

[文章编号] 1007-7669(2024)06-0469-07

[DOI号] 10.14109/j.cnki.xyylc.2024.06.14

石斛酚靶向尿激酶型纤溶酶原激活物抑制胰腺癌细胞增殖

吴丽虹^{1a}, 刘曦昀^{1b}, 唐晋², 陈桥³, 熊璞^{1a}

(1. 乐山职业技术学院 a. 内科教研室, b. 中医教研室, 四川 乐山 614000; 2. 广安市人民医院重症医学科, 四川 广安 638500; 3. 乐山市人民医院 麻醉科, 四川 乐山 614000)

[关键词] 石斛酚; 尿激酶型纤溶酶原激活物; 胰腺癌; 增殖

[摘要] 目的 研究石斛酚靶向尿激酶型纤溶酶原激活物 (PLAU) 抑制胰腺癌 (PC) 细胞增殖的机制。方法 采用不同浓度石斛酚作用于 PC 细胞 (PANC-1 和 SW1990), CCK-8 法检测细胞活力并计算半抑制浓度 (IC₅₀) 值, 细胞克隆实验检测石斛酚对细胞生长能力的影响, 流式细胞仪检测石斛酚对细胞生长周期和凋亡的影响。生物信息学分析石斛酚作用靶点, 并分析靶点在 PC 组织中的表达及其与临床不良表型之间的关系。将 PC 细胞转染 PLAU 或 Vector 质粒, 分为正常 (Vector 质粒) 组、石斛酚 (45 μmol·L⁻¹ 或 50 μmol·L⁻¹) 组和石斛酚 +PLAU (PLAU 质粒) 组, 观察石斛酚靶向 PLAU 对细胞增殖、克隆及细胞周期和凋亡的影响。Western blot 法检测细胞 PLAU 蛋白表达。裸鼠移植瘤实验检测石斛酚体内抑制细胞增殖。免疫组化法检测增殖细胞抗原 (Ki67) 表达。结果 与正常组相比, 石斛酚组细胞增殖活力、克隆数量显著减少 ($P<0.05$); G₀/G₁ 期细胞数量增多, S 期细胞数量减少 ($P<0.05$), G₂/M 期细胞数量无显著差异 ($P>0.05$), 凋亡细胞数量增多 ($P<0.05$)。生物信息学结果显示 PLAU 是石斛酚的作用靶点, 在 PC 组织中表达上调且与 PC 临床不良表型有关。石斛酚浓度和时间依赖性抑制 PC 细胞 PLAU 蛋白表达 ($P<0.05$)。石斛酚 +PLAU 组中 PC 细胞 PLAU 蛋白表达、增殖活力、克隆数量和 S 期细胞数量均高于石斛酚组, 而凋亡细胞数量少于石斛酚组 ($P<0.05$)。裸鼠实验中, 石斛酚组移植瘤体积和重量显著低于正常组 ($P<0.05$), 且肿瘤组织中 Ki67 相对表达量低于正常组 ($P<0.05$)。结论 石斛酚通过靶向调控 PLAU 蛋白表达抑制 PC 细胞增殖, 影响细胞周期, 促进细胞凋亡。

[中图分类号] R979.1

[文献标志码] A

Mechanism of gignantol inhibiting proliferation of pancreatic carcinoma cells by targeting urokinase-type plasminogen activator

WU Li-hong^{1a}, LIU Xi-yun^{1b}, TANG Jin², CHEN Qiao³, XIONG Ying^{1a}

(1. a. Department of Internal Medicine, b. Department of Traditional Chinese Medicine, Leshan Vocational and Technical College, Leshan SICHUAN 614000, China; 2. Department of Critical Care Medicine, Guang-an People's Hospital, Guang-an SICHUAN 638500, China; 3. Department of Anaesthesia, Leshan People's Hospital, Leshan SICHUAN 614000, China)

[KEY WORDS] gignantol; urokinase-type plasminogen activator; pancreatic carcinoma; proliferation

[ABSTRACT] AIM To study the mechanism of gignantol inhibiting the proliferation of pancreatic carcinoma (PC) cells by targeting urokinase-type plasminogen activator (PLAU). METHODS PC cells (PANC-1 and SW1990) were treated

[收稿日期] 2022-10-26 [接受日期] 2024-03-13

[作者简介] 吴丽虹, 女, 副教授, 学士, 主要从事消化内科的工作及研究, E-mail: chad687274@163.com

[责任作者] 刘曦昀, E-mail: 84613791@qq.com

with different concentrations of gigantol. The cells activity was detected by CCK-8, and half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}) was calculated. Cell clone assay was performed to detect the effects of gigantol on cells growth ability. The effects of gigantol on cells growth cycle and apoptosis were detected by flow cytometer. The targets of gigantol were analyzed by bioinformatics, expressions of these targets in PC tissues and their relationship with poor clinical phenotypes were analyzed. PC cells were transfected with PLAU or vector plasmid, and divided into normal group (vector plasmid), gigantol group ($45 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ or $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) and gigantol + PLAU (PLAU plasmid) group. The effects of gigantol on cells proliferation, clone, cells cycle and apoptosis by targeting PLAU were observed. The expression of PLAU protein in cells was detected by Western blot. The inhibitory effects of gigantol on cells proliferation *in vivo* were detected by xenograft assay in nude mice. The expression of proliferating cell antigen (Ki67) was detected by immunohistochemistry. RESULTS Compared with the normal group, gigantol group showed a significant decrease in cell proliferation and clone number ($P < 0.05$), and an increase in the number of G_0/G_1 -phase cells, a decrease in the number of S-phase cells ($P < 0.05$), and an increase in the number of apoptotic cells ($P < 0.05$). There were no significant difference in the number of G2/M-phase cells between the two groups ($P < 0.05$). Bioinformatics results showed that PLAU was the target of gigantol, which was up-regulated in PC tissues and related to poor clinical phenotypes of PC. Gigantol could inhibit the expression of PLAU protein in PC cells, showing concentration and time dependence ($P < 0.05$). PLAU protein expression, proliferation activity and clone number, and the number of S-phase cells in PC cells were higher in the gigantol + PLAU group than in the gigantol group, while the number of apoptotic cells was less than in the gigantol group ($P < 0.05$). In the nude mice experiments, the volume and weight of transplanted tumors in the gigantol group were significantly lower than those in the normal group ($P < 0.05$), and the relative expression of Ki67 in tumor tissues was lower than that in the normal group ($P < 0.05$). CONCLUSION Gigantol can inhibit the proliferation of PC cells, affect cells cycle and promote apoptosis by targeting the expression of PLAU protein.

胰腺癌 (pancreatic carcinoma, PC) 是消化系统恶性肿瘤^[1], 发病机制复杂, 常伴有炎症反应, 临床患者多预后不良^[2]。分析 PC 的发病和分子机制对于临床上早期诊疗 PC 意义重大^[3]。尿激酶型纤溶酶原激活物 (urokinase-type plasminogen activator, PLAU) 是蛋白水解酶家族成员, 可结合纤溶蛋白酶后溶解细胞基底膜和外基质, 为肿瘤细胞转移和侵袭创造了条件^[4]。PLAU 已被证实在多种疾病中差异表达, 参与人类多种恶性肿瘤的侵袭和转移^[5,6], 可用于恶性肿瘤的早期诊断^[7]。有研究发现 PLAU 在前列腺癌中过表达, 与肿瘤的侵袭和转移呈正相关^[8]。基于此, 本研究推测 PLAU 可能是临床改善 PC 患者预后的潜在生物标志物。石斛酚 (gigantol) 是从石斛中分离出的联苜类化合物, 具有抗肿瘤、抗诱变等功效^[9]。有研究结果发现, 石斛酚可以降低高糖诱导的人视网膜微血管内皮细胞的氧化应激反应, 从而发挥保护细胞的作用^[10]。本研究观察石斛酚对 PLAU 的靶向作用, 通过 PC 细胞体外和体内实验初步探讨其可能的作用机制。

材料与amp;方法

细胞、试剂和仪器 PANC-1 和 SW1990 细胞购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。石斛酚

标准品购自上海诗丹德标准技术服务有限公司, 纯度为 98%, 以 0.5% 的羧甲基纤维素钠溶液溶解。RPMI 1640 培养基购于上海经科化学科技有限公司, 胎牛血清购于爱必信 (上海) 生物科技有限公司, Giemsa 染色液、Hoechst 33258 染色液、NP-40 裂解液、二喹啉甲酸 (BCA) 蛋白浓度测定试剂盒、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺 (SDS-PAGE) 凝胶配制试剂盒均购自北京伊塔生物科技有限公司, 兔抗 PLAU 多克隆抗体以及辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG (H+L) 二抗购自上海科敏生物科技有限公司, DMEM 高糖培养基购自上海李记生物科技有限公司。ST-360 型酶标仪购自上海晚成医疗器械有限公司, 流式细胞仪购自常州必达科生物科技有限公司。

石斛酚作用靶点预测 利用 TargetNet (<http://targetnet.scbdd.com>)、SwissTargetPrediction (<http://swisstargetprediction.ch/>) 在线数据预测石斛酚的靶基因, 将两个数据库预测结果进行交叉分析, 即得该药物的有效靶点。从 GEO2R 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds>) 中检索得到包含 PC 的数据集, 用于比较 PC 患者的癌组织与癌旁组织基因表达差异。通过癌症基因组图谱 (the cancer genome atlas, TCGA) 在线数据库 (<https://cancergenome.nih.gov/>) 下载 PC 临床样本数据, 比较 PLAU 在不同临床病理特征间的表达

情况。

细胞实验

1 细胞培养及转染 将两种 PC 细胞 (PANC-1 和 SW1990) 接种于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液, 在 37 °C 5%CO₂ 饱和湿度条件下培养, 细胞为贴壁生长, 胰酶消化液消化后传代培养, 实验取用对数生长期细胞。石斛酚组用石斛酚 [45 μmol · L⁻¹ (PANC-1) 和 50 μmol · L⁻¹ (SW1990)] 处理, 石斛酚 +PLAU 组细胞转染 PLAU 并用石斛酚处理, 培养 48 h。

2 PC 细胞半抑制浓度 (IC₅₀) 采用 CCK-8 法。取生长状态良好的 PANC-1 和 SW1990 细胞, 用完全培养液配制的不同浓度石斛酚 (0、10、20、50、70、80 μmol · L⁻¹) 分别重悬细胞, 然后以每孔 5 × 10³ 个细胞接种于 96 孔板, 每孔加入 CCK-8 溶液 10 μL 于 37 °C 环境中继续孵育 2 h, 用酶标仪检测 450 nm 的吸光度, 计算石斛酚对 PC 细胞的 IC₅₀, 作为分组给药浓度。将细胞分为正常组、石斛酚 (45 μmol · L⁻¹ 或 50 μmol · L⁻¹) 组。

3 细胞增殖能力 以每孔 5 × 10³ 个细胞的密度接种于 96 孔板。观察比较正常组和石斛酚组 0、1、2、3、4、5 d 时的细胞增殖能力。采用 CCK-8 法, 用酶标仪检测 450 nm 的吸光度。

4 细胞克隆能力 以每孔 1 × 10⁶ 个细胞的密度接种于 6 孔板上。分组给药培养 48 h 后吸弃培养液, 更换为无药新鲜培养基后继续培养 2 周, 将培养皿中培养基小心倒弃, PBS 洗涤细胞 3 次, 甲醇固定菌落, 0.25% 结晶紫染色 30 min, 统计分析菌落数量。细胞克隆计数的标准为显微镜下每个克隆含有的细胞数大于 50 个。

5 细胞周期 以每孔 2 × 10⁵ 个细胞的密度平铺于 6 孔板贴壁培养 24 h, 分组给药培养 48 h 后离心收集各组细胞, 用提前预冷的 75% 乙醇固定过夜, PI 染色, PBS 清洗 2 次后, 流式细胞仪检测细胞周期。

6 细胞凋亡 以 0.25% 胰酶消化后制成密度为 2 × 10⁵ · mL⁻¹ 的细胞悬液, 以每孔 2 mL 接种于 6 孔板中进行培养。分组给药培养 48 h 后离心收集各组细胞, 加入 FITC 标记的 Annexin V 5 μL, 于 37 °C 避光孵育 30 min, 加入 PI 5 μL 混匀, 2 °C ~8 °C 避光反应 10 min, 再加入 Binding Buffer 400 μL, 用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

7 石斛酚靶向 PLAU 对 PC 细胞的影响 采用 Western blot 法观察石斛酚对 PLAU 蛋白表达的影响。采用不同浓度石斛酚处理 PC 细胞 (0、15、30、45 和 60 μmol · L⁻¹ 处理 PANC-1, 0、25、50、75、100 μmol · L⁻¹ 处

理 SW1990 细胞), 收集各组细胞加入, 加入 RIPA 裂解液冰上裂解 20 min, 离心保留上清, 使用 BCA 法对细胞上清中的总蛋白含量进行定量。蛋白电泳后转至 PVDF 膜, 用 5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h。加入用封闭液稀释的 PLAU 兔单克隆抗体 (1:5 000), 4 °C 孵育过夜, 加入封闭液稀释的 HRP 标记的羊抗兔二抗 (1:1 000) 室温孵育 60 min, 加入 ECL 化学发光液进行显影, 以 β-actin 作为内参。同上方法, 观察正常组和石斛酚组给药后 0、12、24 和 48 h 的 PLAU 蛋白表达水平。根据 Lipofectamine™ 2000 说明书将 PLAU (PLAU 组) 或 Vector (对照组) 质粒转染至 PC 细胞中, 观察 PLAU 蛋白表达的变化。另分为正常 (转染 Vector 质粒) 组、石斛酚 (45 μmol · L⁻¹ 或 50 μmol · L⁻¹) 组和石斛酚 +PLAU (细胞转染 PLAU 质粒) 组, 观察比较各组细胞增殖、克隆能力, 细胞周期及凋亡率。**裸鼠移植瘤实验** 18 只裸鼠购自四川省医学科学院 · 四川省人民医院实验动物研究所, 许可证号: SCXK (川) 2018-15, 在标准环境中饲养, 并自由采食饮水。将裸鼠分为正常组、石斛酚组, 每组 9 只, 于裸鼠腋下脂肪垫接种 SW1990 细胞, 7 d 内移植瘤出现表示模型建立成功。石斛酚组每隔 1 d 经腹腔注射一次石斛酚 50 mg · kg⁻¹, 持续 14 d, 每 2 d 测量瘤体体积。每隔 7 d 记录小鼠体重变化。14 d 后处死所有裸鼠, 取出瘤体测量瘤体体积及重量。

取出移植瘤组织, 常规石蜡切片, 烤片、脱蜡水化, 用 PBS 冲洗 3 次, 每次 5 min; 微波修复 15 min, 切片用过氧化酶抑制剂室温处理 10 min, PBS 冲洗 3 次, 每次 3 min。滴加 Ki67 抗体 (1:100), 4 °C 孵育过夜; PBS 冲洗 3 次, 每次 3 min; 滴加 HRP-羊抗小鼠 IgG, 室温孵育 10 min; PBS 充分淋洗后, 滴加 H₂O₂-DAB 显色液显色; 复染, 脱水透明, 封片。免疫组化法染色检测 Ki67 表达。阴性对照用 PBS 代替 Ki67 抗体。在显微镜下观察, 拍照。

统计学分析 采用 SPSS17.0 软件进行统计学处理, 计量资料实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 *t* 检验分析 2 组间的表达差异, 用单因素方差分析检验多组间的表达差异。P < 0.05 为有显著差异。

结 果

细胞增殖、克隆及细胞周期和凋亡 石斛酚对 PANC-1 的 IC₅₀ 为 44.82 μmol · L⁻¹, 对 SW1990 的 IC₅₀ 为 49.94 μmol · L⁻¹, 因此分别选择 45 μmol · L⁻¹ 和 50 μmol · L⁻¹ 石斛酚处理 PANC-1 和 SW1990, 见图 1A、B。与正常组相比, 从第 2 日开始石斛酚组细胞增殖活力显著降低

($P < 0.05$) ; 细胞克隆数量显著减少 ($P < 0.05$) ; G_0/G_1 期细胞数量增多, S 期细胞数量减少 ($P < 0.05$) , G_2/M 期细胞无显著差异 ($P > 0.05$) ; 凋亡细胞数量增多 ($P < 0.05$) , 见图 1C、D、E、F、G、H。

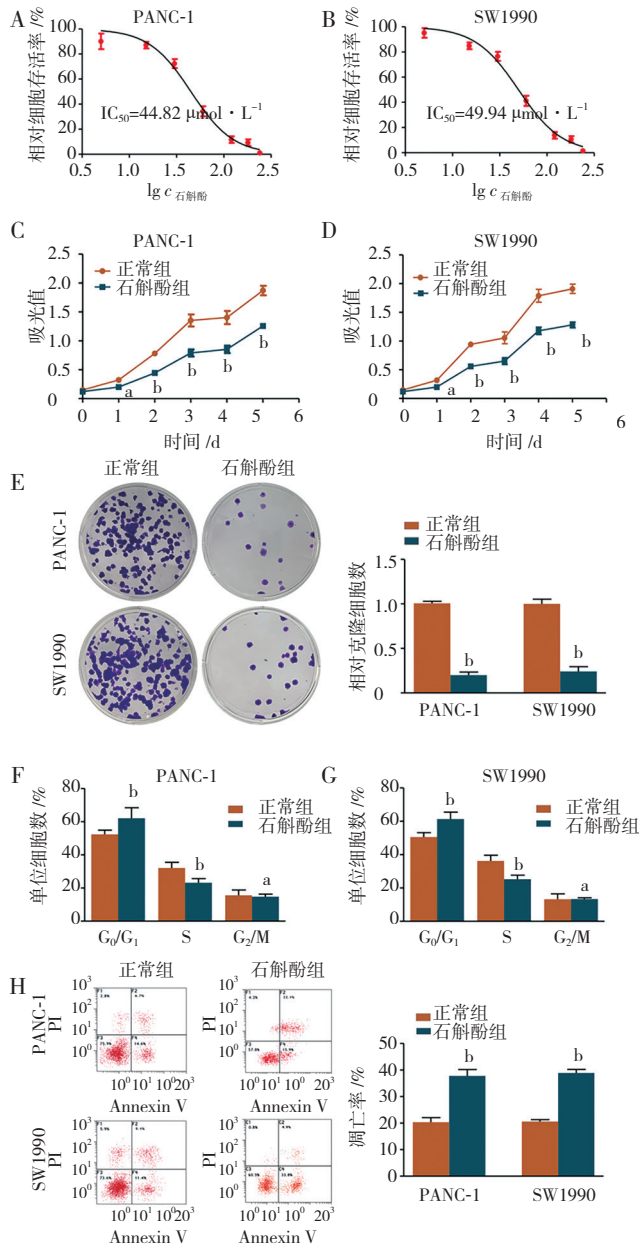


图 1 石斛酚体外抑制胰腺癌细胞增殖并诱导凋亡 A: 石斛酚处理 PANC-1 的 IC_{50} , B: 石斛酚处理 SW1990 的 IC_{50} , C: 石斛酚处理 PANC-1 的细胞增殖率, D: 石斛酚处理 SW1990 的细胞增殖率, E: 石斛酚处理 PANC-1 和 SW1990 的细胞克隆数, F: 石斛酚处理 PANC-1 的细胞周期, G: 石斛酚处理 SW1990 的细胞周期, H: 石斛酚处理 PANC-1 和 SW1990 的细胞凋亡率。经 t 检验: 与正常组相比, $^a P > 0.05$, $^b P < 0.05$

石斛酚的靶基因与 PC 临床不良表型之间的关系 通过 SwissTargetPrediction 和 TargetNet 在线工具预测石斛酚靶点, 结果获得 156 个作用靶点。GEO2R 数据库分析比较 PC 患者的癌组织与癌旁组织基因表达差异, 结果显示, GSE62452 数据集中鉴定出 197 个基因在

PC 组织中表达上调。将两个预测数据库进行交叉分析, 获得 1 个共同基因, 即 PLAU, 见图 2A。GSE62452 分析结果显示, PLAU 在癌组织中表达高于癌旁组织 ($P < 0.05$) , 见图 2B。TCGA 数据库分析结果显示, 淋巴结转移 N1 型中 PLAU 表达高于 N0 型 ($P < 0.05$) , 见图 2C。G3~4 分级的 PC 组织中 PLAU 表达高于 G1~2 分级 ($P < 0.05$) , 见图 2D。PC 复发组患者中 PLAU 表达高于非复发组患者 ($P < 0.05$) , 见图 2E。预后不良组 PC 患者中 PLAU 表达高于预后良好组 PC 患者 ($P < 0.05$) , 见图 2F。PLAU 高表达患者的无病生存期和总生存期小于 PLAU 低表达患者 ($P < 0.05$) 。见图 2G 和图 2H。

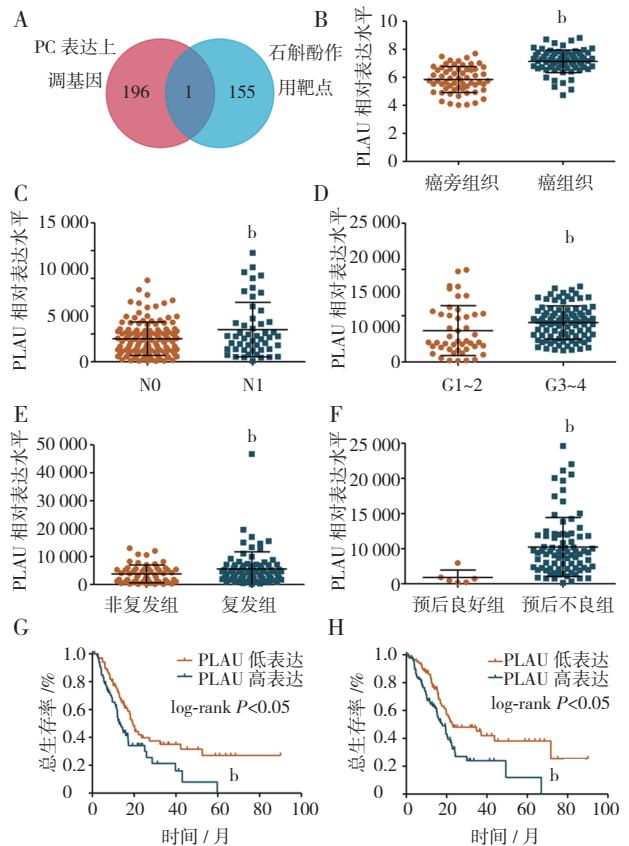


图 2 石斛酚靶基因及其与胰腺癌 (PC) 临床不良表型之间的关系 A: 预测石斛酚的靶基因, B: PLAU 在 PC 组织和癌旁组织中的差异表达, C: PLAU 在 PC 不同淋巴结转移分期中的差异表达, D: PLAU 在 PC 不同分级中的差异表达, E: PLAU 在 PC 复发患者和非复发患者中差异表达, F: PLAU 在 PC 预后良好患者和预后不良患者中的差异表达, G: PLAU 差异性表达对患者无病生存期的影响, H: PLAU 差异性表达对患者总生存期的影响。经 t 检验: 与癌旁组织 / 淋巴结转移 N0 型 / PC 分化 G1~2 / PC 非复发组 / PC 预后良好组 / PLAU 低表达相比, $^b P < 0.05$

石斛酚对 PC 细胞 PLAU 蛋白表达的影响 在 PANC-1 和 SW1990 细胞中, 随着石斛酚浓度增加和时间的延长, PLAU 蛋白表达逐渐减少, 呈浓度和时间依赖性。见图 3。

石斛酚靶向 PLAU 体外抑制 PC 细胞增殖并诱导凋

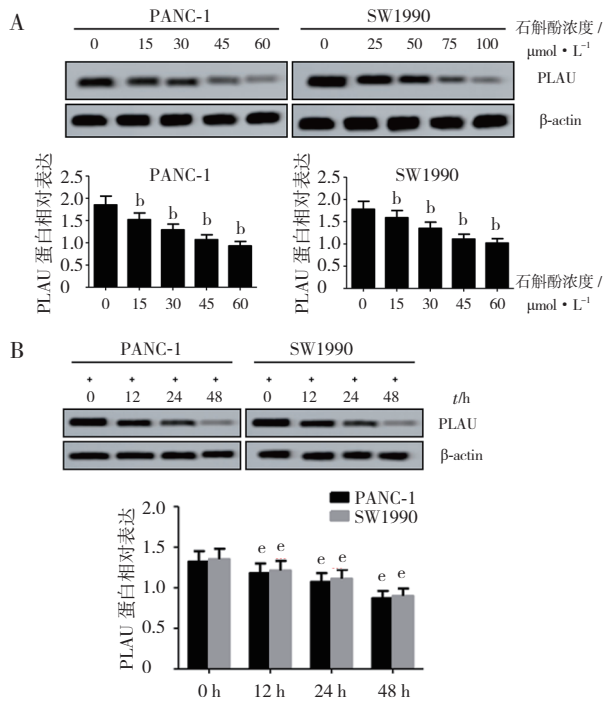


图3 石斛酚体外抑制胰腺癌细胞 PLAU 蛋白表达 A: 石斛酚下调 PLAU 蛋白表达呈浓度依赖性, B: 石斛酚下调 PLAU 蛋白表达呈时间依赖性。经单因素方差分析: 与 0 μmol · L⁻¹ 组相比, ^b*P*<0.05; 与 0 h 组相比, ^e*P*<0.05

与对照组相比, PLAU 组 PLAU 蛋白表达增加 (0.75 ± 0.07 vs. 1.03 ± 0.10, *P*<0.05), 见图 4A。与正常组相比, 石斛酚组中 PLAU 蛋白表达降低 (0.88 ± 0.09 vs. 0.64 ± 0.07, *P*<0.05), 而石斛酚 + PLAU 组中 PLAU 蛋白表达有所增加 (0.85 ± 0.08, *P*<0.05), 见图 4B。与正常组相比, 给药第 2 日起石斛酚组细胞增殖活力显著降低 (*P*<0.05), 细胞克隆数量显著减少 (1.03 ± 0.11 vs. 0.46 ± 0.05, *P*<0.05); 石斛酚 + PLAU 组细胞增殖活力和细胞克隆数量 (0.99 ± 0.10) 显著高于石斛酚组 (*P*<0.05), 见图 4C 和 4D。与正常组相比, 石斛酚组 G₀/G₁ 细胞数量增多、S 期细胞数量减少 (*P*<0.05), 细胞凋亡率显著增加 [(21.85 ± 2.21) % vs. (42.13 ± 4.35) %, *P*<0.05]; 与石斛酚组相比, 石斛酚 + PLAU 组 G₀/G₁ 细胞减少、S 期细胞增加 (*P*<0.05), 凋亡细胞率降低 [(20.36 ± 2.11) %]。各组中 G₂/M 细胞数量无显著差异 (*P*>0.05), 见图 4E 和 4F。

石斛酚体内抑制 PC 细胞增殖 2 组裸鼠饮食、体征均正常, 每只小鼠均成瘤, 无死亡情况; 第 2 日起, 石斛酚组移植瘤体积小于正常组 (*P*<0.05), 见图 5A。第 14 日, 与正常组相比, 石斛酚组移植瘤质量 [(0.28 ± 0.31) g vs. (0.20 ± 0.21) g] 和体积 [(375.64 ± 38.01) mm³ vs. (223.99 ± 21.10) mm³] 均显著减小 (*P*<0.05), Ki67 相对表达量显著降低 (1.13 ± 0.35 vs. 0.24 ± 0.02, *P*<0.05), 见图 5B。

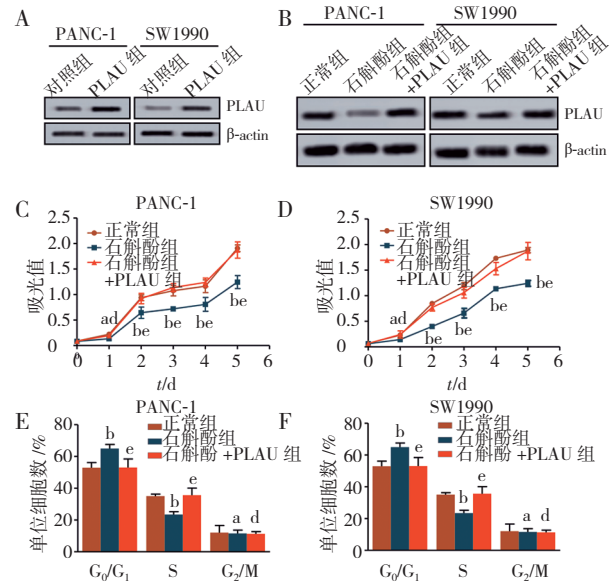


图4 石斛酚靶向 PLAU 体外抑制胰腺癌细胞增殖并诱导凋亡 A: 2 组中 PLAU 蛋白表达, B: 3 组中 PLAU 蛋白表达, C: PANC-1 细胞增殖实验, D: SW1990 细胞增殖实验, E: PANC-1 细胞生长周期实验, F: SW1990 细胞生长周期实验。经单因素方差分析: 与正常组比较, ^a*P*>0.05, ^b*P*<0.05; 与石斛酚组比较, ^d*P*>0.05, ^e*P*<0.05

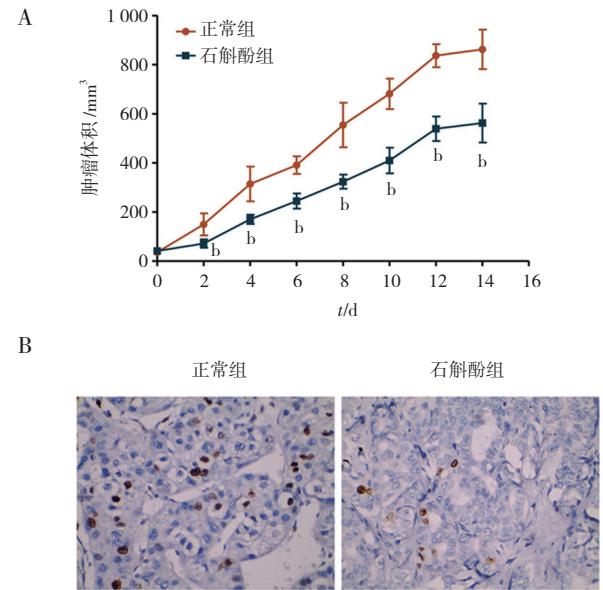


图5 石斛酚体内抑制胰腺癌细胞增殖 A: 移植瘤体积随时间的变化, B: Ki67 免疫组化典型图片 (×200)。经 *t* 检验: 与正常组相比, ^b*P*<0.05

讨论

PC 是致死率较高的一类常见恶性肿瘤, 其早期发病较为隐匿, 大部分患者在确诊时已处于中晚期, 患者错失最佳治疗时机^[11]。同时, 晚期 PC 患者容易复发、出现淋巴结转移且患者的总生存期普遍较低, 造成临床治疗困难, 患者生活质量受损。临床多采用手术、放化疗手段等治疗 PC 患者, 但其治疗效果欠

佳^[12]。因此,寻找新型治疗靶点和有效干预方式以提高 PC 治疗的效果是现阶段急需解决的痛点。

本研究结果显示,石斛酚作用 PANC-1 和 SW1990 细胞后,细胞增殖、克隆能力明显被抑制,且石斛酚可阻滞 PC 细胞周期,诱导凋亡。既往研究^[13]显示,石斛酚作用肺癌细胞可抑制细胞增殖,结合本研究结果初步推测,石斛酚具有抑制 PC 细胞增殖,调节细胞周期变化,加速细胞凋亡过程的作用。本研究通过生物信息分析初步预测石斛酚的靶基因,共获得 156 个石斛酚作用的有效靶点,进一步分析发现 PLAU 在 PC 癌组织中的表达高于癌旁组织,且 PLAU 的差异表达与 PC 临床不良表型有关。Western blot 法检测结果显示石斛酚浓度越大,细胞 PLAU 蛋白表达水平越低,石斛酚作用时间越长,细胞 PLAU 蛋白表达水平越低,说明石斛酚呈浓度和时间依赖性下调 PLAU 蛋白表达。

分析石斛酚对 PC 增殖影响的可能作用机制,体外实验结果显示,PC 细胞经石斛酚处理后,细胞 PLAU 蛋白表达降低,细胞增殖、克隆能力明显下降,细胞周期受到阻滞,凋亡细胞明显增多;而在恢复 PLAU 表达后,石斛酚对细胞增殖的抑制作用得到逆转,提示石斛酚可能通过靶向 PLAU 调控 PC 细胞增殖、凋亡等生物学过程。肿瘤的发生发展是一个多通路、多步骤的复杂生理过程,PLAU 的差异表达在肿瘤的侵袭和转移过程中发挥关键的作用^[14]。PLAU 是一种丝氨酸蛋白酶,可与纤溶酶受体结合,基底膜和细胞外基质被溶解,进而促进肿瘤生长、浸润、转移和血管新生,其存在于多种多样的肿瘤细胞内,可作为肿瘤预后风险评估及可能的治疗靶点^[15]。既往研究表明,PLAU 产于胰头癌增殖、细胞外基质降解等多种生物学过程,可作为胰头癌的生物标志物,是预测胰头癌患者预后的重要指标^[16]。结合本研究结果推测,石斛酚可能通过靶向 PLAU 体外抑制 PC 细胞增殖并诱导凋亡。

裸鼠移植瘤实验也支持上述结果,PC 模型小鼠经石斛酚作用后,移植瘤生长速度明显降低,体积和重量明显减小。Ki67 是一种肿瘤增殖抗原,主要存在于增殖细胞中的核蛋白,该指标越高,提示肿瘤的增殖速度和肿瘤内增殖细胞的比例更大,临床上通常用该指标判断肿瘤的恶性程度高低^[17]。既往研究显示,Ki67 可以作为预测前列腺癌患者预后的危险因素^[18]。本研究免疫组化检测发现,石斛酚组 Ki67 相对表达量明显低于正常组,提示石斛酚可抑制裸鼠移植瘤瘤体增长。

综上所述,石斛酚可体外抑制 PC 细胞增殖并诱

导细胞凋亡,其作用机制可能是通过靶向调节 PLAU 表达来实现的,更详细的分子机制需要大量的体内外功能实验进行验证。

[参考文献]

- [1] 余道武,余天雾,苟毅,等.胰腺癌组织 ICAM-1、LRG1、TRIM14 的表达及临床意义[J].临床误诊误治,2022,35(3):49-53. YU DW, YU TW, GOU Y, *et al*. Expressions and clinical significances of ICAM-1, LRG1 and TRIM14 in pancreatic cancer tissues [J]. Clin Misdiagn Misther, 2022, 35 (3) : 49-53.
- [2] 胡怀远,夏燕,雍翔,等.PUMA、IQGAP1 在胰腺癌中的表达及与临床病理、预后生存的相关性[J].分子诊断与治疗杂志,2021,13(9):1515-1519. HU HY, XIA Y, YONG X, *et al*. Expression of PUMA and IQGAP1 in pancreatic cancer and their correlation with clinico-pathology and prognostic survival [J]. J Mol Diagn Ther, 2021, 13 (9) : 1515-1519.
- [3] MOTOI F, KOSUGE T, UENO H, *et al*. Randomized phase II / III trial of neoadjuvant chemotherapy with gemcitabine and S-1 versus upfront surgery for resectable pancreatic cancer (Prep-02/JSAP05) [J]. Jpn J Clin Oncol, 2019, 49 (2) : 190-194.
- [4] AI C, ZHANG J, LIAN S, *et al*. FOXM1 functions collaboratively with PLAU to promote gastric cancer progression [J]. J Cancer, 2020, 11 (4) : 788-794.
- [5] NOVAK CM, HORST EN, TAYLOR CC, *et al*. Fluid shear stress stimulates breast cancer cells to display invasive and chemoresistant phenotypes while upregulating PLAU in a 3D bioreactor [J]. Biotechnol Bioeng, 2019, 116 (11) : 3084-3097.
- [6] CHEN Z, CHEN X, XIE R, *et al*. DANCER promotes metastasis and proliferation in bladder cancer cells by enhancing IL-11-STAT3 signaling and CCND1 expression [J]. Mol Ther, 2019, 27 (2) : 326-341.
- [7] JIN H, CHOI H, KIM ES, *et al*. Natural killer cells inhibit breast cancer cell invasion through downregulation of urokinase-type plasminogen activator [J]. Oncol Rep, 2021, 45 (1) : 299-308.
- [8] KIMURA S, D'ANDREA D, IWATA T, *et al*. Expression of urokinase-type plasminogen activator system in non-metastatic prostate cancer [J]. World J Urol, 2020, 38 (10) : 2501-2511.
- [9] 尚志梅,成蕾,刘贵园,等.细叶石斛化学成分研究[J].中草药,2019,50(9):29-33. SHANG ZM, CHENG L, LIU GY, *et al*. Chemical constituents from *Dendrobium hancockii* [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2019, 50 (9) : 29-33.
- [10] 张梅,李春霞,韦芳,等.石斛酚对高糖诱导的人视网膜微血管内皮细胞的保护作用[J].国际眼科杂志,2019,19(2):209-213. ZHANG M, LI CX, WEI F, *et al*. Protective effect of gigantolon human retinal microvascular endothelial cells induced by high glucose [J]. Int Eye Sci, 2019, 19 (2) : 209-213.
- [11] 张利剑,梁红.解郁运脾汤联合吉西他滨治疗胰腺癌的疗效观察[J].保健医学研究与实践,2022,19(4):27-31. ZHANG LJ, LIANG H. Efficacy of Xieyu Yunpi decoction

- combined with gemcitabine in the treatment of pancreatic cancer [J]. *Health Med Res Pract*, 2022, 19 (4): 27–31.
- [12] TORPHY RJ, FUJIWARA Y, SCHULICK RD. Pancreatic cancer treatment: better, but a long way to go [J]. *Surg Today*, 2020, 50 (10): 1117–1125.
- [13] LOSUWANNARAK N, ROYTRAKUL S, CHANVORACHOTE P. Gigantol targets MYC for ubiquitin-proteasomal degradation and suppresses lung cancer cell growth [J]. *Cancer Genomics Proteomics*, 2020, 17 (6): 781–793.
- [14] WU J, LI Z, ZENG K, *et al*. Key genes associated with pancreatic cancer and their association with outcomes: a bioinformatics analysis [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20 (2): 1343–1352.
- [15] CHEN Q, YU D, ZHAO Y, *et al*. Screening and identification of hub genes in pancreatic cancer by integrated bioinformatics analysis [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120 (12): 19496–19508.
- [16] 贾富鑫, 刘萌萌, 刘江伟. 胰头癌患者尿激酶型纤溶酶原激活剂与增殖细胞核抗原 Ki-67 的相关性及其对预后的影响 [J]. *河南医学研究*, 2020, 29 (8): 1349–1352. JIA FX, LIU FX, LIU MM, LIU JW. Correlation between urokinase-type plasminogen activator and proliferating cell nuclear antigen Ki-67 in patients with pancreatic head carcinoma and their effects on prognosis [J]. *Henan Med Res*, 2020, 29 (8): 1349–1352.
- [17] YANG C, ZHANG J, DING M, *et al*. Ki67 targeted strategies for cancer therapy [J]. *Clin Transl Oncol*, 2018, 20 (5): 570–575.
- [18] 黄婷, 刘佳佳, 张家伟, 等. Ki67 在预测前列腺癌预后中的作用 [J]. *中华男科学杂志*, 2019, 25 (12): 1088–1092. HUANG T, LIU JJ, ZHANG JW, *et al*. Ki67 in the prognosis of prostate cancer [J]. *Natl J Androl*, 2019, 25 (12): 1088–1092.

《中国新药与临床杂志》2024 年征订 《中国新药与临床杂志》(原名《新药与临床》)由中国药学会和上海市食品药品监督管理局科技情报研究所共同主办,为全国性医药学术期刊、统计源期刊,连续 10 版被确认为全国中文核心期刊(药学)。连续 3 次获中国科学技术协会“精品科技期刊工程”项目资助。荣获首届国家期刊奖、第 2 届国家期刊奖提名奖,分别荣获第 2 届全国、中国科协、上海市优秀科技期刊一等奖。

《中国新药与临床杂志》报道国内外新药,着重报道新药的临床研究、合理用药和不良反应,适用于医师、药师、医药教学和科研人员等阅读和参考。《中国新药与临床杂志》具有新药密切结合临床的特色,强调实用性,强调新药的临床应用,以提高医务人员的药物治疗水平,博得了全国医师、药师等的好评。

《中国新药与临床杂志》1982 年创刊,月刊,每月 25 日出版。向国内外公开发行人,欢迎向当地邮局订阅。定价 15.00 元,全年 180.00 元。邮发代号:4-347。国外发行:中国国际图书贸易集团有限公司(北京 399 信箱)。国外代号:M5892。编辑部地址:上海市愚园路 532 弄 50 号 211 室。邮政编码:200040。网址为 <https://publish.cnki.net/xyyl>。电话:021-64511836。E-mail:xyylc_tougao@126.com。