

In vitro Anticancer Effects of Pelargonidin in Diethylnitrosamine Induced Human Liver Carcinoma are Mediated via Autophagy, ROS-mediated Mitochondrial Dysfunction, Cell Apoptosis, and Modulation of ERK/MAPK/JNK Signalling Pathway

Chunfeng WANG, Maolong LIAO, Guangjin LIANG & Bo HUANG *

Department of Hepatobiliary Surgery, 920th Hospital of Joint Logistics Support Force of PLA,
212 Dagan Road, Kunming, Yunnan, 650118, China.

SUMMARY. The main objective of the current study was to examine the anticancer effects of naturally occurring pelargonidin in human liver cancer cells along with investigating its effects on cellular autophagy, caspase activation, cell migration and invasion and mitochondrial membrane potential loss. MTT assay and clonogenic assays were used to study effects on cell viability and cancer colony formation respectively. Transmission electron microscopy along with western blot were used to study autophagic effects induced by Pelargonidin. Transwell chambers assay was used to study effects on cell migration and invasion. Flow cytometry was used to study effects of Pelargonidin on mitochondrial membrane potential loss (MMP). Results indicated that pelargonidin led to potent cell proliferation inhibition along with reducing cancer colony formation in a dose-dependent manner. Pelargonidin also induced autophagic effects as indicated by transmission electron microscopy due to the formation of autophagosomes. The expression of autophagy-related proteins viz., Beclin-1, LC3-I and LC3-II was also modulated in a dose dependent manner. Pelargonidin also triggered activation of caspase-3, caspase-9, and Bax while as it led to downregulation of Bcl-2. Pelargonidin also caused inhibition of cell migration and cell invasion along with causing significant decrease in MMP. Moreover, pelargonidin significantly targeted ERK/MAPK/JNK signalling pathway. Pelargonidin treated mice also resulted in reduction of tumor volume and tumor weight in a dose dependent manner. In conclusion, the current results clearly indicate anticancer effects of pelargonidin in liver cancer cells and are mediated via inhibition of cancer cell colony formation, induction of autophagy, caspase activation, inhibiting cell migration and invasion and targeting ERK/MAPK/JNK signalling pathway.

RESUMEN. El objetivo principal del estudio actual fue examinar los efectos anticancerígenos de la pelargonidina natural en células de cáncer de hígado humano junto con investigar sus efectos sobre la autofagia celular, la activación de caspasas, la migración e invasión celular y la pérdida potencial de la membrana mitocondrial. Se utilizaron ensayos MTT y ensayos clonogénicos para estudiar los efectos sobre la viabilidad celular y la formación de colonias de cáncer, respectivamente. Se utilizó microscopía electrónica de transmisión junto con transferencia Western para estudiar los efectos autofágicos inducidos por pelargonidina. Se utilizó el ensayo de cámaras Transwell para estudiar los efectos sobre la migración e invasión celular. Se utilizó citometría de flujo para estudiar los efectos de la pelargonidina sobre la pérdida de potencial de membrana mitocondrial (MMP). Los resultados indicaron que la pelargonidina condujo a una potente inhibición de la proliferación celular junto con la reducción de la formación de colonias de cáncer de una manera dependiente de la dosis. La pelargonidina también indujo efectos autofágicos según lo indicado por microscopía electrónica de transmisión debido a la formación de autofagosomas. La expresión de proteínas relacionadas con la autofagia, a saber, Beclin-1, LC3-I y LC3-II, también se moduló de manera dependiente de la dosis. La pelargonidina también desencadenó la activación de caspasa-3, caspasa-9 y Bax, mientras que condujo a la regulación a la baja de Bcl-2. La pelargonidina también provocó la inhibición de la migración celular y la invasión celular junto con una disminución significativa de MMP. Además, la pelargonidina apuntó significativamente a la vía de señalización de ERK/MAPK/JNK. Los ratones tratados con pelargonidina también dieron como resultado una reducción del volumen del tumor y del peso del tumor de manera dependiente de la dosis. En conclusión, los resultados actuales indican claramente los efectos anticancerígenos de la pelargonidina en las células cancerosas del hígado y están mediados por la inhibición de la formación de colonias de células cancerosas, la inducción de la autofagia, la activación de la caspasa, la inhibición de la migración e invasión celular y la orientación de la vía de señalización ERK/MAPK/JNK.

KEY WORDS: anthocyanins, apoptosis, autophagy, cell invasion, cell migration, liver cancer, pelargonidin.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: bohuang2022@yahoo.com