

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.16.003
文章编号: 1005-8982 (2020) 16-0015-08

雷公藤红素对卵巢癌细胞增殖、凋亡的影响 及作用机制研究

马著妍, 吴田田, 吴彤, 王悦, 张蕴莉

(锦州医科大学附属第一医院 检验科, 辽宁 锦州 121000)

摘要: **目的** 探讨雷公藤红素对人卵巢癌细胞株 HEYa8 增殖、凋亡的影响及其作用机制。**方法** 采用 MTT 法检测不同浓度和时间雷公藤红素对 HEYa8 细胞增殖的影响。将 HEYa8 细胞随机分为: 雷公藤红素组 (0.4 mg/L, 培养 24 h) 和对照组 (未处理)。检测两组细胞的生长迁移情况、细胞分裂指数及细胞数量。利用 Western blotting 检测雷公藤红素激活凋亡并抑制肿瘤细胞的现象及分子机制。**结果** 雷公藤红素在浓度为 0.4 mg/L 培养 24 h 时效果最佳。雷公藤红素组侵袭细胞、细胞分裂指数、细胞数量及 CD44 及 GSDMS-N 双阳性细胞占总细胞百分比比较对照组低 ($P < 0.05$), 凋亡相关蛋白相对表达量较对照组高 ($P < 0.05$)。雷公藤红素组 PI3K/Akt 信号通路关键分子的蛋白表达量较对照组低 ($P < 0.05$)。**结论** 雷公藤红素能够抑制 HEYa8 细胞生长并诱导细胞凋亡, 其分子机制可能与 PI3K/Akt 信号通路被抑制有关。

关键词: 卵巢肿瘤; 细胞凋亡; 细胞增殖; 雷公藤红素; 药理作用分子作用机制

中图分类号: R737.31

文献标识码: A

Effect of tripterine on proliferation and apoptosis of ovarian cancer cells and its mechanism

Zhu-yan Ma, Tian-tian Wu, Tong Wu, Yue Wang, Yun-li Zhang

(Department of Laboratory, the First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University,
Jinzhou, Liaoning 121000, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of tripterine on the proliferation and apoptosis of human ovarian cancer cell line HEYa8 and its mechanism. **Methods** The effects of tripterine on the proliferation of HEYa8 cells were measured by MTT method. HEYa8 cells were randomly divided into tripterine group (0.4 mg/L, cultured for 24 h) and control group (untreated). The proliferation and migration, mitotic index and cell count of the two groups were detected, and Western blotting was applied to explore the effects of tripterine on activating apoptosis and therefore inhibiting tumor cells. **Results** The optimal effect of tripterine was achieved at concentration of 0.4 mg/L cultured for 24 h. Compared with the control group, the migration number, mitotic index and cell count of HEYa8 cells in tripterine group were significantly reduced ($P < 0.05$), while the expression of apoptosis-related proteins in tripterine group was increased ($P < 0.05$). Meanwhile, PI3K / Akt signaling pathway was inhibited and the expression of key proteins in this pathway was lower in tripterine group ($P < 0.05$). **Conclusions** Tripterine could inhibit the proliferation of HEYa8 cells and induce apoptosis, the molecular mechanism of which may be related to the inhibition of PI3K / Akt signaling pathway.

Keywords: tripterine; HEYa8; apoptosis; PI3K/Akt signaling pathway; cell proliferation

收稿日期: 2020-02-28

[通信作者] 张蕴莉, E-mail: ZYL8546@126.com; Tel: 13941698546

我国每年约有 5.2 万女性被确诊为卵巢癌,约 2.2 万人死于卵巢癌,并且过去 10 年卵巢癌发病呈年轻化趋势^[1]。卵巢癌具有易增殖、侵袭性高等特点,这也往往是临床治疗失效的原因,因此抑制卵巢癌细胞增殖及侵袭是治疗卵巢癌的要点与难点之一^[2-3]。雷公藤红素是从我国传统中药雷公藤中提取的单体,具有良好的安全性。有学者前期研究发现,其抑制肿瘤血管生成、肿瘤增殖及侵袭效果较好^[4-7]。同时有报道显示,肿瘤细胞发生凋亡可以有效抑制肿瘤生长^[8-9]。但是,雷公藤红素抑制肿瘤生长是否与细胞凋亡有关鲜有报道。因此,本研究以人卵巢癌细胞株 HEYa8 作为研究对象,研究雷公藤红素对 HEYa8 细胞增殖和凋亡的影响,并探究其分子机制,以期为临床攻克卵巢癌提供新思路。

1 材料与方法

1.1 实验材料及试剂

雷公藤红素购自上海 Aladdin 公司,HEYa8 人卵巢癌细胞株购自美国 ATCC 公司。培养基 DMEM 及胎牛血清 FBS 均购自美国 Gibco 公司,MTT 试剂购自美国 ThermoFisher 公司,IGF-1 购自美国 R & D 公司,GSDMS-N 购自美国 Santa Cruz Biotechnology 公司,NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-18 及 CD44 购自美国 Abcam 公司,IL-1 β 、GAPDH、PI3K 及 Akt 购自美国 Cell Signaling Technology 公司。

1.2 HEYa8 人卵巢癌细胞株培养

将含有 12% 胎牛血清和 1% 青链霉素双抗的 DMEM 培养基培养 HEYa8 细胞,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% 二氧化碳细胞培养箱培养,根据细胞生长状态换液及传代。

1.3 MTT 法测定雷公藤红素处理的最适浓度及时间

把雷公藤红素浓度分为 8 个梯度,分别为 0.00、0.05、0.10、0.20、0.40、0.60、1.20 及 2.40 mg/L (药物用培养基溶解),并分别作为 0.00、0.05、0.10、0.20、0.40、0.60、1.20 及 2.40 mg/L 组。同时也把培养时间分为 5 个梯度,分别为 0、12、24、48 及 72 h。细胞进行 96 孔板铺板,边缘孔用无菌 PBS 填充,每组设置 6 个重复孔。隔夜培养后第 2 天加入梯度药物,随后进行梯度时间培养。每组到时间后加入 20 μl MTT (5 mg/ml) 培养 4 h,终止培养后吸去残液并加入 150 μl DMSO (37 $^{\circ}\text{C}$ 震荡 10 min)。最后用酶标仪检测 490 nm 波长处的吸光度值,得到的数值用 Prism 7 软件处理。

1.4 实验分组

本实验分为对照组和雷公藤红素组,对照组为未经任何处理的 HEYa8 人卵巢癌细胞,雷公藤红素组根据 MTT 结果得到最适处理浓度及时间,应用雷公藤红素处理 HEYa8 细胞。在机制实验部分,应用 PI3K 特异性激动剂 (IGF-1) 后,分为 IGF-1 (+) 雷 (+) 组 (同时加入 IGF-1 和雷公藤红素)、IGF-1 (-) 雷 (+) 组 (只加入雷公藤红素) 和 IGF-1 (+) 雷 (-) 组 (只加入 IGF-1)^[10]。

1.5 Transwell 法测定细胞迁移、细胞分裂指数及细胞计数

在 24 孔板配套的 Transwell 小室里接种 5×10^4 个/孔细胞,用无血清培养基培养,小室以下孔板用血清培养基培养。培养 12 h 后,利用 0.1% 结晶紫染色小室细胞,观察侵袭细胞的数量并拍照计数。细胞培养 24 h 后,加入秋水仙素 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 后再培养 40 min,随后显微镜下观察 1 000 个细胞中分裂期细胞 (洋葱状) 数量,并用百分比表示。细胞培养 24 h 后,用细胞计数器分别测算两组细胞的数量。

1.6 Western blotting 检测

采用 Western blotting 检测凋亡相关蛋白 (GSDMS-N、Caspase-1、NLRP3、ASC、IL-1 β 、IL-18) 和 PI3K/Akt 信号通路关键节点蛋白 (PI3K、Akt、p-PI3K、p-Akt) 相对表达量。用预冷 PBS 洗净细胞,再用 RIPA+PMSF 裂解细胞并提取蛋白,之后进行制胶电泳及转膜。孵育一抗过夜,GSDMS-N (1 : 500),NLRP3、ASC、Caspase-1 及 IL-18 (1 : 800),IL-1 β 、GAPDH、PI3K、Akt、p-PI3K 及 p-Akt (1 : 1 000),之后用 TBST 洗净,再孵育相应二抗 2 h,随后拍照。所得条带用 Image J 软件分析,用 Prism 7 软件处理数据。

1.7 免疫荧光双标检测

细胞先用 PBS 洗净,随后用 4% 多聚甲醛溶液固定,再用 3% Triton 孵育 10 min,GSDMS-N (1 : 1 000) 过夜,第 2 天用相应荧光二抗孵育后再用 CD44 (1 : 1 000) 孵育,用相应二抗孵育室温 2 h,孵育 10 min 的 DAPI (1 : 1 000)。最后用 PBS 清洗,再用荧光显微镜拍照,数据用 Image J 及 Prism 7 软件分析处理。

1.8 qRT-PCR

采用 Trizol 法提取细胞总 RNA,逆转录,依据 RevertAid RT Reverse Transcription Kit (美国 Thermo

Fisher 公司) 试剂盒说明书将定量 $1 \mu\text{g}$ 逆转录为 cDNA, 随后 qRT-PCR 检测每组细胞内 NLRP3、ASC、IL-1 β 及 Caspase 1 的表达量。NLRP3 正向引物: 5'-GATCTTCGCTGCGATCAACAG-3' (21 bp), 反向引物: 5'-CGTGCATTATCTGAACCCAC-3' (21 bp), IL-1 β 正向引物: 5'-CCTTGTGCAAGTGTCTGAAGC-3' (21 bp), 反向引物: 5'-CCCAAGTCAAGGGCTTGAA-3' (21 bp), ASC 正向引物: 5'-GACGGGGCCAATACCACAC-3' (18 bp), 反向引物: 5'-TCTGTAACAAAAGTCGTGCTTCT-3' (23 bp), Caspase 1 正向引物: 5'-TGGGTGCAGGCACAATAAATG-3' (21 bp), 反向引物: 5'-TTGAGGCAAGTTGAGGGTCTT-3' (21 bp), GAPDH 正向引物: 5'-TGTGGGCATCAATGGATTTGG-3' (21 bp), 反向引物: 5'-ACACCATGTATTCGGGTCAAT-3' (22 bp)。qRT-PCR 反应条件: 95°C 预变性 5 min, 95°C 变性 30 s, 37°C 退火 60 s, 72°C 延伸 120 s, 共计 40 个循环。荧光半定量分析过程: 依次加入 cDNA、引物及 Q-PCR Mix, 最后进行荧光半定量分析。数据采用 Prism 7 软件处理。

1.9 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用 t 检验或单因素方差分析或重复测量设计的方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度及培养时间雷公藤红素对 HEYa8 细胞生存率的影响

不同浓度雷公藤红素作用 12、24、36、48 和 72 h 的 HEYa8 细胞生存率比较, 经重复测量设计的方差分析, 结果如下: ①不同时间点的细胞生存率比较, 差异有统计学意义 ($F = 135.130$, $P = 0.000$); ②不同浓度组的细胞生存率比较, 差异有统计学意义 ($F = 74.860$, $P = 0.000$); ③不同浓度组的细胞生存率变化趋势比较, 差异有统计学意义 ($F = 2.604$, $P = 0.043$)。最终选择 0.4 mg/L 浓度雷公藤红素处理 24 h 来进行本实验。见表 1 和图 1。

表 1 不同浓度组各时间点细胞生存率比较 %

| 组别 | 12 h | 24 h | 36 h | 48 h | 72 h |
|-------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 0.00 mg/L 组 | 0.97 ± 0.04 | 0.94 ± 0.05 | 0.95 ± 0.05 | 0.92 ± 0.06 | 0.95 ± 0.05 |
| 0.05 mg/L 组 | 0.94 ± 0.01 | 0.81 ± 0.05 | 0.79 ± 0.04 | 0.75 ± 0.04 | 0.74 ± 0.05 |
| 0.10 mg/L 组 | 0.91 ± 0.03 | 0.78 ± 0.05 | 0.75 ± 0.02 | 0.71 ± 0.02 | 0.66 ± 0.03 |
| 0.20 mg/L 组 | 0.85 ± 0.03 | 0.76 ± 0.07 | 0.71 ± 0.03 | 0.67 ± 0.02 | 0.62 ± 0.02 |
| 0.40 mg/L 组 | 0.78 ± 0.04 | 0.64 ± 0.06 | 0.64 ± 0.04 | 0.60 ± 0.03 | 0.60 ± 0.03 |
| 0.60 mg/L 组 | 0.76 ± 0.05 | 0.64 ± 0.05 | 0.60 ± 0.04 | 0.59 ± 0.03 | 0.59 ± 0.03 |
| 1.20 mg/L 组 | 0.74 ± 0.04 | 0.62 ± 0.04 | 0.62 ± 0.04 | 0.58 ± 0.03 | 0.57 ± 0.03 |
| 2.40 mg/L 组 | 0.71 ± 0.03 | 0.62 ± 0.03 | 0.59 ± 0.04 | 0.59 ± 0.04 | 0.56 ± 0.03 |

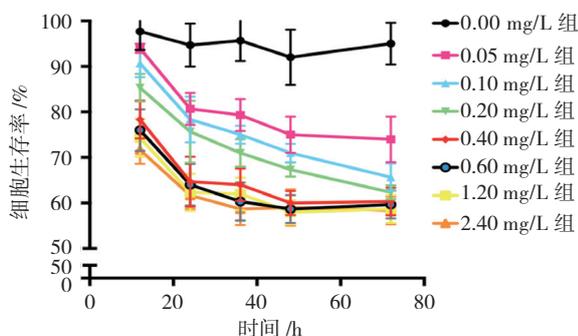


图 1 不同浓度组的细胞生存率变化趋势 ($\bar{x} \pm s$)

2.2 雷公藤红素对 HEYa8 细胞侵袭性及增殖性的影响

雷公藤红素组与对照组侵袭细胞、细胞分裂指数及细胞数量比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 雷公藤红素组侵袭细胞、细胞总的数量较对照组少, 而细胞分裂指数低于对照组。见表 2 和图 2、3。

2.3 雷公藤红素对 HEYa8 细胞凋亡的影响

雷公藤红素组与对照组凋亡相关蛋白相对表达

表 2 雷公藤红素组与对照组侵袭细胞、细胞分裂指数及细胞数量比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 侵袭细胞 / 个 | 细胞分裂指数 / % | 细胞数量 / 个 |
|------------|----------------|--------------|---------------|
| 雷公藤红素组 | 97.70 ± 9.28 | 27.33 ± 4.48 | 523.3 ± 233.3 |
| 对照组 | 178.30 ± 11.67 | 52.00 ± 6.65 | 826.7 ± 328.3 |
| <i>t</i> 值 | 5.143 | 3.073 | 7.534 |
| <i>P</i> 值 | 0.007 | 0.037 | 0.002 |

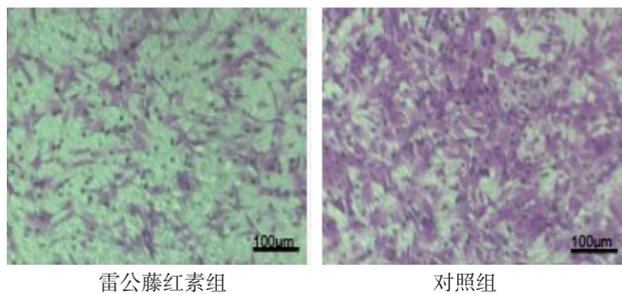


图 2 雷公藤红素组与对照组侵袭细胞比较

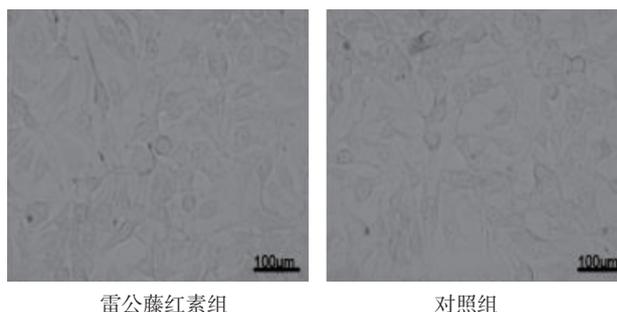


图 3 雷公藤红素组与对照组细胞分裂指数比较

量比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 雷公藤红素组较对照组高 (见表 3 和图 4 ~ 6)。雷公藤红素组与对照组 CD44/GSDMS-N 双阳性细胞占总细胞百分比分别为 (38.33 ± 6.0)% 和 (61.67 ± 4.4)%, 经 *t* 检验, 差异有统计学意义 ($t = 3.351, P = 0.033$), 雷公藤红素组较对照组低。

表 3 雷公藤红素组与对照组凋亡相关蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | GSDMS-N | Caspase 1 | NLRP3 | ASC | IL-1 β | IL-18 |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|
| 雷公藤红素组 | 0.90 ± 0.03 | 0.94 ± 0.04 | 0.88 ± 0.04 | 0.91 ± 0.04 | 1.03 ± 0.09 | 0.95 ± 0.07 |
| 对照组 | 0.70 ± 0.06 | 0.72 ± 0.07 | 0.52 ± 0.04 | 0.75 ± 0.03 | 0.82 ± 0.06 | 0.78 ± 0.07 |
| <i>t</i> 值 | 3.102 | 2.9137 | 3.875 | 3.302 | 2.607 | 2.573 |
| <i>P</i> 值 | 0.043 | 0.038 | 0.021 | 0.029 | 0.041 | 0.030 |

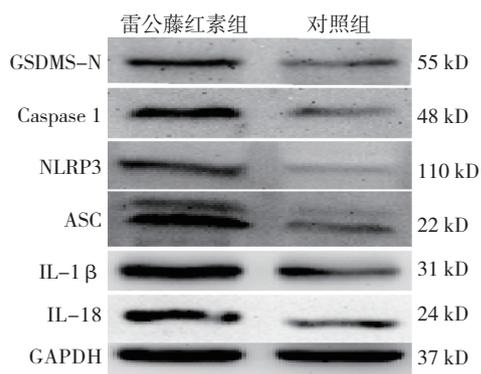


图 4 雷公藤红素组与对照组凋亡相关蛋白的表达

2.4 雷公藤红素对 PI3K/Akt 信号通路的影响

雷公藤红素组与对照组 PI3K/Akt 信号通路关键分子的蛋白相对表达量比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 雷公藤红素组较对照组低。见表 4 和

图 7、8。

2.5 各组 NLRP3、IL-1 β 、ASC 和 Caspase 1 mRNA 及蛋白相对表达量的变化

各组 NLRP3、IL-1 β 、ASC 和 Caspase 1 mRNA 相对表达量比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), IGF-1 (+) 雷公藤红素 (+) 组与 IGF-1 (-) 雷公藤红素 (+) 组 NLRP3、IL-1 β 、ASC 和 Caspase 1 mRNA 相对表达量比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。各组凋亡关键因子 NLRP3、IL-1 β 、ASC 和 Caspase 1 蛋白相对表达量比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), IGF-1 (+) 雷公藤红素 (+) 组与 IGF-1 (-) 雷公藤红素 (+) 组 NLRP3、IL-1 β 、ASC 和 Caspase 1 蛋白相对表达量比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 5、6 和图 9 ~ 11。

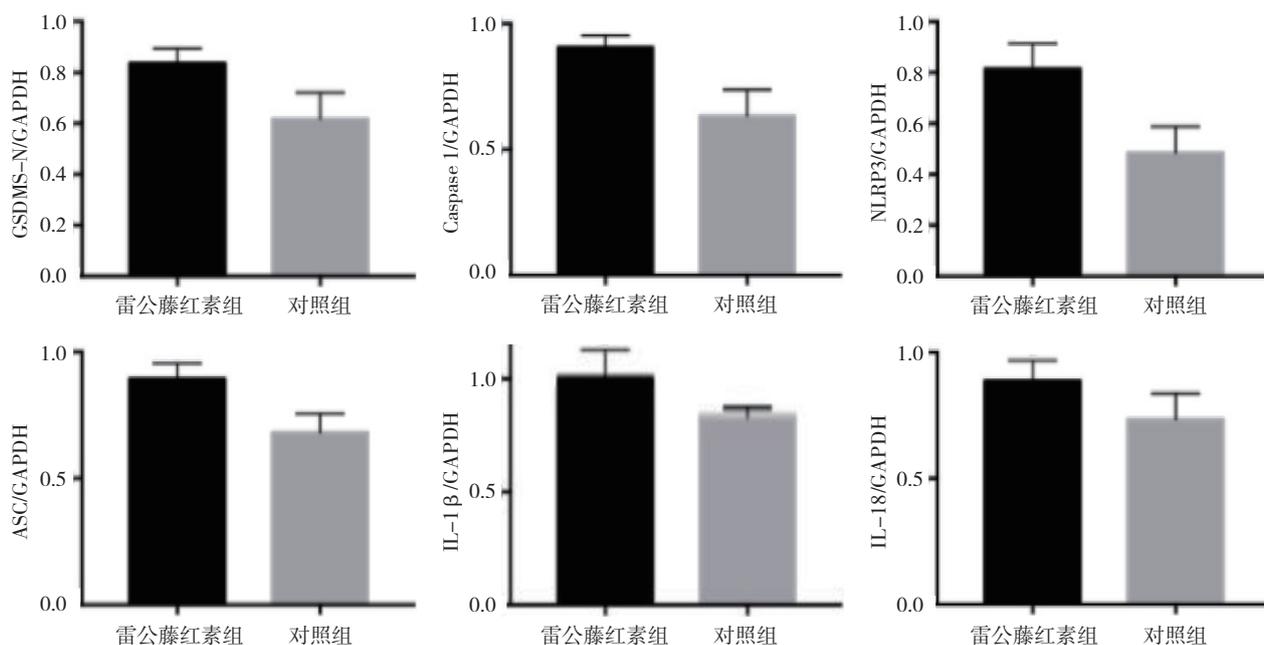
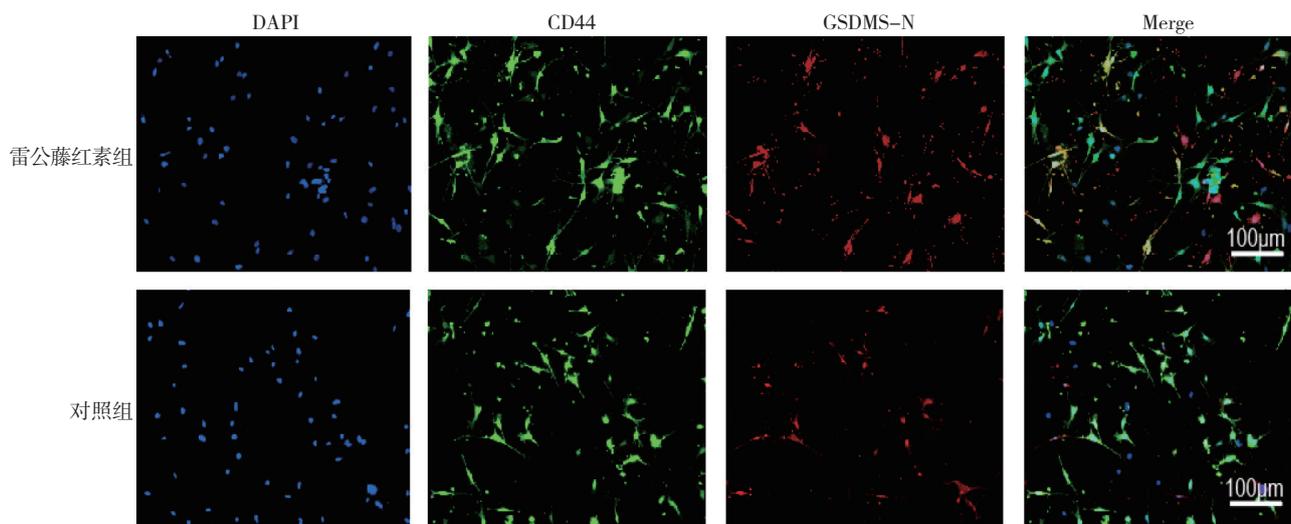


图 5 雷公藤红素组与对照组凋亡蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)



绿色: 肿瘤细胞; 红色: 凋亡蛋白。

图 6 雷公藤红素组与对照组免疫荧光双标检测

表 4 雷公藤红素组与对照组 PI3K/Akt 信号通路关键分子的蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | PI3K | Akt | p-PI3K | p-Akt |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 雷公藤红素组 | 0.87 ± 0.08 | 0.57 ± 0.09 | 0.65 ± 0.09 | 1.03 ± 0.14 |
| 对照组 | 1.46 ± 0.12 | 1.20 ± 0.15 | 1.13 ± 0.09 | 1.57 ± 0.12 |
| <i>t</i> 值 | 3.914 | 4.359 | 3.910 | 2.828 |
| <i>P</i> 值 | 0.017 | 0.012 | 0.017 | 0.047 |

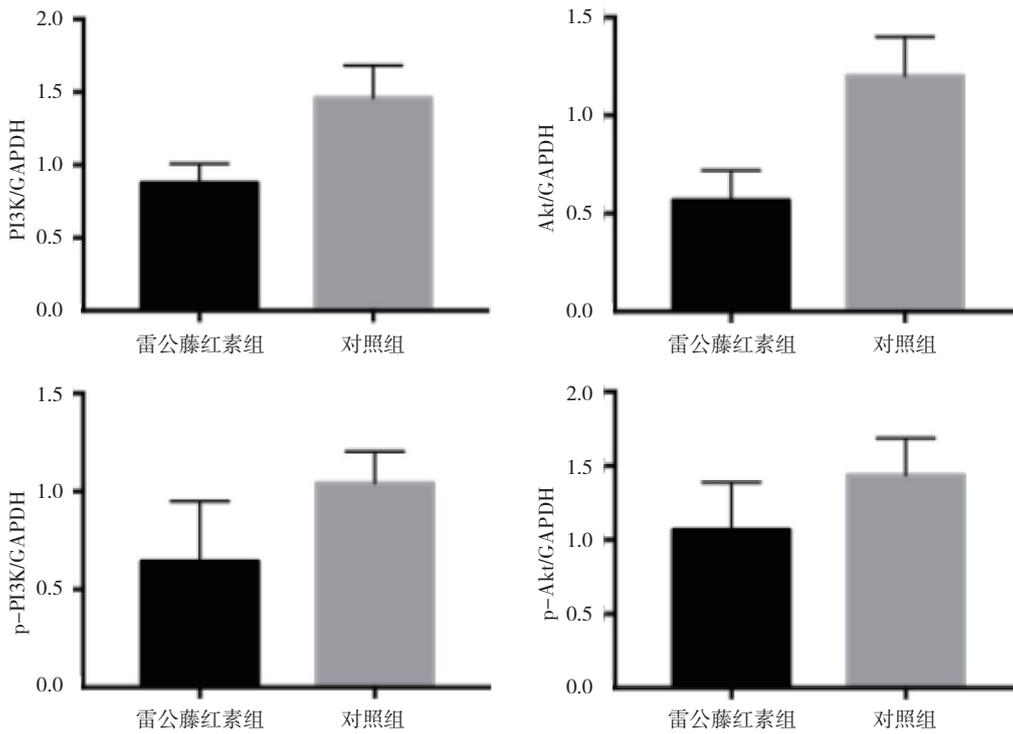


图 7 雷公藤红素组与对照组 PI3K/Akt 信号通路关键分子的蛋白相对表达量的变化 ($\bar{x} \pm s$)

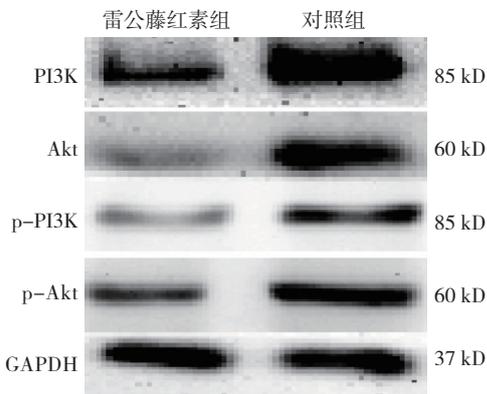


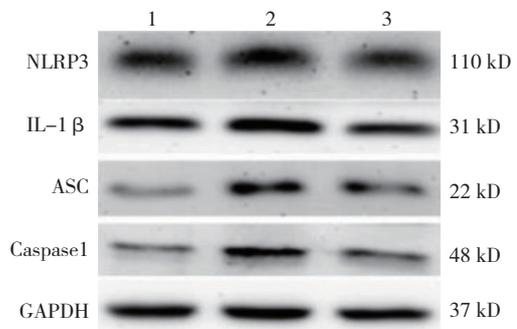
图 8 雷公藤红素组与对照组 PI3K/Akt 信号通路关键分子蛋白的表达

表 5 各组 NLRP3、IL-1 β 、ASC 和 Caspase 1 mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | NLRP3 mRNA | IL-1 β mRNA | ASC mRNA | Caspase1 mRNA |
|----------------------|-----------------|-------------------|-----------------|-----------------|
| IGF-1 (+) 雷 (+) 组 | 1.12 \pm 0.04 | 1.12 \pm 0.07 | 1.25 \pm 0.19 | 1.38 \pm 0.08 |
| IGF-1 (-) 雷 (+) 组 | 1.60 \pm 0.20 | 1.21 \pm 0.08 | 1.60 \pm 0.15 | 1.80 \pm 0.21 |
| IGF-1 (+) 雷 (-) 组 | 0.85 \pm 0.03 | 0.97 \pm 0.07 | 1.00 \pm 0.16 | 0.90 \pm 0.08 |
| F 值 | 9.133 | 4.100 | 4.197 | 12.22 |
| P 值 | 0.006 | 0.049 | 0.047 | 0.002 |

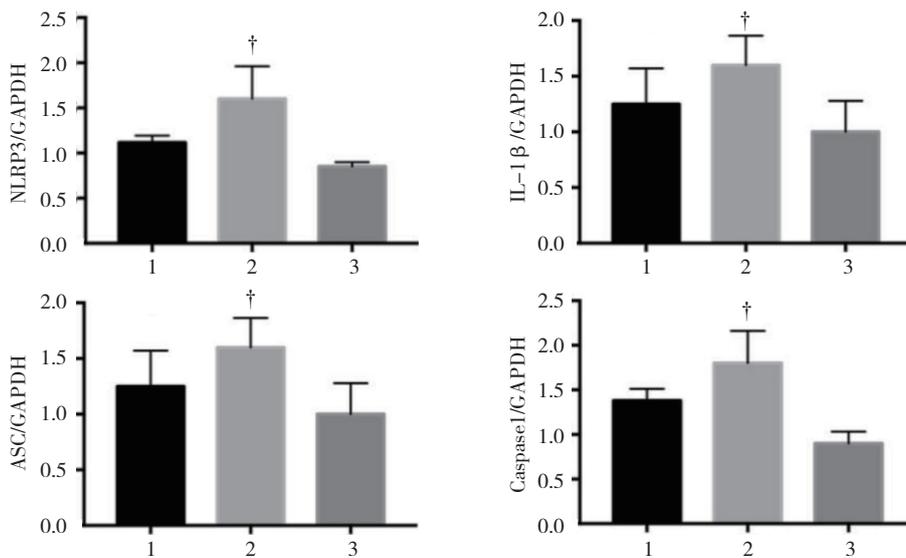
表 6 各组 NLRP3、IL-1 β 、ASC 和 Caspase 1 蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | NLRP3 蛋白 | IL-1 β 蛋白 | ASC 蛋白 | Caspase1 蛋白 |
|----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| IGF-1 (+) 雷 (+) 组 | 1.02 \pm 0.11 | 1.14 \pm 0.04 | 1.25 \pm 0.19 | 0.88 \pm 0.23 |
| IGF-1 (-) 雷 (+) 组 | 2.10 \pm 0.46 | 1.77 \pm 0.26 | 1.60 \pm 0.15 | 1.60 \pm 0.25 |
| IGF-1 (+) 雷 (-) 组 | 0.98 \pm 0.14 | 1.20 \pm 0.18 | 1.23 \pm 0.15 | 0.83 \pm 0.08 |
| F 值 | 11.283 | 4.672 | 5.349 | 7.914 |
| P 值 | 0.004 | 0.04 | 0.038 | 0.019 |



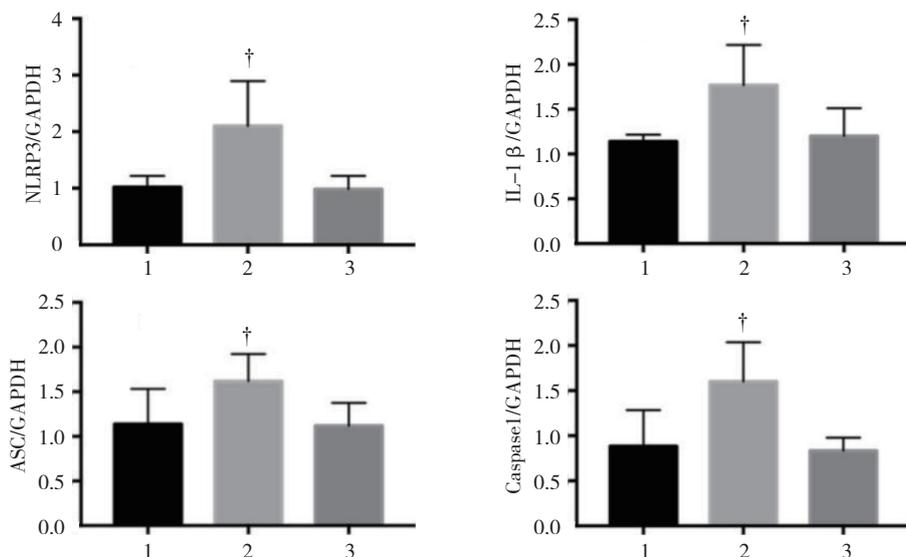
1: IGF-1 (+) 雷 (+) 组; 2: IGF-1 (-) 雷 (+) 组; 3: IGF-1 (+) 雷 (-) 组。

图 9 各组蛋白的表达



1: IGF-1 (+) 雷 (+) 组; 2: IGF-1 (-) 雷 (+) 组; 3: IGF-1 (+) 雷 (-) 组。† 与 IGF-1 (+) 雷 (+) 组比较, $P < 0.05$ 。

图 10 各组 NLRP3、IL-1β、ASC 和 Caspase 1 mRNA 相对表达量的变化 ($\bar{x} \pm s$)



1: IGF-1 (+) 雷 (+) 组; 2: IGF-1 (-) 雷 (+) 组; 3: IGF-1 (+) 雷 (-) 组。† 与 IGF-1 (+) 雷 (+) 组比较, $P < 0.05$ 。

图 11 各组 NLRP3、IL-1β、ASC 和 Caspase 1 蛋白相对表达量的变化 ($\bar{x} \pm s$)

3 讨论

卵巢癌因其恶性程度高、侵袭性强等特点, 并且一般临床发现已到中晚期, 留给患者的选择几乎只有手术与化疗^[1-2]。雷公藤红素是具有多种生物活性的天然产物, 来源于传统中药雷公藤的根皮, 应用历史甚久, 毒副作用较弱, 目前主要应用在抗癌的抑制肿瘤血管新生方面^[3]。虽然何冰玉等^[6]和张亚南等^[7]前期研究发现, 雷公藤红素具有良好的抑制卵巢癌生长的作用, 然而抗癌的分子机制还不甚明了。

细胞凋亡是一种新型程序性细胞死亡方式^[11]。有

研究表明, 提高肿瘤细胞凋亡水平可以有效抑制肿瘤生长与增殖, 肿瘤细胞凋亡可能是抑制肿瘤细胞生长增殖的新方向^[12]。有学者研究发现, 提高卵巢癌细胞的凋亡水平可有效抑制肿瘤细胞的侵袭、生长与分裂, 这可能与细胞凋亡后 α -NETA 杀伤活性被激活等因素有关^[13]。笔者研究发现, 用雷公藤红素最适合治疗浓度作用 HEYa8 细胞, 可以降低细胞侵袭性, 减少细胞分裂指数并减少总的细胞数量, 这与前期研究结果基本吻合, 证明了雷公藤红素确实有抑制卵巢癌细胞生长的作用。随后发现, 在雷公藤红素作用下细胞凋亡关键因子 Caspase 1 水平升高, 这可能与雷

公藤红素诱导 HEYa8 细胞凋亡有关。因为细胞凋亡是一种依赖于 Caspase 1 的细胞死亡, Caspase 1 在凋亡中扮演重要角色^[14]。其中前体 Caspase 1 需要通过 NLRP3 小体(包括 NLRP3 及 ASC 等分子)的切割才能转化为具有活性的 Caspase 1, 并且 Caspase 1 的作用主要是在于活化 IL-1 β 和 IL-18, 从而激活细胞自身的炎症反应^[15]。然而, IL-1 β 和 IL-18 等炎症因子还受到 GSDMD 的控制, GSDMD 活化成为 GSDMD-N 后, 可以在细胞膜上形成孔道, 使细胞内炎症内容物外放^[16]。炎症内容物外放后可以导致肿瘤细胞的增殖被抑制, 甚至死亡, 这也是很多研究报道的细胞凋亡与肿瘤被抑制的机制^[12-13]。同样的, 笔者发现雷公藤红素可以较好地提升凋亡相关蛋白的水平, 也提高了 GSDMD-N 阳性细胞的比例, 这些都说明雷公藤红素可以提高肿瘤细胞凋亡水平。有研究报道, 细胞凋亡的发生可能与经典的 PI3K/Akt 信号通路相关, 即抑制此信号通路可以有效提高细胞凋亡水平^[17-19]。笔者发现雷公藤红素在 HEYa8 细胞中可以抑制此信号通路, 并且用 PI3K 特异性激活剂(IGF-1)激活此通路后, 雷公藤红素的促细胞凋亡作用消失, 这提示雷公藤红素诱导细胞凋亡可能抑制了 PI3K/Akt 信号通路。

综上所述, 雷公藤红素具有较好的 HEYa8 细胞抑制作用, 引起此现象是因为雷公藤红素激活了肿瘤细胞的凋亡, 这个过程可能与其抑制 PI3K/Akt 信号通路高度相关。然而, 本实验的分子机制研究依旧有限, 缺乏深层次的在体研究等, 还需要进一步实验探索。

参 考 文 献:

- [1] HE Z X, SHI H H, FAN Q B, et al. Predictive factors of ovarian carcinoma for women with ovarian endometrioma aged 45 years and older in China[J]. *Journal of Ovarian Research*, 2017, 10(1): 45.
- [2] CORRADO G, PALLUZZI E, BOTTONI C, et al. New medical approaches in advanced ovarian cancer[J]. *Minerva Medica*, 2019, 110(4): 367-384.
- [3] CASEY L, SINGH N. Ovarian high-grade serous carcinoma: assessing pathology for site of origin, staging and post-neoadjuvant chemotherapy changes[J]. *Surgical Pathology Clinics*, 2019, 12(2): 515-528.
- [4] ZHANG R, CHEN Z, WU S S, et al. Celastrol enhances the anti-liver cancer activity of sorafenib[J]. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 2019, 25: 4068-4075.
- [5] WEI J, YAN Y L, CHEN X, et al. The roles of plant-derived triptolide on non-small cell lung cancer[J]. *Oncol Res*, 2019, 27(7): 849-858.
- [6] 何冰玉, 张亚南, 苏荣健, 等. 雷公藤红素通过活性氧诱导人卵巢癌 SKOV3 细胞凋亡的研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2018, 29(4): 443-448.
- [7] 张亚南, 何冰玉, 苏荣健, 等. 雷公藤红素通过逆转 EMT 抑制 SKOV-3 细胞的侵袭转移[J]. *中药药理与临床*, 2018, 34(4): 36-40.
- [8] ZHOU C B, FANG J Y. The role of pyroptosis in gastrointestinal cancer and immune responses to intestinal microbial infection[J]. *BBA-Reviews on Cancer*, 2019, 1872(1): 1-10.
- [9] YOON J H, SHIN J W, PHAM T H, et al. Methyl lucidone induces apoptosis and G₂/M phase arrest via the PI3K/Akt/NF- κ B pathway in ovarian cancer cells[J]. *Pharmaceutical Biology*, 2020, 58(1): 51-59.
- [10] LIAO Y J, LI H, PI Y N, et al. Cardioprotective effect of IGF-1 against myocardial ischemia/reperfusion injury through activation of PI3K/Akt pathway in rats in vivo[J]. *The Journal of International Medical Research*, 2019, 47(8): 3886-3897.
- [11] ROBINSON N, GANESAN R, HEGEDÚS C, et al. Programmed necrotic cell death of macrophages: focus on pyroptosis, necroptosis, and parthanatos[J]. *Redox Biology*, 2019, 26: DOI: 10.1016/j.burns.2019.08.016.
- [12] PEZUK J A. Pyroptosis in combinatorial treatment to improve cancer patients' outcome, is that what we want[J]. *EBioMedicine*, 2019, 41: 17-18.
- [13] YANG F, QIN Y, WANG Y Q, et al. Metformin inhibits the NLRP3 inflammasome via AMPK/mTOR-dependent effects in diabetic cardiomyopathy[J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2019, 15(5): 1010-1019.
- [14] LIU Z, TAN K Z, BU L, et al. Tim4 regulates NALP3 inflammasome expression and activity during monocyte/macrophage dysfunction in septic shock patients[J]. *Burns*, 2019, 29: DOI: 10.1016/j.burns.2019.08.016.
- [15] LI Y Y, SHEN Y, JIN K, et al. The DNA repair nuclease MRE11A functions as a mitochondrial protector and prevents t cell pyroptosis and tissue inflammation[J]. *Cell Metabolism*, 2019, 30(3): 477-492.
- [16] HE X L, YANG W J, ZENG Z J, et al. NLRP3-dependent pyroptosis is required for HIV-1 gp120-induced neuropathology[J]. *Cellular & Molecular Immunology*, 2019, 17: DOI: 10.1038/s41423-019-0260-y.
- [17] LI Z Y, ZHAO F Z, CAO Y G, et al. DHA attenuates hepatic ischemia reperfusion injury by inhibiting pyroptosis and activating PI3K/Akt pathway[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2018, 835: 1-10.
- [18] DAI S, YAN Y L, XU Z J, et al. SCD1 confers temozolomide resistance to human glioma cells via the Akt/GSK3 β / β -catenin signaling axis[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 8: 960.
- [19] XU Z J, YAN Y L, XIAO L F, et al. Radiosensitizing effect of diosmetin on radioresistant lung cancer cells via Akt signaling pathway[J]. *PLoS One*, 2017, 12(4): DOI: 10.1371/journal.pone.0175977.

(李科 编辑)

本文引用格式: 马著妍, 吴田田, 吴彤, 等. 雷公藤红素对卵巢癌细胞增殖、凋亡的影响及作用机制研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(16): 15-22.