

贝母素乙调控 PI3K/Akt/mTOR 通路减缓上皮-间质转化进程抑制人肺癌 A549 细胞侵袭及迁移的研究

丁志丹¹, 方泽民¹, 王旭广¹, 夏宗江¹, 赵高峰¹, 赵 凯¹, 李新强²

1. 郑州大学第一附属医院 胸外科, 河南 郑州 450000

2. 郑州大学第一附属医院 病理科, 河南 郑州 450000

摘要: 目的 探讨贝母素乙对人肺癌 A549 细胞侵袭及迁移的影响。方法 采用终浓度为 0、50、100、200 $\mu\text{mol/L}$ 贝母素乙处理 A549 细胞, 通过细胞侵袭实验、细胞划痕实验、实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 法、ELISA 法及 Western blotting 实验检测贝母素乙对 A549 细胞侵袭、迁移的影响及潜在机制。结果 与对照组比较, 贝母素乙各浓度组的 A549 细胞穿膜数、细胞间划痕的愈合率及 MMP-9、MMP-2 表达显著下降 ($P < 0.01$); 与对照组比较, 贝母素乙各浓度组的 A549 细胞 E-cadherin mRNA 表达明显增加 ($P < 0.01$), 而 N-cadherin 和 vimentin mRNA 表达均显著降低 ($P < 0.01$); 与对照组比较, 除 50 $\mu\text{mol/L}$ 贝母素乙处理 A549 细胞 24 h 后的 FN 蛋白表达无显著性变化外 ($P > 0.05$), 其余贝母素乙各浓度组在各时间点上的 FN 蛋白表达均显著下降 ($P < 0.05, 0.01$); 与对照组比较, 贝母素乙各浓度组的 p-PI3K/PI3K、p-mTOR/mTOR 值及 100、200 $\mu\text{mol/L}$ 贝母素乙组的 p-Akt/Akt 值显著下降 ($P < 0.05, 0.01$)。结论 贝母素乙具有抑制 A549 细胞侵袭及迁移能力的作用, 该作用与贝母素乙调控 PI3K/Akt/mTOR 通路活性进而减缓上皮-间质转化 (EMT) 进程有关。

关键词: 贝母素乙; 肺癌 A549 细胞; 侵袭; 迁移; 上皮-间质转化进程; PI3K/Akt/mTOR 通路

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)06-1382-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.06.018

Inhibition of peiminine on invasion and migration of human lung cancer A549 cells by decreasing epithelial-mesenchymal transition process via PI3K/Akt/mTOR pathway

DING Zhi-dan¹, FANG Ze-min¹, WANG Xu-guang¹, XIA Zong-jiang¹, ZHAO Gao-feng¹, ZHAO Kai¹,
LI Xin-qiang²

1. Department of Thoracic Surgery, First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China

2. Department of Pathology, First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China

Abstract: Objective To detect the influence of peiminine on the invasion and migration of human lung cancer A549 cells. **Methods** A549 cells were treated with peiminine at the final concentrations of 0, 50, 100, and 200 $\mu\text{mol/L}$, respectively. The influence of peiminine on the invasion and migration of A549 cells and its underlying mechanisms were investigated by cell invasion experiment, cell scratch experiment, real-time quantitative PCR, ELISA, and Western blotting. **Results** Compared with 0 $\mu\text{mol/L}$ peiminine group, the cell transmembrane number and scratch wound healing rate and expressions of MMP-9 and MMP-2 in the group treated with different concentrations of peiminine significantly decreased ($P < 0.01$). Compared with 0 $\mu\text{mol/L}$ peiminine group, the mRNA expression of E-cadherin increased significantly ($P < 0.01$), while the mRNA expressions of N-cadherin and vimentin decreased significantly ($P < 0.01$). Compared with 0 $\mu\text{mol/L}$ peiminine group, FN protein expression was significantly decreased in all the groups with different concentrations of peiminine group except treatment with 50 $\mu\text{mol/L}$ peiminine after 24 h ($P < 0.05, 0.01$). Compared with 0 $\mu\text{mol/L}$ peiminine group, the ratio of p-PI3K/PI3K and p-mTOR/mTOR in all concentrations of peiminine groups and p-Akt/Akt in 100 and 200 peiminine groups were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** Peiminine can inhibit the invasion and migration of A549 cells, which may be related to the activation of PI3K/Akt/mTOR pathway and decreasing the epithelial-mesenchymal transition process.

Key words: peiminine; A549 cells; invasion; migration; epithelial-mesenchymal transition process; PI3K/Akt/mTOR pathway

收稿日期: 2018-10-24

作者简介: 丁志丹 (1982—), 男, 河南南阳人, 主治医师, 硕士, 主要从事胸部肿瘤的基础与临床研究。

Tel: 13525515856 E-mail: 1065722599@qq.com

肺癌是严重威胁人类生命与健康的恶性肿瘤,且发病人数呈逐年上升趋势;据统计,肺癌的死亡率和发病率高居男性恶性肿瘤的首位^[1]。多数肺癌在确诊时已是中晚期,失去了最佳手术机会,只能采取传统的化疗手段;但化疗药物往往具有肝肾功能损害、骨髓抑制等较严重的副作用,且长期使用易产生耐药性,给临床治疗带来极大困难^[2]。传统中药由于较低的毒副作用、确切的疗效及多途径、多靶点等独有的优势,在肺癌的治疗中逐渐引起了人们的广泛关注^[3-4]。

贝母为传统中药材,具有抗炎、镇痛、祛痰、止咳等功效,临床上常用于上呼吸道感染、肺纤维化、慢性支气管炎、哮喘等症的治疗^[5]。贝母素乙为生物碱类化合物,是贝母的主要活性成分之一,具有抗过敏、抗炎,抗肺纤维化及镇静等作用^[6]。而随着研究的不断深入,发现贝母素乙能够通过调控结肠癌 HCT116 细胞中的嘧啶代谢通路,抑制其细胞增殖,从而发挥抗结肠癌作用^[7-8]。贝母素乙也可以降低磷酸化蛋白激酶 B (p-Akt) 及细胞周期蛋白 D1 (Cyclin D1) 蛋白的表达,增加胃癌 BGC823 细胞对阿霉素的敏感性;贝母素乙还可以通过升高肿瘤组织中 cleaved Caspase-3 的表达及降低 P-糖蛋白表达,抑制胃癌耐药移植瘤的生长^[9-10]。但关于贝母素乙对人肺癌 A549 细胞的相关研究未见报道,因此,本研究主要探讨其对 A549 细胞侵袭及迁移是否具有抑制作用,并在此基础上阐明潜在机制,从而为肺癌的临床治疗提供一种新的手段。

1 材料

1.1 细胞株

人肺癌 A549 细胞购于中国科学院上海细胞库,在 37℃、5% CO₂ 条件下,用 RPMI 1640 培养液 (10% 胎牛血清) 采用常规方法进行传代、培养。

1.2 药品与试剂

贝母素乙 (质量分数 ≥ 98%, 批号 20170227), 上海晨易生物公司; 新生小牛血清及 RPMI 1640 培养液, 美国 Hyclone 公司; Transwell 小室, 美国 Corning 公司; Trizol 及 RT-PCR 试剂盒, 日本 TaKaRa 公司; 实时定量 PCR 引物, 上海生工生物工程公司合成; 纤连蛋白 (FN) 检测试剂盒, 上海酶联生物科技有限公司; 基质金属蛋白酶-9 (MMP-9)、MMP-2、磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)、p-PI3K、Akt、p-Akt、雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 及 p-mTOR 多克隆抗体, 美国 Abcam 公司。

1.3 仪器

LRH-250F CO₂ 培养箱, 上海一恒科学仪器公司; CKX31 倒置显微镜, 日本奥林巴斯公司; Multiskan FC 酶标仪, 美国热电赛默飞世尔公司; ViiA TM7 荧光定量 PCR 仪, 美国 ABI 公司; PRO4 蛋白电泳仪及 miniBLOT 转印仪, 北京韦克斯科技公司。

2 方法

2.1 MTT 实验

收集对数生长期的 A549 细胞, 调整浓度为 1×10^7 个/mL; 取 200 μL 细胞液, 加入 96 孔细胞培养板中, 24 h 细胞贴壁后, 在含 50、100、200、400、800 μmol/L 贝母素乙的完全培养基中分别继续培养 24、48、72 h, 同时设对照组 (不含药的完全培养基)。采用 MTT 法, 用酶标仪测 490 nm 波长处吸光度 (A) 值, 计算细胞存活率。

$$\text{细胞存活率} = A_{\text{给药}} / A_{\text{对照}}$$

2.2 细胞侵袭实验

将 Matrigel 用培养基进行稀释 (1:3) 后, 加入 Transwell 上下室之间的滤膜上, 干燥。收集对数生长期的 A549 细胞, 调整细胞密度为 1×10^5 个/mL, 取 200 μL 接种于上述干燥后的 Transwell 小室中。再将 Transwell 小室放入 24 孔板中, 在含 0、50、100、200 μmol/L 贝母素乙的完全培养基培养 48 h。取出小室, 弃掉培养基, 经 0.01% 结晶紫染液染色 10 min 后, 显微镜下观察迁移至微孔膜下层的细胞, 并计数。

2.3 细胞划痕实验

在 24 孔板背面画横穿过孔的 3 条平行线, 每孔至少穿过 5 条线。收集对数生长期的 A549 细胞, 1×10^5 个/孔接种于 24 孔板中; 培养 24 h 后, 待细胞完全贴壁后在垂直于孔板背面的横线处划痕。加入含 0、50、100、200 μmol/L 贝母素乙的完全培养基培养 48 h。显微镜下观察划痕愈合情况, 并计算愈合率。

$$\text{愈合率} = (0 \text{ h 划痕距离} - 48 \text{ h 划痕距离}) / 0 \text{ h 划痕距离}$$

2.4 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 实验

收集经 0、50、100、200 μmol/L 贝母素乙作用 48 h 后的 A549 细胞, 总 RNA 抽提采用 TRIzol 法进行, 后通过反转录酶法将总 RNA 逆转录为 cDNA。qRT-PCR 反应体系为 2×SYBR Green Mix, 10 μL; 上游引物 1 μL, 下游引物 1 μL; cDNA, 2 μL; 蒸馏水, 6 μL。所需引物序列如表 1 所示。以 GAPDH

表 1 qRT-PCR 引物序列
Table 1 Primer sequences of qRT-PCR

基因名称	引物序列
E-cadherin	上游 5'-GACACTGGTGCCATTTCAC-3' 下游 5'-AGTTCGAGGTTCTGGTATGGG-3'
N-cadherin	上游 5'-GCAACGACGGGTAGTCACC-3' 下游 5'-GACACGGTTGCAGTTGACTGAG-3'
vimentin	上游 5'-AGGCAAAGCAGGAGTCCACT-3' 下游 5'-CGTTCAGGGACTCATTGGT-3'
GAPDH	上游 5'-GCACAGTCAAGGCTGAGAATG-3' 下游 5'-ATGGTGGTGAAGACGCCAGTA-3'

作为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法,检测贝母素乙对 A549 细胞 E-cadherin、N-cadherin 和 vimentin mRNA 表达的影响。

2.5 ELISA 实验

分别收集经 0、50、100、200 $\mu\text{mol/L}$ 贝母素乙作用 24、48、72 h 后的 A549 细胞上清液,按照 FN 蛋白检测试剂盒操作指南中的步骤,采用 ELISA 法检测贝母素乙对 A549 细胞 FN 蛋白表达的影响。

2.6 Western blotting 实验

收集经 0、50、100、200 $\mu\text{mol/L}$ 贝母素乙作用 48 h 后的 A549 细胞,通过 RIPA 裂解液法提取细胞总蛋白,总蛋白浓度采用 BCA 法测定。根据样品总蛋白浓度确定上样量,在 12% 分离胶中进行分离后转膜。分别加入 MMP-9、MMP-2、p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt、p-mTOR 及 mTOR 多克隆抗体,均为 1:2 000 倍稀释;4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱放置过夜。再加入稀释好的二抗 (1:1 000),室温下放置 30 min。ECL 法显色,在暗室中曝光,扫描胶片存档;采用 Alpha EaseFC 4.0 软件分析各条带吸光度值,蛋白相对表达量以目的蛋白与内参蛋白吸光度的比值表示。

2.7 数据处理

采用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理,所得数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本比较采用 t 检验,多样本比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 贝母素乙对 A549 细胞活力的影响

MTT 实验结果显示,不同浓度的贝母素乙处理 A549 细胞 24、48、72 h 后,与对照组比较,200 $\mu\text{mol/L}$ 贝母素乙作用于 A549 细胞 72 h 及 400、800 $\mu\text{mol/L}$ 贝母素乙作用于 A549 细胞 24、48、72 h 后的细胞存活率显著下降 ($P < 0.05$ 、0.01)。结果见

表 2。为排除贝母素乙对 A549 细胞侵袭及迁移的影响是由抑制细胞活力而引起,故本实验采用 50、100、200 $\mu\text{mol/L}$ 贝母素乙开展后续研究。

3.2 贝母素乙对 A549 细胞侵袭及迁移能力的影响

细胞侵袭实验结果显示,不同浓度的贝母素乙处理 A549 细胞 48 h 后,与对照组比较,贝母素乙各浓度组的 A549 细胞穿膜数显著下降 ($P < 0.01$),且呈现浓度依赖关系,提示贝母素乙具有抑制 A549 细胞侵袭的作用。细胞划痕实验结果显示,与对照组比较,50、100、200 $\mu\text{mol/L}$ 贝母素乙组作用于 A549 细胞 48 h 后的细胞间划痕的愈合率显著下降 ($P < 0.01$),且随着贝母素乙浓度的升高,划痕的愈合趋势越缓慢,表明贝母素乙具有抑制 A549 细胞迁移能力的作用。结果见表 3 和图 1。

表 2 贝母素乙对 A549 细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

Table 2 Effect of peiminine on cell viability ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

组别	C/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	细胞存活率/%		
		24 h	48 h	72 h
对照	—	100.0	100.0	100.0
贝母素乙	50	99.4 $\pm$ 11.2	96.5 $\pm$ 10.3	95.7 $\pm$ 8.6
	100	96.2 $\pm$ 9.1	94.8 $\pm$ 11.9	93.4 $\pm$ 13.0
	200	94.3 $\pm$ 12.7	90.5 $\pm$ 8.6	87.2 $\pm$ 9.5*
	400	80.4 $\pm$ 7.6**	73.2 $\pm$ 8.9**	58.2 $\pm$ 5.3**
	800	64.4 $\pm$ 6.7**	55.8 $\pm$ 7.6**	41.2 $\pm$ 6.1**

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$, 下同

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group, same as below

表 3 贝母素乙对 A549 细胞侵袭及迁移能力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

Table 3 Effects of peiminine on invasion and migration of A549 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

组别	C/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	细胞穿膜数/个	愈合率/%
对照	—	152.20 $\pm$ 18.62	82.54 $\pm$ 10.79
贝母素乙	50	114.40 $\pm$ 13.48**	71.47 $\pm$ 8.44**
	100	76.60 $\pm$ 8.36**	61.92 $\pm$ 8.32**
	200	51.80 $\pm$ 6.41**	46.18 $\pm$ 5.05**

3.3 贝母素乙对 A549 细胞 MMP-9 及 MMP-2 蛋白表达的影响

Western blotting 检测结果显示,贝母素乙作用 48 h 后可以在一定程度上抑制 A549 细胞中 MMP-9 及 MMP-2 蛋白的表达,与对照组比较,贝母素乙各浓度组的 MMP-9 及 MMP-2 表达均呈显著性降低 ($P < 0.01$)。结果见图 2。

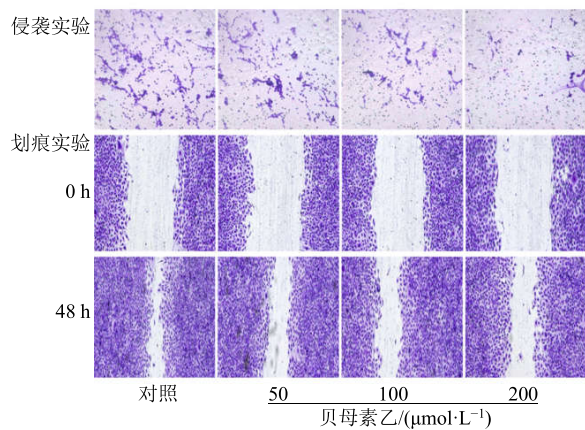


图 1 贝母素乙对 A549 细胞侵袭及迁移能力的影响
Fig. 1 Effects of peiminine on invasion and migration of A549 cells

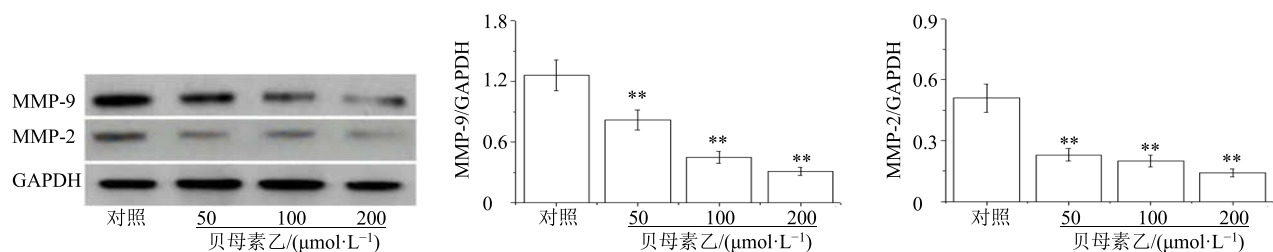


图 2 贝母素乙对 A549 细胞 MMP-9 及 MMP-2 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)
Fig. 2 Effects of peiminine on MMP-9 and MMP-2 protein expressions of A549 cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

表 4 贝母素乙对 A549 细胞 E-cadherin、N-cadherin 和 vimentin mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 4 Effects of peiminine on E-cadherin, N-cadherin, and vimentin mRNA expressions of A549 cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	C/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	mRNA 相对表达量		
		E-cadherin	N-cadherin	vimentin
对照	—	0.17 ± 0.02	0.68 ± 0.08	0.44 ± 0.04
贝母素乙	50	0.32 ± 0.03**	0.55 ± 0.06**	0.29 ± 0.03**
	100	0.34 ± 0.04**	0.41 ± 0.04**	0.23 ± 0.02**
	200	0.46 ± 0.04**	0.33 ± 0.05**	0.18 ± 0.02**

表 5 贝母素乙对 A549 细胞 FN 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 5 Effects of peiminine on FN protein expression of A549 cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	C/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	FN/($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)		
		24 h	48 h	72 h
对照	—	76.30 ± 8.51	74.68 ± 10.13	75.17 ± 9.43
贝母素乙	50	73.26 ± 9.67	65.21 ± 7.52**	61.50 ± 7.26**
	100	68.67 ± 7.32*	50.31 ± 7.65**	39.23 ± 4.41**
	200	52.13 ± 7.91**	43.04 ± 5.27**	34.19 ± 3.35**

3.6 贝母素乙对 A549 细胞 PI3K/Akt/mTOR 通路的影响

Western blotting 检测结果显示,与对照组比较, p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 及 p-mTOR/mTOR 的值均

3.4 贝母素乙对 A549 细胞 E-cadherin、N-cadherin 和 vimentin mRNA 表达的影响

qRT-PCR 检测结果显示,不同浓度的贝母素乙处理 A549 细胞 48 h 后,与对照组比较,贝母素乙各浓度组的 A549 细胞 E-cadherin mRNA 表达明显增加 ($P < 0.01$),而 N-cadherin 和 vimentin mRNA 表达均显著降低 ($P < 0.01$)。结果见表 4。

3.5 贝母素乙对 A549 细胞 FN 蛋白表达的影响

ELISA 检测结果显示,贝母素乙处理 A549 细胞 24、48、72 h 后,与对照组比较,除 50 $\mu\text{mol/L}$ 贝母素乙处理 A549 细胞 24 h 后的 FN 蛋白表达无显著性变化外 ($P > 0.05$),其余贝母素乙各浓度组在各时间点上的 FN 蛋白表达均显著下降 ($P < 0.05$ 、0.01),呈时间和浓度依赖性。结果见表 5。

下降,其中 50、100、200 $\mu\text{mol/L}$ 贝母素乙组的 p-PI3K/PI3K、p-mTOR/mTOR 的值及 100、200 $\mu\text{mol/L}$ 贝母素乙组的 p-Akt/Akt 的值显著下降 ($P < 0.05$ 、0.01)。结果见图 3。

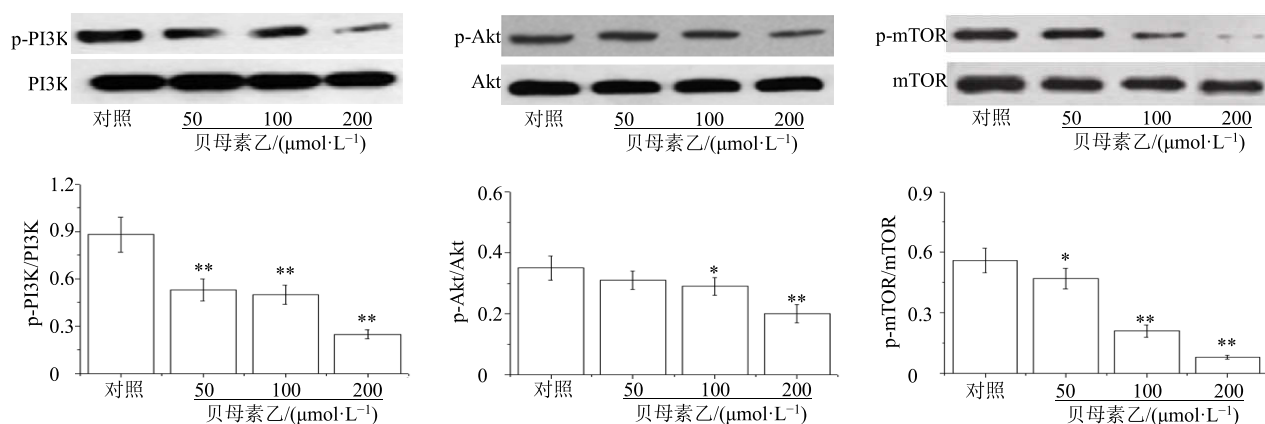


图 3 贝母素乙对 A549 细胞 PI3K/Akt/mTOR 通路的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 3 Effects of peiminine on PI3K/Akt/mTOR pathway of A549 cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

4 讨论

肿瘤细胞的侵袭及迁移是临床治疗失败的一个重要原因,积极探索中医药防治肿瘤转移的思路与方法,对于肿瘤的治疗具有重要意义^[11]。本研究采用 Transwell 小室实验和细胞划痕实验探讨了贝母素乙对 A549 细胞侵袭及迁移能力的影响,研究发现,经不同浓度的贝母素乙处理 A549 细胞 48 h 后,细胞穿膜数及细胞间划痕的愈合率均显著下降,提示贝母素乙具有抑制 A549 细胞侵袭与迁移能力的作用。细胞外基质 (ECM) 参与肿瘤细胞的侵袭及迁移过程,ECM 的降解是肿瘤细胞侵袭及迁移的前提,而基质金属蛋白酶 (MMPs) 在 ECM 的降解过程中发挥重要作用^[12]。MMP-9 和 MMP-2 是衡量肿瘤细胞侵袭及迁移能力的重要指标,其可以通过促进基膜中的主要成分 IV 型胶原的降解,使基膜完整性丧失^[13]。本研究采用 Western blotting 法检测了贝母素乙作用 A549 细胞 48 h 后的 MMP-9 及 MMP-2 蛋白表达情况,发现贝母素乙各浓度组的 MMP-9 及 MMP-2 表达均呈显著性降低,此结果进一步表明贝母素乙具有抑制 A549 细胞侵袭与迁移能力的作用。

肿瘤的侵袭与迁移包括肿瘤细胞从原发灶脱落,降解并侵入 ECM、血管和淋巴管,形成新的转移灶等,是一个多环节、多步骤的过程^[14]。近年来,国内外众多的临床研究及基础实验证实,EMT 进程在肿瘤的侵袭与迁移过程中发挥重要作用,在肺癌、胃癌、肝癌、乳腺癌、黑色素瘤等的侵袭与迁移过程中均伴随着 EMT 的发生^[15]。在 EMT 进程中,细胞之间黏附性减弱,上皮极性丧失,失去上皮指

标特性,而间质细胞特性逐渐增强;在分子水平上,具体表现为 E-cadherin 表达降低, N-cadherin 和 vimentin mRNA 表达升高^[16]。本研究采用 qRT-PCR 法检测了贝母素乙处理 A549 细胞 48 h 后的 E-cadherin、N-cadherin 和 vimentin mRNA 表达情况,发现贝母素乙各浓度组的 A549 细胞 E-cadherin mRNA 表达明显增加,而 N-cadherin 和 vimentin mRNA 表达均显著降低;此结果提示贝母素乙具有减缓 A549 细胞 EMT 进程的作用。FN 是 ECM 中重要的细胞黏附分子,为大分子糖蛋白,在维持、连接和支持组织形态方面起重要作用,具有促进细胞信息传递、离子交换及迁移等活性^[17]。近年来, FN 在细胞间的介导、黏附作用已经成为肿瘤侵袭与迁移的研究焦点之一^[18]。本研究发现,经贝母素乙处理 A549 细胞 24、48、72 h 后的 FN 蛋白表达均有不同程度的下降,此结果进一步表明贝母素乙具有减缓 A549 细胞 EMT 进程的作用。

肿瘤微环境的各种刺激可通过不同的细胞内信号途径诱导肿瘤细胞的 EMT 进程,其中 PI3K/Akt/mTOR 通路在调控肿瘤细胞 EMT 进程中具有关键性作用。PI3K/Akt/mTOR 通路是促进细胞生长、运动、蛋白质合成、生存和新陈代谢的中枢通路,可受激素、生长因子和营养的影响^[19]。大量证据表明, PI3K/Akt/mTOR 通路持续激活是肿瘤细胞 EMT 进程的一个主要特征^[20]。Back 等^[21]发现,银杏酚酸可以通过使 PI3K/Akt/mTOR 通路失活,进而减缓肺癌细胞的 EMT 进程,最终起到抑制肺癌细胞迁移及侵袭的作用。Feng 等^[22]的研究也发现,百里香酚也可以通过靶向 PI3K/Akt/mTOR 通路,诱

导胃癌细胞的细胞毒作用及抑制胃癌细胞的 EMT 进程。本研究同样发现, 贝母素乙处理组的 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 及 p-mTOR/mTOR 的值均下降, 提示贝母素乙可使 A549 细胞 PI3K/Akt/mTOR 通路激活受阻。

综上所述, 本研究证实贝母素乙具有抑制 A549 细胞侵袭及迁移能力的作用, 该作用与贝母素乙调控 PI3K/Akt/mTOR 通路活性进而减缓 EMT 进程有关。贝母素乙在体内实验中, 是否也具有抑制肿瘤细胞侵袭及迁移能力, 将是今后研究着重探讨的内容。

参考文献

- [1] Haroon K M, Hussain S, Bano R, *et al.* Associations of most prevalent risk factors with lung cancer and their impact on survival length [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2016, 17(S3): 65-70.
- [2] Okamoto T, Yano T, Shimokawa M, *et al.* A phase II randomized trial of adjuvant chemotherapy with S-1 versus S-1 plus cisplatin for completely resected pathological stage II/IIIA non-small cell lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2018, 124(1): 255-259.
- [3] Liao Y H, Li C I, Lin C C, *et al.* Traditional Chinese medicine as adjunctive therapy improves the long-term survival of lung cancer patients [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2017, 143(12): 2425-2435.
- [4] Li L, Wang S, Yang X, *et al.* Traditional Chinese medicine, Fuzheng Kang-Ai decoction, inhibits metastasis of lung cancer cells through the STAT3/MMP9 pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(3): 2461-2468.
- [5] 丁常宏, 郭盛磊, 孙海峰, 等. 药用植物平贝母的研究进展 [J]. *中医药导报*, 2018, 24(3): 73-75.
- [6] Pan F, Hou K, Gao F, *et al.* Peimisine and peiminine production by endophytic fungus *Fusarium* sp. isolated from *Fritillaria unibracteata* var. *wabensis* [J]. *Phytomedicine*, 2014, 21(8/9): 1104-1109.
- [7] Zheng Z, Xu L, Zhang S, *et al.* Peiminine inhibits colorectal cancer cell proliferation by inducing apoptosis and autophagy and modulating key metabolic pathways [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(29): 47619-47631.
- [8] 张喆, 何勤思, 吴晨雯, 等. 中药提取物贝母素乙对人结肠癌 HCT-116 细胞基因表达的影响 [J]. *中医杂志*, 2016, 57(17): 1504-1509.
- [9] Tang Q, Wang Y, Ma L, *et al.* Peiminine serves as an adriamycin chemosensitizer in gastric cancer by modulating the EGFR/FAK pathway [J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(3): 1299-1305.
- [10] 王云飞, 顾政一, 聂勇战, 等. 贝母素乙增强阿霉素对

- 胃癌多药耐药裸鼠移植瘤的抑制作用及其机制研究 [J]. *中草药*, 2014, 45(5): 686-690.
- [11] 孙师钢, 杜佳蕾, 孙晓琦, 等. 人参皂苷 CK 抑制乳腺癌 MCF-7 细胞迁移和侵袭的实验研究 [J]. *时珍国医国药*, 2018, 29(5): 1068-1070.
- [12] Teoh-Fitzgerald M L, Fitzgerald M P, Jensen T J, *et al.* Genetic and epigenetic inactivation of extracellular superoxide dismutase promotes an invasive phenotype in human lung cancer by disrupting ECM homeostasis [J]. *Mol Cancer Res*, 2012, 10(1): 40-51.
- [13] Guo B, Zhang J, Li Q, *et al.* Hypermethylation of miR-338-3p and Impact of its suppression on cell metastasis through N-cadherin accumulation at the cell-cell junction and degradation of MMP in gastric cancer [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 50(2): 411-425.
- [14] 谢珂, 郑卫红, 谭潇. KLKs 促进肿瘤增殖、迁移与侵袭的分子机制 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2018, 34(9): 935-941.
- [15] Kim C W, Hwang K A, Choi K C. Anti-metastatic potential of resveratrol and its metabolites by the inhibition of epithelial-mesenchymal transition, migration, and invasion of malignant cancer cells [J]. *Phytomedicine*, 2016, 23(14): 1787-1796.
- [16] 朱宏明, 尹丽, 何侠. Notch 信号通路介导 EMT 与肿瘤侵袭转移的研究进展 [J]. *肿瘤学杂志*, 2018, 24(8): 808-812.
- [17] Topalovski M, Brekken R A. Matrix control of pancreatic cancer: New insights into fibronectin signaling [J]. *Cancer Lett*, 2016, 381(1): 252-258.
- [18] Qin S, Zhang B, Xiao G, *et al.* Fibronectin protects lung cancer cells against docetaxel-induced apoptosis by promoting Src and caspase-8 phosphorylation [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(10): 13509-13520.
- [19] Guerrero-Zotano A, Mayer I A, Arteaga C L. PI3K/AKT/mTOR: Role in breast cancer progression, drug resistance, and treatment [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2016, 35(4): 515-524.
- [20] 姜爽, 任艳平, 魏琳, 等. 人参皂苷 CK 对 MCF-7 细胞增殖、凋亡、上皮间质转化、PI3K/Akt 信号通路的影响 [J]. *中成药*, 2018, 40(9): 1925-1929.
- [21] Baek S H, Ko J H, Lee J H, *et al.* Ginkgolic acid inhibits invasion and migration and TGF- β -Induced EMT of lung cancer cells through PI3K/Akt/mTOR inactivation [J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(2): 346-354.
- [22] Feng L M, Wang X F, Huang Q X. Thymoquinone induces cytotoxicity and reprogramming of EMT in gastric cancer cells by targeting PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. *J Biosci*, 2017, 42(4): 547-554.