

桂皮醛调控 RPS7 表达抑制人子宫内膜异位症细胞生长、转移及诱导凋亡

詹晓璇¹, 刘城移¹, 彭佳华¹, 刘淑真¹, 李欣¹, 任韵颖¹, 陈丹妮¹, 李佩双², 梁瑞宁³

(¹ 江西中医药大学, 南昌 330004; ² 江西中医药大学附属医院妇科, 南昌 333006;

³ 江西中医药大学第二附属医院, 南昌 330012)

摘要 **目的** 研究桂皮醛(CA)对人子宫内膜异位症(EMs)细胞生长、转移及凋亡的影响,并探讨其机制是否与核糖体蛋白 S7 表达有关。**方法** 将 EMs 细胞分为对照组、CA 组、sh-NC 组、CA + sh-RPS7 组。CCK-8 法和平板克隆形成实验检测细胞增殖;细胞划痕愈合实验和 Transwell 实验检测细胞迁移与侵袭;Hoechst 33258 和流式细胞术检测细胞周期分布与凋亡;并结合 Western blot 检测 PCNA、E-cadherin、Vimentin、Bcl-2、Bax 蛋白表达情况。qRT-PCR 和 Western blot 检测 CA 干预后 RPS7 基因和蛋白表达情况。慢病毒转染细胞,以嘌呤霉素筛选建立 RPS7 过表达的稳定细胞株,Western blot 检测转染效率。结合 CCK-8 法和流式细胞术检测过表达 RPS7 对细胞增殖与凋亡的影响。**结果** 首先,CA 呈量效和时效关系抑制细胞增殖,下调 PCNA。CA 作用 24 h 后的 IC₅₀ 值为 53.60 $\mu\text{mol/L}$,克隆形成率为 25.32%。其次,CA 抑制细胞迁移与侵袭,上调 E-cadherin 和下调 Vimentin。细胞迁移率分别为 35% 和 29%,侵袭率为 40%。此外,CA 通过细胞周期 G2/M 期阻滞诱导细胞凋亡,细胞凋亡率为 25.1%,这与上调 Bax 和下调 Bcl-2 有关。最后,CA 可显著抑制 RPS7 表达水平,RPS7 表达下调介导了 CA 抑制细胞增殖和诱导凋亡的效应。**结论** CA 通过下调 RPS7 的表达抑制细胞生长、转移及诱导凋亡。

关键词 桂皮醛;RPS7;子宫内膜异位症;增殖;迁移;侵袭;凋亡

中图分类号 R 965

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2025)03-0405-09

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.03.004

子宫内膜异位症(endometriosis, EMs)是育龄期女性多发病^[1],其生物学行为与恶性肿瘤相似,即不受限制的细胞生长、转移和细胞凋亡减少^[2]。桂皮醛(cinnamaldehyde, CA)是可用于 EMs 治疗的多种中药配方的主要活性成分之一^[3]。据报道^[4],CA 可抑制多株肿瘤细胞增殖、转移并诱导凋亡。目前 CA 对人 EMs 细胞的影响及作用机制尚未明确。课题组前期运用超高效液相色谱-串联质谱分析技术(UPLC/Q-TOF-MS/MS),对梁瑞宁教授治疗 EMs 经验方平冲降逆方进行组分细分,成功筛选出中药单体 CA,同时证实 CA 抑制人原代子宫内膜异位间质

细胞生长、转移^[5]。此外,四维数据依赖采集(the four-dimensional data-dependent acquisition, 4D-DIA)蛋白质组学分析证实,与对照组相比,CA 干预后存在 214 个差异蛋白,其中核糖体蛋白 S7(ribosomal protein S7, RPS7)蛋白表达显著下调,差异倍数 > 1.5 ($P < 0.01$)。RPS7 在多种癌症中表达异常,参与调节细胞生长、转移和凋亡^[6]。目前, RPS7 对 EMs 细胞的影响尚未见报道。因此,该研究以 12Z 细胞为研究对象,拟探求 CA 能否通过调控 RPS7 影响 12Z 细胞生长、转移和凋亡,为 CA 作为潜在治疗 EMs 药物提供前期实验参考。

1 材料与方法

1.1 材料 CA 购于美国 Sigma-Aldrich 公司,纯度 $\geq 95\%$,化学式为 C₉H₈O,见图 1A,相对分子质量为 132.16,批号 MKCD4749。人子宫内膜异位症上皮细胞 12Z 细胞,购于美国 Applied Biological Materials 公司,批号 T0764。胎牛血清、DMEM/F12 培养液、0.25% 胰蛋白酶、青链霉素混合液均购于北京索莱宝科技有限公司;Matrigel 基质胶购于美国 Corning 公司;细胞毒性检测试剂盒(cell counting kit-

2024-12-05 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81160447、81760878);江西省教育厅科学技术研究项目(编号:GJJ2200919);江西省女性生殖健康中医研究重点实验室(编号:20202BCD42015);江西省自然科学基金(编号:20202BAB206073;20212BAB216066);省级大学生创新创业训练计划项目(编号:S202210412069;S202310412056);江西中医药大学科技创新团队(编号:CXTD22013)

作者简介:詹晓璇,女,硕士研究生;

梁瑞宁,男,二级教授,硕士生导师,通信作者, E-mail: jack169@sina.com

8,CCK? 8)、Hoechst 33258、膜联蛋白 V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒、细胞总 RNA 试剂盒、cDNA 逆转录试剂盒购于上海翌圣生物科技有限公司;BCA 蛋白定量试剂盒购于江苏康为世纪生物科技有限公司;荧光素酶病毒购于上海吉凯基因有限公司;嘌呤霉素购于安徽白鲨生物技术有限公司;Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 抗体、B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2) 抗体、B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (Bcl-2-associated X protein,Bax) 抗体购于美国 Abcam 公司;E 钙黏着蛋白 (E-cadherin)、波形蛋白 (Vimentin)、RPS7、β-肌动蛋白 (β-actin) 购于武汉三鹰科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 12Z 细胞用含 10% 胎牛血清和 1% 青链霉素的 DMEM/F12 培养基培养,置于 37℃、5% CO₂ 培养箱培养。

1.2.2 CCK-8 法测定细胞增殖 细胞接种于 96 孔板中,每孔接种密度 3 × 10⁴ 个/ml,每孔 100 μl,5% CO₂、37℃ 条件下培养。设置对照组和给药组,各孔培养液 CA 浓度分别为 10、25、50、100、200 μmol/L,每组 5 个平行,分别作用 24、48 和 72 h,弃上清液,加入 10 μl CCK-8 试剂,以未接种细胞只加入 DMEM/F12 培养基为调零孔。培养 2 h 后测定吸光度。细胞存活率 (%) = [(A_{给药组} - A_{调零孔}) / (A_{对照组} - A_{调零孔})] × 100%。

1.2.3 平板克隆形成实验 细胞接种于 6 孔板中,每孔接种密度 8 × 10³ 个/ml,细胞贴壁后加入 CA 干预。培养 7 ~ 14 d 左右,观察到集落中细胞数目大于 50,终止培养。PBS 清洗 3 次,甲醇固定 30 min,结晶紫溶液染色 30 min,PBS 润洗,晾干拍照,Image J 软件计数分析克隆形成率。克隆形成率 (%) = (实验组的细胞克隆数/对照组的克隆数) × 100%。

1.2.4 细胞划痕愈合实验 细胞接种于 6 孔板中,每孔接种密度 5 × 10⁴ 个/ml。细胞贴壁后用 10 μl 吸头划线,每孔 3 条划痕,划好后用 PBS 洗涤 3 次。倒置显微镜下拍照,记录为 0 h (原划痕宽度)。分组处理后继续培养作用 24 h,PBS 清洗悬浮凋亡细胞,显微镜下观察记录为 24 h (现划痕宽度)。细胞迁移率 (%) = [(原划痕宽度 - 现划痕宽度) / 原划痕宽度] × 100%。

1.2.5 Transwell 试验 Matrigel 基质胶与培养基以 1 : 5 比例稀释,包被 Transwell 上室。细胞接种于上室,每孔接种密度 3 × 10⁴ 个/ml,每孔 100 μl,CA 加入下室,作用 24 h。取出小室,固定、洗涤,染色晾

干,倒置显微镜下拍照,计算平均值。检测细胞迁移能力上室不添加基质胶。细胞迁移/侵袭率 (%) = (现有细胞数/原始细胞数) × 100%。

1.2.6 细胞周期 细胞接种于 6 孔板中,每孔接种密度 5 × 10⁴ 个/ml,细胞贴壁后加入 CA 干预。胰酶消化细胞,PBS 冲洗,4℃ 固定过夜。10 μl RNase A,10 μl 碘化丙啶和 500 μl 染色溶液重悬细胞,避光孵育 20 min,流式细胞仪分析细胞周期分布。

1.2.7 Hoechst 33258 染色实验 细胞接种于 96 孔板中,每孔接种密度 3 × 10⁴ 个/ml,细胞贴壁后加入 CA 干预。加入 100 μl Hoechst 33258 溶液,避光孵育 10 min。在激发波长 350 nm、发射波长 460 nm 的倒置荧光显微镜下观察统计并拍照。细胞凋亡率 (%) = 凋亡细胞 / (正常细胞 + 凋亡细胞) × 100%。

1.2.8 流式细胞术 细胞接种于 6 孔板中,每孔接种密度 3 × 10⁴ /ml,细胞贴壁后加入 CA 干预。胰酶消化细胞,5 μl Annexin V-FITC 和 10 μl PI 染液重悬细胞,避光室温反应 15 min,加入 400 μl 1 × Binding Buffer 混匀,1 h 内采用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.2.9 实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR,qRT-PCR) 低温环境下抽提总 RNA,总 RNA 样本逆转录成 cDNA。qRT-PCR 试剂盒进行 PCR 扩增共 40 个循环。采用 2^{-ΔΔC_T} 法计算相关基因的相对表达水平。相关引物序列详见表 2。

1.2.10 Western blot 法 提取细胞总蛋白,BCA 试剂盒测定蛋白浓度。蛋白变性,上样,SDS-PAGE 凝胶中电泳,湿转 30 ~ 50 min,封闭 2 h。一抗 PCNA (1 : 1 000)、E-cadherin (1 : 5 000)、Vimentin (1 : 2 000)、Bax (1 : 1 000)、Bcl-2 (1 : 2 000)、RPS7 (1 : 2 000) 溶液孵育,4℃ 过夜,二抗 β-actin (1 : 2 000) 中室温孵 1 h,洗涤 3 次。ECL 液显色,曝光成像。

1.2.11 慢病毒转染 细胞接种于 6 孔板中,每孔接种密度 3 × 10⁴ 个/ml,吉凯慢病毒转染试剂盒进行转染。根据说明书选择最佳复感染指数 (MOI = 50),加入慢病毒和 HitransG P 转染细胞。48 h 后,

表 1 引物序列
Tab. 1 Primer sequences

Target genes	Primer sequences
RPS7	Forward: CTATCATAATCTTTGTTCCTCCGTTCC
	Reverse: GATTCTCTTGCCCAACAATTTCG
β-actin	Forward: CACCCAGCACAAATGAAGATCAAGAT
	Reverse: CCAGTTTTTAAATCCTGAGTCAAGC

使用 2 μg/ml 嘌呤霉素筛选细胞, Western blot 验证转染效率。

1.3 统计学处理 GraphPad Prism 进行统计分析和作图,用 $\bar{x} \pm s$ 表示资料数据。组间两两比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CA 抑制 12Z 细胞增殖 与对照组相比,CA 呈浓度和时间依赖性显著抑制 12Z 细胞增殖,见图 1B。本研究以 100 μmol/L, CA 干预 24 h 进行后续

实验。倒置显微镜下观察细胞形态变化,对照组细胞形态规则,呈梭状,黏附性好;CA 组细胞数量明显减少,变成圆球形,并逐渐脱落,排列疏松,形态学上呈细胞凋亡状态,见图 1C。同时,细胞克隆实验结果显示,与对照组相比,CA 组的克隆形成能力受到明显抑制,克隆形成率为 25.32% (*t* = 77.38, *P* < 0.01,图 1D、E)。PCNA 是细胞增殖状态的公认指标,CA 显著抑制 PCNA 表达水平 (*t* = 7.43, *P* < 0.01,图 1F、G)。以上表明,CA 能明显抑制 12Z 细胞增殖。

2.2 CA抑制12Z细胞迁移和侵袭 细胞划痕愈

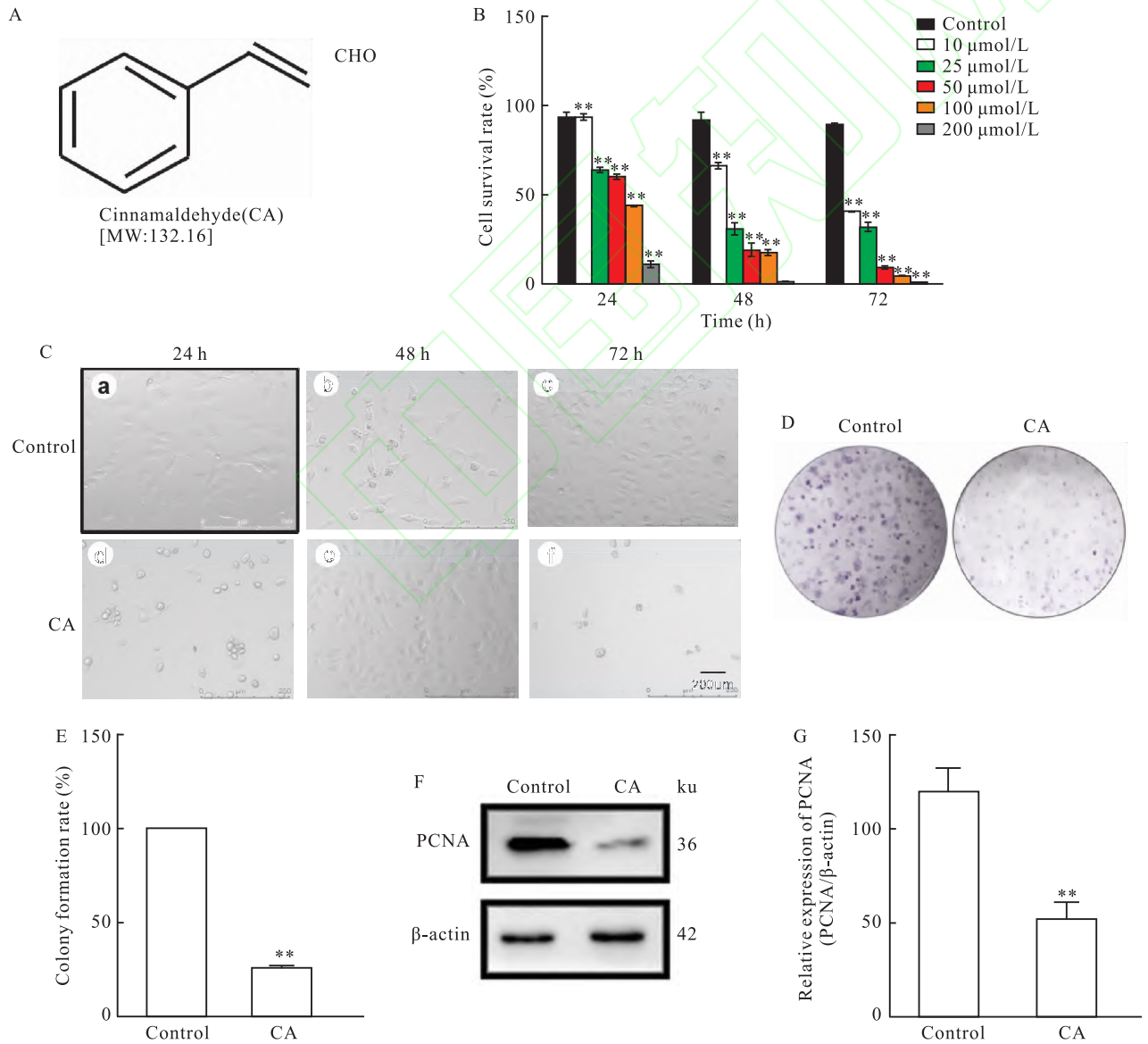


图1 CA对12Z细胞增殖的影响

Fig.1 Effect of CA on growth of 12Z cells

A: Molecular structure of CA; B: Cell proliferation was detected by CCK-8; C: Effect of CA on cell morphology × 200; D、E: The colony formation rate was evaluated by plate clonogenic assay; F、G: Western blot analysis of PCNA protein; * *P* < 0.05, ** *P* < 0.01 vs the control group.

合实验表明,与0 h 相比,细胞培养24 h 后划痕发生明显愈合,表明细胞在培养过程中发生迁移。与对照组相比,CA 组细胞数量明显减少,细胞形态发生变化,划痕愈合程度低,细胞相对迁移率为35% ($t=9.78, P<0.01$,图2A、B)。同时,Transwell 实验结果显示,与对照组相比,细胞迁移、侵袭数明显减少,细胞迁移率和侵袭率分别为29% ($t=22.68, P<0.01$,图2C、D)和40% ($t=25.34, P<0.01$,图

2E、F)。上皮-间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)对细胞侵袭和迁移至关重要。Western blot 实验表明,CA 明显上调 EMT 相关蛋白 E-cadherin 表达($t=5.23, P<0.01$,图2G~I),抑制 Vimentin 表达($t=7.88, P<0.01$,图2G~I)。以上表明,CA 有效抑制12Z 细胞体外迁移及侵袭能力。

2.3 CA 诱导12Z 细胞凋亡 细胞周期检测结果显示,与对照组相比,CA 组的G₂/M 期细胞比例显

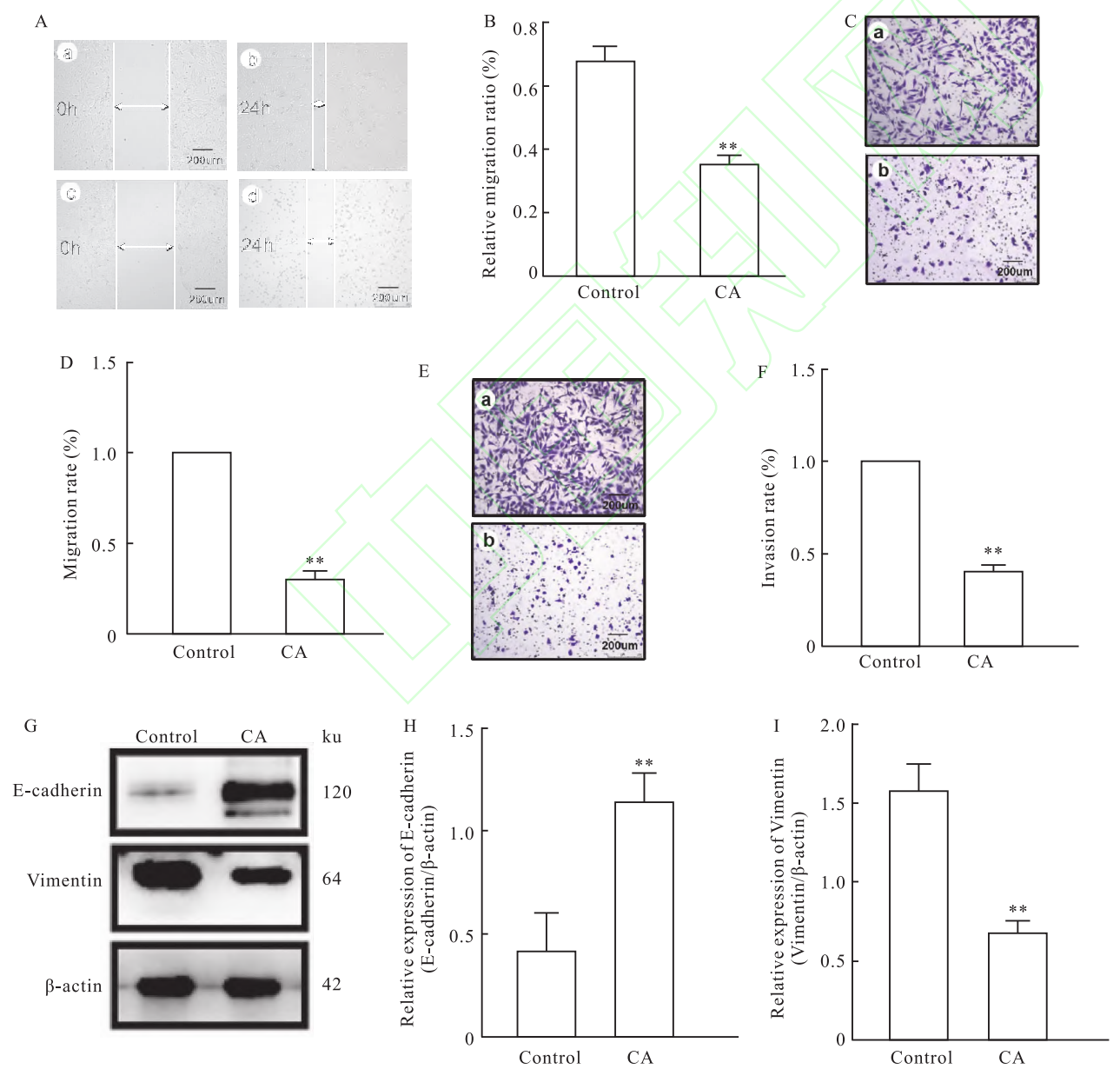


图2 CA 对12Z 细胞迁移、侵袭的影响

Fig.2 Effect of CA on migration and invasion of 12Z cells

A、B: Cell migration was evaluated by wound scratch assay (a - b: control group; c - d: CA group); C - E: Transwell assay was used to detect the effect of CA on the migrative and invasive abilities of 12Z cells (a: control group; b: CA group); G - I: Western blot analysis of E-cadherin and Vimentin proteins; $**P<0.01$ vs the control group.

著增加,由 13.14% 上调至 34.11% ($t = 7.68, P < 0.01$, 图 3A、B)。Hoechst-33258 染色实验观察到对照组细胞荧光强度较弱,细胞核数目较多,形态规则、分布均匀;CA 组细胞荧光变亮,细胞数量明显减少,部分细胞核明显皱缩变小、分裂,经统计分析,给药处理后 CA 组细胞凋亡率为 37% ($t = 32.43, P < 0.01$, 图 3C、D)。流式细胞术进一步明确 CA 对 12Z 细胞凋亡的影响。对照组细胞凋亡率为 4.68%, CA 组细胞凋亡明显,细胞凋亡率为 25.1%, ($t = 6.84, P < 0.01$, 图 3E、F)。Western

blot 实验表明,CA 显著上调促凋亡蛋白 Bax ($t = 7.95, P < 0.01$, 图 3G~I),抑制抗凋亡蛋白 Bcl-2 ($t = 12.25, P < 0.01$, 图 3G~I)。以上表明,CA 促使细胞周期停滞在 G₂/M 期,诱导 12Z 细胞凋亡。

2.4 CA 抑制 RPS7 表达 qRT-PCR 试验和 Western blot 表明,与对照组相比,CA 干预后 RPS7 基因 ($t = 20.54, P < 0.01$, 图 4A)和蛋白 ($t = 12.09, P < 0.01$, 图 4B、C)表达显著下调。这表明与前期蛋白组学分析结果一致,CA 显著抑制 12Z 细胞中 RPS7 表达。

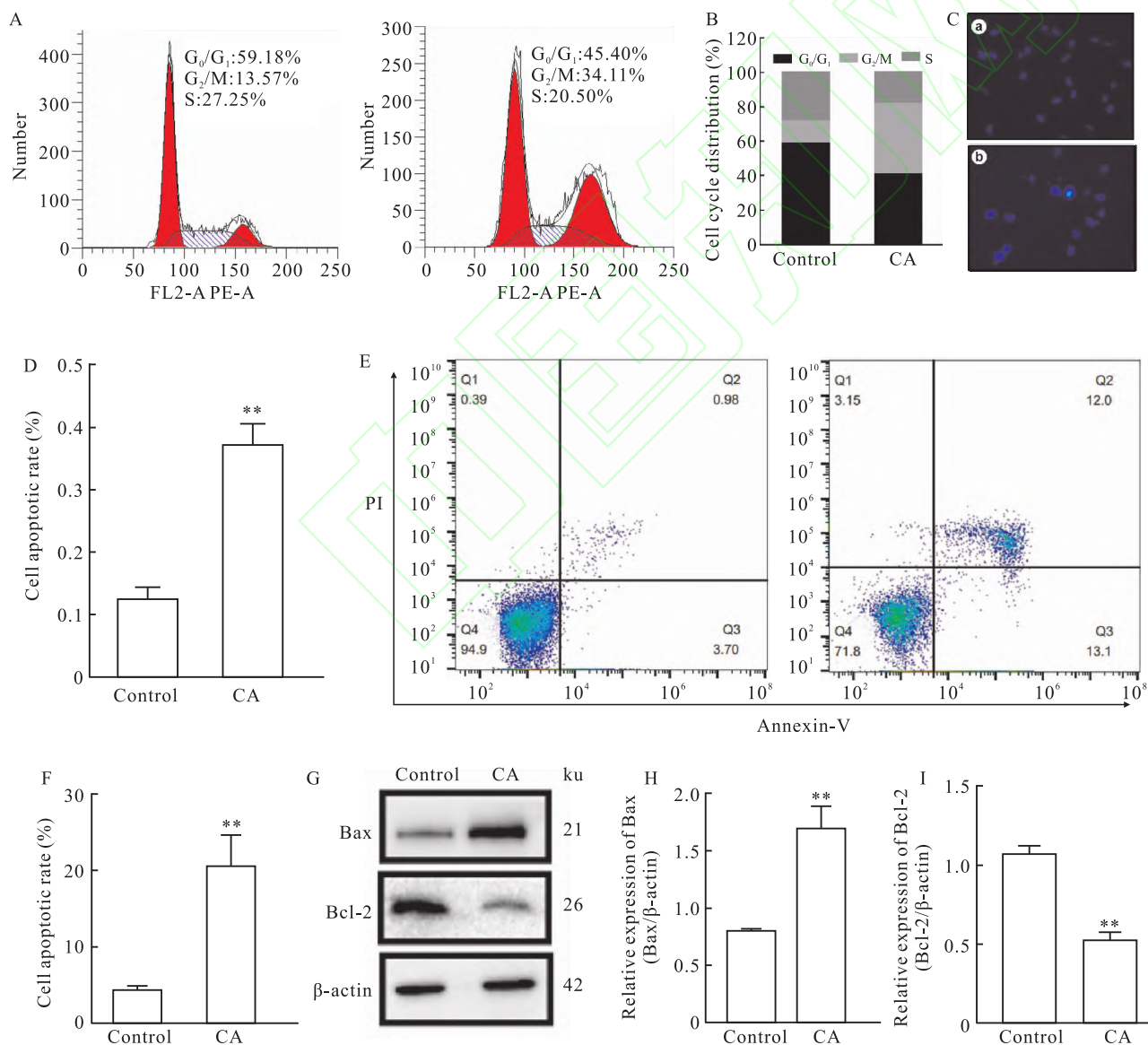


图 3 CA 对 12Z 细胞凋亡的影响

Fig.3 Effect of CA on apoptosis of 12Z cells

A、B: The DNA content of the cells was determined by the flow cytometry assesses; C – F: Hoechst 33258 staining assay and flow cytometry assesses were used to detect the effect of CA on cell apoptosis ×200; G – I: Western blot analysis of Bax and Bcl-2 proteins; ** $P < 0.01$ vs the control group.

2.5 慢病毒转染及稳定细胞系的筛选 加入嘌呤霉素 48 h 后,嘌呤霉素浓度为 0 $\mu\text{g/ml}$ 的细胞生长状态良好;浓度为 2 $\mu\text{g/ml}$ 的细胞基本死光、变圆。因此,嘌呤霉素最适杀灭浓度为 2 $\mu\text{g/ml}$,见图 5A。以 $\text{MOI} = 50$ 为转染条件,转染 48 h 后,细胞形状未见明显改变,倒置荧光显微镜下可见明显绿色荧光,转染效率达 80% 以上,见图 5B,后续用嘌呤霉素筛选稳定转染单克隆细胞系。Western blot 结果证实,与 sh-NC 组相比,sh-RPS7 组 RPS7 表达明显上调($t = 15.61, P < 0.01$,图 5C、D)。以上表明,成功构建

RPS7 过表达的稳定细胞株。
2.6 CA 通过下调 RPS7 抑制 12Z 细胞生长并诱导细胞凋亡 12Z 细胞中成功转染 RPS7 慢病毒后, CCK-8 检测结果显示,与 CA 组相比,CA + sh-RPS7 组细胞增殖能力明显增强 ($F = 290, P < 0.01$,图 6A)。这表明 RPS7 过表达的 12Z 细胞具有更显著的增殖能力。Western blot 结果提示,与 CA 组相比, CA + sh-RPS7 组 PCNA 表达上调 ($F = 74.26, P < 0.01$,图 6B、C)。流式细胞术结果提示,与 CA 组相比,CA + RPS7 组细胞凋亡率显著降低,从 CA 组的

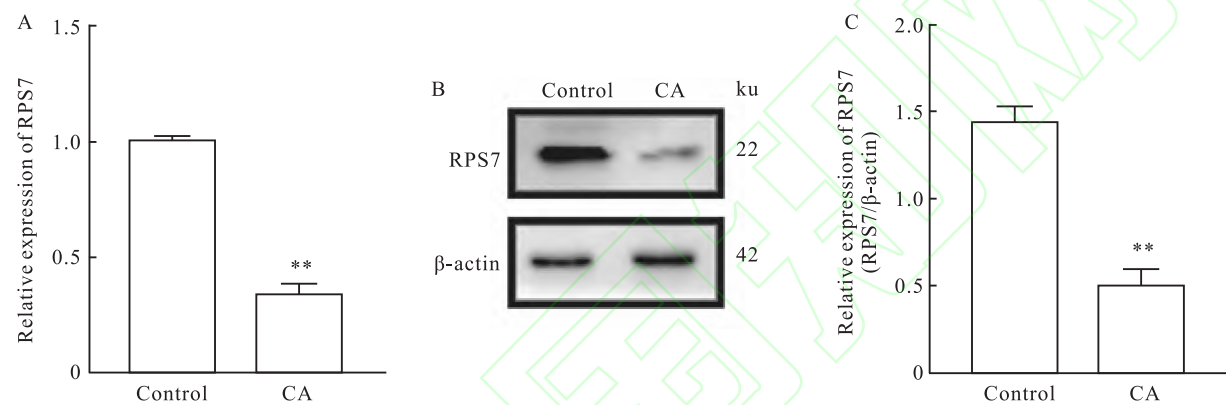


图 4 CA 对 12Z 细胞 RPS7 表达的影响

Fig. 4 Effect of CA on the expression of RPS7 in 12Z cells

A: The expression of RPS7 was evaluated by qRT-PCR; B - C: Western blot analysis of RPS7 protein; ** $P < 0.01$ vs the control group.

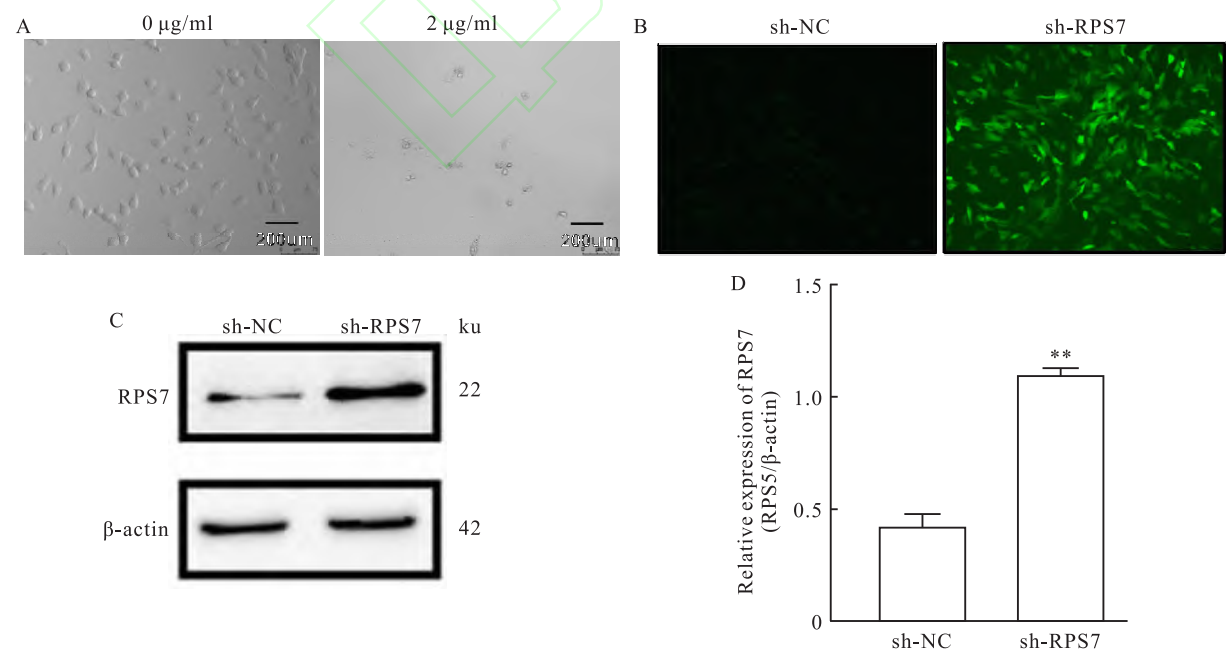


图 5 构建 RPS7 过表达的稳定细胞株

Fig. 5 Construction of RPS7 stable over expression 12Z cells

A: Puromycin screening of 12Z cells for 48 h $\times 200$; B: The fluorescence of the cells transfected with lentivirus for 48 h $\times 200$; C - D: Western blot analysis of the overexpression of RPS7 protein; ** $P < 0.01$ vs the sh-RPS7 group.

25.49%下降到和 CA + sh-RPS7 组的 10.59% ($F = 80.45, P < 0.01$, 图 6D、E)。免疫印迹结果提示,与 CA 组相比,CA + sh-RPS7 组 Bax 表达下调 ($F = 367.1, P < 0.01$, 图 6F ~ H), Bcl-2 表达上调 ($F = 80.45, P < 0.01$, 图 6F ~ H)。以上表明,在 CA 干预的 12Z 细胞中,过表达 RPS7 可促进细胞增殖,降低细胞凋亡率。

3 讨论

EMs 是最普遍的良性妇科疾病类型之一,其在生物学上有着与肿瘤相类似的特征,如过度增殖、远

端转移和凋亡减少^[7]。因此,如何有效积极预防 EMs 细胞异常增殖、迁移侵袭和抗凋亡是预防和治疗 EMs 关键所在。从天然植物中寻找治疗药物是治疗 EMs 药物开发应用的一项有效策略^[8]。丹参酮 IIA^[9]、槲皮素^[10]等单体及其有效成分已被证明对子宫内膜异位细胞或病变具有广泛的作用特征,包括抗增殖、抗转移和诱导凋亡活性等。

CA 是一种天然的小分子化合物,具有显著的抗癌活性,参与抑制卵巢癌、宫颈癌、乳腺癌等多株肿瘤细胞生长、转移,诱导细胞凋亡^[11]。桂枝广泛存在于治疗 EMs 的经典中药配方中^[3],然而 CA 作为

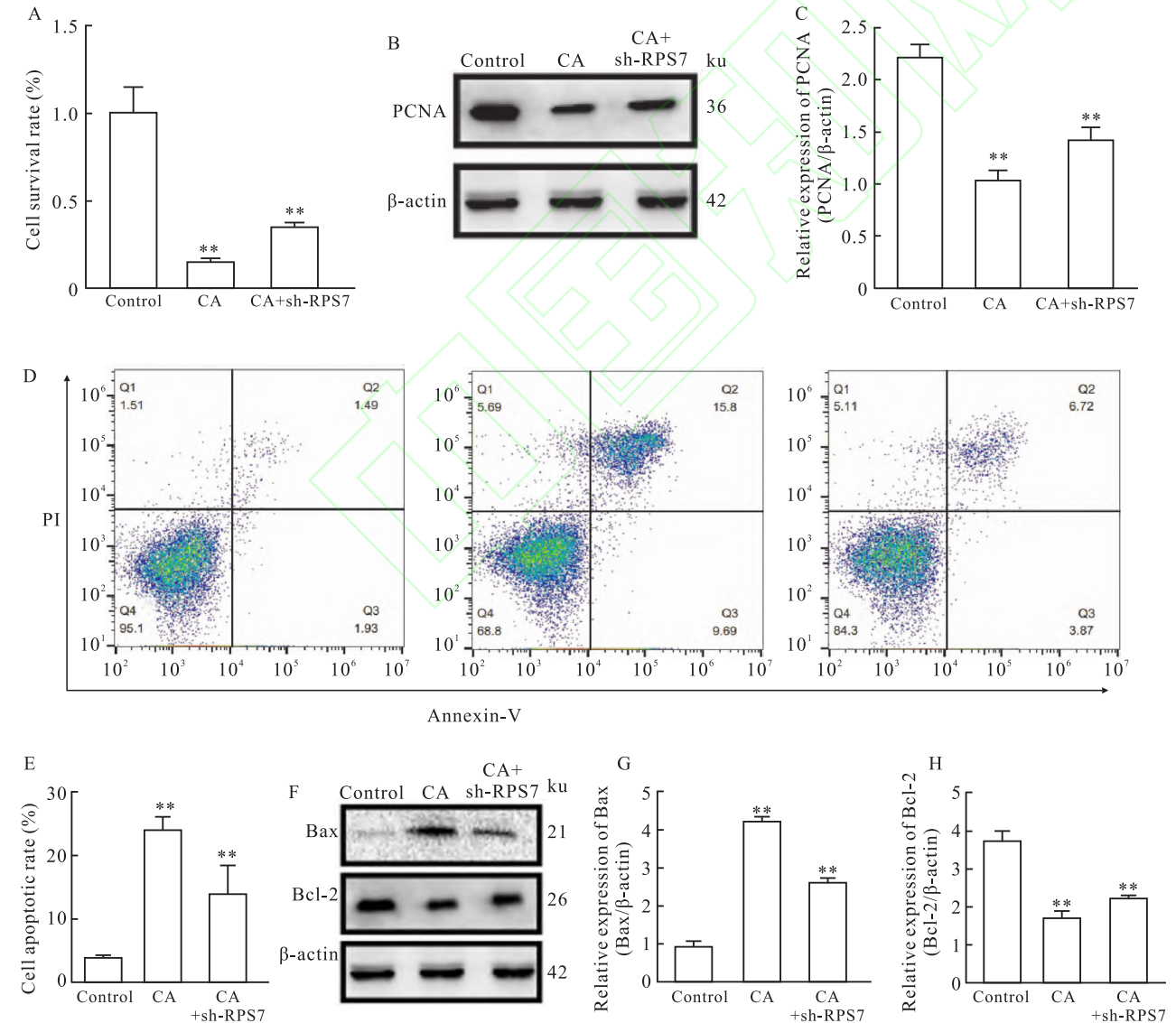


图 6 过表达 RPS7 对 CA 介导的 12Z 细胞增殖、凋亡的影响

Fig. 6 Effect of the overexpression of RPS7 on CA-mediated proliferation and apoptosis of 12Z cells

A: Effect of the overexpression of RPS7 on proliferation ability of cells detected by CCK-8; B - C: Western blot analysis of PCNA proteins; D, E: Flow cytometry assesses were used to detect cell apoptosis rate; F - H: Western blot analysis of Bax and Bcl-2 protein; ** $P < 0.01$ vs the control group.

桂枝的主要活性成分,目前关于 CA 对 EMS 细胞影响及潜在分子作用机制鲜有报道。因此,基于 CA 的抗肿瘤特性以及 EMs 具有与癌细胞类似的生物学行为,本研究首次探讨 CA 对人 EMS 细胞生长、转移及凋亡的影响及其可能的分子机制。本研究首次证实 CA 可抑制 12Z 细胞生长、转移并诱导凋亡,同时下调增殖、迁移侵袭和凋亡相关蛋白 PCNA、Vimentin 与 Bcl-2,上调 E-cadherin 和 Bax。

RP 在将 mRNA 翻译成蛋白质的过程中发挥重要作用,其异常表达与癌症发展有关,影响多种癌细胞的恶性生物学行为^[12],包括异常增殖、迁移侵袭和抗凋亡。研究^[13]表明,RPS7 的异常表达与癌症密切相关,在多种肿瘤细胞中呈异常表达。乳腺癌患者血液中 RPS7 的 mRNA 表达水平高于正常患者,发挥促癌因子的作用^[14]。此外,通过 RPS7 siRNA 转染,肝癌 MHCC97H 细胞的迁移和侵袭能力以及对外基质的黏附能力均显著降低。前列腺癌患者中发现 RPS7 表达异常,与预后不良有关,抑制 RPS7 可以上调上皮蛋白标志物 E-cadherin,下调间充质蛋白标志物 N-cadherin 和 Snail^[15]。RPS7 在多种细胞增殖、凋亡异常的疾病中发挥重要作用,因此可通过调控 RPS7 的表达参与抑制细胞异常增殖,诱导细胞凋亡。然而,RPS7 在 EMs 发生发展中的作用鲜有报道,本研究首次探求 RPS7 在 EMs 发生发展中的作用。首先,本研究证实 CA 可显著抑制 EMS 细胞中 RPS7 表达水平,其次,为验证 CA 是否可通过抑制 RPS7 表达而抑制 12Z 细胞增殖、迁移及侵袭,诱导凋亡,本研究构建 RPS7 过表达稳定细胞株,证实过表达 RPS7 促进 CA 介导的细胞增殖,降低细胞凋亡率,并同时减弱 CA 对细胞增殖相关蛋白 PCNA 和凋亡相关蛋白 Bax、Bcl-2 的影响,提示 CA 可通过抑制 RPS7 表达降低细胞增殖能力,诱导细胞凋亡,最终达到治疗目的。

综上,CA 调控 RPS7 抑制 EMs 细胞生长、转移并诱导细胞凋亡。然而本研究仅在细胞中进行初步探究,未来还需要在体内进一步证实 CA 对 EMs 的治疗作用。

参考文献

- [1] Zondervan K T, Becker C M, Missmer S A. Endometriosis[J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(13): 1244–56. doi:10.1056/nejm-ra1810764.
- [2] Zhang M, Xu T, Tong D, et al. Research advances in endometriosis-related signaling pathways: A review[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 164: 114909. doi:10.1016/j.biopha.2023.114909.
- [3] Liu J, Zhang Q, Li R L, et al. The traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Cinnamomi Ramulus*: A review[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2020, 72(3): 319–42. doi:10.1111/jphp.13189.
- [4] Wang Y, Li Y, Wang L, et al. Cinnamaldehyde suppressed EGF-induced EMT process and inhibits ovarian cancer progression through PI3K/AKT pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 779608. doi:10.3389/fphar.2022.779608.
- [5] 李佩双. 桂皮醛经 HMOX-1 抑制子宫内膜异位症子宫内膜间质细胞侵袭、迁移的研究[D]. 南昌: 江西中医药大学, 2023. doi:10.27180/d.cnki.gjxc.2023.000006.
- [5] Li P S. Inhibitory effect of cinnamaldehyde on invasion and migration of endometrial stromal cells in endometriosis through HMOX-1 [D]. Nanchang: Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, 2023. doi:10.27180/d.cnki.gjxc.2023.000006.
- [6] Wen Y, An Z, Qiao B, et al. RPS7 promotes cell migration through targeting epithelial-mesenchymal transition in prostate cancer[J]. *Urol Oncol*, 2019, 37(5): 297. e1–e7. doi:10.1016/j.urolonc.2019.01.011.
- [7] Artemova D, Vishnyakova P, Khashchenko E, et al. Endometriosis and cancer: Exploring the role of macrophages[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(10): 5196. doi:10.3390/ijms22105196.
- [8] Meresman G F, Götte M, Laschke M W. Plants as source of new therapies for endometriosis: A review of preclinical and clinical studies[J]. *Hum Reprod Update*, 2021, 27(2): 367–92. doi:10.1093/humupd/dmaa039.
- [9] Zhang X, Li S, Chen Z, et al. Tanshinone II A participates in the treatment of endometriosis by regulating adhesion, invasion, angiogenesis and inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2023, 28(5): 221. doi:10.3892/mmr.2023.13108.
- [10] 黄山鹰, 唐国玲, 王佳慧, 等. 槲皮素通过调控 CLDN6 基因表达量对子宫内膜异位症细胞增殖、迁移和侵袭的影响及其机制研究[J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(10): 1497–503. doi:10.19405/j.cnki.issn1000–1492.2020.10.004.
- [10] Huang S Y, Tang G L, Wang J H, et al. The mechanisms and effects of quercetin on the proliferation, migration and invasion of endometriosis cells by regulating the expression of CLDN6 gene [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2020, 55(10): 1497–503. doi:10.19405/j.cnki.issn1000–1492.2020.10.004.
- [11] Sadeghi S, Davoodvandi A, Pourhanifeh M H, et al. Anti-cancer effects of cinnamon: Insights into its apoptosis effects[J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 178: 131–40. doi:10.1016/j.ejmech.2019.05.067.
- [12] Kang J, Brajanovski N, Chan K T, et al. Ribosomal proteins and human diseases: Molecular mechanisms and targeted therapy[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 323. doi:10.1038/s41392–021–00728–8.
- [13] Pecoraro A, Pagano M, Russo G, et al. Ribosome biogenesis and cancer: Overview on ribosomal proteins[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11): 5496. doi:10.3390/ijms22115496.
- [14] Armakolas A, Stathopoulos G P, Nezos A, et al. Subdivision of

molecularly-classified groups by new gene signatures in breast cancer patients[J]. *Oncol Rep*, 2012, 28(6): 2255–63. doi: 10.3892/or.2012.2018.

cancer cell growth via c-Myc-RPS7-driven ribosomal stress[J]. *Carcinogenesis*, 2019, 40(1): 52–60. doi:10.1093/carcin/bgy126.

[15] Zhang C, Qie Y, Yang T, et al. Kinase PIM1 promotes prostate

Cinnamaldehyde inhibits growth, metastasis and induces apoptosis of human endometriotic cells through RPS7

Zhan Xiaoxuan¹, Liu Chengyi¹, Peng Jiahua¹, Liu Shuzhen¹,

Li Xin¹, Ren Yunying¹, Chen Danni¹, Li Peishuang², Liang Ruining³

(¹*Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004*;

²*Dept of Gynecology, Affiliated Hospital of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006*;

³*Second Affiliated Hospital of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330012*)

Abstract Objective To investigate the effects of cinnamaldehyde (CA) on the growth, metastasis and apoptosis of human endometriosis (EMs) cells and to explore whether the mechanism is related to ribosomal protein S7 (RPS7) expression. **Methods** Endometriosis cells were divided into control group, CA group, sh-NC group, CA + sh-RPS7 group. Effects of CA on cell growth in human endometriotic cells were determined using Cell Counting Kit-8 (CCK-8) and colony formation assay. Effects of CA on cell metastasis were performed by motility assay and Transwell assay. Effects of CA on cell apoptosis were evaluated by Hoechst 33258 staining and flow cytometry. Meanwhile, the levels of PCNA, E-cadherin, Vimentin, Bax and Bcl-2 were evaluated using Western blot in human endometriotic cells with treatment CA. The expression of RPS7 was detected by qRT-PCR and Western blot assay. The RPS7 overexpression of human endometriotic cells was established by cell transfection. CA-mediated effects on cell proliferation and apoptosis were determined by CCK-8 assay and flow cytometry in human endometriotic cells with RPS7 overexpression. **Results** CA repressed cell growth as well as down-regulated PCNA. The half inhibitory concentration (IC_{50}) value was 53.60 $\mu\text{mol/L}$ after 24 h treatment, and colony formation rate was 25.32%. Additionally, CA inhibited metastasis which was associated with downregulated Vimentin and upregulated E-cadherin. The relative migration rates were 35% and 29% as well as invasion rate was 40%. Further, CA induced apoptosis by cell cycle G2/M phase arrest and cell apoptosis rate was 25.1%, which related to the up-regulation of Bax and the down-regulation of Bcl-2. CA inhibited the expression of RPS7 and overexpression of RPS7 promoted cell proliferation and suppressed apoptosis in CA-mediated 12Z cells. **Conclusion** CA inhibits cell growth, metastasis, and induces cell apoptosis by downregulating the expression of RPS7.

Key words Cinnamaldehyde; RPS7; endometriosis; proliferation; migration; invasion; apoptosis

Fund programs National Natural Science Foundation of China (Nos. 81160447, 81760878); Scientific Research Project of Jiangxi Provincial Department of Education (No. GJJ2200919); Jiangxi Provincial Key Laboratory of TCM Female Reproductive Health (No. 20202BCD42015); Natural Science Foundation of Jiangxi Province (No. 20202BAB206073, No. 20212BAB216066); Graduate Student Innovation and Entrepreneurship Training Project of Jiangxi Province (Grant No. S202210412069, No. S202310412056), Science and Technology Innovation Team of Jiangxi University of Chinese Medicine (No. CXTD22013)

Corresponding author Liang Ruining, E-mail: jack169@sina.com