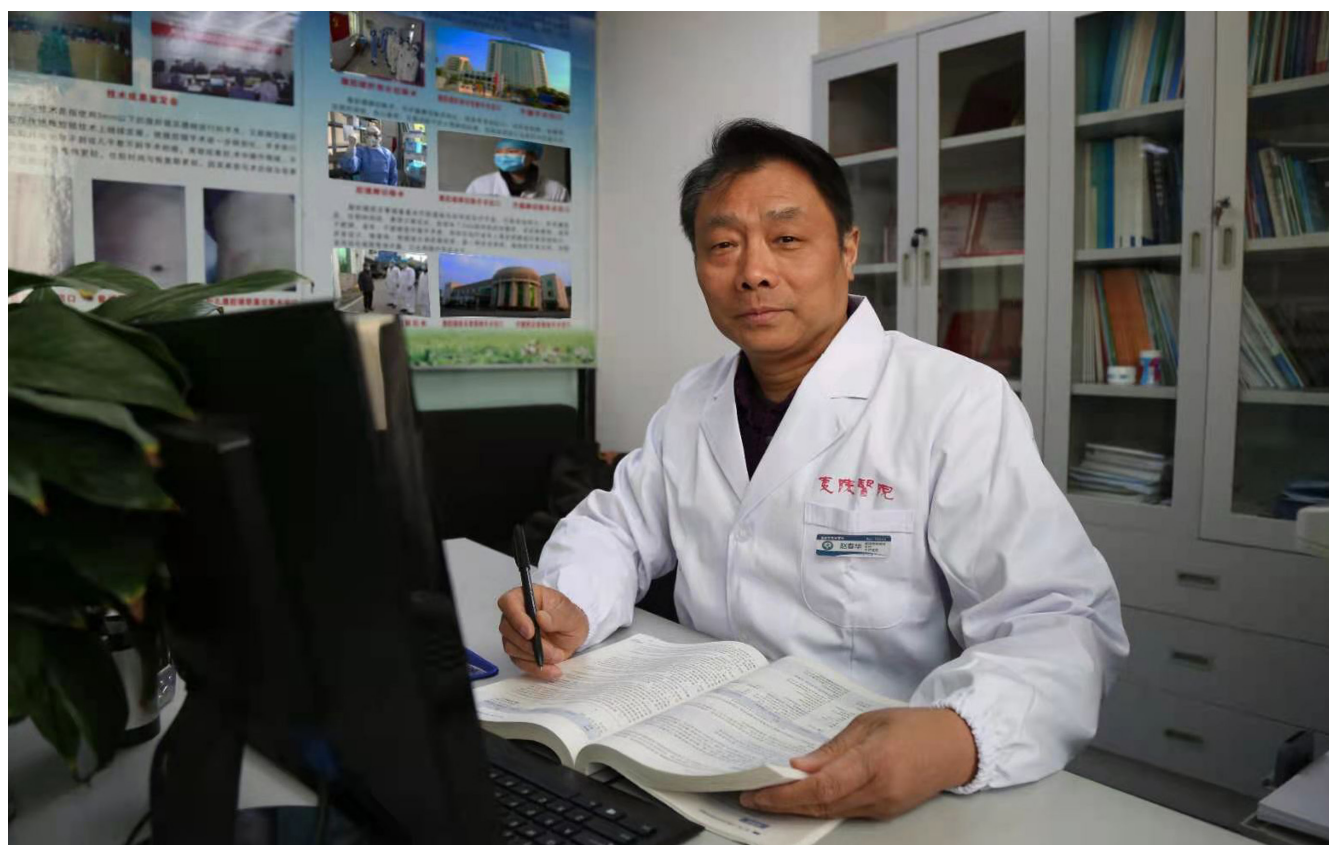


# 世界华人消化杂志®

## WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2021 年 6 月 28 日 第 29 卷 第 12 期 (Volume 29 Number 12)



## 12 / 2021

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议、开放获取和在线出版的学术刊物。本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录。



### 述评

- 621 靶向SRC治疗胰腺癌的研究新进展

李子一, 孙学英

- 628 “互联网+”时代背景下炎症性肠病患者的心理问题及干预研究述评

赵月月, 张丽, 杨亚新, 郝娜, 王斌斌, 刘艳芳

### 基础研究

- 633 基于脑-肠轴探讨腹部推拿对促进大鼠乙醇性胃黏膜损伤修复的作用机制

海兴华, 刘芳, 骆雄飞, 李华南, 张玮, 王海腾, 孙庆

- 639 胡椒碱对人结肠癌SW480细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用

邵忆闵, 吴湧

### 临床研究

- 647 载药脂微球配合肝动脉栓塞化疗治疗老年肝细胞癌的效果及对生存获益、PD-L1、PD-1水平影响

王浩, 马军杰, 戴献毅

- 655 输尿管硬镜联合钬激光结合高位胆管切开治疗复杂肝胆管结石

陈晨, 李业荣, 吴金术, 米杨, 汪新天

### 文献综述

- 662 门静脉海绵样变性的临床诊疗进展

李昊, 孙培鸣, 孙宏伟, 崔彦

- 670 肝硬化门静脉血栓形成机制及诊治的探讨

丁靖诺, 赵卫峰

## 消 息

- 632 《世界华人消化杂志》修回稿须知
- 646 《世界华人消化杂志》正文要求
- 661 《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》书讯
- 669 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

## 封面故事

赵春华, 主任医师, 湖北省宜昌市夷陵医院, 从1988年起从事感染性疾病的临床与科研, 擅长肝、肺的感染性疾病的诊断与治疗. 以第一作者在国内核心期刊发表论文24篇; 主持两项科研课题分别达到国内领先水平 and 国内先进水平; 出版原创专著《肺结核的CT诊断与临床》一部.

## 本期责任人

编务 张砚梁; 送审编辑 张砚梁; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇;  
形式规范审核编辑部主任 马玉洁; 最终清样审核总编辑 马连生

## 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2021-06-28

原刊名 新消化病学杂志

## 期刊名称

世界华人消化杂志

## 国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

## 主编

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

## 编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

## 编辑部

王金磊, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wjgd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

## 出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

## 制作

北京百世登生物医学科技有限公司  
100025, 北京市朝阳区东四环中路  
62号, 远洋国际中心D座903室  
电话: +86-10-85381892

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

## 特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

## 定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.



Contents

Volume 29 Number 12 June 28, 2021

EDITORIAL

- 621 Recent progress in SRC targeted therapy for pancreatic cancer  
*Li ZY, Sun XY*
- 628 Psychological problems and intervention studies of patients with inflammatory bowel disease in the "Internet +" era: A review  
*Zhao YY, Zhang L, Yang YX, Hao N, Wang BB, Liu YF*

BASIC RESEARCH

- 633 Exploration of mechanism of abdominal massage to promote repair of ethanol-induced gastric mucosal injury in rats based on brain-gut axis  
*Hai XH, Liu F, Luo XF, Li HN, Zhang W, Wang HT, Sun Q*
- 639 Inhibitory effects of piperine on proliferation, migration, and invasion of human colon cancer SW480 cells  
*Shao YM, Wu Y*

CLINICAL RESEARCH

- 647 Drug-loaded lipid microspheres combined with transcatheter arterial chemoembolization for treatment of hepatocellular carcinoma in elderly patients: Efficacy and impact on survival benefit and PD-L1 and PD-1 levels  
*Wang H, Ma JJ, Dai XY*
- 655 Rigid ureteroscopy and holmium laser combined with high bile duct incision to treat complex hepatic calculus  
*Chen C, Li YR, Wu JS, Mi Y, Wang XT*

REVIEW

- 662 Progress in clinical diagnosis and treatment of cavernous transformation of the portal vein  
*Li H, Song PM, Song HW, Cui Y*
- 670 Mechanism, diagnosis, and treatment of portal vein thrombosis in cirrhosis  
*Ding JN, Zhao WF*

## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 29 Number 12 June 28, 2021

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Chun-Hua Zhao, Chief Physician, Yiling Hospital of Yichang in Hubei Province, No. 31 Donghu Road, Xiaoxita Street, Yiling District, Yichang 443100, Hubei Province, China. zch-xbfg@163.com

### Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, CNKI, CSTJ and Superstar Journals Database.

### RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Yan-Liang Zhang*      Review Editor: *Yan-Liang Zhang*  
Production Editor: *Yan-Liang Zhang*      English Language Editor: *Tian-Qi Wang*  
Proof Editor: *Yu-Jie Ma*      Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** June 28, 2021

#### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

#### ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

#### EDITOR-IN-CHIEF

**Shuang-Suo Dang, Professor**, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

**Xue-Liang Jiang, Professor**, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

**Zhan-Ju Liu, Professor**, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

**Bin Lv, Professor**, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

**Jun-Ping Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi,

Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

**Xiao-Zhong Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

**Deng-Fu Yao, Professor**, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

**Zong-Ming Zhang, Professor**, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

#### EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

#### EDITORIAL OFFICE

Jin-Lei Wang, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: [wjcd@wjgnet.com](mailto:wjcd@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

#### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China  
Telephone: +86-10-85381892

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

### COPYRIGHT

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

### SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.



# 胡椒碱对人结肠癌SW480细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用

邵忆闵, 吴湧

邵忆闵, 桐庐县中医院药剂科 浙江省杭州市 311500

吴湧, 浙江大学医学院附属杭州市第一人民医院药学部 浙江省杭州市 310006

邵忆闵, 主管药师, 主要从事临床药学方面的工作.

**作者贡献分布:** 此课题由吴湧设计; 研究过程由邵忆闵及吴湧操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由邵忆闵及吴湧提供; 数据分析由吴湧完成; 本论文写作由邵忆闵及吴湧完成.

**通讯作者:** 吴湧, 硕士, 主管药师, 310006, 浙江省杭州市上城区浣纱路261号, 浙江大学医学院附属杭州市第一人民医院药学部. [wuyongf52@126.com](mailto:wuyongf52@126.com)

收稿日期: 2021-02-22

修回日期: 2021-03-30

接受日期: 2021-05-25

在线出版日期: 2021-06-28

## Inhibitory effects of piperine on proliferation, migration, and invasion of human colon cancer SW480 cells

Yi-Min Shao, Yong Wu

Yi-Min Shao, Department of Pharmacy, Tonglu Traditional Chinese Medicine Hospital, Hangzhou 311500, Zhejiang Province, China

Yong Wu, Department of Pharmacy, Affiliated Hangzhou First People's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

**Corresponding author:** Yong Wu, Master, Pharmacist in Chief, Department of Pharmacy, Affiliated Hangzhou First People's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, No. 261 Huansha Road, Shangcheng District, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China. [wuyongf52@126.com](mailto:wuyongf52@126.com)

Received: 2021-02-22

Revised: 2021-03-30

Accepted: 2021-05-25

Published online: 2021-06-28

## Abstract

### BACKGROUND

Many recent reports have shown that piperine has anticancer activity, but the specific roles and biological mechanisms of piperine in colon cancer are not well studied.

### AIM

To investigate the effects and potential mechanisms of piperine on the proliferation, migration, and invasion of human colon cancer SW480 cells.

### METHODS

SW480 cells were treated with 0 (blank control), 5, 10, and 20  $\mu\text{g/mL}$  piperine for 24 h, respectively. Cell viability was detected by cell counting kit-8 (CCK-8) assay. Proliferation was detected by 5-ethynyl-2'-deoxyuridine (EDU) staining. Cell migration and invasion were detected by Transwell assay. The protein expression levels of microtubule-associated light chain 3 (LC3), p53, B cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2), Bcl-2 associated X protein (Bax), and cleaved cysteine aspartate proteinase-3 (Cleaved caspase 3) were detected by Western blotting.

### RESULTS

Piperine inhibited cell viability, proliferation, migration, and invasion in a concentration-dependent manner. Western blot analysis showed that piperine increased the expression of p53, Bax, and Cleaved caspase 3 but decreased the expression of Bcl-2 in SW480 cells compared with control cells.

### CONCLUSION

Piperine can inhibit the proliferation, migration, and invasion of SW480 cells, and the mechanism may be related to the up-regulation of p53 signaling pathway and the induction of autophagic cell death.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Colon cancer; Piperine; Proliferation; Migration; Invasion; Autophagy

**Citation:** Shao YM, Wu Y. Inhibitory effects of piperine on proliferation, migration, and invasion of human colon cancer SW480 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(12): 639-646  
**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i12/639.htm>  
**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i12.639>

## 摘要

### 背景

最近许多报道显示胡椒碱(piperine, PIP)具有抗癌活性, 而其在结肠癌中的具体作用及生物学机制的研究并不完善。

### 目的

探究PIP对人结肠癌SW480细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响及潜在机制。

### 方法

分别用0(空白对照)、5、10和20  $\mu\text{g/mL}$ 的PIP处理SW480细胞24 h, 采用细胞计数试剂盒8(cell counting kit-8, CCK-8)法检测细胞活性; 采用5-乙炔基-2'脱氧尿嘧啶核苷(5-Ethynyl-2'-deoxyuridine, EdU)染色法检测细胞增殖; 采用Transwell法检测细胞迁移和侵袭; 采用蛋白质免疫印迹(Western blotting)法检测细胞中微管相关蛋白轻链3(microtubule-associated light chain 3, LC3)、p53、B细胞淋巴瘤/白血病-2(B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)、劈裂的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(cleaved cysteine aspartate proteinase-3, Cleaved caspase 3)蛋白表达水平。

### 结果

PIP浓度依赖性抑制细胞活力、增殖、迁移和侵袭。Western blotting结果显示, 与空白对照组相比, PIP能升高SW480细胞中p53、Bax、Cleaved caspase 3的表达并降低Bcl-2的表达。

### 结论

PIP可抑制SW480细胞增殖、迁移和侵袭, 其机制可能与上调p53信号通路和诱导自噬性死亡相关。

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**关键词:** 结肠癌; 胡椒碱; 增殖; 迁移; 侵袭; 自噬

**核心提要:** 胡椒碱(piperine, PIP)能抑制SW480细胞的增殖、迁移和侵袭, 并可上调细胞中p53表达和诱导其自噬性死亡相关。

**文献来源:** 邵忆闵, 吴湧. 胡椒碱对人结肠癌SW480细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用. *世界华人消化杂志* 2021; 29(12): 639-646

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i12/639.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i12.639>

## 0 引言

结直肠癌是一种常见的肠道恶性肿瘤, 其发病率和死亡率呈逐年升高趋势, 且发病年龄呈年轻化趋势<sup>[1]</sup>。我国结直肠癌的发病率已跃居所有恶性肿瘤前5位<sup>[2]</sup>。肿瘤切除术后辅以化疗仍然是治疗结直肠癌的主要手段, 但由于临床常用的化疗药物常具有较高的毒副作用, 从而严重影响患者的生存质量<sup>[3,4]</sup>。因此, 迫切需要寻找新型高效低毒的药物来替代常用的化疗药物。天然生药提取物因具有丰富的药理活性以及毒性小的特点, 其在肿瘤治疗方面可能具有良好的应用前景<sup>[5]</sup>。胡椒碱(piperine, PIP)是一种从黑胡椒中提取的生物碱类活性化合物, 其具有抗氧化、免疫调节、抗肿瘤和促进药物代谢等多种药理活性<sup>[6-8]</sup>。虽然, 目前关于PIP的抗肿瘤效应已经进行了一些相关的基础研究<sup>[6,7]</sup>, 但其对结直肠癌细胞的具体生物学功能及机制的研究并不完善。因此, 本研究选用结肠癌SW480细胞作为研究对象, 旨在探究PIP对SW480细胞细胞迁移和侵袭能力的影响以及潜在的生物学机制, 以评估其作为潜在的抗结肠癌候选药物的可能性。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人结肠癌SW480和HT-29细胞株购于中科院上海细胞库, 人正常结肠粘膜上皮细胞系FHC购于美国典型菌种保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC) 细胞库, 人正常结肠粘膜上皮细胞系NCM460购于通派(上海)生物科技有限公司。改良Eagle培养基(Dulbecco's modification of Eagle's medium Dulbecco, DMEM)、L-15培养基和胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自Gibco公司; PIP(纯度>98%)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)试剂购自Sigma公司; 细胞计数试剂盒8(cell counting kit-8, CCK-8)试剂盒、5-乙炔基-2'脱氧尿嘧啶核苷(5-Ethynyl-2'-deoxyuridine, EdU)试剂盒、 $\beta$ -肌动蛋白(beta-Actin,  $\beta$ -Actin)抗体以及辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的二抗购自上海碧云天生物科技有限公司; II型微管相关蛋白轻链3(microtubule-associated light chain 3 II, LC3 II)抗体购自Abcam公司; LC3、p53、B细胞淋巴瘤/白血病-2 (B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白 (Bcl-2 associated X protein, Bax)、劈裂的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(cleaved cysteine aspartate proteinase-3, Cleaved

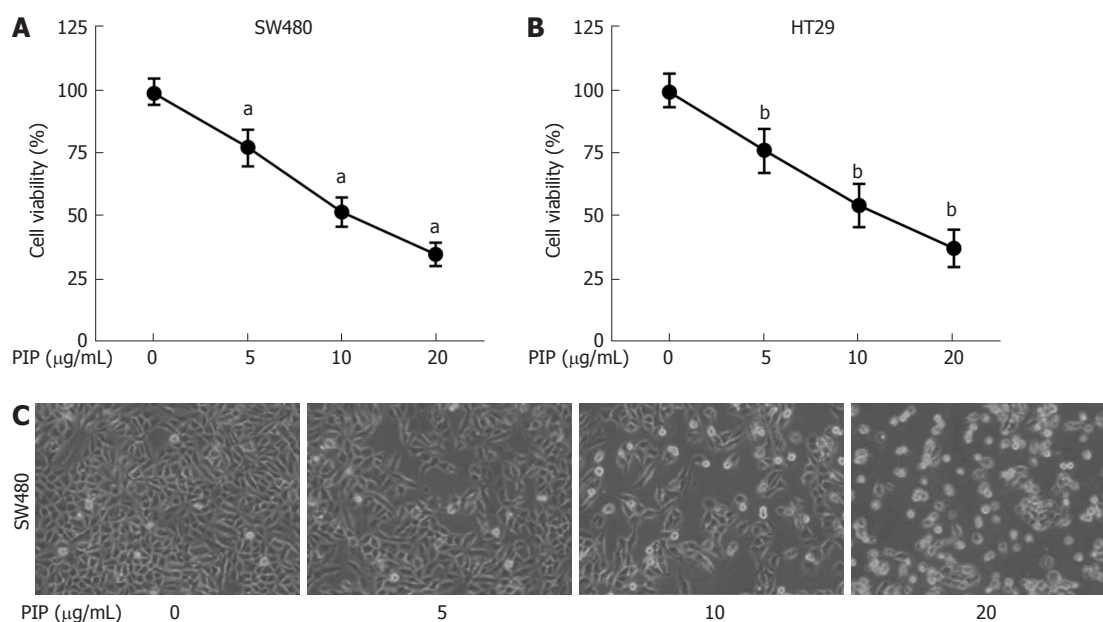


图1 PIP对SW480和HT29细胞的细胞活性和细胞形态的影响。A和B: CCK-8检测各组SW480(A)和HT-29(B)细胞的细胞活性; C: 倒置显微镜观察各组细胞的细胞形态。n = 3, <sup>a</sup>P<0.01, <sup>b</sup>P<0.01 vs 0 µg/mL组。PIP: 胡椒碱。

caspase 3)抗体购自Cell Signaling Technology公司。

## 1.2 方法

1.2.1 细胞培养与溶液制备: 将SW480和HT-29细胞培养于含有10%FBS, 100 µU/mL青霉素-链霉素的L-15培养基中, FHC和NCM460细胞培养于含有10%FBS, 100 µU/mL青霉素-链霉素的DMEM培养基中, 上述细胞均置于37 °C、5%CO<sub>2</sub>的细胞培养箱中培养。

1.2.2 CCK-8法检测细胞活性: 取对数生长期的SW480、HT-29、FHC和NCM460细胞用胰蛋白酶消化后将其接种在96孔板中(5×10<sup>3</sup>细胞/孔)每孔做3个复孔, 待细胞贴壁后, 分别用不同浓度的PIP(0、5、10、20 µg/mL)处理细胞24 h, 用倒置相差显微镜观察细胞形态后, 每孔加入10 µL CCK-8试剂, 并在37 °C孵育2 h, 用酶标仪在450 nm波长处检测吸光度值A。细胞活性 = (A<sub>实验组</sub> - A<sub>对照组</sub>) / A<sub>对照组</sub> × 100%。

1.2.3 EdU染色检测细胞增殖: 取对数生长期的SW480细胞用胰蛋白酶消化后将其接种在96孔板中(5.0×10<sup>3</sup>细胞/孔)每孔做3个复孔, 待细胞贴壁后, 分别用不同浓度的PIP(0、5、10、20 µg/mL)处理细胞24 h。每孔加入50 µM EdU试剂, 并在37 °C孵育2 h, 按照试剂盒说明书步骤, 对细胞固定和透化后, 每孔加入100 µL Appollo® 567染色反应液避光孵育30 min, 然后用DAPI染核。在荧光显微镜下观察, 随机视野拍照并对EdU阳性细胞计数。

1.2.4 Transwell法检测细胞迁移和侵袭: 用24孔Transwell小室(聚碳酸酯膜, 8 µm孔径)检测细胞的迁移以及侵袭。收集已被0、5、10、20 µg/mL PIP处理24 h

的SW480细胞, 并将其用无血清培养基制成2.0×10<sup>5</sup>个/mL的单细胞悬液。进行侵袭实验时, Transwell板上室内膜表面铺有Matrigel基质胶, 并取100 µL细胞悬液加入上室, 在下室中加入700 µL含10%FBS的培养基, 常规培养24 h。

迁移实验除了不进行铺Matrigel基质胶外, 其他步骤同细胞侵袭实验。用棉签擦除聚碳酸酯膜上表面的细胞, 并将膜下表面的细胞用甲醇固定5 min后用0.1%结晶紫染色30 min。用倒置相差显微镜随机选取5个视野的细胞图像, 并对染色的细胞计数。

1.2.5 LC3 II 免疫荧光染色: 将SW480细胞接种在24孔板(2.0×10<sup>5</sup>个/孔), 用不同浓度PIP(0、5、10、20 µg/mL)处理24 h后, 收集细胞并用4%多聚甲醛固定20 min, 然后在室温下用Triton X-100透化15 min。用5%BSA封闭细胞30 min, 然后室温孵育LC3 II (1:300)2 h。用PBS洗涤细胞后, 室温孵育荧光标记的二抗(1:300)1 h。再次用PBS洗涤后, 用DAPI染核, 并在荧光显微镜下观察。

1.2.6 Western blot: 收集已被0、5、10、20 µg/mL PIP处理24 h的SW480细胞, 并用RIPA缓冲液裂解细胞分离得到总蛋白。用BCA蛋白测定试剂盒测定蛋白浓度。将等量蛋白质经10% SDS-PAGE凝胶电泳分离后转移到PVDF膜上。用5%脱脂牛奶封闭2 h后, 分别4 °C孵育一抗LC3、p53、Bax、Bcl-2和Cleaved caspase 3(均1:1000稀释比例)和β-Actin(1:5000稀释比例)过夜, 经TBS洗涤3次后, 室温孵育1:2000稀释比例的HRP特异性标记的二抗2 h, 最后使用化学发光检测试剂对条带显影。使用Image J软件对条带进行定量。



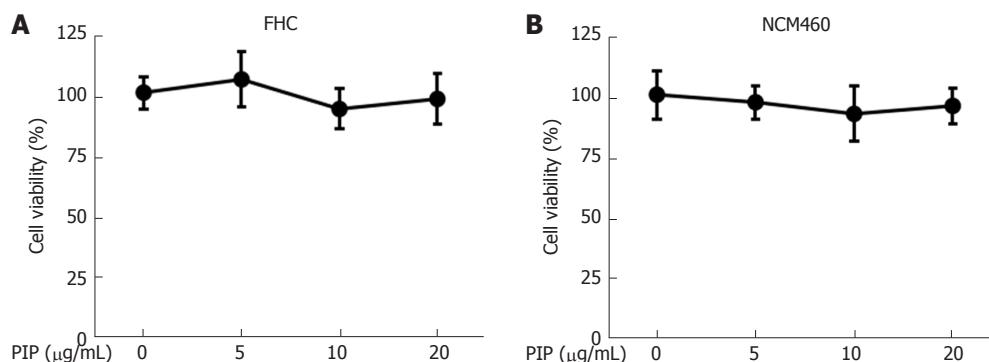


图 2 PIP对FHC和NCM460细胞的细胞活性的影响. A和B: CCK-8检测各组FHC(A)和NCM460(B)细胞的细胞活性.  $n = 3$ . PIP: 胡椒碱.

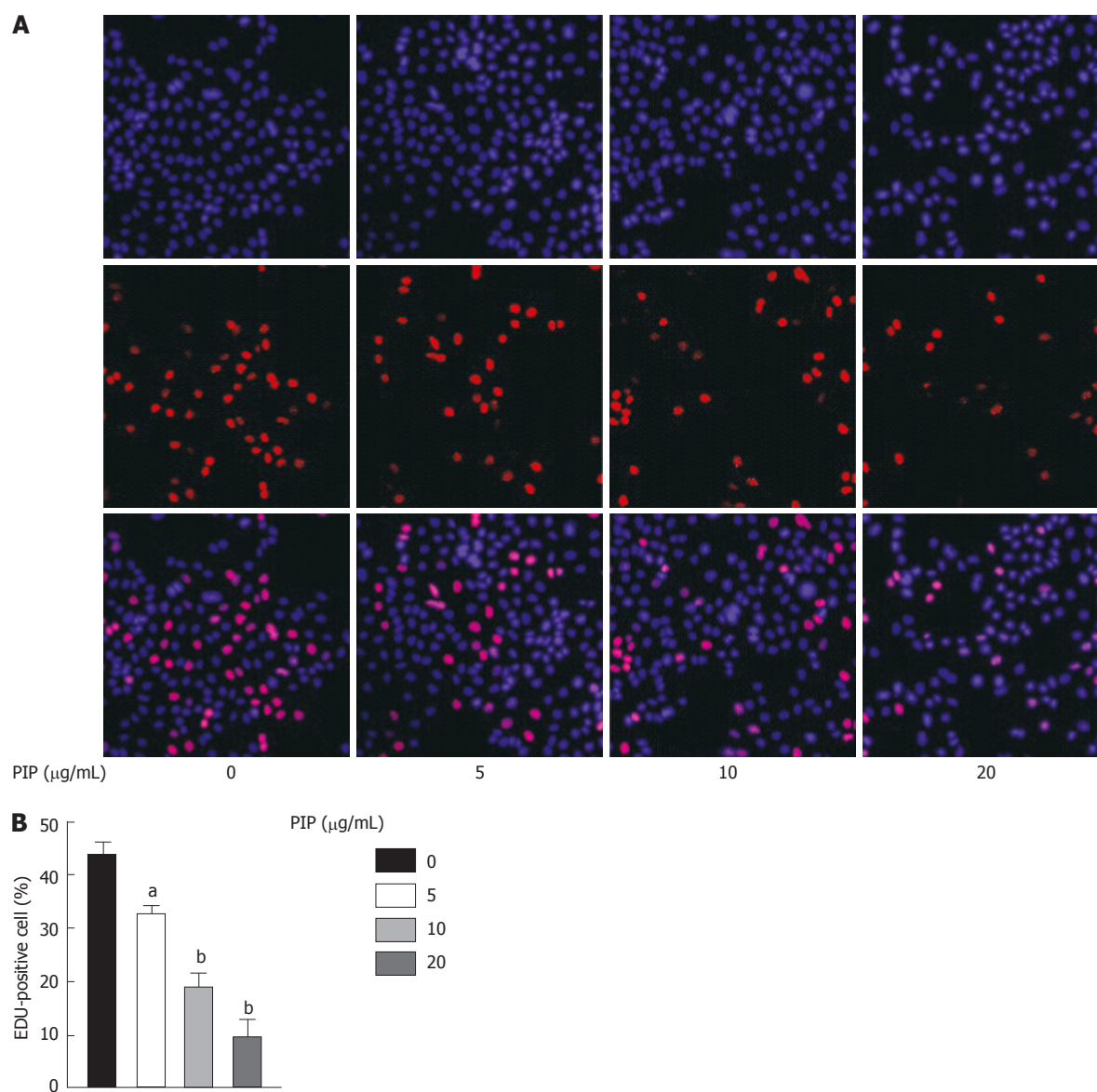


图 3 PIP对SW480细胞增殖的影响. A: 各组细胞代表性的EdU染色图; B: 各组EdU阳性细胞比例的统计结果.  $n = 3$ , <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 0 μg/mL组. PIP: 胡椒碱.

**统计学处理** 所有数据均以mean ± SD表示, 并应用SPSS 16.0软件进行统计学分析. 多组间数据比较使

用单因素方差分析, 多重比较使用Tukey法. 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义.

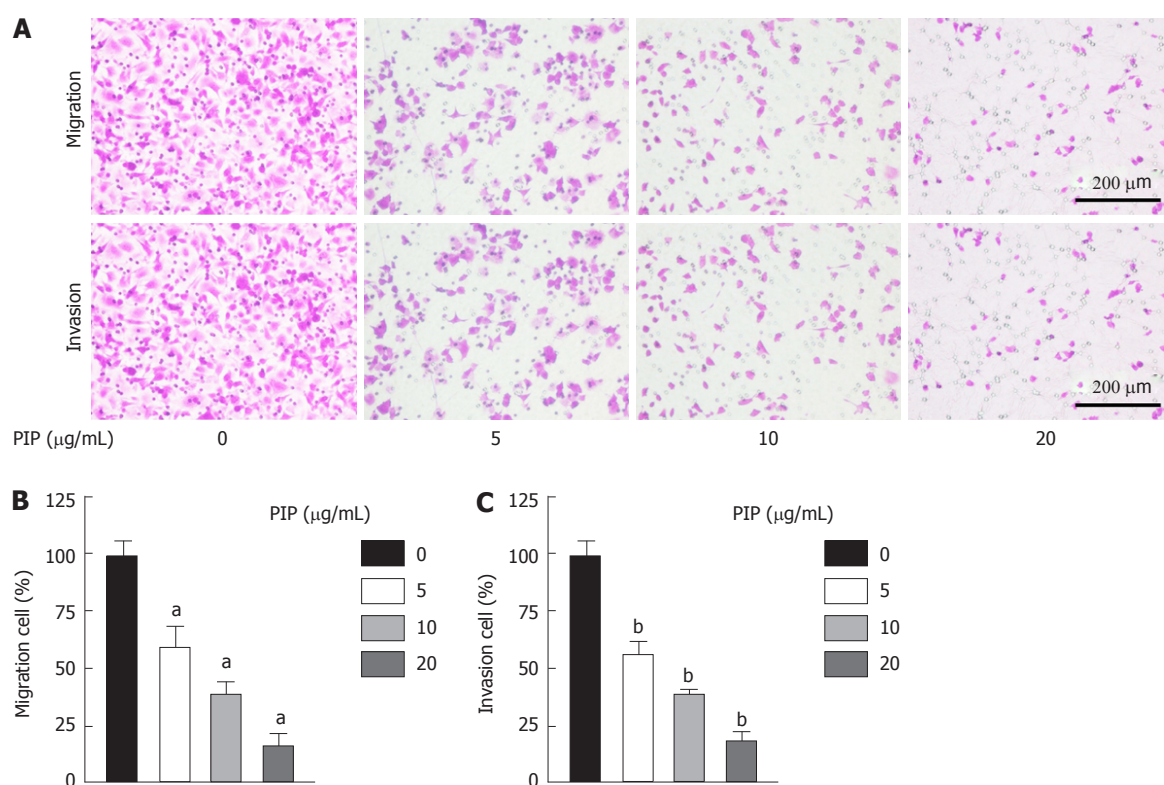


图 4 PIP对SW480细胞的迁移和侵袭的影响. A: 各组细胞代表性的迁移与侵袭图(Transwell法, 结晶紫染色, 比例尺 = 200 µm). B: 细胞迁移的统计结果; C: 细胞侵袭的统计结果.  $n = 3$ , <sup>a</sup> $P < 0.01$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 0 µg/mL组. PIP: 胡椒碱.

## 2 结果

**2.1 PIP抑制SW480和HT-29细胞的细胞活性并诱导其发生形态异常** 用浓度梯度递增的PIP(0、5、10、20 µg/mL)处理SW480和HT-29细胞24 h, CCK-8结果表明, PIP处理的细胞活性显著降低并呈剂量依赖性(图1A、B), 且在PIP浓度达到20 µg/mL时效果最显著. 形态学观察结果表明, PIP处理后的SW480细胞形态萎缩变圆, 且随着浓度增加, 细胞密度也逐渐降低(图1C), 同样, 当PIP浓度达到20 µg/mL时出现明显的细胞碎片和形态学改变. 另外, 在(5、10和20 µg/mL)剂量下的PIP对人正常结肠粘膜上皮细胞系FHC和NCM460的细胞活性没有影响(图2), 提示在该剂量下PIP对正常细胞无毒. 由此可见, PIP能抑制结肠癌细胞的生长并诱导其凋亡.

**2.2 PIP抑制SW480细胞的增殖** 用浓度梯度递增的PIP(0、5、10、20 µg/mL)处理SW480细胞24 h, EdU染色(图3)结果显示, 随着PIP浓度逐渐升高, EdU阳性细胞比例逐渐降低, 提示SW480细胞增殖逐渐降低, 且PIP在浓度为20 µg/mL时对细胞增殖的抑制作用最为明显.

**2.3 PIP抑制SW480细胞迁移和侵袭** Transwell结果(图4)显示, 随着PIP浓度的升高, 细胞的迁移能力和侵袭能力均呈浓度依赖性减弱, 且PIP在浓度为20 µg/mL时对细胞迁移与侵袭的抑制作用最为明显.

**2.4 PIP诱导SW480细胞自噬并上调p53信号通路**

LC3 II 的免疫荧光染色结果(图5A)显示, PIP能诱导SW480细胞自噬. Western blot结果(图5B-G)显示, 随PIP浓度升高, SW480细胞中p53、Bax和Cleaved caspase 3表达以及LC3 II/LC3 I 比值逐渐增加, Bcl-2表达逐渐降低. 以上结果说明, PIP能诱导SW480细胞发生自噬性死亡并上调p53信号.

## 3 讨论

结肠癌是临床中十分常见的一种发病率和死亡率均居高不下的恶性肿瘤性疾病<sup>[1,2]</sup>, 据报道, 全球每年约新增120万例, 且每年约60万例因结肠癌而死亡<sup>[9]</sup>. 目前手术切除辅以术后化疗是结肠癌治疗中的最常用策略, 但随着化疗时间的延长, 肿瘤细胞对化疗药物的敏感性降低, 造成患者对化疗药物耐药性的产生从而阻碍治疗进程<sup>[3]</sup>. 因我国传统中药具有药理活性丰富、治疗靶点多、且毒副作用相对较低的特性, 其在肿瘤治疗方面的应用中也受到越来越多的关注<sup>[5]</sup>. 从众多传统中药中筛选具有高活性的抗肿瘤小分子可能会成为筛选新型抗癌药物的潜在途径. PIP作为一种从黑胡椒内提取的具有天然活性的生物碱, 其已被一些临床前研究证明具有抗肿瘤活性<sup>[6,7]</sup>. 本研究显示, PIP能抑制SW480细胞增殖、迁移与侵袭, 提示其有望成为抗结肠癌的潜在的替代药物.

肿瘤的发生发展与肿瘤细胞的自噬异常存在密切

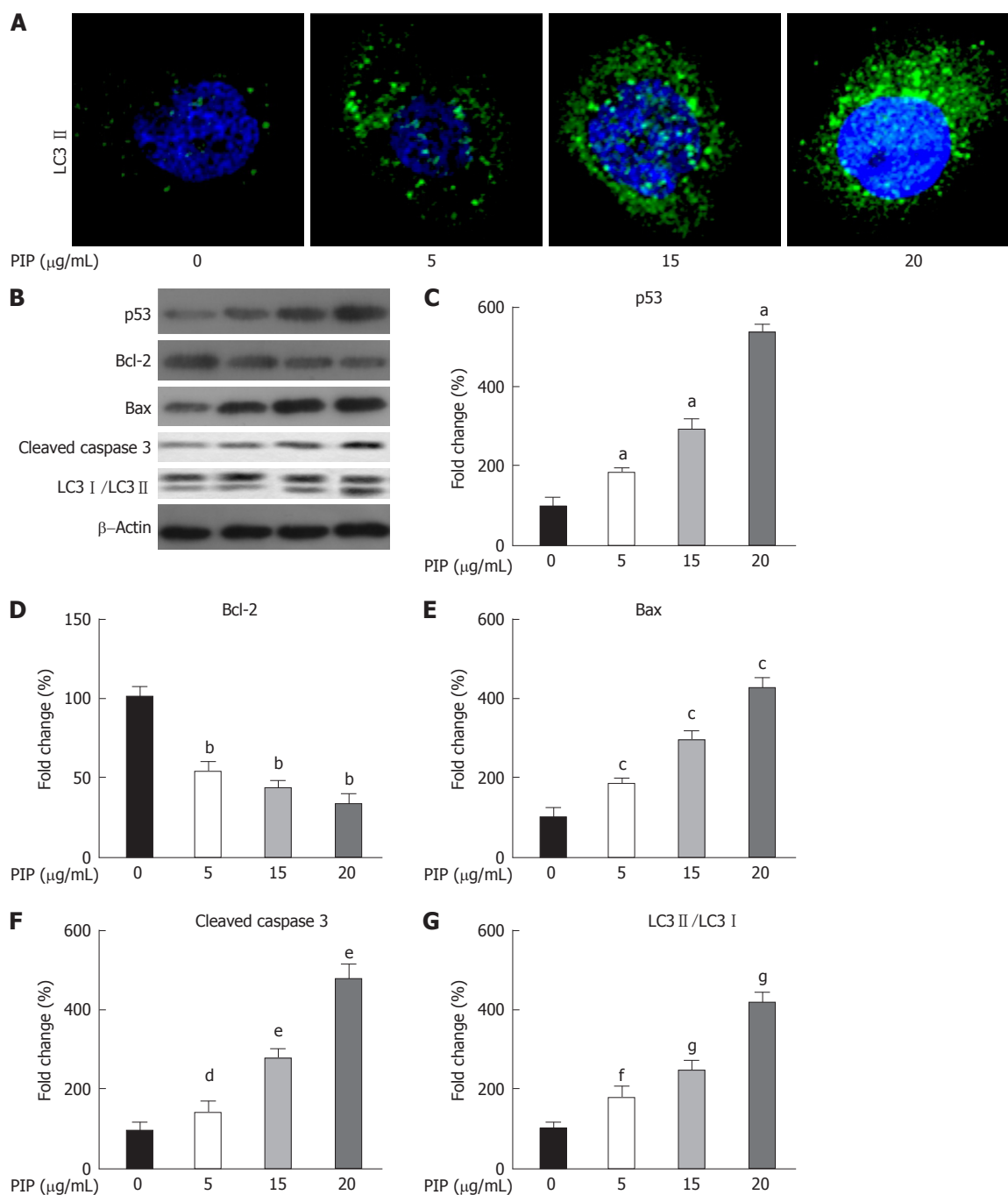


图 5 PIP对SW480细胞的自噬以及p53信号通路的影响。A: 各组细胞代表性的LC3 II免疫荧光染色图; B: 各组细胞代表性的p53、Bcl-2、Bax、Cleaved caspase 3以及LC3蛋白表达的Western blot条带图; C: p53相对表达水平的统计结果; D: Bcl-2相对表达水平的统计结果; E: Bax相对表达水平的统计结果; F: Cleaved caspase 3相对表达水平的统计结果; G: LC3 II/LC3 I比值的统计结果。n = 3, <sup>a</sup>P<0.01, <sup>b</sup>P<0.01, <sup>c</sup>P<0.01, <sup>d</sup>P<0.05, <sup>e</sup>P<0.01, <sup>f</sup>P<0.01, <sup>g</sup>P<0.01 vs 0 μg/mL组。PIP: 胡椒碱。

的关系<sup>[10,11]</sup>。适度自噬可作为实体肿瘤细胞在对抗缺氧、缺营养的不利条件下而发挥促生存的一种保护机制,但过度自噬则会抑制肿瘤细胞的活性、增殖、迁移与侵袭并最终导致细胞死亡<sup>[12]</sup>。研究表明,伊立替康、奥沙利铂和5-FU等常见的化疗药物均能导致结肠癌细胞自噬性死亡<sup>[13,14]</sup>。因此,诱导结肠癌细胞自噬性死亡已经成为潜在的抗结肠癌治疗策略之一。故本研究探索PIP对SW480细胞自噬的影响,结果显示,PIP能增强SW480

细胞的LC3 II的免疫荧光强度并增加LC3 II/LC3 I比值和Cleaved caspase 3表达,说明PIP能诱导结肠癌细胞自噬性细胞死亡,提示PIP的抗结肠癌的作用至少部分与其诱导结肠癌细胞自噬性细胞死亡相关。

本研究继续对PIP的抗结肠癌的作用机制进行了探索。已有研究表明, p53可通过上调下游基因p21表达导致G1期阻滞<sup>[15]</sup>和下调Cyclin B1导致G2/M期阻滞<sup>[16]</sup>,从而抑制结肠癌细胞增殖; p53也可通过上调Bax和下调



Bcl-2的表达来达到促进结肠癌细胞凋亡的作用<sup>[17]</sup>。另外, p53能通过下游多信号通路来抑制结肠癌细胞的迁移与侵袭<sup>[18,19]</sup>。本研究发现, PIP能浓度依赖性抑制SW480增殖、迁移与侵袭的同时伴随着上调p53、Bax和Cleaved Caspase 3表达并下调Bcl-2的表达, 提示PIP抑制细胞增殖、迁移与侵袭可能在一定程度上与其上调p53信号通路相关。而p53与细胞自噬的关系相对复杂, 一方面核p53可通过发挥转录因子作用促进细胞自噬<sup>[20]</sup>, 另一方面浆p53以转录活性非依赖性抑制自噬<sup>[21]</sup>。此外, 一些毒性应激(比如某些化疗药物)和氧化应激刺激时, 结肠癌细胞自噬也可不依赖p53发生自噬性细胞死亡<sup>[13]</sup>。因此, PIP诱导SW480细胞发生自噬性细胞死亡是否通过p53信号仍需进一步研究。

#### 4 结论

总之, 本研究目前结果显示, PIP能抑制SW480细胞增殖、迁移和侵袭, 其作用机制可能与其诱导SW480细胞自噬性细胞死亡和上调p53信号通路相关。本研究结果还提示, PIP是潜在的结肠癌治疗剂。

#### 文章亮点

##### 实验背景

由于常用的化疗药物具有较高的毒副作用, 且易产生化疗耐药, 造成目前结肠癌患者的化疗效果并不太理想。因此, 寻找新型高效低毒的结肠癌化疗替代药物显得尤为迫切。

##### 实验动机

据最近研究显示胡椒碱(piperine, PIP)在多种肿瘤中具有抗癌作用, 但其在结肠癌的作用和机制的评估尚不完善。

##### 实验目标

探讨PIP是否具有抗结肠癌的作用。

##### 实验方法

分别通过细胞计数试剂盒8(cell counting kit-8, CCK-8)法、5-乙炔基-2'-脱氧尿嘧啶核苷(5-Ethynyl-2'-deoxyuridine, EdU)染色法和Transwell法检测PIP对SW480细胞增殖、迁移以及侵袭的影响, 并用免疫荧光法和蛋白质免疫印迹法分析其潜在的机制。

##### 实验结果

PIP在0-20  $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内能以剂量依赖性方式抑制SW480细胞增殖、迁移和侵袭, 并上调细胞中p53表达

和诱导其自噬性死亡相关。另外, 在此剂量范围内对结肠癌上皮细胞无毒性。

#### 实验结论

PIP具有抗结肠癌的作用, 这一作用体现在PIP能抑制结肠癌增殖、迁移和侵袭并能诱导其自噬性死亡。

#### 展望前景

PIP是潜在的结肠癌常用化疗药的替代药物。

#### 5 参考文献

- 1 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin* 2019; 69: 7-34 [PMID: 30620402 DOI: 10.3322/caac.21551]
- 2 Feng RM, Zong YN, Cao SM, Xu RH. Current cancer situation in China: good or bad news from the 2018 Global Cancer Statistics? *Cancer Commun (Lond)* 2019; 39: 22 [PMID: 31030667 DOI: 10.1186/s40880-019-0368-6]
- 3 Hu T, Li Z, Gao CY, Cho CH. Mechanisms of drug resistance in colon cancer and its therapeutic strategies. *World J Gastroenterol* 2016; 22: 6876-6889 [PMID: 27570424 DOI: 10.3748/wjg.v22.i30.6876]
- 4 Booth CM, Nanji S, Wei X, Peng Y, Biagi JJ, Hanna TP, Krzyzanowska MK, Mackillop WJ. Use and Effectiveness of Adjuvant Chemotherapy for Stage III Colon Cancer: A Population-Based Study. *J Natl Compr Canc Netw* 2016; 14: 47-56 [PMID: 26733554 DOI: 10.6004/jnccn.2016.0006]
- 5 Li X, Yang G, Li X, Zhang Y, Yang J, Chang J, Sun X, Zhou X, Guo Y, Xu Y, Liu J, Bensoussan A. Traditional Chinese medicine in cancer care: a review of controlled clinical studies published in chinese. *PLoS One* 2013; 8: e60338 [PMID: 23560092 DOI: 10.1371/journal.pone.0060338]
- 6 Manayi A, Nabavi SM, Setzer WN, Jafari S. Piperine as a Potential Anti-cancer Agent: A Review on Preclinical Studies. *Curr Med Chem* 2018; 25: 4918-4928 [PMID: 28545378 DOI: 10.2174/0929867324666170523120656]
- 7 Zadorozhna M, Tataranni T, Mangieri D. Piperine: role in prevention and progression of cancer. *Mol Biol Rep* 2019; 46: 5617-5629 [PMID: 31273611 DOI: 10.1007/s11033-019-04927-z]
- 8 Meghwal M, Goswami TK. Piper nigrum and piperine: an update. *Phytother Res* 2013; 27: 1121-1130 [PMID: 23625885 DOI: 10.1002/ptr.4972]
- 9 Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018; 68: 394-424 [PMID: 30207593 DOI: 10.3322/caac.21492]
- 10 Onorati AV, Dyczynski M, Ojha R, Amaravadi RK. Targeting autophagy in cancer. *Cancer* 2018; 124: 3307-3318 [PMID: 29671878 DOI: 10.1002/cncr.31335]
- 11 Smith AG, Macleod KF. Autophagy, cancer stem cells and drug resistance. *J Pathol* 2019; 247: 708-718 [PMID: 30570140 DOI: 10.1002/path.5222]
- 12 Antunes F, Erustes AG, Costa AJ, Nascimento AC, Bincoletto C, Ureshino RP, Pereira GJS, Smaili SS. Autophagy and intermittent fasting: the connection for cancer therapy? *Clinics (Sao Paulo)* 2018; 73: e814s [PMID: 30540126 DOI: 10.6061/clinics/2018/e814s]
- 13 Stanislav J, Mls J, Červinka M, Rudolf E. The role of autophagic cell death and apoptosis in irinotecan-treated p53 null colon cancer cells. *Anticancer Agents Med Chem* 2013; 13: 811-820 [PMID: 22721392 DOI: 10.2174/1871520611313050015]
- 14 Jeong S, Kim DY, Kang SH, Yun HK, Kim JL, Kim BR, Park SH, Na



- YJ, Jo MJ, Jeong YA, Kim BG, Lee DH, Oh SC. Docosahexaenoic acid enhances oxaliplatin-induced autophagic cell death via the ER stress/Sesn2 pathway in colorectal cancer. *Cancers (Basel)* 2019; 11 [PMID: 31337142 DOI: 10.3390/cancers11070982]
- 15 Lu L, Huang W, Hu W, Jiang L, Li Y, Wu X, Yuan D, Li M. Kruppel-like factor 2 mediated anti-proliferative and anti-metastasis effects of simvastatin in p53 mutant colon cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2019; 511: 772-779 [PMID: 30833076 DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.02.127]
- 16 Jo HJ, Song JD, Kim KM, Cho YH, Kim KH, Park YC. Diallyl disulfide induces reversible G2/M phase arrest on a p53-independent mechanism in human colon cancer HCT-116 cells. *Oncol Rep* 2008; 19: 275-280 [PMID: 18097607]
- 17 Houssein M, Abi Saab W, Khalil M, Khalife H, Fattat M. Cell Death by Gallotannin Is Associated with Inhibition of the JAK/STAT Pathway in Human Colon Cancer Cells. *Curr Ther Res Clin Exp* 2020; 92: 100589 [PMID: 32714471 DOI: 10.1016/j.curtheres.2020.100589]
- 18 Chen G, Zhou T, Li Y, Yu Z, Sun L. p53 target miR-29c-3p suppresses colon cancer cell invasion and migration through inhibition of PHLDB2. *Biochem Biophys Res Commun* 2017; 487: 90-95 [PMID: 28392396 DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.04.023]
- 19 Liu R, Tang J, Ding C, Liang W, Zhang L, Chen T, Xiong Y, Dai X, Li W, Xu Y, Hu J, Lu L, Liao W, Lu X. The depletion of ATM inhibits colon cancer proliferation and migration via B56y2-mediated Chk1/p53/CD44 cascades. *Cancer Lett* 2017; 390: 48-57 [PMID: 28093285 DOI: 10.1016/j.canlet.2016.12.040]
- 20 Goiran T, Duplan E, Rouland L, El Manaa W, Lauritzen I, Dunys J, You H, Checler F, Alves da Costa C. Nuclear p53-mediated repression of autophagy involves PINK1 transcriptional down-regulation. *Cell Death Differ* 2018; 25: 873-884 [PMID: 29352272 DOI: 10.1038/s41418-017-0016-0]
- 21 Sakitani K, Hirata Y, Hikiba Y, Hayakawa Y, Ihara S, Suzuki H, Suzuki N, Serizawa T, Kinoshita H, Sakamoto K, Nakagawa H, Tateishi K, Maeda S, Ikenoue T, Kawazu S, Koike K. Inhibition of autophagy exerts anti-colon cancer effects via apoptosis induced by p53 activation and ER stress. *BMC Cancer* 2015; 15: 795 [PMID: 26496833 DOI: 10.1186/s12885-015-1789-5]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc.  
All rights reserved.

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》正文要求

**本刊讯** 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空 1 格写标题; 2 级标题后空 1 格接正文。以下逐条陈述: (1) 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。(2) 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。(3) 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。(4) 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图 1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: <sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$ ( $P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套  $P$  值, 则<sup>c</sup> $P<0.05$ , <sup>d</sup> $P<0.01$ ; 第 3 套为<sup>e</sup> $P<0.05$ , <sup>f</sup> $P<0.01$ 。 $P$  值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用  $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$  表达。黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片。彩色图片大小  $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$ , 必须使用双面胶条黏贴在正文内, 不能使用浆糊黏贴。(5) 志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**  
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,  
CA 94566, USA  
**Telephone:** +1-925-3991568  
**E-mail:** [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
**https://**[www.wjgnet.com](https://www.wjgnet.com)



ISSN 1009-3079

