

依托咪酯调控 mTOR/SIRT1 表达抑制膀胱癌 BIU-87 细胞恶性生物学行为的研究

Research of etomidate inhibiting the malignant biological behavior of bladder cancer BIU-87 cells by regulating the expression of mTOR/SIRT1

李晓石, 李世宾, 张慧明,
杨文博

(新乡市中心医院/新乡医学院 第四临床学院
泌尿外科, 河南 新乡 453000)

LI Xiao-shi, LI Shi-bin,
ZHANG Hui-ming, YANG Wen-bo

(Department of Urology, Xinxiang Central
Hospital, The Fourth Clinical College of
Xinxiang Medical College, Xinxiang
453000, Henan Province, China)

摘要:目的 探讨依托咪酯调控哺乳动物西罗莫司靶蛋白(mTOR)/沉默信息调节因子1(SIRT1)基因表达对膀胱癌 BIU-87 细胞增殖、侵袭和迁移的影响。
方法 将 BIU-87 细胞分为正常组、阳性对照组和低、中、高剂量实验组。正常组给予正常培养;阳性对照组给予含终质量浓度为 $15 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 紫杉醇的 MEM 培养基进行干预;低、中、高剂量实验组分别给予含终质量浓度为 112.50、225.00 和 $450.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的依托咪酯的 MEM 培养基进行干预。干预 24 h 后,用细胞划痕法检测细胞的迁移能力,用 Transwell 法检测细胞的侵袭能力,用酶联免疫吸附试验法检测细胞中葡萄糖和乳酸水平,用蛋白质印迹法检测 mTOR、SIRT1 和基质金属蛋白酶(MMP)蛋白的表达水平。**结果** 中、高剂量实验组和阳性对照组、正常组的侵袭细胞数分别为 (248.56 ± 5.67) 、 (117.37 ± 16.72) 、 (76.54 ± 8.23) 和 (376.40 ± 53.41) 个,迁移距离分别为 (22.30 ± 2.89) 、 (13.67 ± 5.46) 、 (8.63 ± 2.07) 和 $(38.24 \pm 5.24) \mu\text{m}$,葡萄糖水平分别为 (38.97 ± 2.43) 、 (29.75 ± 3.58) 、 (21.52 ± 4.20) 和 $(64.26 \pm 7.26) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,乳酸水平分别为 (37.36 ± 3.29) 、 (20.32 ± 5.67) 、 (14.76 ± 2.37) 和 $(51.52 \pm 3.10) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,磷酸化 mTOR/mTOR 比值分别为 0.26 ± 0.05 、 0.20 ± 0.04 、 0.15 ± 0.03 和 0.47 ± 0.07 ,SIRT1 蛋白相对表达水平分别为 0.23 ± 0.01 、 0.18 ± 0.02 、 0.09 ± 0.02 和 0.72 ± 0.13 ,MMP-9 蛋白相对表达水平分别为 0.19 ± 0.05 、 0.14 ± 0.01 、 0.10 ± 0.01 和 0.28 ± 0.04 。中、高剂量实验组的上述指标分别与阳性对照组和正常组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。**结论** 依托咪酯能够通过抑制 mTOR/SIRT1 的表达,进而有效地抑制 BIU-87 细胞的增殖、侵袭和迁移。

关键词: 依托咪酯;哺乳动物类西罗莫司靶蛋白/沉默信息调节因子1;膀胱癌;细胞增殖;细胞侵袭;细胞迁移

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.08.007

中图分类号: R979.1 **文献标志码:** A

文章编号: 1001-6821(2025)08-1085-06

Abstract: Objective To investigate the effects of etomidate on the expression of mammalian sirolimus like target protein (mTOR)/silencing information regulatory factor 1 (SIRT1) gene to inhibit the proliferation, invasion and migration of bladder cancer BIU-87 cells. **Methods** The BIU-87 cells were divided into normal group, positive control group and experimental - L, - M, - H groups. The normal group was given normal culture; the positive control group was treated with MEM medium containing paclitaxel at a final concentration of $15 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; the experimental - L, - M, - H groups were treated with MEM medium containing etomidate at final concentrations of 112.50, 225.00 and

基金项目: 河南省医学科技攻关计划基金资助项目(LHGJ20230885)

作者简介: 李晓石(1984-),男,主治医师,主要从事泌尿系肿瘤的相关临床诊疗和科研工作

通信作者: 杨文博,副主任医师
MP: 16637352599

E-mail: yy198486@163.com

450.00 mg · L⁻¹, respectively. After 24 hours of intervention, the migration ability of cells was detected using the cell scratching method, the invasion ability of cells was detected using the Transwell method, the levels of glucose and lactate in cells were detected using enzyme-linked immunosorbent assay, and the expression levels of mTOR, SIRT1 and matrix metalloproteinase (MMP) proteins were detected using Western blotting. **Results** The number of invasive cells in the experimental - M, - H groups, positive control group and normal group was 248.56 ± 5.67, 117.37 ± 16.72, 76.54 ± 8.23 and 376.40 ± 53.41; the migration distances were (22.30 ± 2.89), (13.67 ± 5.46), (8.63 ± 2.07) and (38.24 ± 5.24) μm; the glucose levels were (38.97 ± 2.43), (29.75 ± 3.58), (21.52 ± 4.20) and (64.26 ± 7.26) μmol · L⁻¹; the lactate levels were (37.36 ± 3.29), (20.32 ± 5.67), (14.76 ± 2.37) and (51.52 ± 3.10) μmol · L⁻¹; the phosphorylated mTOR/mTOR ratios were 0.26 ± 0.05, 0.20 ± 0.04, 0.15 ± 0.03 and 0.47 ± 0.07; the relative expression levels of SIRT1 protein were 0.23 ± 0.01, 0.18 ± 0.02, 0.09 ± 0.02 and 0.72 ± 0.13; the relative expression levels of MMP-9 protein were 0.19 ± 0.05, 0.14 ± 0.01, 0.10 ± 0.01 and 0.28 ± 0.04, respectively. Compared with positive control group and normal group, the differences of above indexes in experimental - M, - H groups were statistically significant (all $P < 0.05$). **Conclusion** Etomidate can effectively inhibit the proliferation, invasion and migration of BIU-87 cells by suppressing the expression of mTOR/SIRT1.

Key words: etomidate; mammalian target of rapamycin/silencing information regulator 1; bladder cancer; cell proliferation; cell invasion; cell migration

目前,手术、放疗、化疗和联合治疗是治疗膀胱癌(bladder carcinomar, BC)的主要方法^[1-2]。然而,大多数BC患者的中位生存率仍然很低^[3]。研究显示,依托咪酯可以下调基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase 2, MMP-2)和MMP-9表达,抑制肿瘤细胞的迁移和侵袭^[4]。哺乳动物西罗莫司靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)作为磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)通路的下游效应分子,通过激活PI3K信号通路,调节细胞生长、增殖和存活^[5]。PI3K/Akt/mTOR信号通路在细胞增殖中发挥重要作用,该信号通路在多种人类癌症中被异常激活,包括BC^[6]。在肿瘤微环境(如胃癌、BC和肝癌)中,沉默信息调节因子1(silencing information regulator 1, SIRT1)作为肿瘤抑制因子对浸润的肿瘤细胞起到抑制作用^[7-8]。本实验旨在探索依托咪酯是否通过调控mTOR/SIRT1表达来抑制BIU-87细胞的增殖、侵袭和迁移,为依托咪酯治疗BC提供理论依据。

材料与方法

1 材料

细胞株 人膀胱癌细胞(BIU-87),购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。

药品与试剂 依托咪酯,规格:每瓶20 mg,批号:PM16000044,德国Braun有限公司生产;紫杉醇,规

格:每瓶100 mg,批号:T7191-5MG,美国Sigma公司生产。MEM完全培养基、胎牛血清,均购自上海中乔新舟生物科技有限公司;细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8)检测试剂盒,北京博奥森生物技术有限公司生产;PI3K、Akt、磷酸化-Akt(phosphorylated-Akt, p-Akt)、mTOR、磷酸化-mTOR(phosphorylated-mTOR, p-mTOR)、SIRT1、MMP-9、β-actin抗体,均由美国Santa Cruz公司生产。

仪器 CX43显微镜,日本奥林巴斯公司产品;HBS-1096B酶标仪,南京德铁实验设备有限公司产品;Biorad Biorad PROTEAN II xi垂直电泳仪,美国BD公司产品。

2 实验方法

2.1 依托咪酯半数抑制浓度(50% inhibiting concentration, IC₅₀)的确定

体外培养BIU-87细胞,将其密度调整至 1.0×10^5 cell · mL⁻¹,按每孔100 μL接种于96孔板中,分别用5 000.00、2 500.00、1 250.00、625.00、312.50、156.25、78.13、39.06和19.53 mg · L⁻¹的依托咪酯干预24、48、72 h后,每孔加入CCK-8溶液10 μL,继续培养4 h。用酶标仪在450 nm处测量各孔的光密度(optical density, OD)值,并计算细胞增殖率,确定依托咪酯的IC₅₀。

2.2 细胞分组与处置方法

将BIU-87细胞分为对照组、阳性对照组和低、中、高剂量实验组。正常组给予正常培养;阳性对照组给予含终质量浓度为15 mg · mL⁻¹紫杉醇的MEM

培养基进行干预;低、中、高剂量实验组分别给予含终浓度为 1/8 IC₅₀、1/4 IC₅₀ 和 1/2 IC₅₀ 的依托咪酯的 MEM 培养基进行干预。干预 24 h 后,进行后续实验。

2.3 细胞划痕法检测细胞的迁移能力^[9]

调整细胞密度为 5 × 10⁵ cell · mL⁻¹,接种至 6 孔板中,待贴壁后用 200 μL 枪头的尖端垂直划线,用 MEM 培养基冲洗划痕,拍下 0 h 的划痕,按“2.2”的方法进行分组和处置,每组设 10 个复孔,培养 24 h 后再次拍照记录,用 Image J 软件分析划痕宽度,计算迁移距离。

2.4 Transwell 法检测细胞的侵袭能力^[10]

调整细胞密度为 2 × 10⁵ cell · mL⁻¹,接种至 24 孔 Transwell 小室中,下室加入 MEM 培养基,按“2.2”的方法进行分组和处置,每组设 10 个复孔,培养 24 h 后,用甲醛固定 30 min,再用结晶紫染色 15 min。待双蒸水冲洗后,用湿棉棒擦去上室底部膜表面的细胞,在显微镜下(200 倍)随机拍照并计数。

2.5 蛋白质印迹法检测相关蛋白的表达水平^[11]

调整细胞密度为 5 × 10⁵ cell · mL⁻¹,接种至 6 孔板中,待贴壁后按“2.2”方法进行分组和处置,每组设 10 个复孔,培养 24 h 后收集细胞,用预冷磷酸盐缓冲液洗 3 次,加入 RIPA 细胞裂解液 100 μL 裂解 30 min,以 1.2 × 10⁴ r · min⁻¹ 离心 15 min,收集上清液。按 1:4 的比例加入 5 × 十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳蛋白上样缓冲液,沸水煮 30 min,进行电泳(每孔 20 μL)。经切胶、转膜、封膜后,将膜与 PI3K (1:800)、Akt (1:1 000)、p - Akt (1:1 500)、mTOR (1:1 000)、p - mTOR (1:2 000)、SIRT1 (1:2 000)、MMP - 9 (1:2 000) 和 β - actin (1:4 000) 进行孵育,过夜(4 ℃),用洗涤液洗涤后,用免疫球蛋白 G 抗体

(1:2.0 × 10⁴) 在室温孵育 0.5 h,再洗涤后用 ECL 发光液进行显色,采集图像后以 β - actin 作为内对照,用 Image J 软件分析目的蛋白相对表达水平。

2.6 酶联免疫吸附试验法检测细胞中葡萄糖和乳酸的水平^[12]

调整细胞密度为 5 × 10⁵ cell · mL⁻¹,接种至 6 孔板中,待贴壁后按“2.2”的方法进行分组和处置,每组设 10 个复孔,培养 24 h 后,收集细胞,用预冷的磷酸盐缓冲液洗 3 次,再加入预冷的磷酸盐缓冲液(0.1 mL)制成匀浆,以 1.2 × 10⁴ r · min⁻¹ 离心 10 min,取上清液,根据试剂盒说明书的步骤进行操作,检测葡萄糖和乳酸的水平。

3 统计学处理

用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组比较用单因素方差分析,两两比较用 SNK - *q* 检验。

结 果

1 依托咪酯对 BIU - 87 细胞增殖的影响

当依托咪酯质量浓度 ≥ 78.13 mg · L⁻¹ 时,与 0 mg · mL⁻¹ 组相比,BIU - 87 细胞的增殖率均显著降低,在统计学上差异均有统计学意义(均 *P* < 0.05);干预 24、48、72 h 后,依托咪酯对 BIU - 87 细胞的 IC₅₀ 分别为 882.65、912.59 和 989.26 mg · L⁻¹。故选用 24 h 作为干预时间,1/8 IC₅₀、1/4 IC₅₀ 和 1/2 IC₅₀ 分别为 112.50、225.00 和 450.00 mg · L⁻¹ 作为最高干预剂量。结果见表 1。

2 依托咪酯对 BIU - 87 细胞侵袭和迁移的影响

低、中、高剂量实验组分别给予含 112.50、225.00

表 1 不同质量浓度依托咪酯对 BIU - 87 细胞增殖的影响($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Effects of etomidate at different concentrations on proliferation of BIU - 87 cells($\bar{x} \pm s$)

Concentration (mg · L ⁻¹)	<i>n</i>	BIU - 87 cell proliferation rate(%)		
		24 h	48 h	72 h
0	10	100.00 ± 12.53	100.00 ± 11.74	100.00 ± 8.35
5 000.00	10	7.59 ± 0.76 *	7.12 ± 0.96 *	8.24 ± 1.32 *
2 500.00	10	17.23 ± 7.03 *	19.06 ± 4.10 *	24.38 ± 7.01 *
1 250.00	10	40.28 ± 8.41 *	38.29 ± 5.72 *	39.54 ± 4.91 *
625.00	10	64.25 ± 6.82 *	63.28 ± 9.53 *	61.13 ± 8.67 *
312.50	10	73.21 ± 12.90 *	77.25 ± 2.28 *	75.35 ± 10.52 *
156.25	10	81.37 ± 8.50 *	89.523 ± 5.47 *	87.26 ± 10.13 *
78.13	10	90.45 ± 5.43 *	91.23 ± 7.95 *	89.21 ± 4.31 *
39.06	10	97.26 ± 12.20	96.52 ± 1.57	97.39 ± 8.42
19.53	10	98.14 ± 7.34	99.42 ± 9.23	104.96 ± 10.88

Compared with 0 mg · L⁻¹, * *P* < 0.05.

和 $450.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的依托咪酯的 MEM 培养基进行干预;阳性对照组给予含 $15\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 紫杉醇的 MEM 培养基进行干预;正常组给予正常培养。

低、中、高剂量实验组和阳性对照组的侵袭细胞数和迁移距离均较正常组显著降低,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);低、中、高剂量实验组的侵袭细胞数和迁移距离均较阳性对照组明显提升(均 $P<0.05$),且随着依托咪酯质量浓度升高,侵袭细胞数和迁移距离均逐渐减少(均 $P<0.05$)。结果见表 2 和图 1。

3 依托咪酯对 BIU-87 细胞中相关蛋白水平的影响

如表 3 和图 2 所示:低、中、高剂量实验组和阳性对照组的 p-Akt/Akt 、 p-mTOR/mTOR 比值和 PI3K、SIRT1 和 MMP-9 蛋白相对表达水平均较正常组显著降低,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);低、中、高剂量实验组的 p-Akt/Akt 、 p-mTOR/mTOR 比值和 PI3K、SIRT1 和 MMP-9 蛋白相对表达水平均较阳性对照组显著提升(均 $P<0.05$),且随着依托咪酯质量浓度增加, p-Akt/Akt 、 p-mTOR/mTOR 比值

和 PI3K、SIRT1 和 MMP-9 蛋白相对表达水平均逐渐减少(均 $P<0.05$)。

4 依托咪酯对 BIU-87 细胞中葡萄糖和乳酸水平的影响

如表 4 所示:低、中、高剂量实验组和阳性对照组的葡萄糖和乳酸水平均较正常组显著降低,在统计学

表 2 依托咪酯对 BIU-87 细胞侵袭和迁移的影响($\bar{x}\pm s$)
Table 2 Effects of etomidate on invasion and migration of BIU-87 cells($\bar{x}\pm s$)

Group	<i>n</i>	Dose ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	No. of invading cell(<i>n</i>)	Migration distance (μm)
Normal	10	—	376.40 ± 53.41	38.24 ± 5.24
Positive control	10	15.00	$76.54\pm 8.23^*$	$8.63\pm 2.07^*$
Experimental-L	10	112.50	$302.17\pm 4.38^{* \#}$	$31.30\pm 4.24^{* \#}$
Experimental-M	10	225.00	$248.56\pm 5.67^{* \# \Delta}$	$22.30\pm 2.89^{* \# \Delta}$
Experimental-H	10	450.00	$117.37\pm 16.72^{* \# \Delta \blacktriangle}$	$13.67\pm 5.46^{* \# \Delta \blacktriangle}$

Compared with normal group, $^*P<0.05$; Compared with positive control group, $^{\#}P<0.05$; Compared with experimental-L group, $^{\Delta}P<0.05$; Compared with experimental-M group, $^{\blacktriangle}P<0.05$.

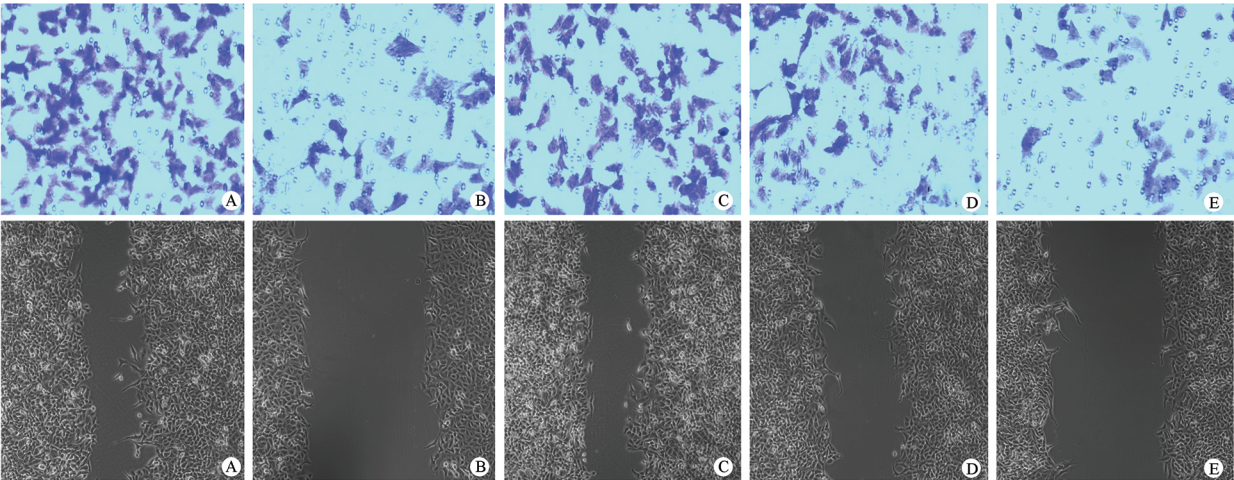


图 1 依托咪酯对 BIU-87 细胞侵袭(上, $\times 100$)和迁移(下, $\times 400$)的影响
Figure 1 Effects of etomidate on the invasion (up, $\times 100$) and migration (down, $\times 400$) of BIU-87 cells
A: Normal group; B: Positive control group; C, D, E: Experimental-L, -M, -H groups, respectively.

表 3 依托咪酯对 BIU-87 细胞中相关蛋白水平的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Effects of etomidate on related protein levels in BIU-87 cells($\bar{x}\pm s$)

Group	PI3K	p-Akt/Akt	p-mTOR/mTOR	SIRT1	MMP-9
Normal	0.32 ± 0.05	0.39 ± 0.10	0.47 ± 0.07	0.72 ± 0.13	0.28 ± 0.04
Positive control	$0.14\pm 0.03^*$	$0.08\pm 0.02^*$	$0.15\pm 0.03^*$	$0.09\pm 0.02^*$	$0.10\pm 0.01^*$
Experimental-L	$0.27\pm 0.05^{* \#}$	$0.33\pm 0.01^{* \#}$	$0.39\pm 0.07^{* \#}$	$0.37\pm 0.01^{* \#}$	$0.24\pm 0.03^{* \#}$
Experimental-M	$0.22\pm 0.04^{* \# \Delta}$	$0.24\pm 0.07^{* \# \Delta}$	$0.26\pm 0.05^{* \# \Delta}$	$0.23\pm 0.01^{* \# \Delta}$	$0.19\pm 0.05^{* \# \Delta}$
Experimental-H	$0.17\pm 0.02^{* \# \Delta \blacktriangle}$	$0.13\pm 0.02^{* \# \Delta \blacktriangle}$	$0.20\pm 0.04^{* \# \Delta \blacktriangle}$	$0.18\pm 0.02^{* \# \Delta \blacktriangle}$	$0.14\pm 0.01^{* \# \Delta \blacktriangle}$

Dose and *n* refer to table 2; PI3K; Phosphatidylinositol 3 kinase; p-Akt; Phosphorylated protein kinase B; p-mTOR; Phosphorylated mammalian target of rapamycin; SIRT1; Silencing information regulator 1; MMP-9; Matrix metalloproteinase 9; Compared with normal group, $^*P<0.05$; Compared with positive control group, $^{\#}P<0.05$; Compared with experimental-L group, $^{\Delta}P<0.05$; Compared with experimental-M group, $^{\blacktriangle}P<0.05$.

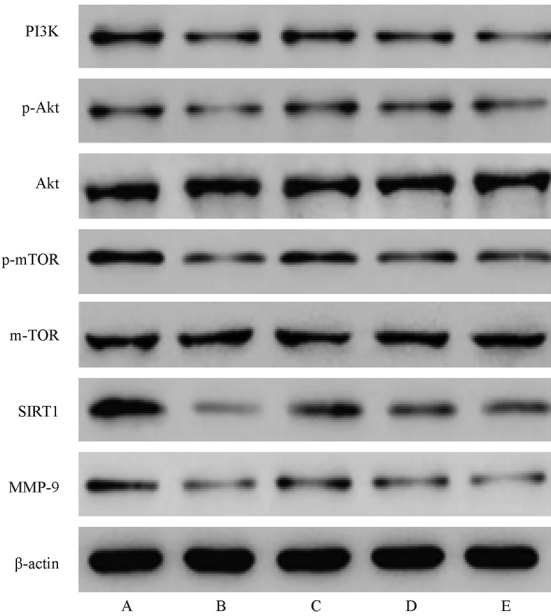


图2 依托咪酯对 BIU - 87 细胞中相关蛋白水平的影响

Figure 2 Effects of etomidate on related protein levels in BIU - 87 cells

A - E refer to figure 1.

表4 依托咪酯对 BIU - 87 细胞中葡萄糖和乳酸水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effects of etomidate on glucose and lactate levels in BIU - 87 cells ($\bar{x} \pm s$)

Group	Glucose($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Lactic acid($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)
Normal	64.26 $\pm$ 7.26	51.52 $\pm$ 3.10
Positive control	21.52 $\pm$ 4.20 *	14.76 $\pm$ 2.37 *
Experimental - L	51.30 $\pm$ 5.13 **	46.73 $\pm$ 4.66 **
Experimental - M	38.97 $\pm$ 2.43 ** Δ	37.36 $\pm$ 3.29 ** Δ
Experimental - H	29.75 $\pm$ 3.58 ** Δ $\blacktriangle$	20.32 $\pm$ 5.67 ** Δ $\blacktriangle$

Dose and *n* refer to table 2; Compared with normal group, * *P* < 0.05; Compared with positive control group, # *P* < 0.05; Compared with experimental - L group, Δ *P* < 0.05; Compared with experimental - M group, $\blacktriangle$ *P* < 0.05.

上差异均有统计学意义(均 *P* < 0.05);低、中、高剂量实验组的葡萄糖和乳酸水平均较阳性对照组显著升高(均 *P* < 0.05),且随着依托咪酯质量浓度增加,葡萄糖和乳酸水平均逐渐减少(均 *P* < 0.05)。

讨 论

膀胱癌是全球第 10 大常见恶性肿瘤,其中肌层浸润性 BC 患者的 5 年生存率仅为 50% ~ 60%^[13]。尽管根治性手术联合铂类化疗(如顺铂)可以显著延长患者的生存期,但 BC 的复发和转移率仍高达 30% ~ 50%^[14]。术后复发主要与残余微转移病灶及

肿瘤干细胞未被完全清除有关,临床通过膀胱内灌注化疗药物(如吉西他滨)或免疫调节药(如卡介苗)进行辅助治疗^[15]。然而,有研究发现,约 30% 患者对卡介苗治疗无反应,且存在膀胱刺激征、血尿等严重药物不良反应,同时,全身化疗带来的骨髓抑制和神经毒性也限制了其长期应用^[16]。因此,开发安全有效的 BC 辅助治疗策略成为临床亟待解决的难题。研究表明,依托咪酯对多种恶性肿瘤具有抗癌作用,如依托咪酯可以阻断人胃癌细胞的 G0/G1 期和 S 期,抑制率为 45.13%,表明依托咪酯可以作为一种潜在的化疗药物治疗癌症^[17]。BC 侵袭和迁移的关键步骤是基底膜的降解,这是由蛋白水解酶催化的,如 MMPs^[18]。本研究发现,依托咪酯可以抑制 MMP - 9 表达,进而抑制 BIU - 87 细胞的增殖、侵袭和迁移,提示依托咪酯具有抗癌特性。

在癌变及肿瘤发展过程中,肿瘤细胞糖酵解后,消耗大量能量,生成大量乳酸,进而降解细胞基质,促进肿瘤细胞恶性生物学行为,这提示抑制肿瘤细胞糖酵解是肿瘤治疗的重要途径。本研究发现,依托咪酯可以降低 BIU - 87 细胞中葡萄糖和乳酸水平,抑制 BIU - 87 细胞糖酵解,这可能是依托咪酯抑制 BIU - 87 细胞增殖、侵袭和迁移的重要因素。据报道,PI3K 信号通路的激活可以导致某些癌症的发生,如 BC^[19]。Akt 是细胞生长的关键调控因子,介导细胞增殖和凋亡。Akt 磷酸化生成 p - Akt,进一步激活 mTOR 通路,增加 p - mTOR 和 p - 70S6K 的表达,最终促进肿瘤细胞的增殖和迁移。SIRT1 可以在不同条件下激活 mTOR 信号通路,而 SIRT1 可以激活应激防御和 DNA 修复机制,从而保持基因组完整性^[20 - 22]。选择性 SIRT1 抑制剂(如 EX527)可以显著抑制细胞迁移和上皮间质转化,从而改变癌细胞系的侵袭和转移潜能^[23]。SIRT1 抑制剂烟酰胺以剂量依赖的方式提高 mTOR 活性,并与结节性硬化复合物蛋白 2 (tuberous sclerosis complex - 2, TSC2) 相互作用。TSC2 是上游哺乳动物西罗莫司靶蛋白抑制复合物 (mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1) 的一个组成部分^[24],这表明 SIRT1 可能通过 TSC 负性调节 mTOR 信号,抑制 BC 细胞增殖。此外,有研究显示,依托咪酯在人类肿瘤临床前模型中具有抗肿瘤作用,但其提升胃癌患者术后生存期的效果并不令人满意^[25]。因此,依托咪酯可能需要与其他方案或药物(如紫杉醇和顺铂)联合使用来提高治疗的有效率。本研究结果证实,依托咪酯可以通过调节 SIRT1 表达来抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的激活,但其作用

效果较紫杉醇低。

本研究提示:依托咪酯能够有效抑制 BIU-87 细胞的增殖、侵袭和迁移,其机制可能与抑制 mTOR/SIRT1 表达有关。

参考文献:

- [1] 郭安东,丁森泰. 膀胱癌类器官模型的建立与应用进展[J]. 山东大学学报(医学版),2023,61(11):20—26.
- [2] 杨佳健,盖年鑫,林宇鑫,等. 膀胱癌化疗耐药机制的研究进展[J]. 中华实验外科杂志,2022,39(10):2046—2049.
- [3] 张小平,杨光林,莫林键,等. 膀胱癌相关双原发癌临床预后相关因素[J]. 中国老年学杂志,2024,44(6):1305—1309.
- [4] 姜崇发,王秋红,刘建,等. 依托咪酯通过调控 *LncRNA CDKN2B-AS1/miR-199a-5p* 表达抑制胶质瘤细胞增殖、迁移和侵袭[J]. 中国老年学杂志,2022,42(2):349—355.
- [5] TSENG C Y, FU Y H, OU D L, *et al.* Anti-leukemia effects of omipalisib in acute myeloid leukemia: Inhibition of PI3K/AKT/mTOR signaling and suppression of mitochondrial biogenesis [J]. *Cancer Gene Ther*, 2023, 30(12):1691—1701.
- [6] 熊福康,张迅,杜鹏程,等. VDAC1 通过激活 PI3K-AKT-mTOR 信号通路促进乳腺癌细胞的增殖和迁移[J]. 肿瘤预防与治疗,2024,37(6):475—483.
- [7] ZULKIFLI N D, ZULKIFLE N. Insight from sirtuins interactome: Topological prominence and multifaceted roles of SIRT1 in modulating immunity, aging, and cancer [J]. *Genomics Inform*, 2023, 21(2):23—29.
- [8] 赵蓉. UBE2C 介导 SIRT1 泛素化降解抑制自噬促进子宫内膜癌进展的机制研究[D]. 湖北 武汉:华中科技大学,2023.
- [9] 王青慧,王晓黎,李波,等. *circRNA-1565* 促进肿瘤相关巨噬细胞极化而诱导宫颈癌细胞的迁移和侵袭[J]. 广东医学,2023,44(7):826—831.
- [10] 唐秋琳,毕锋. Transwell 法检测细胞侵袭迁移能力实验中的影响因素[J]. 实验科学与技术,2018,16(4):18—21.
- [11] 汤琰,沈振华,孙榕,等. 蛋白质印迹法确证为“阴性”的窗口期人类免疫缺陷病毒感染者的筛查试验结果及流行病学特征[J]. 中华传染病杂志,2024,42(3):176—180.
- [12] 黄华廷,张薇薇,戴胜男,等. 人参皂苷 Rb1 对小鼠心肌细胞糖氧化代谢率和糖酵解率的影响[J]. 中国医药,2018,13(5):776—780.
- [13] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, *et al.* Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3):209—249.
- [14] ALFRED WITJES J, LEBRET T, COMPÉRAT E M, *et al.* Updated 2016 EAU guidelines on muscle-invasive and metastatic bladder cancer [J]. *Eur Urol*, 2017, 71(3):462—475.
- [15] GILLIES R J, ROBEY I, GATENBY R A. Causes and consequences of increased glucose metabolism of cancers [J]. *J Nucl Med*, 2008, 49(1):24S—42S.
- [16] HARDIE D G, SCHAFER B E, BRUNET A. AMPK: An energy-sensing pathway with multiple inputs and outputs [J]. *Trends Cell Biol*, 2016, 26(3):190—201.
- [17] 张飞,刘颖,刘成龙. 依托咪酯维持麻醉对胃癌患者术后免疫球蛋白及应激反应水平的影响[J]. 海南医学院学报,2019,25(9):679—682.
- [18] KUDELSKI J, TOKARZEWCZ A, GUDOWSKA-SAWCZUK M, *et al.* The significance of matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) and metalloproteinase 2 (MMP-2) in urinary bladder cancer [J]. *Biomedicines*, 2023, 11(3):956—966.
- [18] CHOI Y J, FAN M, WEDAMULLA N E, *et al.* Alleviatory effect of isoquercetin on benign prostatic hyperplasia via IGF-1/PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. *Food Sci Hum Well*, 2024, 13(3):1698—1710.
- [20] MANNING B D, TOKER A. AKT/PKB signaling: Navigating the network [J]. *Cell*, 2017, 169(3):381—405.
- [21] SAXTON R A, SABATINI D M. mTOR signaling in growth, metabolism, and disease [J]. *Cell*, 2017, 168(6):960—976.
- [22] SUN Y, LIU X D, TONG H, *et al.* SIRT1 promotes cisplatin resistance in bladder cancer via beclin1 deacetylation-mediated autophagy [J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 16(1):125—132.
- [23] LIANG S P, WANG X Z, PIAO M H, *et al.* Activated SIRT1 contributes to DPT-induced glioma cell parthanatos by upregulation of NOX2 and NAT10 [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2023, 44(10):2125—2138.
- [24] SALLES D C, ASRANI K, WOO J, *et al.* GPNMB expression identifies TSC1/2/mTOR-associated and Mit family translocation-driven renal neoplasms [J]. *J Pathol*, 2022, 257(2):158—171.
- [25] 王艳. 异丙酚或依托咪酯作为全身麻醉诱导对胃癌的影响:随访10年的回顾性队列研究[D]. 安徽 合肥:安徽医科大学,2023.

(收稿日期 2024-11-20)