制神经胶质瘤 U87 细胞的增殖和侵袭, 促进细胞凋亡^[8]; 可能通过抑制胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinases, ERK)/NF- κ B/基质金属蛋白酶-2 (matrix metalloproteinase, MMP-2)

信号通路抑制胃癌的侵袭转移^[9]。然而银杏叶提取物对食管癌细胞的增殖、侵袭、迁移、凋亡的影响及机制尚不清楚。

信号转导子和转录激活子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 是一种细胞内重要的转录因子, 在体内可被其最常见的上游激酶——酪氨酸激酶 (tyrosine kinase, JAK) 磷酸化激活, JAK/STAT3 信号通路的异常活化能促进肿瘤的发生、发展, JAK/STAT3 信号通路的靶向抑制剂可抑制肿瘤发展^[10-11]。有研究^[12]报道 LINC01535 通过激活 JAK/STAT3 通路促进食管鳞状细胞癌增殖并抑制凋亡。还有研究报道缺血性脑卒中后银杏叶提取物可通过抑制 JAK2/STAT3 通路抑制星形胶质细胞脂质 2 (lipocalin-2, LCN2) 表达并减轻神经炎症损伤^[13]。然而银杏叶提取物是否通过 JAK2/STAT3 信号通路影响食管癌细胞的增殖、凋亡、侵袭、迁移

尚不清楚。基于此,本实验研究银杏叶提取物对食管癌细胞EC9706的增殖、凋亡、侵袭、迁移的影响及其机制是否与JAK2/STAT3信号通路有关,为中药治疗食管癌提供参考。

1 材料与方法

1.1 细胞、试剂和仪器

食管癌细胞EC9706购自上海北诺生物科技有限公司。胎牛血清、RPMI 1640培养基购自美国Gibco公司,银杏叶提取物(纯度>98%)购自上海彩佑实业有限公司,白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)购自上海沪震实业有限公司,RIPA蛋白裂解液、二辛可宁酸(BCA)试剂盒、细胞计数试剂盒8(CCK-8)购自北京凯瑞基生物科技有限公司,膜联蛋白V-异硫氰酸荧光素(Annexin V-FITC)/碘化丙锭(PI)凋亡检测试剂盒购自上海信裕生物科技有限公司,Transwell小室、Matrigel胶购自美国BD公司,一抗、二抗购自武汉维诺赛生物技术有限公司。CytoFLEX流式细胞仪购自贝克曼库尔特公司。

1.2 细胞处理与分组

食管癌细胞EC9706用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液在37℃、5%二氧化碳培养箱培养,取对数生长期细胞进行实验。将EC9706细胞以每孔 10×10^4 个细胞接种到6孔板中,每孔体积100 μ L,分别用100 mg/L、200 mg/L、400 mg/L的银杏叶提取物培养,记为不同浓度银杏叶提取物组,用等量基础培养液培养的细胞作为对照组,用400 mg/L银杏叶提取物和20 ng/mL IL-6培养的细胞为银杏叶提取物+IL-6组。

1.3 CCK-8法检测细胞增殖活性

对照组,100 mg/L、200 mg/L、400 mg/L银杏叶提取物组,银杏叶提取物+IL-6组,5组细胞以 2×10^4 个/孔接种在6孔板中,细胞培养48 h,每孔添加10 μ L CCK-8溶液,在酶标仪450 nm波长处检测光密度(OD)值,代表细胞增殖活性。

1.4 流式细胞术检测细胞凋亡

对照组,100 mg/L、200 mg/L、400 mg/L银杏叶提取物组,银杏叶提取物+IL-6组,5组细胞以 2×10^4 个/孔接种在6孔板中,细胞培养48 h,室温下1 000 r/min离心5 min,收集细胞;用预冷的PBS重悬细胞2次,1 000 r/min离心5 min,洗涤细胞;

加入300 μ L的1×Binding Buffer悬浮细胞;重悬后加入10 μ L Annexin V-FITC,混匀后4℃避光孵育10 min,再加入5 μ L PI,避光染色5 min。CytoFLEX流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.5 Western blotting检测Ki-67、Cleaved-caspase-3、MMP-2、MMP-9、p-JAK2、p-STAT3蛋白相对表达量

细胞裂解液提取对照组,100 mg/L、200 mg/L、400 mg/L银杏叶提取物组,银杏叶提取物+IL-6组的细胞总蛋白,用BCA试剂盒定量。分别取50 μ L各组蛋白,煮沸10 min变性后,进行聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,电泳结束后通过电转移法将蛋白质转移至PVDF膜上,封闭1 h;分别加稀释的一抗,4℃孵育过夜,次日取出PVDF膜,PBST充分漂洗(5 min×3次),加入稀释的二抗,室温孵育60 min,PBST充分漂洗(5 min×3次)后,加入化学发光试剂显影。 β -actin为内参。用Image J软件分析各蛋白条带的灰度值,蛋白相对表达量=目的条带/ β -actin条带。其中,100 mg/L、200 mg/L、400 mg/L银杏叶提取物组检测Ki-67、Cleaved-caspase-3蛋白相对表达量;对照组、400 mg/L银杏叶提取物组、银杏叶提取物+IL-6组检测MMP-2、MMP-9、p-JAK2、p-STAT3蛋白相对表达量。

1.6 Transwell实验检测细胞迁移和侵袭

采用8.0 μ m聚碳酸酯膜Transwell小室进行实验。迁移实验:对照组、400 mg/L银杏叶提取物组、银杏叶提取物+IL-6组细胞用无血清培养基以 1×10^4 个/mL的密度悬浮,将100 μ L悬浮液添加到上室,将600 μ L含血清的RPMI 1640培养液添加到下室,温育48 h后,用棉签小心地擦去聚碳酸酯膜表面上未迁移的细胞;4%多聚甲醛固定30 min,0.1%结晶紫染色30 min,用PBS轻轻清洗2次。倒置显微镜下观察细胞计数。侵袭实验:用Matrigel胶包被Transwell小室的上室,其余与细胞迁移实验步骤相同。

1.7 统计学方法

数据分析采用SPSS 20.0统计软件,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较行t检验或方差分析,进一步两两比较用LSD-t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

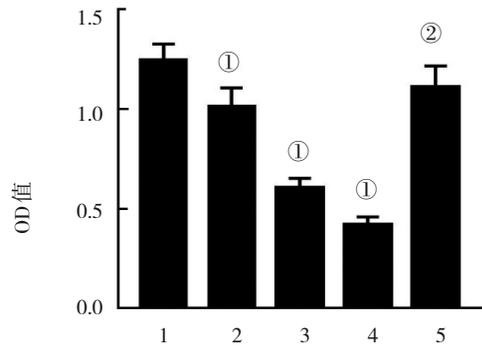
2 结果

2.1 各组 EC9706 细胞 OD 值比较

对照组, 100 mg/L、200 mg/L、400 mg/L 银杏叶提取物组, 银杏叶提取物+IL-6 组, 5 组细胞的 OD 值分别为 (1.246 ± 0.08) 、 (1.015 ± 0.09) 、 (0.602 ± 0.05) 、 (0.418 ± 0.04) 及 (1.108 ± 0.11) , 5 组比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F=181.344, P=0.000$); 进一步两两比较, 与对照组比较, 不同浓度银杏叶提取物组 EC9706 细胞的 OD 值均降低 ($P<0.05$), 细胞活性降低, 且呈浓度依赖性; 银杏叶提取物+IL-6 组与 400 mg/L 银杏叶提取物组比较, 银杏叶提取物+IL-6 组 EC9706 细胞活性升高 ($t=17.895, P=0.000$)。见图 1。

2.2 各组 EC9706 细胞凋亡率的比较

对照组, 100 mg/L、200 mg/L、400 mg/L 银杏叶提取物组, 银杏叶提取物+IL-6 组, 5 组的细胞凋亡率分别为 $(6.29 \pm 0.52)\%$ 、 $(10.03 \pm 0.91)\%$ 、 $(19.12 \pm 1.72)\%$ 、 $(25.09 \pm 2.13)\%$ 及 $(9.13 \pm 0.82)\%$, 5 组比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F=301.217, P=0.000$)。进一步两两比较, 与对照组比



1: 对照组; 2: 100 mg/L 银杏叶提取物组; 3: 200 mg/L 银杏叶提取物组; 4: 400 mg/L 银杏叶提取物组; 5: 银杏叶提取物+IL-6 组。注: ①与对照组比较, $P<0.05$; ②与 400 mg/L 银杏叶提取物组比较, $P<0.05$ 。

图 1 各组 EC9706 细胞 OD 值的比较

较, 不同浓度银杏叶提取物组 EC9706 细胞凋亡率升高 ($P<0.05$), 且呈浓度依赖性; 银杏叶提取物+IL-6 组与 400 mg/L 银杏叶提取物组比较, 银杏叶提取物+IL-6 组 EC9706 细胞凋亡率降低 ($t=21.639, P=0.000$)。见图 2。

400 mg/L 银杏叶提取物能显著抑制 EC9706 细胞增殖和促进细胞凋亡, 故选取 400 mg/L 银杏叶提取物为后续实验浓度。

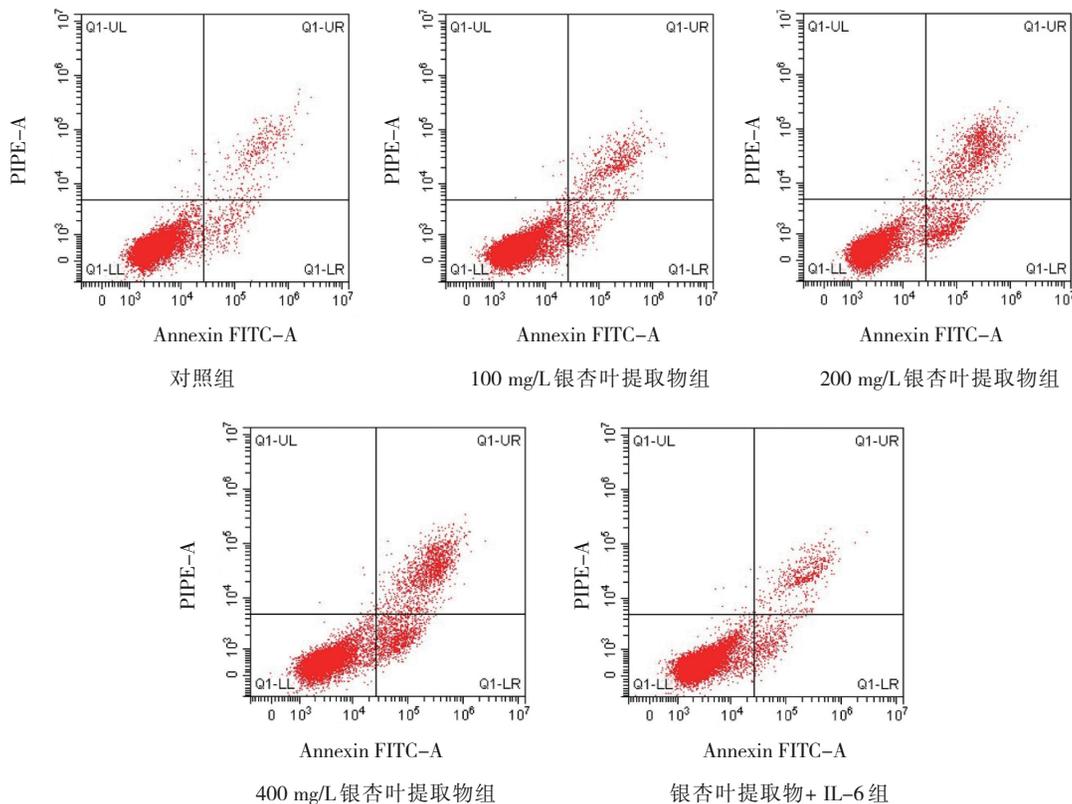
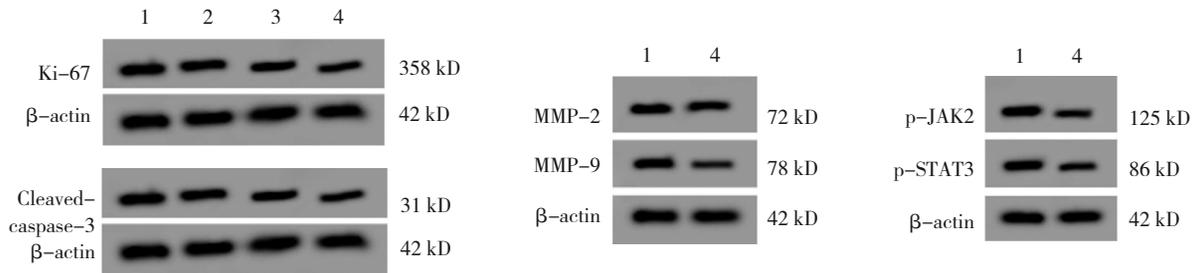


图 2 各组 EC9706 细胞凋亡的流式细胞图

2.3 各组细胞 Ki-67、Cleaved-caspase-3、MMP-2、MMP-9、p-JAK2、p-STAT3 蛋白相对表达量的比较

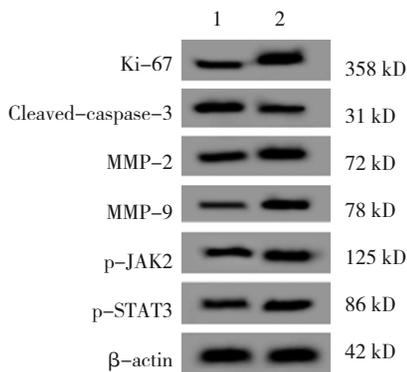
对照组, 100 mg/L、200 mg/L、400 mg/L 银杏叶提取物组, 银杏叶提取物+IL-6 组细胞的 Ki-67、Cleaved-caspase-3 蛋白相对表达量比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较, 100 mg/L、200 mg/L、400 mg/L 银杏叶提取物组 Ki-67 蛋白相对表达量较对照组均降低 ($P < 0.05$), 银杏叶提取物+IL-6 组 Ki-67 蛋白相对表达量较 400 mg/L 银杏叶提取物组升高 ($t = 23.255, P = 0.000$); 100 mg/L、200 mg/L、400 mg/L 银杏叶提取物

组 Cleaved-caspase-3 蛋白相对表达量较对照组均升高 ($P < 0.05$), 银杏叶提取物+IL-6 组 Cleaved-caspase-3 蛋白相对表达量较 400 mg/L 银杏叶提取物组降低 ($t = 15.363, P = 0.000$)。对照组、400 mg/L 银杏叶提取物组、银杏叶提取物+IL-6 组细胞 MMP-2、MMP-9、p-JAK2、p-STAT3 蛋白相对表达量比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较, 400 mg/L 银杏叶提取物组较对照组均降低 ($P < 0.05$), 银杏叶提取物+IL-6 组较 400 mg/L 银杏叶提取物组均升高 ($P < 0.05$)。见图 3、4 和表 1、2。



1: 对照组; 2: 100 mg/L 银杏叶提取物组; 3: 200 mg/L 银杏叶提取物组; 4: 400 mg/L 银杏叶提取物组。

图 3 对照组及不同浓度银杏叶提取物组细胞 Ki-67、Cleaved-caspase-3、MMP-2、MMP-9、p-JAK2、p-STAT3 蛋白的表达



1: 400 mg/L 银杏叶提取物组; 2: 银杏叶提取物+IL-6 组。

图 4 400 mg/L 银杏叶提取物组与银杏叶提取物+IL-6 组细胞 Ki-67、Cleaved-caspase-3、MMP-2、MMP-9、p-JAK2、p-STAT3 蛋白的表达

表 1 各组细胞 Ki-67、Cleaved-caspase-3 蛋白相对表达量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	Ki-67	Cleaved-caspase-3
对照组	0.92 ± 0.09	0.29 ± 0.02
100 mg/L 银杏叶提取物组	0.82 ± 0.08 ^①	0.39 ± 0.03 ^①
200 mg/L 银杏叶提取物组	0.52 ± 0.05 ^{①②}	0.62 ± 0.05 ^{①②}
400 mg/L 银杏叶提取物组	0.35 ± 0.03 ^{①②③}	0.79 ± 0.07 ^{①②③}
银杏叶提取物+IL-6 组	0.88 ± 0.06 ^④	0.37 ± 0.03 ^④
F 值	130.856	200.719
P 值	0.000	0.000

注: ①与对照组比较, $P < 0.05$; ②与 100 mg/L 银杏叶提取物组比较, $P < 0.05$; ③与 200 mg/L 银杏叶提取物组比较, $P < 0.05$; ④与 400 mg/L 银杏叶提取物组比较, $P < 0.05$ 。

表 2 3 组细胞 MMP-2、MMP-9、p-JAK2、p-STAT3 蛋白相对表达量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	MMP-2	MMP-9	p-JAK2	p-STAT3
对照组	0.86 ± 0.08	0.78 ± 0.06	0.80 ± 0.07	0.72 ± 0.07
400 mg/L 银杏叶提取物组	0.42 ± 0.04 ^①	0.30 ± 0.03 ^①	0.42 ± 0.04 ^①	0.32 ± 0.03 ^①
银杏叶提取物+IL-6 组	0.82 ± 0.08 ^②	0.70 ± 0.06 ^②	0.79 ± 0.07 ^②	0.65 ± 0.06 ^②
F 值	111.000	220.444	111.079	131.075
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

注: ①与对照组比较, $P < 0.05$; ②与 400 mg/L 银杏叶提取物组比较, $P < 0.05$ 。

2.4 3组 EC9706 细胞迁移数和细胞侵袭数的比较

对照组、400 mg/L 银杏叶提取物组及银杏叶提取物 + IL-6 组 EC9706 细胞迁移数、细胞侵袭数比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 进一步两两比较, 400 mg/L 银杏叶提取物组 EC9706 细胞迁移数、细胞侵袭数较对照组减少 ($t = 19.004$ 和 15.264 , 均 $P = 0.000$), 银杏叶提取物 + IL-6 组 EC9706 细胞迁移数、细胞侵袭数较 400 mg/L 银杏叶提取物组增多 ($t = 18.264$ 和 10.619 , 均 $P = 0.000$)。见表 3 和图 5。

表 3 3 组 EC9706 细胞迁移数和细胞侵袭数的比较 (个, $\bar{x} \pm s$)

组别	细胞迁移数	细胞侵袭数
对照组	152.22 ± 13.15	112.43 ± 10.08
400 mg/L 银杏叶提取物组	61.02 ± 5.86	56.49 ± 4.39
银杏叶提取物 + IL-6 组	141.06 ± 11.23	96.06 ± 9.14
F 值	200.428	109.255
P 值	0.000	0.000

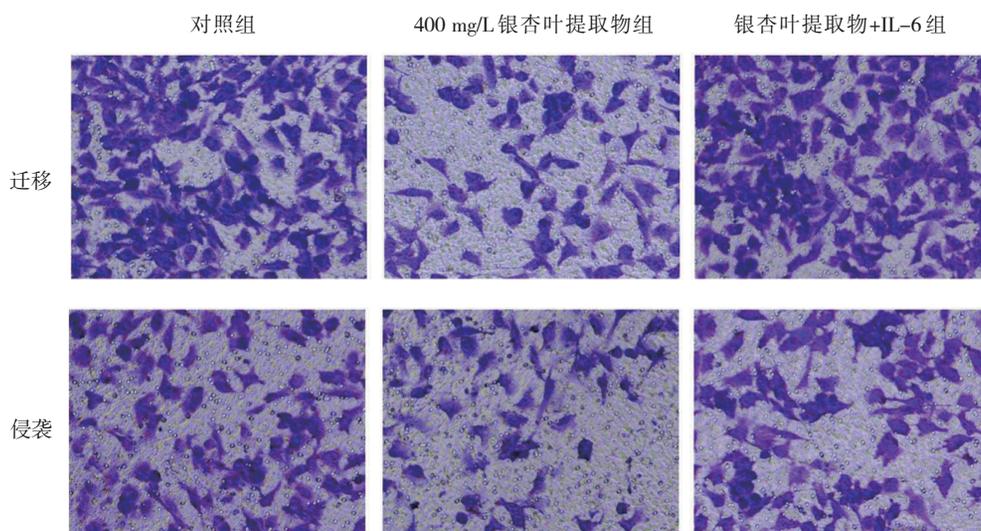


图 5 3 组 EC9706 细胞的迁移和侵袭 (倒置显微镜 × 200)

3 讨论

中医药在防治食管癌术后的并发症、减轻放疗的毒副作用等方面起重要作用, 能延长患者的生存期、提高患者的生活质量, 提高患者的综合治疗效果^[14-16]。有研究^[17]报道银杏叶提取物能够抑制甲状腺癌细胞的增殖、侵袭、迁移能力, 还能通过调控凋亡相关蛋白 p53、Bcl-2、Bax 的表达而促进细胞凋亡, 且呈现浓度依赖性。银杏叶提取物还可通过调控 PI3K/Akt 信号通路抑制甲状腺癌 TPC-1 细胞株的增殖^[18]。银杏叶提取物可抑制小鼠黑素瘤 B16 细胞增殖, 使细胞周期阻滞于 G₀/G₁ 期, 并诱导细胞凋亡^[19]。银杏叶提取物可能通过抑制蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 和 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 mitogen-activated protein kinases, p38 MAPK) 通路下调热休克蛋白 27 (heat-shock protein 27, HSP27) 的表达, 从而降低非小细胞肺癌细胞系 A549 和 H441 的迁移能力^[20]。本研究结果显示, 不同浓度银

杏叶提取物组食管癌细胞 EC9706 与对照组比较, Ki-67、MMP-2、MMP-9 蛋白表达降低, Cleaved-caspase-3 蛋白表达升高, 细胞活性降低, 细胞凋亡率升高, 细胞迁移数和细胞侵袭数降低。表明银杏叶提取物可抑制食管癌细胞 EC9706 增殖、侵袭、迁移, 并促进细胞凋亡。

JAK/STAT3 信号通路是细胞信号通路中重要的信号传导通路之一, 对细胞凋亡和增殖有关键作用, 影响肿瘤的发生发展^[21]。有研究^[22]表明中医药可通过调节 JAK/STAT3 信号通路影响肿瘤的进展, 如姜黄素可以通过抑制 JAK/STAT3 信号通路促进骨巨细胞瘤的凋亡, 抑制其迁移、侵袭。竹节香附素通过抑制 JAK/STAT3 信号转导通路抑制人子宫内膜癌 HEC-1-B 细胞的侵袭转移^[23]。黄芪多糖可能通过沉默 JAK2/STAT3/c-myc 信号通路抑制口腔鳞癌细胞 SCC-25 移植瘤的生长^[24]。本研究结果显示, 银杏叶提取物处理的食管癌细胞 EC9706 中 p-JAK2、

p-STAT3 蛋白表达降低,这提示银杏叶提取物可抑制 JAK2/STAT3 信号通路的激活。有研究^[25]表明 IL-6 可激活 JAK/STAT3 信号通路,因此本研究用 IL-6 和银杏叶提取物同时作用食管癌细胞 EC9706,研究激活 JAK/STAT3 信号通路是否影响银杏叶提取物对食管癌细胞 EC9706 的作用。本研究结果显示,经过 IL-6 处理后,EC9706 细胞活性升高,凋亡率降低,细胞迁移数、细胞侵袭数增多,表明 IL-6 可以逆转银杏叶提取物对 EC9706 细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭的影响。经过 IL-6 处理后,细胞中 Ki-67、MMP-2、MMP-9 蛋白表达均升高,Cleaved-caspase-3、p-JAK2、p-STAT3 蛋白表达均降低,表明 IL-6 可通过激活 JAK2/STAT3 信号通路作用于食管癌细胞 EC9706。

综上所述,银杏叶提取物可能通过阻断 JAK2/STAT3 信号通路抑制食管癌细胞 EC9706 增殖、侵袭、迁移,促进细胞凋亡。

参 考 文 献 :

- [1] 黄楚坚,蔡松华,杜隆德,等.食管鳞癌以手术治疗为主的多学科治疗新研究进展[J].中国癌症防治杂志,2020,12(4):463-468.
- [2] 李化龙.食管癌的治疗进展[J].四川生理科学杂志,2020,42(4):522-526.
- [3] 张亚玲,郑玉玲.中医外治法治疗食管癌研究进展[J].中医肿瘤学杂志,2020,2(4):77-81.
- [4] 汪宇涵,张铭.食管癌的中医证型特点研究进展[J].湖南中医杂志,2018,34(5):200-201.
- [5] 刘花,高卉.银杏叶提取物药理作用的研究进展[J].湖北科技学院学报(医学版),2015,29(3):259-262.
- [6] 张立虎,吴婷婷,赵林果,等.银杏叶提取物中黄酮类化合物抗肿瘤活性研究进展[J].中国药理学杂志,2019,54(6):444-449.
- [7] 冯丽,孙燕霞.银杏叶提取物对乳腺癌 MCF-7 细胞增殖、凋亡的影响[J].中外医学研究,2013,11(8):64-65.
- [8] 陈金良,单国进,孙才兴,等.银杏叶提取物通过调控 NF-κB 信号通路抑制神经胶质瘤 U87 细胞增殖和侵袭[J].肿瘤学杂志,2020,26(1):26-30.
- [9] FU Z H, LIN L, LIU S Q, et al. *Ginkgo biloba* extract inhibits metastasis and ERK/nuclear factor kappa B (NF-κB) signaling pathway in gastric cancer[J]. Med Sci Monit, 2019, 25: 6836-6845.
- [10] 贾茹,张影茹,邵诗芸,等.补肾解毒散结方调控 JAK/STAT3 信号通路抑制大肠癌侵袭转移的研究[J].中华中医药杂志,2020,35(3):1433-1436.
- [11] 管玲男,刘哲,王欢,等. JAK/STAT3 信号通路及其抑制剂在肿

瘤治疗领域的研究进展[J].中国药理学杂志,2018,53(23):1973-1977.

- [12] FANG Y, ZHANG S, YIN J, et al. LINC01535 promotes proliferation and inhibits apoptosis in esophageal squamous cell cancer by activating the JAK/STAT3 pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(7): 3694-3700.
- [13] ZHANG Y H, LIU J X, YANG B, et al. *Ginkgo biloba* extract inhibits astrocytic lipocalin-2 expression and alleviates neuroinflammatory Injury via the JAK2/STAT3 pathway after ischemic brain stroke[J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 518.
- [14] 张义,刘怀民.食管癌中医药治疗近况[J].中医临床杂志,2020,32(1):195-198.
- [15] 孙飞,朱凯,刘莲芳,等.中医药在食管癌综合治疗中的地位评价[J].临床医药文献电子杂志,2019,6(64):195.
- [16] 查永端,孙东东,潘立群.食管癌术后中医药治疗研究进展[J].南京中医药大学学报,2019,35(6):767-770.
- [17] 郭巍,张秋雨,刘明清,等.银杏叶提取物对甲状腺癌细胞增殖和凋亡的影响[J].现代食品科技,2019,35(8):21-26.
- [18] 刘铁钢,闻春艳,申铨三.银杏叶提取物对甲状腺癌细胞 PI3K/Akt 信号通路的影响及意义[J].中国老年学杂志,2020,40(2):410-412.
- [19] 刘美玉.银杏叶提取物对小鼠黑素瘤 B16 细胞的增殖和凋亡的影响[D].石家庄:河北医科大学,2015.
- [20] TSAI J R, LIU P L, CHEN Y H, et al. *Ginkgo biloba* extract decreases non-small cell lung cancer cell migration by downregulating metastasis-associated factor heat-shock protein 27[J]. PLoS One, 2014, 9(3): e91331.
- [21] 张锦锦,唐慧. JAK/STAT3 信号通路调控肿瘤及其相关生物功能的研究进展[J].基础医学与临床,2017,37(10):1456-1460.
- [22] 刘明法.姜黄素介导 JAK/STAT3 信号通路调节骨巨细胞瘤的凋亡迁移及侵袭[D].广州:南方医科大学,2019.
- [23] 陈悦群,翟洪波,仝进毅,等.竹节香附素通过抑制 JAK/STAT3 信号转导通路抑制人子宫内膜癌 HEC-1-B 细胞的侵袭转移[J].中国临床药理学与治疗学,2019,24(4):391-396.
- [24] 邓力,蔡婷,王静雷,等.黄芪多糖通过 JAK/STAT3 通路抑制口腔鳞癌 SCC-25 裸鼠移植瘤[J].中国临床解剖学杂志,2019,37(2):169-173.
- [25] ESKILER G G, BEZDEGUMELI E, OZMAN Z, et al. IL-6 mediated JAK/STAT3 signaling pathway in cancer patients with cachexia[J]. Bratisl Lek Listy, 2019, 66(11): 819-826.

(张蕾 编辑)

本文引用格式: 照日格吐,孙志刚,焦杰,等.银杏叶提取物通过 JAK2/STAT3 信号通路调控食管癌细胞 EC9706 增殖、凋亡、侵袭、迁移的研究[J].中国现代医学杂志,2022,32(13):56-62.

Cite this article as: ZHAO R G T, SUN Z G, JIAO J, et al. *Ginkgo biloba* extract regulates the proliferation, apoptosis, invasion and migration of esophageal cancer cell EC9706 through JAK2/STAT3 signaling pathway and its clinical significance[J]. China Journal of Modern Medicine, 2022, 32(13): 56-62.