

青藤碱通过调控 PI3K/AKT 通路介导的上皮间质转化抑制胰腺癌 AsPC-1 细胞侵袭和转移

陈伟毅^{1,2}, 秦春宏³, 陈延¹, 洪炼哲¹, 唐峰¹ (1.常德职业技术学院, 湖南 常德 415000; 2.湖南医药学院, 湖南 怀化 418000; 3.南华大学附属第二医院, 湖南 衡阳 421000)

摘要: 目的 探讨青藤碱对胰腺癌 AsPC-1 细胞上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)、侵袭和转移的影响及机制。方法 采用不同浓度青藤碱作用胰腺癌 AsPC-1 细胞后, 划痕愈合试验检测细胞愈合能力, Transwell 试验检测迁移细胞数和侵袭细胞数, Western blotting 检测 E-cadherin、N-cadherin、Vimentin、PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT 蛋白表达。结果 青藤碱降低 AsPC-1 细胞相对迁移率、迁移细胞数、侵袭细胞数。青藤碱上调 E-cadherin 蛋白表达、下调 N-cadherin、Vimentin 蛋白表达。青藤碱降低 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 比值。胰岛素生长因子-1 逆转青藤碱对 E-cadherin 蛋白表达的上调和对 N-cadherin、Vimentin 蛋白表达的下调作用。TGF- β 逆转青藤碱对 AsPC-1 细胞相对迁移率、迁移细胞数、侵袭细胞数的降低作用。结论 青藤碱通过调控 PI3K/AKT 通路介导的 EMT, 抑制 AsPC-1 细胞侵袭和转移。

关键词: 青藤碱; 胰腺癌; 侵袭转移; 上皮间质转化; PI3K/AKT 通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2022)11-1419-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.11.005

引用本文: 陈伟毅, 秦春宏, 陈延, 等. 青藤碱通过调控 PI3K/AKT 通路介导的上皮间质转化抑制胰腺癌 AsPC-1 细胞侵袭和转移[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(11): 1419-1425.

Sinomenine Inhibits the Invasion and Metastasis of Pancreatic Adenocarcinoma AsPC-1 Cells by Inhibiting Epithelial Mesenchymal Transition Mediated by PI3K/AKT Pathway

CHEN Weiyi^{1,2}, QIN Chunhong³, CHEN Yan¹, Hong Lianzhe¹, TANG Feng¹ (1.Changde Vocational Technical College, Changde 415000, China; 2.Hunan University of Medicine, Huaihua 418000, China; 3.Second Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang 421000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To find out the effect of sinomenine on epithelial mesenchymal transition(EMT), invasion and metastasis of pancreatic cancer AsPC-1 cells and related mechanisms. **METHODS** After treating AsPC-1 cells with different concentrations of sinomenine, the wound healing assays was used to study the healing ability of cells, the Transwell test was used to detect the number of migration and invasion of cells, the Western blotting was used to measure the expressions level of protein of E-cadherin, N-cadherin, Vimentin, PI3K, p-PI3K, AKT and p-AKT. **RESULTS** Sinomenine reduced the relative mobility, and the number of migration and invasion of AsPC-1 cells. Sinomenine up regulated the protein expression of E-cadherin and down regulated the protein expressions of N-cadherin and Vimentin of AsPC-1 cells. Sinomenine decreased the ratio of p-PI3K/PI3K and p-AKT/AKT. Insulin-like growth factor-1 reversed the up-regulation effect of sinomenine on E-cadherin protein expression, and down-regulation effect of sinomenine on N-cadherin and Vimentin protein expression. TGF- β reversed the decreasing effects of sinomenine on the relative mobility of AsPC-1 cells, and the number of migration and invasion of AsPC-1 cells. **CONCLUSION** Sinomenine inhibits invasion and metastasis of pancreatic adenocarcinoma AsPC-1 cells by inhibiting EMT mediated by PI3K/AKT pathway.

KEYWORDS: sinomenine; pancreatic adenocarcinoma; invasion and metastasis; epithelial mesenchymal transition(EMT); PI3K/AKT pathway

胰腺癌是消化系统常见的恶性肿瘤之一, 其发病隐匿, 进展迅速, 5 年生存率约 6%, 平均中位生存期小于 6 个月^[1], 又称为“癌中之王”。

胰腺癌患者死亡的主要原因是由于肿瘤早期就发生侵袭和转移。由于胰腺癌生长较快, 加之胰腺血管、淋巴管丰富, 往往早期就发生侵袭和转移, 导致患者预后不佳^[2]。因此, 寻找具有抗胰

腺癌侵袭和转移的新型药物对提高患者的生存率具有重要意义。

青藤碱为防己科防己属植物青风藤及毛青藤的干燥藤茎中提取的生物碱单体, 其分子式为 $C_{19}H_{23}NO_4$ ^[3]。中国药典 1990 年版记载: 青风藤味苦、性平、归肝脾经, 具有祛风湿、通经络、止痛之功效, 是治疗风湿痹痛的良药。目前, 已有

基金项目: 湖南省教育厅科研项目(19C0244)

作者简介: 陈伟毅, 男, 硕士, 助教 E-mail: cwyeason@163.com

正清风痛宁片、盐酸青藤碱注射剂、毛青藤碱片等多种制剂应用于临床,在治疗类风湿性关节炎等各种风湿病以及心律失常取得较好的疗效^[4]。

近年来研究表明,青藤碱可以抑制多种肿瘤细胞增殖,如乳腺癌、肾癌、胃癌、前列腺癌等,其机制与阻断细胞周期、诱导细胞凋亡、调控细胞信号通路有关^[5-8]。但目前关于青藤碱对肿瘤细胞侵袭和转移的研究较少,需进一步探讨。

在前期研究中,笔者所在课题组发现青藤碱可以通过调控 NF- κ B 信号通路抑制胰腺癌细胞增殖^[9],但青藤碱对胰腺癌细胞侵袭和转移的作用尚未明确。因此,本研究拟在前期研究的基础上,进一步探讨青藤碱对胰腺癌细胞侵袭和转移的作用,为胰腺癌的治疗寻找新的有效药物。

1 仪器与试剂

CKX53 型光学显微镜、SZX7 型荧光显微镜均来自日本 Olympus 公司;C150 型二氧化碳细胞培养箱(德国宾得公司);1658033 型聚丙烯酰胺垂直电泳系统、凝胶成像系统(美国伯乐公司)。

青藤碱(湖南正清制药有限公司,货号:1509428-037);DMEM(Thermo Fisher Scientific 公司,货号:12491-015);Matrigel 基质胶(美国伯乐公司,货号:356234);结晶紫染色试剂(北京索莱宝科技有限公司,货号:G1063);Transwell 小室(美国康宁公司,货号:353504);E-cadherin、N-cadherin、Vimentin、PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT 抗体、TGF- β 、羊抗兔 IgG 二抗(美国 CST 公司,货号分别为 3195,4061,49363,4257,17366,4685,4060,75362,7074); β -actin(碧云天公司,货号:AF5003);IGF-1(货号:P00049)、BCA 试剂盒(货号:PC0020)均购自北京索莱宝科技有限公司。

2 方法

2.1 细胞培养

胰腺癌 AsPC-1 细胞购自中科院典型培养物保藏委员会细胞库,用含 100 U $\cdot$ mL⁻¹ 青链霉素和 10%胎牛血清的 DMEM 培养,每隔 48 h 用 0.25% 的胰酶消化传代后进行实验。

2.2 分组

将对数生长期的胰腺癌 AsPC-1 细胞随机分为 8 组:对照组、青藤碱 100, 300, 900 mg $\cdot$ L⁻¹ 组、胰岛素生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1) 100 μ g $\cdot$ L⁻¹ 组、青藤碱 900 mg $\cdot$ L⁻¹+IGF-1 100 μ g $\cdot$ L⁻¹

组、TGF- β 10 μ g $\cdot$ L⁻¹ 组、青藤碱 900 mg $\cdot$ L⁻¹+TGF- β 10 μ g $\cdot$ L⁻¹ 组。

2.3 划痕愈合试验检测相对迁移率

将对数生长期的 AsPC-1 细胞以 $1\times 10^6\cdot$ mL⁻¹, 每孔 1 mL 接种在 12 孔板中,常规培养细胞至铺满板底,吸去培养液, PBS 洗 3 次,用含 1%胎牛血清的 DMEM 继续培养细胞,饥饿过夜,吸去培养液, PBS 再洗 3 次,用 100 μ L Tip 头在细胞上划“—”字形痕,根据之前的实验分组予以相应处理 24 h,于 0, 24 h 拍照,采用 Image J 软件计算细胞相对迁移率=(0 h 距离-24 h 距离)/0 h 距离 $\times 100\%$ 。

2.4 Transwell 试验检测细胞迁移和侵袭

迁移试验:将对数生长期的 AsPC-1 细胞,用不含胎牛血清的 DMEM 配制成浓度为 $1\times 10^6\cdot$ mL⁻¹ 的单细胞悬液,取 200 μ L 加入 Transwell 小室上室,下室加入 600 μ L 含 10%胎牛血清和 IGF-1、TGF- β 、青藤碱的 DMEM,放入细胞培养箱中培养 24 h。取出小室,吸去培养液, PBS 洗 3 次,晾干固定后染色,采用 Image J 软件计算细胞数。侵袭试验:将 Matrigel 基质胶与无胎牛血清的 DMEM 按 1:8 比例混合,取 100 μ L 铺在小室上室中,在培养箱中孵育 4~5 h,待其凝固成胶状,后续实验操作与迁移试验一致。

2.5 Western blotting 检测蛋白表达

提取细胞蛋白,采用 BCA 法测定蛋白浓度,每组取 60 μ g 蛋白样品进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,然后将蛋白转移到 NC 膜上,封闭后加一抗 4 $^{\circ}$ C 过夜,再加入二抗孵育 2 h,曝光显影,以 β -actin 为内参,检测蛋白相对表达量,采用 Quantity one 软件分析数据。

2.6 数据处理

采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,实验数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 ANOVA 进行统计学检验,两两比较采用 SNK 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 青藤碱抑制胰腺癌 AsPC-1 细胞愈合

为了解青藤碱对 AsPC-1 细胞愈合能力的影响,采用划痕愈合试验检测青藤碱作用 AsPC-1 细胞后细胞愈合情况。结果显示,青藤碱 100, 300, 900 mg $\cdot$ L⁻¹ 作用 AsPC-1 细胞 24 h 后,细胞相对迁移率不断下降,低于对照组($P<0.05$, $P<0.01$,

$P<0.001$), 表明青藤碱抑制 AsPC-1 细胞愈合, 见图 1。

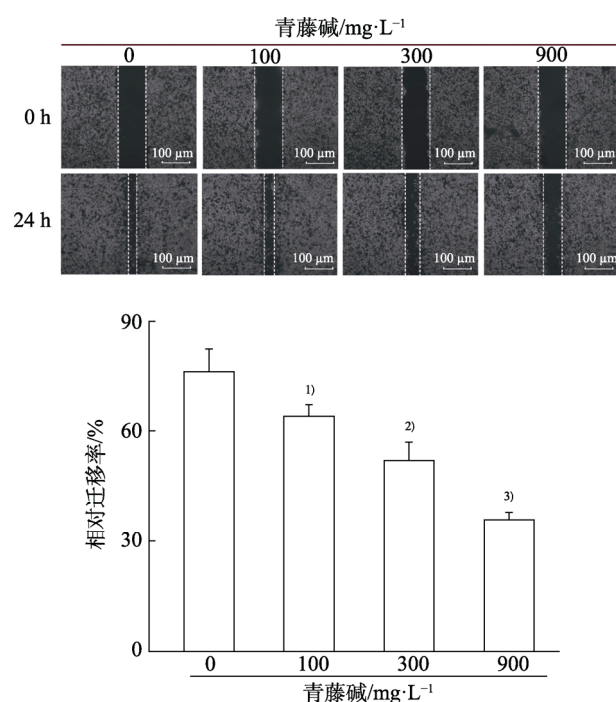


图 1 青藤碱对 AsPC-1 细胞愈合能力的影响($\bar{x}\pm s$, $n=3$) 与对照组($0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 青藤碱)比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$, ³⁾ $P<0.001$ 。

Fig. 1 Effect of sinomenine on the healing ability of AsPC-1 cells($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Compared with control group($0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ sinomenine), ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$, ³⁾ $P<0.001$.

3.2 青藤碱抑制胰腺癌 AsPC-1 细胞迁移和侵袭

为了解青藤碱对 AsPC-1 细胞迁移和侵袭能力的影响, 采用 Transwell 试验检测青藤碱作用 AsPC-1 细胞后细胞迁移和侵袭情况。结果显示, 青藤碱 $100, 300, 900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 作用 AsPC-1 细胞 24 h 后, 迁移细胞数、侵袭细胞数不断降低, 低于对照组($P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$)。结果表明青藤碱抑制 AsPC-1 细胞迁移和侵袭, 见图 2。

3.3 青藤碱抑制 AsPC-1 细胞上皮间质转化 (epithelial mesenchymal transition, EMT)

为了解青藤碱对 AsPC-1 细胞 EMT 的影响, 采用 Western blotting 检测青藤碱作用 AsPC-1 细胞后 EMT 相关蛋白 E-cadherin、N-cadherin、Vimentin 的表达。结果显示, 青藤碱 $300, 900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 作用 AsPC-1 细胞 24 h 后, E-cadherin 蛋白表达不断上升, 高于对照组($P<0.05$, $P<0.001$)。青藤碱 $100, 300, 900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 作用 AsPC-1 细胞 24 h 后, N-cadherin、Vimentin 蛋白表达不断下降, 低于对照组($P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$)。结果表明青藤碱抑制 AsPC-1 细胞 EMT, 见图 3。

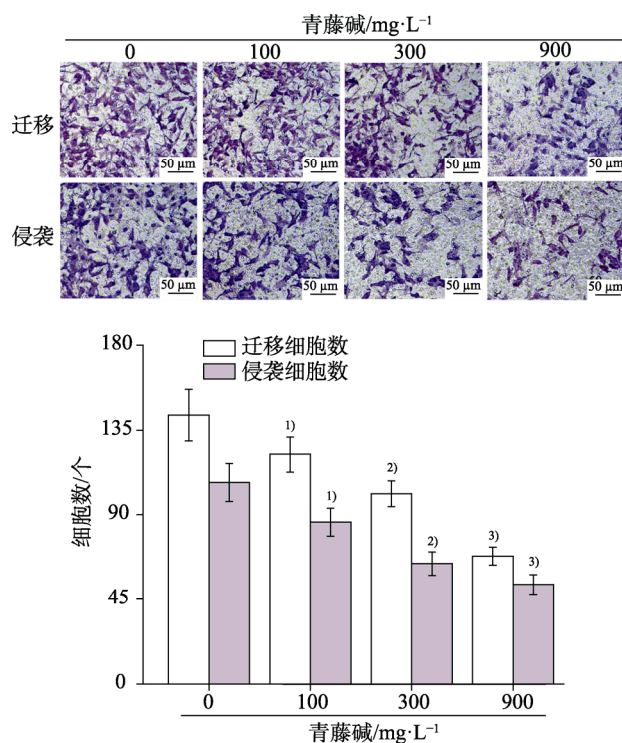


图 2 青藤碱对 AsPC-1 细胞迁移和侵袭能力的影响($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

与对照组($0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 青藤碱)比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$, ³⁾ $P<0.001$ 。

Fig. 2 Effect of sinomenine on the migration and invasion of AsPC-1 cells($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Compared with control group($0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ sinomenine), ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$, ³⁾ $P<0.001$.

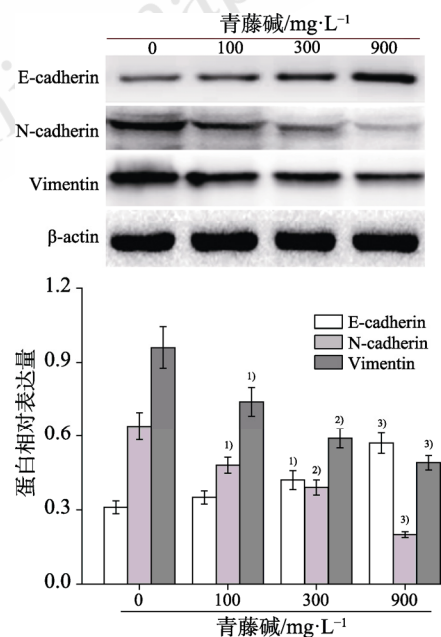


图 3 青藤碱对 AsPC-1 细胞 EMT 相关蛋白的影响($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

与对照组($0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 青藤碱)比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$, ³⁾ $P<0.001$ 。

Fig. 3 Effect of sinomenine on the EMT related proteins of AsPC-1 cells($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Compared with control group($0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ sinomenine), ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$, ³⁾ $P<0.001$.

3.4 青藤碱抑制 AsPC-1 细胞 PI3K/AKT 通路激活

为了解青藤碱对 AsPC-1 细胞 PI3K/AKT 通路的影响, 采用 Western blotting 检测青藤碱作用 AsPC-1 细胞后 PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT 蛋白的表达。结果显示, 青藤碱 100, 300, 900 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 作用 AsPC-1 细胞 24 h 后, p-PI3K、p-AKT 蛋白表达不断降低, PI3K、AKT 蛋白表达无明显改变, p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 比值不断下降, 低于对照组($P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$)。结果表明青藤碱抑制 PI3K/AKT 通路激活, 见图 4。

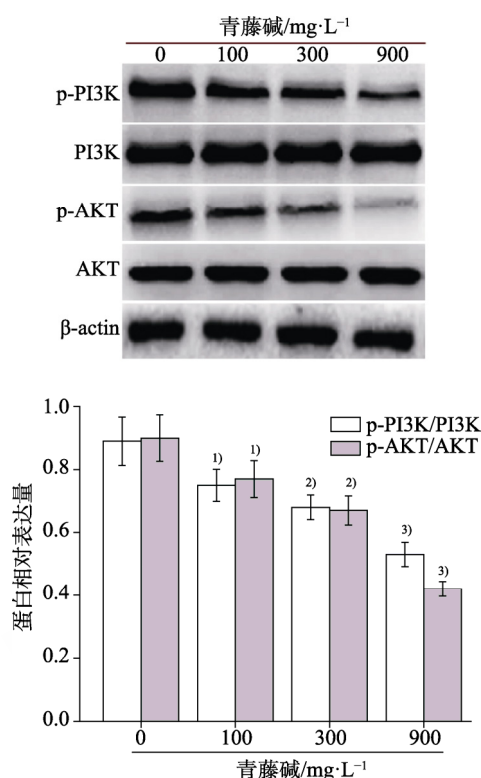


图4 青藤碱对 AsPC-1 细胞 PI3K/AKT 通路的影响($\bar{x}\pm s$, $n=3$)
与对照组($0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 青藤碱)比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$, ³⁾ $P<0.001$ 。

Fig. 4 Effect of sinomenine on PI3K/AKT pathway in AsPC-1 cells($\bar{x}\pm s$, $n=3$)
Compared with control group($0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ sinomenine), ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$, ³⁾ $P<0.001$.

3.5 IGF-1 逆转青藤碱对 AsPC-1 细胞 EMT 的抑制作用

为了解 PI3K/AKT 通路是否介导了青藤碱对 AsPC-1 细胞 EMT 的抑制作用, 采用 Western blotting 检测 PI3K/AKT 通路激活剂 IGF-1 和青藤碱作用 AsPC-1 细胞后 EMT 相关蛋白 E-cadherin、N-cadherin、Vimentin 的表达。

结果显示, IGF-1 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 组 E-cadherin 蛋白

表达低于对照组($P<0.05$), 青藤碱 $900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组 E-cadherin 蛋白表达高于对照组($P<0.001$), 青藤碱 $900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +IGF-1 $10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 组 E-cadherin 蛋白表达低于青藤碱 $900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组($P<0.05$), 表明 IGF-1 可以逆转青藤碱对 E-cadherin 蛋白表达的上调作用。

IGF-1 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 组 N-cadherin、Vimentin 蛋白表达高于对照组($P<0.01$), 青藤碱 $900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组 N-cadherin、Vimentin 蛋白表达低于对照组($P<0.001$), 青藤碱 $900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +IGF-1 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 组 N-cadherin、Vimentin 蛋白表达高于青藤碱 $900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组($P<0.01$), 表明 IGF-1 可以逆转青藤碱对 N-cadherin、Vimentin 蛋白表达的下调作用。上述结果表明 IGF-1 可以逆转青藤碱对 AsPC-1 细胞 EMT 的抑制作用, 也表明激活 PI3K/AKT 通路可以逆转青藤碱对 AsPC-1 细胞 EMT 的抑制作用, 见图 5。

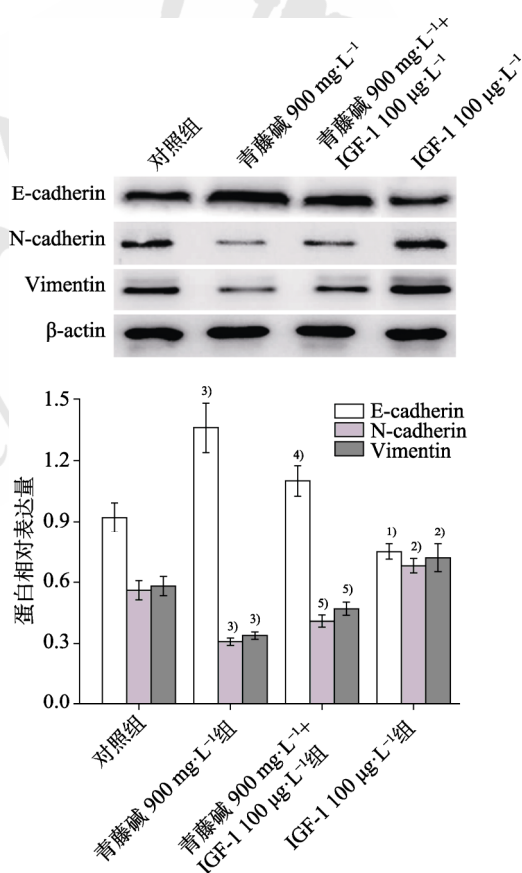


图5 IGF-1 逆转青藤碱对 AsPC-1 细胞 EMT 的抑制作用($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

与对照组($0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 青藤碱)比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$, ³⁾ $P<0.001$; 与青藤碱 $900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较, ⁴⁾ $P<0.05$, ⁵⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 5 IGF-1 reverses the inhibitory effect of sinomenine on EMT in AsPC-1 cells($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Compared with control group($0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ sinomenine), ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$, ³⁾ $P<0.001$; compared with sinomenine $900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ group, ⁴⁾ $P<0.05$, ⁵⁾ $P<0.01$.

3.6 诱导 EMT 逆转青藤碱对胰腺癌 AsPC-1 细胞愈合的抑制作用

为了解 EMT 是否介导青藤碱对 AsPC-1 细胞愈合的抑制作用,采用划痕愈合试验检测 EMT 诱导因子 TGF- β 和青藤碱作用 AsPC-1 细胞后细胞愈合情况。结果显示,青藤碱 $900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组细胞相对迁移率低于对照组 ($P<0.001$),青藤碱 $900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +TGF- β $10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 组细胞相对迁移率高于青藤碱 $900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组 ($P<0.05$)。结果表明 TGF- β 明显逆转青藤碱对 AsPC-1 细胞相对迁移率的降低作用,也表明诱导 EMT 可以逆转青藤碱对 AsPC-1 细胞愈合的抑制作用,见图 6。

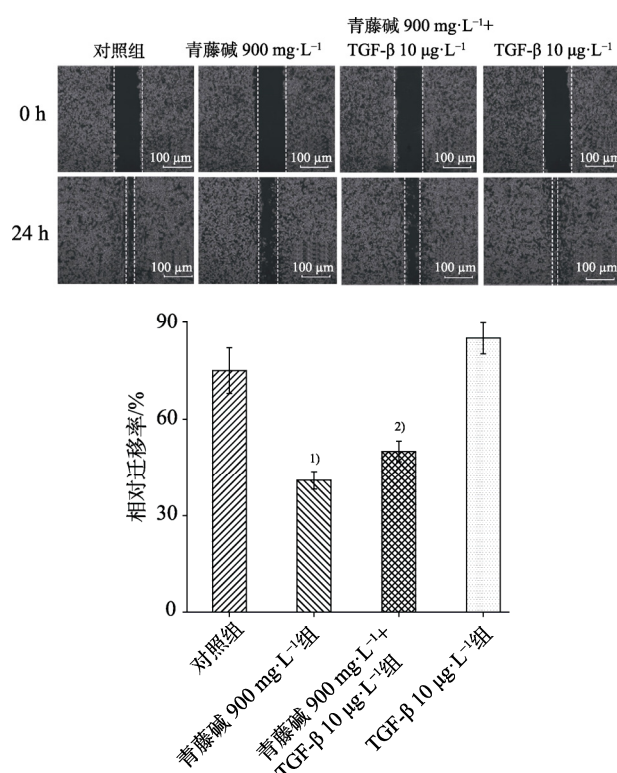


图 6 TGF- β 逆转青藤碱对 AsPC-1 细胞愈合的抑制作用 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

与对照组($0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 青藤碱)比较, ¹⁾ $P<0.001$; 与青藤碱 $900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较, ²⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 6 TGF- β reverses the inhibitory effect of sinomenine on the healing of AsPC-1 cells ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Compared with control group($0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ sinomenine), ¹⁾ $P<0.001$; compared with sinomenine $900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ group, ²⁾ $P<0.05$.

3.7 诱导 EMT 逆转青藤碱对胰腺癌 AsPC-1 细胞迁移和侵袭的抑制作用

为了解 EMT 是否介导青藤碱对 AsPC-1 细胞迁移和侵袭的抑制作用,采用 Transwell 试验检测 TGF- β 和青藤碱作用 AsPC-1 细胞后细胞迁移和侵袭情况。结果显示,青藤碱 $900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组迁移细

胞数和侵袭细胞数低于对照组 ($P<0.001$),青藤碱 $900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +TGF- β $10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 组迁移细胞数和侵袭细胞数高于青藤碱 $900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组 ($P<0.05$)。结果表明 TGF- β 明显逆转青藤碱对 AsPC-1 细胞迁移和侵袭的抑制作用,也表明诱导 EMT 可以逆转青藤碱对 AsPC-1 细胞迁移和侵袭的抑制作用,见图 7。

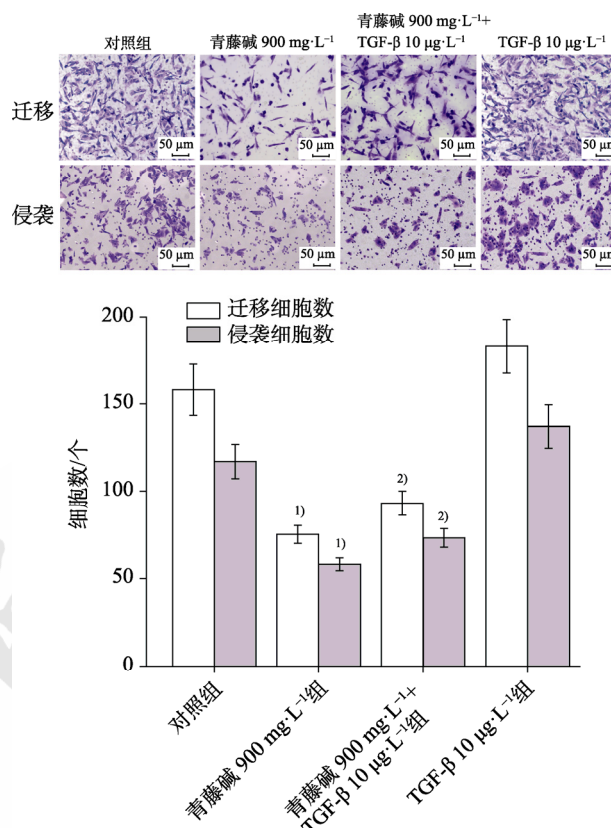


图 7 TGF- β 逆转青藤碱对 AsPC-1 细胞迁移和侵袭的抑制作用 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

与对照组($0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 青藤碱)比较, ¹⁾ $P<0.001$; 与青藤碱 $900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较, ²⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 7 TGF- β reverses the inhibitory effect of sinomenine on the migration and invasion of AsPC-1 cells ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Compared with control group($0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ sinomenine), ¹⁾ $P<0.001$; compared with sinomenine $900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ group, ²⁾ $P<0.05$.

4 讨论

本研究结果表明青藤碱通过调控 PI3K/AKT 通路抑制 EMT,抑制胰腺癌 AsPC-1 细胞侵袭和转移。

通过划痕愈合试验和 Transwell 试验,本研究发现青藤碱抑制 AsPC-1 细胞侵袭和转移。通过 Western blotting 试验,发现青藤碱抑制 AsPC-1 细胞 PI3K/AKT 通路激活和 EMT。采用 IGF-1 激活 PI3K/AKT 通路后,可以逆转青藤碱对 AsPC-1 细胞 EMT 的抑制作用,进一步表明青藤碱通过调控 PI3K/AKT 通路抑制 EMT。采用 TGF- β 诱导 EMT 后,可以逆转青藤碱对 AsPC-1 细胞侵袭和转移的

抑制作用,表明了青藤碱通过抑制 EMT 从而抑制 AsPC-1 细胞侵袭和转移。

青藤碱是从青风藤及毛青藤的干燥藤茎中提取的一种生物碱,多用于抗风湿治疗^[4]。目前研究发现,青藤碱可以抑制肿瘤细胞侵袭和转移。有研究报道青藤碱可以抑制人骨肉瘤细胞、乳腺癌细胞、前列腺癌细胞、肾癌细胞等迁移和侵袭^[10-13]。本研究结果发现青藤碱可以抑制胰腺癌细胞侵袭和转移,与文献报道一致,表明青藤碱是一种潜在的抗肿瘤药物。

然而,青藤碱抑制肿瘤细胞侵袭和转移的机制并不一致。Xie 等^[10]认为青藤碱通过抑制 CXCR4 和 STAT3 的蛋白磷酸化发挥抗骨肉瘤作用。Gao 等^[11]报道青藤碱通过调节 miR-29/PDCD-4 轴发挥抗乳腺癌作用。Xu 等^[12]表明青藤碱通过降低 miR-23a 表达抑制前列腺癌细胞迁移和侵袭。Zhao 等^[13]表明青藤碱通过减少 Smad 蛋白表达抑制肾癌细胞迁移和侵袭。而本研究发现青藤碱通过调控 PI3K/AKT 通路抑制 EMT 发挥抗胰腺癌作用。上述研究结果表明青藤碱可以通过多种途径抑制肿瘤细胞侵袭和转移,而不仅是单一途径。

在前期研究中,笔者课题组发现青藤碱通过 NF- κ B 信号通路抑制胰腺癌细胞增殖并诱导细胞凋亡^[9],而本研究中课题组又发现青藤碱调控 PI3K/AKT 通路抑制胰腺癌细胞侵袭和转移,表明青藤碱可能通过多种通路对胰腺癌产生作用。青藤碱既可以抑制胰腺癌细胞增殖,也可以抑制其侵袭和转移,具有很好的抗胰腺癌作用,是一种潜在的非常有前景的抗胰腺癌药物。

EMT 是上皮细胞失去上皮特性,获得间质细胞表型的一种生物现象。EMT 使上皮细胞失去了细胞极性及与基底膜连接等的细胞表型特征,而获得高迁移、侵袭、降解细胞外基质等间质表型特征^[14]。本研究结果表明青藤碱通过抑制 EMT 从而抑制胰腺癌细胞侵袭和转移,提示青藤碱可能通过抑制胰腺癌细胞向间质细胞表型进行转化,从而降低了胰腺癌细胞的运动能力和降解细胞外基质能力,增强了胰腺癌细胞之间以及细胞与基底膜之间的连接,最终抑制其侵袭和转移。

PI3K/AKT 通路目前被证实在多种肿瘤中过度激活,与肿瘤的发生发展密切相关^[15-16]。本研究结果表明青藤碱通过抑制 PI3K/AKT 通路抑制胰腺癌

细胞 EMT。提示青藤碱可能通过调控 PI3K/AKT 通路抑制胰腺癌细胞向间质细胞表型进行转化,从而降低其侵袭和转移。但青藤碱通过 PI3K/AKT 通路如何抑制 EMT 的具体机制还需进一步研究。

综上所述,本研究发现青藤碱抑制胰腺癌 AsPC-1 细胞侵袭和转移,其机制与调控 PI3K/AKT 通路抑制 EMT 有关。本研究为青藤碱治疗胰腺癌提供了理论基础,也为研究青藤碱抗肿瘤转移机制提供了新的研究方向和思路。青藤碱作为中草药提取的单体,具有来源广泛、价格低廉、不良反应少的优点,因此其开发前景非常广阔^[17]。然而,本研究也存在一些不足之处,比如只做了体外细胞试验,而没有体内动物试验,青藤碱通过 PI3K/AKT 通路如何抑制 EMT 的具体机制,除了 PI3K/AKT 通路外,是否还有其他通路,这些还需进一步研究。

REFERENCES

- [1] GUPTA R, AMANAM I, CHUNG V. Current and future therapies for advanced pancreatic cancer[J]. J Surg Oncol, 2017, 116(1): 25-34.
- [2] REN B, CUI M, YANG G, et al. Tumor microenvironment participates in metastasis of pancreatic cancer[J]. Mol Cancer, 2018, 17(1): 1-15.
- [3] HUO Y H, WANG J, YIN L X. Sinomenine reduces MPP⁺-induced damage in SK-N-SH cells via ANRIL/miR-626 signaling pathway[J]. Chin J Pathophysiol(中国病理生理杂志), 2020, 36(8): 1404-1412.
- [4] LIU W W, ZHU Y, WANG Y. Advance on active ingredients and pharmacological effects of caulis sinomenii alkaloid[J]. Liaoning J Tradit Chin Med(辽宁中医杂志), 2016, 43(8): 1765-1769.
- [5] SONG L Q, LIU D, ZHAO Y, et al. Sinomenine inhibits breast cancer cell invasion and migration by suppressing NF- κ B activation mediated by IL-4/miR-324-5p/CUEDC2 axis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 464(3): 705-710.
- [6] DENG F, MA Y X, LIANG L, et al. The pro-apoptosis effect of sinomenine in renal carcinoma via inducing autophagy through inactivating PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2018(97): 1269-1274.
- [7] CHEN W Y, QIN C H. Study on inhibitory effect of sinomenine on proliferation of human gastric cancer MGC-803 cells and its mechanism[J]. China Pharmacist(中国药师), 2019, 22(1): 65-68.
- [8] ZHANG Y, XU X M, ZHANG Y, et al. Effects of sinomenine on proliferation and apoptosis in human prostate cancer DU145 cells[J]. Chin J Med(中国医刊), 2013, 48(1): 31-33.
- [9] CHEN W Y, QIN C H, TANG F, et al. Sinomenine Inhibits proliferation and induces apoptosis of pancreatic cancer Capan-1 cells by regulating NF- κ B signaling pathway[J]. Chin

- J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2020, 37(18): 2190-2195.
- [10] XIE T, REN H Y, LIN H Q, et al. Sinomenine prevents metastasis of human osteosarcoma cells via S phase arrest and suppression of tumor-related neovascularization and osteolysis through the CXCR4-STAT3 pathway[J]. Int J Oncol, 2016, 48(5): 2098-2112.
- [11] GAO G, LIANG X, MA W. Sinomenine restrains breast cancer cells proliferation, migration and invasion via modulation of miR-29/PDCD-4 axis[J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2019, 47(1): 3839-3846.
- [12] XU F, LI Q, WANG Z, et al. Sinomenine inhibits proliferation, migration, invasion and promotes apoptosis of prostate cancer cells by regulation of miR-23a[J]. Biomed Pharmacother, 2019(112): 108592.
- [13] ZHAO B, LIU L, MAO J, et al. Sinomenine hydrochloride attenuates the proliferation, migration, invasiveness, angiogenesis and epithelial-mesenchymal transition of clear-cell renal cell carcinoma cells via targeting Smad *in vitro*[J]. Biomed Pharmacother, 2017(96): 1036-1044.
- [14] MITTAL V. Epithelial mesenchymal transition in tumor metastasis[J]. Annu Rev Pathol, 2018(13): 395-412.
- [15] XIE T F, WANG L Y, LIU L, et al. Berberine inhibits growth and metastasis of laryngeal carcinoma cells by regulating PI3K/Akt pathway[J]. Chin J New Drugs Clin Rem(中国新药与临床杂志), 2020, 39(1): 43-48.
- [16] CHEN X F, WEI X Y, HOU L P. Inhibitory effect of cinobufotalin on lung cancer rats PI3K/AKT signaling pathway[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2020, 37(4): 425-430.
- [17] LI X Z, DONG J X, XU X D. New research progress on the anti-inflammatory analgesic effects of sinomenine and its action mechanism[J]. Hebei Med J(河北医药), 2020, 42(20): 3148-3153.
- 收稿日期: 2021-05-24
(本文责编: 沈倩)