



## 基于转录组学的白扁豆总皂苷抑制前列腺癌细胞系 PC-3 细胞生长的机制研究\*

袁强华<sup>1)</sup> 韩君<sup>2)\*\*</sup><sup>1)</sup> 成都中医药大学附属医院药剂科, 成都 610072;<sup>2)</sup> 北京康仁堂药业有限公司中药配方颗粒关键技术国家地方联合工程研究中心, 北京 101301)

**摘要** 目的 白扁豆总皂苷是中药白扁豆经过提取分离纯化步骤制备得到, 关于白扁豆的总皂苷成分如何影响前列腺癌细胞系 PC-3 细胞的生长情况缺少研究。因此, 有必要探讨白扁豆总皂苷对前列腺癌细胞系 PC-3 细胞生长的机制研究。方法 本研究采用 CCK8 方法检测不同浓度的白扁豆总皂苷对前列腺癌细胞系 PC-3 细胞生长的影响。利用转录组学分析白扁豆总皂苷抑制前列腺癌细胞系 PC-3 细胞生长的分子机制, 并且进一步通过实时定量 PCR (qRT-PCR) 和蛋白质免疫印迹 (Western blot) 实验对相关差异基因的表达进行验证。利用 Western blot 和 CCK8 检测白扁豆总皂苷处理过表达醛脱氢酶 7 家族成员 A1 (ALDH7A1) 的 PC-3 细胞存活率。结果 随着白扁豆总皂苷浓度升高, 前列腺癌细胞 PC-3 的存活率显著下降, 白扁豆总皂苷的  $IC_{50}$  值为 1 086 mg/L。转录组学测序结果显示, 与对照组相比, 白扁豆总皂苷处理的细胞中有 2 360 个差异表达基因, 其中 1 982 个基因上调, 378 个基因下调。基因功能注释 (GO) 结果显示, 差异表达基因显著富集到与有丝分裂纺锤体检查点 (mitotic spindle checkpoint)、纺锤体组装检查点 (spindle assembly checkpoint) 等一系列跟癌症的发生发展密切相关的生物学过程。此外, 基因组京都百科全书 (KEGG) 分析结果也显示, 差异表达基因富集在肿瘤代谢等信号通路。进一步对其中的差异基因进行验证, 结果显示, 与对照组相比, 白扁豆总皂苷处理的前列腺癌细胞中 ALDH7A1、甘氨酸 C-乙酰转移酶 (GCAT) 和磷酸甘油酸变位酶家族成员 4 (PGAM4) 的蛋白质表达水平明显降低 ( $P < 0.05$ ), 而二甲基甘氨酸脱氢酶 (DMGDH) 和胱硫醚  $\beta$  合成酶样 (CBSL) 的蛋白质表达水平显著升高 ( $P < 0.001$ )。体外细胞实验结果表明, 白扁豆总皂苷通过下调前列腺癌细胞中 ALDH7A1 的表达抑制 PC-3 细胞生长。结论 白扁豆总皂苷可能通过下调 ALDH7A1 表达从而在体外抑制前列腺癌细胞的生长。

**关键词** 前列腺癌, 白扁豆总皂苷, 转录组学测序  
中图分类号 R737, R285

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0239

前列腺癌是老年男性泌尿生殖系统常见的恶性肿瘤, 在全球男性肿瘤中, 发病率和死亡率分别位列第 2 位和第 5 位<sup>[1]</sup>。近年来上市的内分泌治疗药物只能有限改善前列腺癌患者的预后情况, 并且长期使用容易出现耐药性。此外, 用于前列腺癌治疗的化疗药如多西他赛等, 其靶向效率不佳, 故现有药物仍有局限性<sup>[2]</sup>。这些局限性限制了前列腺癌药物长期疗效以及应用。

从天然药物中分离提取化学成分是抗癌药物的来源之一。研究表明, 一些中药提取物对前列腺癌具有明显的抗肿瘤效果<sup>[3]</sup>, 因此进一步探索能够抑制前列腺癌发生发展的中药成分是有必要的。

白扁豆, 属于豆科植物, 在全国各地均有栽培。白扁豆的种子能够作为重要的中药原材料, 活性成分的前期研究发现其种子含有皂苷<sup>[4]</sup>。药理以及临床研究均发现, 白扁豆总皂苷具有抗菌及增强细胞免疫的作用, 小扁豆凝集素能明显抑制肝癌细胞生长<sup>[5]</sup>。目前关于白扁豆总皂苷在前列腺癌中的作用及其发挥作用的分子机制尚未见报道。

因此, 本研究拟利用白扁豆总皂苷处理前列腺

\* 四川省科技厅基础项目 (2019YJ0614) 资助。

\*\* 通讯联系人。

Tel: 18311059115, E-mail: 729229056@qq.com

收稿日期: 2021-08-16, 接受日期: 2021-11-09

癌细胞系, 探究白扁豆总皂苷对前列腺癌的作用以及其发挥作用的具体分子机制, 力图为前列腺癌的临床干预提供新的治疗手段。

## 1 材 料

### 1.1 实验材料

PC-3 细胞购自中科院细胞库, 白扁豆总皂苷 (批号 201210) 购自成都植标化纯生物技术有限公司, PBS 缓冲液 (货号 B548117-0500) 购自生工生物, 胎牛血清 (货号 16000-044) 购自 Gibco, 胰酶 (货号 C0201)、CCK8 检测试剂盒 (货号 C0038) 购自碧云天生物, RIPA 细胞裂解液、BCA 蛋白浓度检测试剂盒、超敏 ECL 化学发光试剂盒购自上海碧云天生物公司, 兔抗人醛脱氢酶 7 家族成员 A1 (ALDH7A1) (货号 DF12247) 购自 Affinity Biosciences 公司, 兔抗人胱硫醚  $\beta$  合成酶样 (CBSL) (货号 AP17189PU-N) 购自 OriGene 公司, 兔抗人甘氨酸 C-乙酰转移酶 (GCAT) (货号 ab181094)、兔抗人二甲基甘氨酸脱氢酶 (DMGDH) (货号 ab198292), 鼠抗人磷酸甘油酸变位酶家族成员 4 (PGAM4) (货号 ab279384)、 $\beta$ -肌动蛋白抗体 ( $\beta$ -actin antibody) (货号 ab8226)、辣根过氧化物酶标记山羊抗鼠 IgG (货号 ab6789)、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG (货号 ab136636) 购自 Abcam 公司, DMEM/F12 培养基 (货号 D6421) 购自 Sigma-Aldrich 公司, pcDNA3.1 哺乳动物表达载体 (货号 V79020)、Lipofectamine LTX (货号 15338500) 购自 Invitrogen 公司。

### 1.2 仪器

倒置显微镜 (IX70 型 Olympus 公司); 酶标仪 (MK3 Thermo); 实时荧光定量 PCR 仪 (CFX96 Bio-Rad)。

## 2 方法

### 2.1 细胞培养

PC-3 细胞用含有 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基, 置于 37°C、CO<sub>2</sub> 体积分数为 5% 的饱和湿度培养箱中进行常规培养。

### 2.2 药物处理

称取白扁豆总皂苷, 用二甲基亚砜 (DMSO) 充分溶解并配制 400 g/L 母液。用完全培养基将白扁豆总皂苷分别稀释成终浓度为 0、15.625、31.25、62.5、125、250、500、1 000、2 000、4 000 mg/L, 用 DMSO 作为对照。

### 2.3 CCK8 检测

取对数生长期的细胞接种于 96 孔板中, 每孔接种 5 000 个细胞, 将 96 孔板在培养箱中培养过夜。细胞培养过夜后, 取出 96 孔板, 吸弃培养基, 每个实验组加入含有上述不同浓度药物的培养基继续培养 24 h, 每组设置 3 个平行孔。培养基中加入对应体积的 DMSO 为空白对照组。处理结束后向每孔中加入 CCK8 溶液 (每孔 100  $\mu$ l 培养基中加入 10  $\mu$ l CCK8)。37°C 培养箱孵育 1 h 后, 用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度值。

### 2.4 RNA 提取

细胞分成空白对照组和 1 086 mg/L 白扁豆总皂苷处理组两个组, 每组 3 个平行孔, 药物处理 24 h 后, 弃掉细胞培养液。向培养板中每孔加入 1 ml TRIzol 试剂, 收集细胞样本。之后向其中加入 200  $\mu$ l 氯仿, 剧烈震荡混匀。离心, 收集上层的液体, 并向其中加入等体积的异丙醇, 充分混匀, 使 RNA 沉淀。离心, 弃掉上清, 用预冷的 75% 乙醇洗涤沉淀。最后向离心管中加入适量体积的蒸馏水溶解 RNA, 并进行浓度测定。

### 2.5 反转录和实时定量 PCR 反应

反转录反应根据南京诺唯赞公司的 HiScript® III RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper) 试剂盒 (R323-01) 进行, 具体步骤按照说明书进行, 反转录 RNA 的量为 1  $\mu$ g。反转录结束后, 向每管加入 180  $\mu$ l TE 溶液或者 ddH<sub>2</sub>O 将 cDNA 稀释 10 倍, 并将样本放入 -20°C 冰箱保存, 用于后续实验。实时定量 PCR 反应参照诺唯赞公司的 ChamQ SYBR qPCR Master Mix 试剂盒 (Q311-02) 进行。首先向每管 2 $\times$ ChamQ SYBR qPCR Master Mix 中加入 50  $\mu$ l ROX Reference Dye II, 混合均匀, 然后按照表 1 配制反应体系:

Table 1 RT-PCR reaction system

Reagent	Volume/ $\mu$ l
2 $\times$ ChamQ SYBR qPCR Master Mix	10
Primer F (10 $\mu$ mol/L)	1
Primer R (10 $\mu$ mol/L)	1
cDNA	2
Complement ddH <sub>2</sub> O to	20

配制好反应液后, 将液体依次加入 96 孔板中, 最后加入 cDNA。加样结束后, 用膜将 96 孔板封好, 1 200 r/min 离心 1 min。接着在实时定量 PCR 仪上进行反应, 反应条件参照说明书。每个基因选

用特定的引物重复检测3次, 基因的表达水平选用 $\beta$ -actin作为内参。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法对基因的表达进行相对定量。引物序列如表2。

**Table 2 Primers for RT-PCR**

Primer name	Primer sequence (5'→3')
$\beta$ -Actin-F	CATGTACGTTGCTATCCAGGC
$\beta$ -Actin-R	CTCCTTAATGTACGCACGAT
ALDH7A1-F	GGAGCAGATATTGGCACAGC
ALDH7A1-R	AAACCTCTCCTGCACCATCA
SARDH-F	ACCATCGCCTACGGTTACAT
SARDH-R	TCCCTTACCCTCTTGTGT
GCAT-F	CAAGACCCAGAGGTTCCGTA
GCAT-R	TGCCTCTCTTCAGCATGTCA
PGAM4-F	TGAACCTGCCGACTGGTATT
PGAM4-R	GCCTTCACTTCTTGGCCTTG
DMGDH-F	CCTTGGCAACGGATGATGTT
DMGDH-R	CACTTGCTGTCCCACTTCAC
PIPOX-F	AGGTCCTTGGACCAACCAG
PIPOX-R	CACACCATAGCTCCCAGGAA
CBSL-F	ACGAGCAGATCCAGTACCAC
CBSL-R	GTTTAGGGCTCAGGAAAGC
BAX-F	AAACTGGTGCTCAAGGCC
BAX-R	AAAGTAGGAGAGGAGGCCGT

## 2.6 转录组测序及数据处理

按照之前总RNA抽提方法抽提空白对照组和白扁豆总皂苷处理组的RNA, 用Qubit Fluorometer和Agilent bioanalyzer 2100对RNA进行质量检测, RIN值大于7.5的RNA样品用于后续的建库。利用NEBNext® Ultra™ RNA Library Prep Kit for Illumina®试剂盒进行建库, 建库后的样本采用双端测序(2×150 bp)。利用FastQC软件对测序得到的原始数据进行质控分析, 利用HISAT2进行序列比对, 参考基因组为hg19。用String Tie和Ballgown软件找到不同处理组之间的差异基因列表。本文选用变化倍数大于2 (fold change>2)的差异基因进行后续的数据分析。转录组测序的原始数据已经上传NCBI, 序列号为: PRJNA751036。

## 2.7 细胞总蛋白质抽提

首先收集不同处理组的PC-3细胞样本, 并向其中加入适量的RIPA细胞裂解液, 冰上裂解细胞30 min。细胞裂解之后, 以最高转速4℃离心15 min, 将上清液转移至新的EP管中, 即为细胞中总蛋白质。之后利用BCA蛋白浓度测定试剂盒检测蛋白质总浓度。测定浓度之后, 向蛋白质中加

入等体积的上样缓冲液, 99℃加热使蛋白质变性, 并将样本保存在-20℃冰箱中。

## 2.8 Western blot

取40  $\mu$ g变性蛋白加到上样孔中, 进行SDS-PAGE凝胶电泳。电泳结束后, 进行转膜, 转膜条件为恒流300 mA, 时间为1 h。之后将PVDF膜放置在5%脱脂奶粉中室温封闭2 h, 分别加入对应的一抗进行孵育(ALDH7A1一抗1:500稀释, GCAT一抗1:1 000稀释, PGAM4一抗1:1 000稀释, DMGDH一抗1:1 000稀释, CBSL一抗1:500稀释,  $\beta$ -actin一抗1:1 000稀释), 4℃孵育过夜。第二天先用TBST洗膜3次, 每次10 min。再加入1:2 000稀释的二抗室温孵育2 h, TBST洗膜3次, 每次10 min。最后将超敏ECL化学发光试剂滴加到PVDF膜上, 进行曝光成像和拍照。蛋白质的表达以 $\beta$ -actin为内参, 使用Quantity One软件分析各条带的蛋白质相对表达水平。

## 2.9 细胞转染

为了构建ALDH7A1过表达质粒, 本文将人全长ALDH7A1 cDNA克隆到pcDNA3.1载体中(pc-ALDH7A1)。空载体pcDNA3.1为对照组(pc-NC)。按照厂商提供的说明书, 使用Lipofectamine LTX将以上质粒分别转染到PC-3细胞中, 细胞转染48 h后收集样本, 用于后续的Western blot分析。

## 2.10 统计分析

本文采用GraphPad Prism 6.0软件进行统计分析, 所有数据表示为平均值±标准差。本文使用t检验对不同组别进行显著性分析。所有数据都进行至少3次独立重复实验。P值小于0.05被认为具有统计学意义。

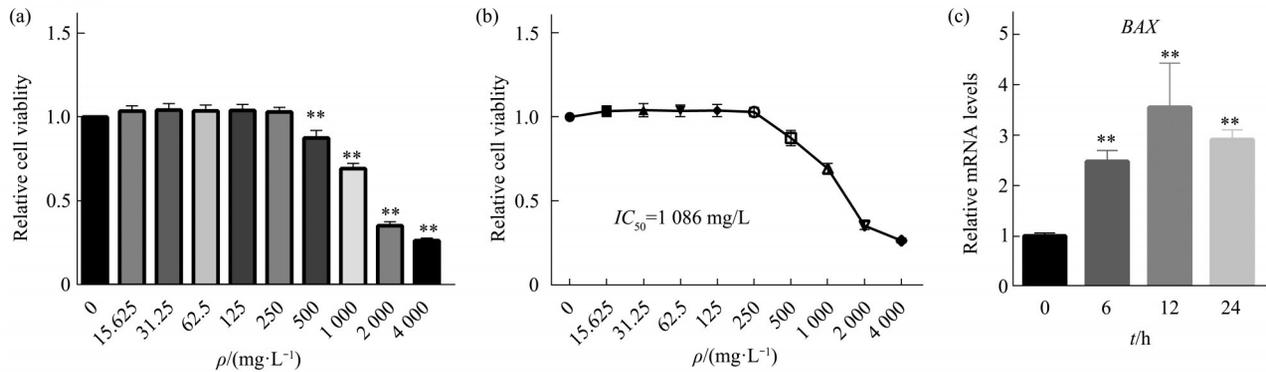
## 3 结 果

### 3.1 白扁豆总皂苷能够抑制前列腺癌细胞系PC-3细胞的生长

本文先用不同浓度的白扁豆总皂苷处理前列腺癌PC-3细胞, CCK8结果显示, 当浓度为0~250 mg/L时, 白扁豆总皂苷对细胞的生长基本没有影响。但是, 当浓度升高为500~4 000 mg/L时, 细胞生长受到明显抑制, 并且呈浓度依赖性(图1a, b)。进一步结果显示, 白扁豆总皂苷的 $IC_{50}$ 值为1 086 mg/L, 因此后续实验本文选用该浓度处理细胞。本文用该浓度处理细胞并收集不同时间点的细胞样本进行检测。RT-PCR结果显示, 随着处理

时间的延长, 促凋亡标志物 BAX 的 mRNA 水平显著增加 (图 1c)。因此, 白扁豆总皂苷在体外能够

显著抑制前列腺癌细胞的生长。



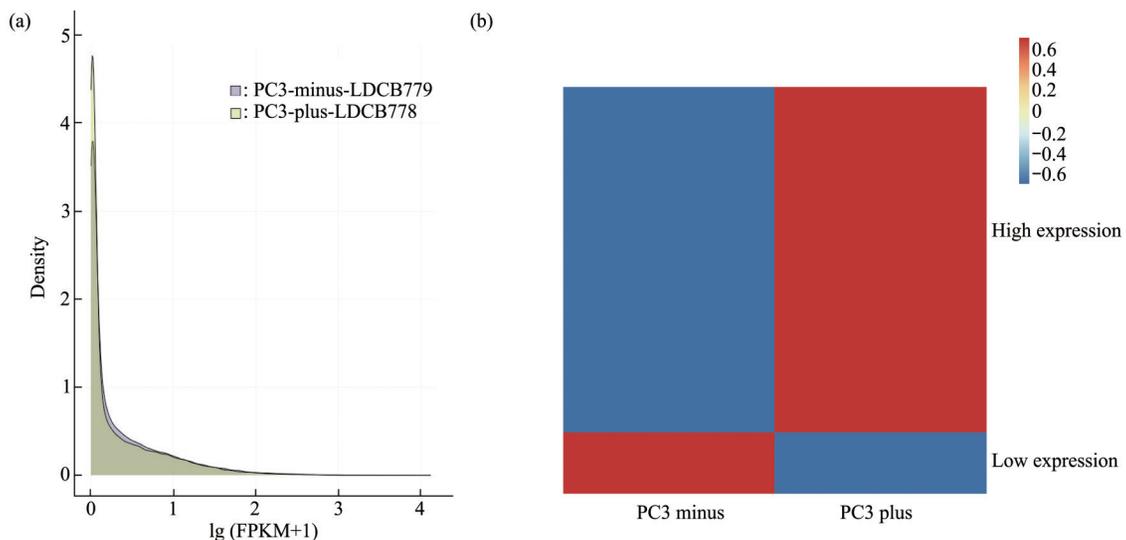
**Fig 1 The effect of total saponins of Lablab Semen Album on cell growth**

(a) Analysis of cell viability at different concentration of total saponins of Lablab Semen Album by CCK8. (b)  $IC_{50}$  value of total saponins of Lablab Semen Album. (c) RT-PCR analysis of the expression of BAX at different time points after treatment with total saponins of Lablab Semen Album at concentration of 1 086 mg/L. \*\* $P < 0.01$ .

### 3.2 转录组分析

为了探索白扁豆总皂苷抑制前列腺癌细胞生长的分子机制, 本文对空白对照组和浓度为 1 086 mg/L 的白扁豆总皂苷处理 12 h 的细胞进行了转录组分析。结果显示, 不同组别的基因表达量基本没有差

异, 分布也是基本一致的 (图 2a)。差异基因分析结果显示, 与对照组相比, 白扁豆总皂苷处理的细胞中具有 2 360 个差异基因, 其中 1 982 个基因上调, 378 个基因下调 (图 2b)。



**Fig 2 Transcriptome analysis**

(a) Distribution map of gene expression; (b) heat map of differentially expressed genes. PC3 minus: blank control group; PC3 plus: total saponins of Lablab Semen Album treatment group.

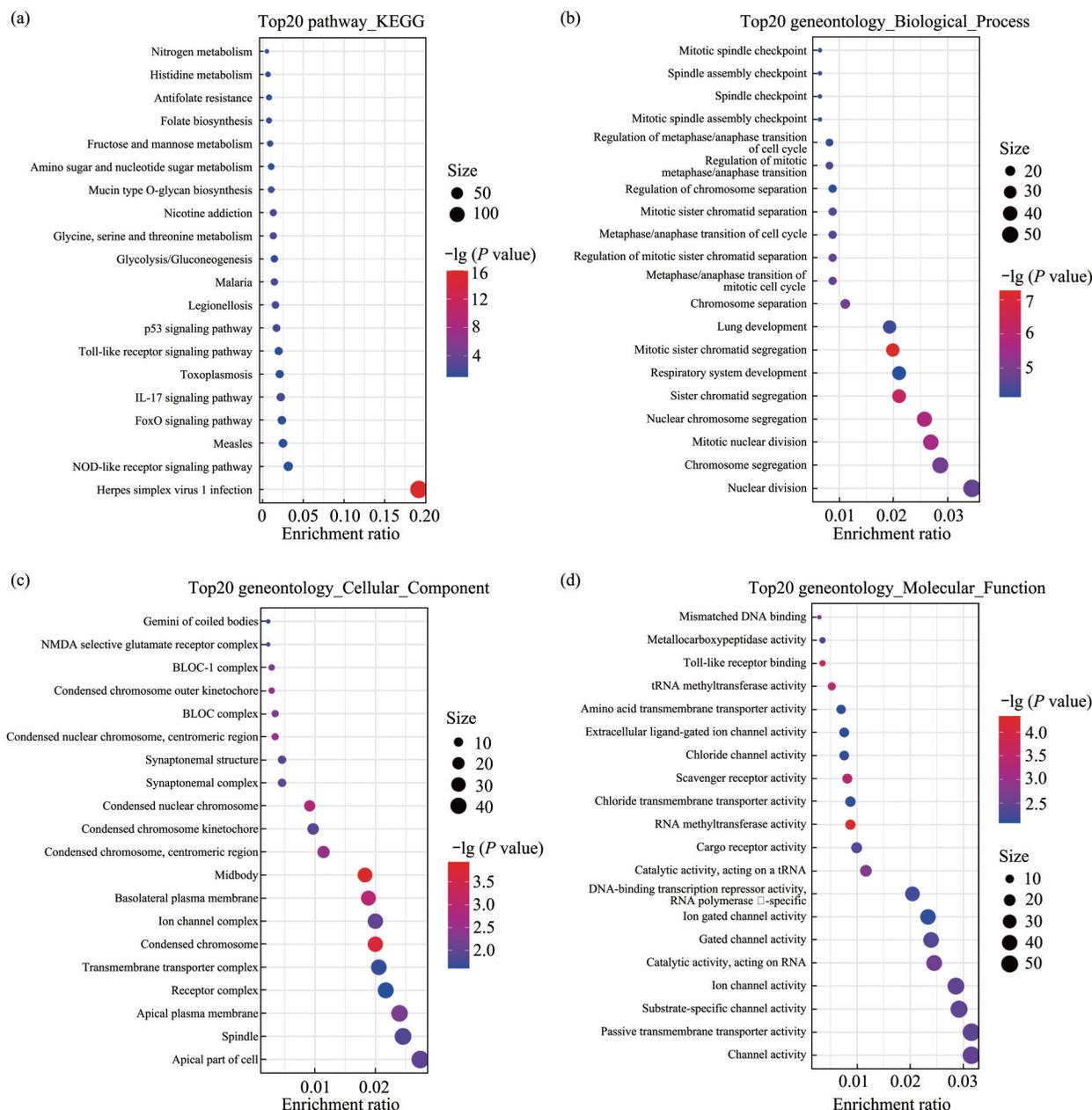
### 3.3 差异表达基因功能和通路富集分析

为了探究对照组和给药组的差异表达基因所参与的生物学过程及其功能, 本文将变化倍数大于 2 并且  $P < 0.05$  的差异基因进行基因组京都百科全书 (KEGG) 信号通路和基因功能注释 (GO) 富集分

析。KEGG 结果显示, 差异表达基因富集在很多肿瘤相关通路, 例如肿瘤代谢和 IL-17 相关通路等 (图 3a)。GO 结果显示, 差异表达基因显著富集到有丝分裂纺锤体检查点 (mitotic spindle checkpoint)、纺锤体组装检查点 (spindle assembly

checkpoint) 等一系列跟癌症的发生发展密切相关的生物学过程 (图 3b)。并且, 这些差异基因主要分布在螺旋体双子 (gemini of coiled bodies) 等 (图 3c)。此外, 差异表达基因的分子学功能主要

跟错配 DNA 结合 (mismatched DNA binding)、金属羧肽酶活性 (metallocarboxypeptidase activity) 和 Toll 样受体结合 (Toll-like receptor binding) 等功能相关 (图 3d)。

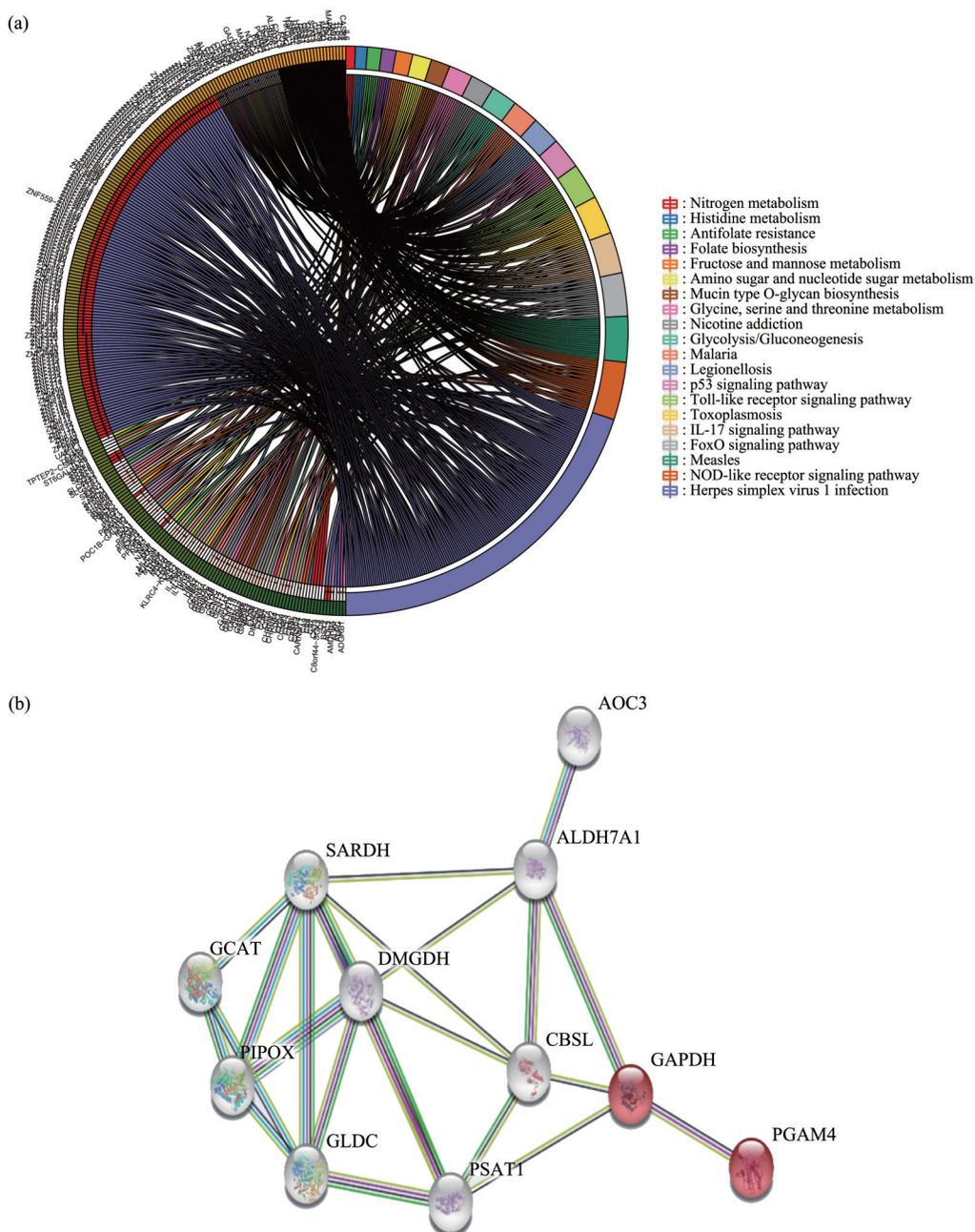


**Fig. 3** Analysis of pathways and functions enrichment of differentially expressed genes after total saponins of Lablab Semen Album act on prostate cancer cells

(a) KEGG analysis of pathways enrichment of differentially expressed genes; (b) biological process analysis of differentially expressed genes; (c) cellular component analysis of differentially expressed genes; (d) molecular function analysis of differentially expressed genes.

对代谢通路中的基因进一步分析, 结果发现主要富集的差异基因有 ALDH7A1、GCAT、PGAM4、DMGDH、CBSL、肌氨酸脱氢酶

(SARDH) 和派可酸和肌氨酸氧化酶 (PIPOX) (图 4a)。蛋白质互作分析预测结果显示, 这 7 个蛋白质之间存在相互作用 (图 4b)。



**Fig. 4 Attribution of pathway genes and analysis of protein interaction**  
 (a) Attribution of KEGG gene pathways; (b) PPI analysis of protein interaction.

### 3.4 差异表达基因验证

由于转录组分析的结果存在一定程度的假阳性，因此为进一步证实测序结果，本文先用浓度为 1 086 mg/L 的白扁豆总皂苷处理 PC-3 细胞 12 h，接着利用实时定量 PCR 对上述 7 个基因的表达进行验证。结果显示，在 7 个基因中有 5 个基因的 mRNA 水平与转录组测序结果一致，它们分别是：ALDH7A1、GCAT、PGAM4、DMGDH、CBSL，而另外两个基因 SARDH 和 PIPOX 的 mRNA 水平在

不同组别之间没有显著差异（图 5a）。

进一步本文对这 5 个差异基因的蛋白质水平也进行了检测。结果显示，与对照组相比，浓度为 1 086 mg/L 白扁豆总皂苷处理的 PC-3 细胞中 ALDH7A1、GCAT 和 PGAM4 的蛋白质表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ )，而 DMGDH 和 CBSL 的蛋白质表达水平显著升高 ( $P < 0.001$ )，与之前的 RT-PCR 验证结果一致（图 5b, c）。

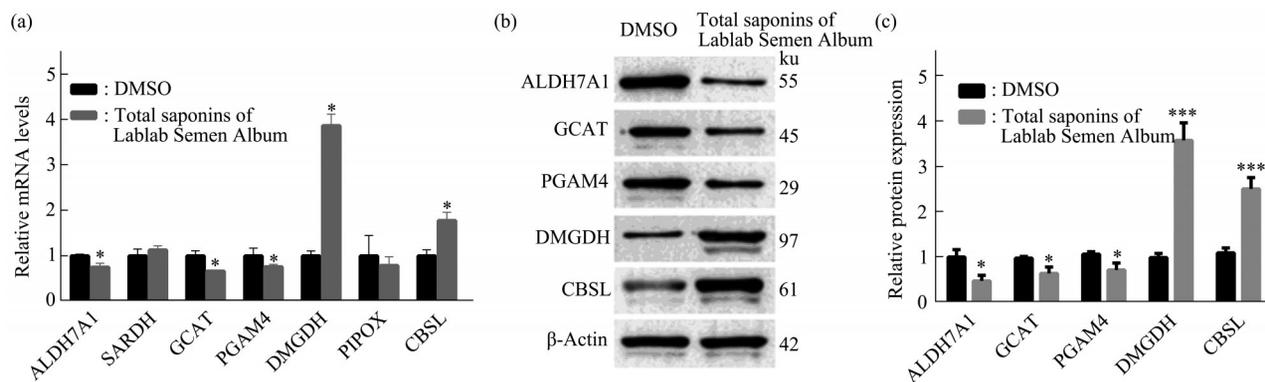


Fig. 5 Verification results of differentially expressed genes

(a) Verification results of differentially expressed genes by real-time quantitative PCR after treatment with total saponins of Lablab Semen Album at concentration of 1 086 mg/L for 12 h; (b) verification results of differentially expressed genes by Western blot after treatment with total saponins of Lablab Semen Album at concentration of 1 086 mg/L for 12 h; (c) quantification of the protein levels by the gray degree value in (b). \* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

### 3.5 ALDH7A1过表达解除了白扁豆总皂苷对前列腺癌细胞系PC-3细胞的抑制作用

白扁豆总皂苷处理的PC-3细胞中ALDH7A1的mRNA和蛋白质表达水平均显著降低。因此,为了进一步探究ALDH7A1是否参与了白扁豆总皂苷对PC-3细胞的生长抑制作用,本文构建了ALDH7A1过表达质粒并将其转染到PC-3细胞,随后用浓度为1 086 mg/L的白扁豆总皂苷处理细胞12 h。Western blot结果表明,ALDH7A1过表达质

粒显著增加了PC-3细胞中ALDH7A1的蛋白质表达( $P < 0.001$ ),并且ALDH7A1过表达显著增加了白扁豆总皂苷处理的PC-3细胞中ALDH7A1蛋白表达( $P < 0.01$ ,图6a, b)。CCK-8的结果显示,pc-ALDH7A1转染促进了PC-3细胞活力( $P < 0.001$ ),白扁豆总皂苷处理则显著抑制了PC-3的细胞活力( $P < 0.001$ ),而进一步转染pc-ALDH7A1后,部分逆转了白扁豆总皂苷对细胞活力的抑制( $P < 0.01$ ,图6c),以上结果表明,白扁豆总皂苷通

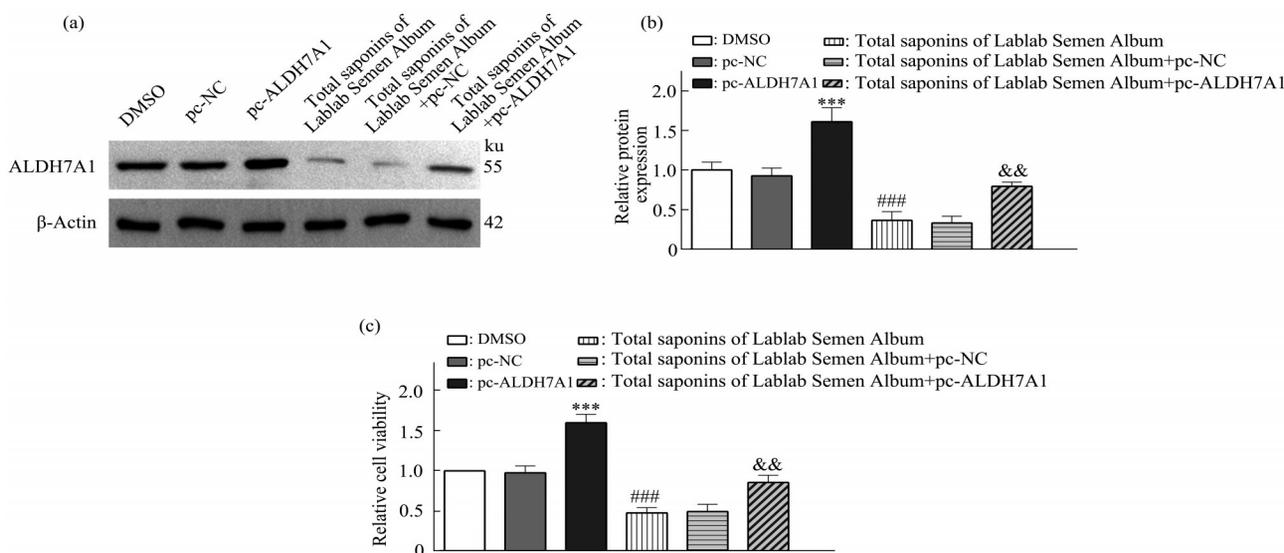


Fig. 6 Influences of ALDH7A1 overexpression on the role of total saponins of Lablab Semen Album in inhibiting prostate cancer cell proliferation

(a) Western blot results of overexpression cell lines after treatment with total saponins of Lablab Semen Album at concentration of 1 086 mg/L for 12 h; (b) gray quantitative analysis of protein bands in (a); (c) variations of cell proliferation after treatment with total saponins of Lablab Semen Album at concentration of 1 086 mg/L for 48 h by CCK8. \*\*\* $P < 0.001$  pc-NC vs pc-ALDH7A1; ### $P < 0.001$  DMSO vs total saponins of Lablab Semen Album; && $P < 0.01$  total saponins of Lablab Semen Album+pc-NC vs total saponins of Lablab Semen Album+pc-ALDH7A1.

过下调ALDH7A1的表达抑制前列腺癌细胞系PC-3细胞生长。

## 4 讨 论

前期研究表明,白扁豆中含有皂苷类成分,采用四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪在负离子模式下对白扁豆总皂苷进行成分分析共鉴定出18个化合物,其中多为齐墩果烷型三萜类皂苷。如竹节参皂苷IVa(chikusetsusaponin IVa)、竹节参皂苷V(chikusetsusaponin V)和大豆皂苷I(soyasaponin I)等,且这些皂苷类成分具有广泛的药理活性<sup>[6-7]</sup>。采用紫外可见分光光度计测定白扁豆总皂苷(以齐墩果酸计)样品中含量结果为52.8%。

虽然之前报道小扁豆凝集素能够抑制肝癌细胞的生长,但关于白扁豆总皂苷在前列腺癌中的作用目前尚无报道。而本研究发现,当白扁豆总皂苷的给药浓度大于500 mg/L时,其能明显抑制前列腺癌细胞系PC-3的生长。并且随着处理时间的延长,白扁豆总皂苷能够促进PC-3细胞中促凋亡蛋白BAX的表达。转录组学分析发现,白扁豆总皂苷处理后引起的差异表达基因主要跟肿瘤代谢相关。通过对转录组数据进行验证,结果发现,与对照组相比,在白扁豆总皂苷处理的细胞中ALDH7A1、GCAT和PGAM4的水平显著降低,而DMGDH和CBSL的水平显著升高。

ALDH7A1作为乙醛脱氢酶,负责将胆碱代谢后的甜菜碱醛代谢成甜菜碱<sup>[8]</sup>。研究发现,ALDH7A1在胰腺癌病人中高表达,其通过增加耗氧量和促进ATP的产生,从而促进胰腺癌的发生发展<sup>[9]</sup>。DMGDH是一种线粒体基质黄素蛋白,负责二甲基甘氨酸的去甲基化,形成肌氨酸<sup>[10]</sup>。据报道,DMGDH在肝癌病人中显著下调,其通过影响Akt信号通路的活化,从而促进肝癌细胞的转移<sup>[11]</sup>。PGAM4作为磷酸甘油酸变位酶(PGAM)的家族成员,是糖酵解和葡萄糖异生通路中的一种重要酶。PGAM4可以催化3-磷酸甘油酸盐(3-PGA)转化为2-磷酸甘油酸盐(2-PGA)。在肿瘤细胞中,PGAM可调节糖酵解与其他ATP产生通路以及糖异生之间的平衡<sup>[12]</sup>。目前,对于GCAT和CBSL两个基因在肿瘤中的作用尚未报道。此外,本研究还发现DMGDH的互作蛋白支架蛋白4A(Cullin4A, CUL4A),CUL4A已经被报道能够促进肿瘤的生长<sup>[13]</sup>,暗示DMGDH可能与

CUL4A相互作用介导白扁豆总皂苷对前列腺癌生长的抑制作用。

本研究发现,白扁豆总皂苷可以抑制前列腺癌细胞系PC-3细胞的生长。进一步的体外细胞实验结果表明,白扁豆总皂苷通过下调ALDH7A1的表达从而抑制PC-3细胞生长。而之前的文献报道ALDH7A1通过影响肿瘤代谢参与癌症的发生发展,但是在前列腺癌中其是否具有相同的作用并不清楚。因此,接下来将继续探究白扁豆总皂苷是否通过影响肿瘤代谢抑制PC-3细胞的生长。

## 5 结 论

本研究发现白扁豆总皂苷可以抑制前列腺癌细胞系PC-3细胞的生长。并且,白扁豆总皂苷可能通过影响肿瘤细胞的代谢过程发挥抑癌作用。体外细胞实验结果表明,白扁豆总皂苷下调前列腺癌细胞中ALDH7A1的表达可能与其抑制前列腺癌细胞增殖作用相关。本研究的发现为前列腺癌的临床干预提供了新的治疗手段和见解。

## 参 考 文 献

- [1] Monteleon C L, Mcneal A, Duperré E K, *et al.* IQGAP1 and IQGAP3 serve individually essential roles in normal epidermal homeostasis and tumor progression. *J Invest Dermatol*, 2015, **135**(9): 2258-2265
- [2] Calcinotto A, Spataro C, Zagato E, *et al.* IL-23 secreted by myeloid cells drives castration-resistant prostate cancer. *Nature*, 2018, **559**(7714): 363-369
- [3] Xu X H, Li T, Fong C M, *et al.* Saponins from chinese medicines as anticancer agents. *Molecules*, 2016, **21**(10): 1-27
- [4] 韩君. 白扁豆总皂苷的含量测定与成分分析. *安徽农业科学*, 2021, **49**(8): 195-198  
Han J. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2021, **49**(8): 195-198
- [5] 张世民, 吴孟超, 陈汉, 等. <sup>125</sup>I-小扁豆凝集素对裸鼠移植性人肝癌靶向定位和治疗的研究. *中华实验外科杂志*, 1992, **9**(2): 69-70  
Zhang S M, Wu M C, Chen H, *et al.* *Chinese Journal of Experimental Surgery*, 1992, **9**(2): 69-70
- [6] 张莹, 王广, 左天, 等. 竹节参皂苷IV、IVa和V对胃癌SGC-7901细胞增殖、凋亡、迁移及侵袭的作用. *中药新药与临床药理*, 2019, **30**(7): 796-801  
Zhang Y, Wang G, Zuo T, *et al.* *Traditional Chinese Drug Research and Clinical Pharmacology*, 2019, **30**(7): 796-801
- [7] Hsu C C, Lin T W, Chang W W, *et al.* Soyasaponin-I-modified invasive behavior of cancer by changing cell surface sialic acids. *Gynecol Oncol*, 2005, **96**(2): 415-422

- [8] Wang H, Tong L, Wei J, *et al.* The ALDH7A1 genetic polymorphisms contribute to development of esophageal squamous cell carcinoma. *Tumour Biol*, 2014, **35**(12): 12665-12670
- [9] Lee J S, Lee H, Woo S M, *et al.* Overall survival of pancreatic ductal adenocarcinoma is doubled by Aldh7a1 deletion in the KPC mouse. *Theranostics*, 2021, **11**(7): 3472-3488
- [10] McAndrew R P, Vockley J, Kim J J P. Molecular basis of dimethylglycine dehydrogenase deficiency associated with pathogenic variant H109R. *J Inherit Metab Dis*, 2008, **31**(6): 761-768
- [11] Liu G, Hou G, Li L, *et al.* Potential diagnostic and prognostic marker dimethylglycine dehydrogenase (DMGDH) suppresses hepatocellular carcinoma metastasis *in vitro* and *in vivo*. *Oncotarget*, 2016, **7**(22): 32607-32616
- [12] 王芬, 李润花, 殷国荣. 磷酸甘油酸变位酶研究进展. *中国血吸虫病防治杂志*, 2012, **24**(3): 353-357
- Wang F, Li R H, Yin G R. Chinese Journal of Schistosomiasis Control, 2012, **24**(3): 353-357
- [13] Wang Y, Zhang P, Liu Z, *et al.* CUL4A overexpression enhances lung tumor growth and sensitizes lung cancer cells to erlotinib *via* transcriptional regulation of EGFR. *Mol Cancer*, 2014, **13**(1): 252

## Mechanistic Study on The Inhibition of Baibiandou (Lablab Semen Album) Total Saponins on The Growth of Prostate Cancer Cell Line PC-3 Cells Based on Transcriptomics\*

Yuan Qiang-Hua<sup>1)</sup>, HAN Jun<sup>2)\*\*</sup>

<sup>1)</sup>Pharmacy Department, Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, China;

<sup>2)</sup>National and Local Joint Engineering Research Center for Key Technology of Chinese Medicinal Composition Granules, Beijing Tcmages Pharmaceutical Co., Ltd., Beijing 101301, China)

**Abstract Objective** The total saponins of Baibiandou (Lablab Semen Album) are prepared from the traditional Chinese medicine Lablab Semen Album through extraction, separation and purification steps. Although there are studies on the targeting and treatment of cancer with Xiaobiandou (*Lens culinaris*) lectin in nude mice with human liver cancer transplants, there is a lack of research on how the total saponins of Lablab Semen Album affect the growth of the prostate cancer cell line PC-3. Therefore, it is necessary to explore the mechanism through which total saponins of Lablab Semen Album impact the growth of the prostate cancer cell line PC-3. **Methods** In this paper, the CCK8 method was adopted to test the effect of different concentrations of Lablab Semen Album total saponins on the growth of PC-3 cells. Transcriptomics was used to analyze the molecular mechanism of the inhibition of the growth of PC-3 cells by Lablab Semen Album total saponins, and the related differential gene expression was verified by real-time quantitative PCR and Western blot experiments. Western blot and CCK8 assays were used to detect the survival rate of total saponins in Lablab Semen Album-treated PC-3 cells overexpressing ALDH7A1. **Results** With increasing concentration of Lablab Semen Album total saponins, the survival rate of PC-3 cells was reduced significantly, and the  $IC_{50}$  value of Lablab Semen Album total saponins was 1 086 mg/L. The transcriptomics sequencing results showed that compared to the control group, there were 2 360 differentially expressed genes in the cells treated with Lablab Semen Album total saponins, of which 1 982 genes were upregulated and 378 genes were downregulated. The GO results showed that the differentially expressed genes were significantly enriched in biological processes closely related to cancer onset and development. In addition, the KEGG analysis results also showed that the differentially expressed genes were enriched in the signaling pathway of tumor metabolism. When the differential genes were further verified, the results showed that compared to the control group, the protein expression levels of ALDH7A1, GCAT and PGAM4 in the prostate cancer cells treated with Lablab Semen Album total saponins were obviously reduced ( $P < 0.05$ ), whereas the protein expression levels of DMGDH and CBSL were significantly increased ( $P < 0.001$ ). According to the results of *in vitro* cell experiments, the downregulated expression of ALDH7A1 in prostate cancer cells by total saponins of Lablab Semen Album inhibited their growth. **Conclusion** Lablab Semen Album total saponins may inhibit the growth of prostate cancer cells *in vitro* through the expression of ALDH7A1.

**Key words** prostate cancer, Baibiandou (Lablab Semen Album) total saponins, transcriptomics sequencing

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2021.0239

\* This work was supported by a grant from Basic Project of Sichuan Provincial Department of Science and Technology(2019YJ0614).

\*\* Corresponding author.

Tel:86-18311059115, E-mail: 729229056@qq.com

Received: August 16, 2021 Accepted: November 9, 2021