

# 淫羊藿苷对肾癌 OS-RC-2 细胞增殖、迁移、凋亡及 PTEN/AKT 通路的影响<sup>△</sup>

穆红光<sup>1\*</sup>, 马媛媛<sup>2</sup>, 姚树青<sup>3</sup>, 马玉斌<sup>1</sup>, 任玉军<sup>1</sup>, 杨敬芳<sup>2</sup> (1. 张家口宣钢医院药剂科, 河北 张家口 075100; 2. 河北北方学院附属第二医院检验科, 河北 张家口 075100; 3. 张家口宣钢医院肾病风湿免疫科, 河北 张家口 075100)

中图分类号 R96 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2021)11-1339-05

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2021.11.013

**摘要** 目的:探讨淫羊藿苷对肾癌 OS-RC-2 细胞增殖、迁移、凋亡的影响,以及对磷酸酶、张力蛋白同源物 (PTEN)/蛋白激酶 B (AKT) 通路的影响。方法:设 OS-RC-2 细胞组、顺铂组 (40 μg/ml) 和淫羊藿苷低、高浓度组 (20、40 μg/ml)。培养 72 h 后,测定各组肾癌 OS-RC-2 细胞存活率、迁移能力和凋亡率,PTEN、AKT 的 mRNA、蛋白表达水平。结果:与 OS-RC-2 细胞组比较,顺铂组和淫羊藿苷低、高浓度组细胞存活率降低,迁移距离缩短,PTEN、AKT 的 mRNA、蛋白表达水平降低,凋亡率升高,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与顺铂组比较,淫羊藿苷低浓度组细胞存活率升高,迁移距离延长,PTEN、AKT 的 mRNA、蛋白表达水平升高,凋亡率降低;淫羊藿苷高浓度组细胞存活率降低,迁移距离缩短,PTEN、AKT 的 mRNA、蛋白表达水平降低,凋亡率升高,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与淫羊藿苷低浓度组比较,淫羊藿苷高浓度组细胞存活率降低,迁移距离缩短,PTEN、AKT 的 mRNA、蛋白表达水平降低,凋亡率升高,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论:淫羊藿苷能够抑制肾癌 OS-RC-2 细胞增殖和迁移,促进肾癌 OS-RC-2 细胞凋亡,其机制可能与淫羊藿苷降低肾癌 OS-RC-2 细胞 PTEN、AKT 的 mRNA、蛋白表达,进而抑制 PTEN/AKT 通路的激活有关。

**关键词** 淫羊藿苷; 肾癌 OS-RC-2 细胞; 增殖; 迁移; 凋亡; PTEN/AKT 通路

## Effects of Icarin on Proliferation, Migration, Apoptosis and PTEN/AKT Pathway of Renal Cancer OS-RC-2 Cells<sup>△</sup>

MU Hongguang<sup>1</sup>, MA Yuanyuan<sup>2</sup>, YAO Shuqing<sup>3</sup>, MA Yubin<sup>1</sup>, REN Yujun<sup>1</sup>, YANG Jingfang<sup>2</sup> (1. Dept. of Pharmacy, Zhangjiakou Xuangang Hospital, Hebei Zhangjiakou 075100, China; 2. Dept. of Clinical Laboratory, the Second Hospital Affiliated to Hebei North University, Hebei Zhangjiakou 075100, China; 3. Dept. of Nephrology, Rheumatism and Immunology, Zhangjiakou Xuangang Hospital, Hebei Zhangjiakou 075100, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To probe into the effects of icariin on proliferation, migration, apoptosis and phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten (PTEN)/protein kinase B (AKT) pathway of renal cancer OS-RC-2 cells. **METHODS:** OS-RC-2 cell group, cisplatin group (40 μg/ml), icariin groups with different concentrations (20 μg/ml, 40 μg/ml) were set up. After 72 h of culture, the survival rate, migration ability, apoptosis rate, and the mRNA and protein expression levels of PTEN and AKT were measured in each group of renal cancer OS-RC-2 cells. **RESULTS:** Compared with the OS-RC-2 cell group, the cell survival rate, migration distance, the mRNA and protein expression levels of PTEN and AKT decreased, and the apoptotic rate increased in the cisplatin group, icariin low-concentration group and icariin high-concentration group, with statistically significant differences ( $P < 0.05$ ). Compared with the cisplatin group, the cell survival rate, migration distance, the mRNA and protein expression levels of PTEN and AKT increased and the apoptotic rate decreased in the icariin low-concentration group; the cell survival rate, migration distance, the mRNA and protein expression levels of PTEN and AKT decreased and the apoptotic rate increased in the icariin high-concentration group, with statistically significant differences ( $P < 0.05$ ). Compared with the icariin low-concentration group, the cell survival rate, migration distance, the mRNA and protein expression levels

△ 基金项目:河北省医学科学研究课题计划项目 (No. 20200408); 张家口市科学技术研究与发展计划项目 (No. 1821034D)

\* 主管药师, 硕士。研究方向: 肿瘤药学。E-mail: muhongguang985@163.com

of PTEN and AKT decreased and the apoptotic rate increased in the icariin high-concentration group, with statistically significant differences ( $P < 0.05$ ). CONCLUSIONS: Icariin can inhibit the proliferation and migration of renal cancer OS-RC-2 cells, and promote the apoptosis. The mechanism may be related to the reduction of the mRNA and protein expression levels of PTEN and AKT in renal cancer OS-RC-2 cells by icariin, which in turn inhibits the activation of PTEN/AKT pathway.

**KEYWORDS** Icariin; Renal cancer OS-RC-2 cells; Proliferation; Migration; Apoptosis; PTEN/AKT pathway

肾细胞癌 (renal cell carcinoma, RCC) 是一种肾小管细胞发生致瘤性转化的疾病<sup>[1-2]</sup>。由于复发或远处转移,晚期 RCC 患者的 5 年生存率极低 (5% ~ 10%)。在诊断时,近 30% 的 RCC 患者出现转移<sup>[3]</sup>。当前,RCC 的治疗方法包括分子靶向治疗,如抗血管生成的酪氨酸激酶抑制剂或哺乳动物雷帕霉素靶蛋白抑制剂,这些药物已被广泛用于转移性或复发性 RCC 患者,但多发生严重的不良反应,且对某些患者的疗效并不明确<sup>[4]</sup>。因此,为改善 RCC 患者的预后,有必要充分阐明 RCC 发生和发展的分子机制,以及寻求新的治疗方法。磷酸酶和张力蛋白同源物 (PTEN) 已被鉴定为一种新型的肿瘤标志物,在前列腺癌细胞中高表达,并由雄激素进行转录调节<sup>[5-6]</sup>。PTEN 在细胞分化、细胞增殖、细胞凋亡、染色质调节、细胞周期进展以及某些肿瘤的发生、发展过程中起重要作用。蛋白激酶 B (AKT) 属于跨膜受体家族,在先天免疫中起关键作用。有证据表明,AKT 在肿瘤细胞中被激活,影响肿瘤细胞的增殖和迁移<sup>[7]</sup>。既往研究结果表明,抑制 PTEN 表达可调控下游基因 AKT 的水平,从而影响肺癌细胞增殖和凋亡<sup>[8]</sup>。淫羊藿苷是一种植物类黄酮苷,是在传统中草药植物淫羊藿中发现的有效药理成分,其对心脑血管系统、骨骼代谢、免疫、神经系统和性功能具有广泛的药理作用,并具有抗炎和抗肿瘤作用<sup>[9]</sup>。Wang 等<sup>[10]</sup> 的研究结果表明,淫羊藿苷可调控  $\beta$  连环蛋白表达,抑制卵巢癌细胞的细胞周期转换和细胞迁移。目前尚未见淫羊藿苷对 RCC 的影响及作用机制的报道,本研究拟探讨淫羊藿苷对肾癌 OS-RC-2 细胞的抑制作用及机制,为 RCC 的治疗提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验细胞:人肾癌 OS-RC-2 细胞(购自上海艾研生物科技有限公司,批号为 AJ6011)。

1.1.2 仪器:K3 PLUS 型酶标仪、FastAmp 型荧光定量 PCR 系统和 Essential V6 型凝胶成像系统(上海腾名生物科技有限公司);Axiovert 200 型显微镜(德国卡尔蔡司公司);Attune NxT 型流式细胞仪(北京昊诺斯科技有限公司);NanoDrop 2000 型蛋白定量仪(上海剑凌信息科技有限公司)。

1.1.3 药品与试剂:淫羊藿苷(武汉东康源科技有限公司,原料药,纯度为 99%,批号为 56692-2-5);顺铂(武汉贝尔卡生物医药有限公司,原料药,纯度为 99.5%,批号为 15663-23)。RPMI-1640 培养基、细胞计数试剂盒 8 (CCK-8) 试剂盒、膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素/碘化丙啶 (Annexin V-FITC/PI) 凋亡检测试剂盒和 TRIzol 试剂(上海谱振生物科技有限公司,批号

分别为 P74318、P20773-5、L59117 和 P08441);荧光定量 PCR 试剂(SYBR Premix EX Taq)、蛋白抽提试剂盒、PTEN、AKT、 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)单克隆抗体、羊抗鼠二抗和化学发光底物试剂盒(武汉艾美捷科技有限公司,批号分别为 AP1096、AJ50073、ABP54442、ABP30047、ABP10005、ABP10016 和 AJ94221)。

### 1.2 方法

1.2.1 细胞培养及分组:(1)人肾癌 OS-RC-2 细胞在补充有 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中培养,培养环境为 37 °C、5% CO<sub>2</sub>、2% O<sub>2</sub>、93% N<sub>2</sub>。(2)分组。①OS-RC-2 细胞组,将人肾癌 OS-RC-2 细胞(浓度为  $5 \times 10^6$  个/ml)在 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中培养,培养环境为 37 °C、5% CO<sub>2</sub>、2% O<sub>2</sub>、93% N<sub>2</sub>;②顺铂组,在 OS-RC-2 细胞组培养的基础上加入顺铂浓度为 40  $\mu$ g/ml[预实验计算出顺铂对肾癌 OS-RC-2 细胞的半致死浓度 (LC<sub>50</sub>) 为 80  $\mu$ g/ml,以 1/2 LC<sub>50</sub> 为实验浓度];③淫羊藿苷低、高浓度组,分别加入质量浓度为 20、40  $\mu$ g/ml 的淫羊藿苷<sup>[11]</sup>。上述各组每孔设 6 个平行样,培养 72 h。

1.2.2 细胞存活率测定:将肾癌 OS-RC-2 细胞(每孔  $2 \times 10^4$  个细胞)加入到 96 孔板上,各组按“1.2.1”中方法培养 72 h 后,每孔加 CCK-8 试剂 10  $\mu$ l,用酶标仪测量波长 450 nm 处的吸光度(OD),计算细胞存活率,细胞存活率 = (各实验组 OD/OS-RC-2 细胞组 OD)  $\times$  100%。

1.2.3 细胞迁移能力测定:将肾癌 OS-RC-2 细胞(每孔  $2 \times 10^4$  个细胞)接种于 6 孔板中,细胞融合后,用 100  $\mu$ l 无菌移液器进行“一”字划痕,以 PBS 缓冲液洗去悬浮细胞,按“1.2.1”中方法培养 72 h 后,用显微镜拍照,测量划痕宽度,计算迁移距离,迁移距离 = 0 h 时划痕宽度 - 72 h 时划痕宽度,迁移距离越大,表示细胞迁移能力越强。

1.2.4 细胞凋亡水平测定:将肾癌 OS-RC-2 细胞(每孔  $5 \times 10^5$  个细胞)接种到 6 孔板中,按“1.2.1”中方法培养 72 h 后,收集细胞,将细胞重悬于结合缓冲液中,并加入 Annexin V-FITC 5  $\mu$ l 和 PI 5  $\mu$ l 在 25 °C 下孵育 20 min,以流式细胞仪分析凋亡水平。

1.2.5 细胞 PTEN、AKT 的 mRNA 水平测定:TRIzol 试剂从肾癌 OS-RC-2 细胞中提取总 RNA,逆转录合成 cDNA,使用 PCR 系统将含有 cDNA 模板、引物、SYBR Premix EX Taq 试剂的混合物进行反应。PTEN、AKT 和 U6 引物序列由武汉艾美捷科技有限公司合成,序列为 PTEN 正向 5'-TTCCCAGCAACTAC GTGAC-3' 和反向 5'-TCTAACAACTGAATGGGGCGGG-3'; AKT 正向 5'-CACGTCTCAGTGCATCACAGA-3' 和反向 5'-GTGCAGGG TCCGAGGTGCAAT-3'; U6 正向 5'-CCTGTGACTGAGCCGCT

CGTGT-3'和反向 5'-ATCATGCGAGTCTGTGTGTAACC-3'。热循环条件为 94 °C 持续 5 min, 然后进行 40 个 94 °C 持续 10 s, 60 °C 持续 20 s 和 72 °C 持续 10 s 的循环。2<sup>-ΔΔCt</sup> 方法用于确定 PTEN、AKT 的 mRNA 表达的相对定量。

1.2.6 细胞 PTEN、AKT 的蛋白水平测定: 蛋白抽提试剂盒从肾癌 OS-RC-2 细胞中提取蛋白质后, 使用蛋白定量仪定量总蛋白, 通过电泳分离等量 (100 μg) 蛋白质, 然后在 300 mA 下电转移至聚偏二氟乙烯膜上, 在室温 (25 °C) 下用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h 后, 滴加 PTEN、AKT 和 β-actin 一抗 (1 : 1 000) 在 4 °C 过夜, 然后与二抗孵育 2 h 后, 使用化学发光底物试剂盒对蛋白条带进行可视化, 凝胶成像系统对蛋白条带进行灰度值分析, 以定量蛋白水平。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 23.0 软件对数据进行分析。计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 SNK-q 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 肾癌 OS-RC-2 细胞存活率比较

与 OS-RC-2 细胞组比较, 顺铂组和淫羊藿苷低、高浓度组细胞存活率降低; 与顺铂组比较, 淫羊藿苷低浓度组细胞存活

率升高, 淫羊藿苷高浓度组细胞存活率降低; 与淫羊藿苷低浓度组比较, 淫羊藿苷高浓度组细胞存活率降低, 上述差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 1。

表 1 四组肾癌 OS-RC-2 细胞存活率比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Tab 1 Comparison of survival rate in renal cancer OS-RC-2 cells among four groups ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

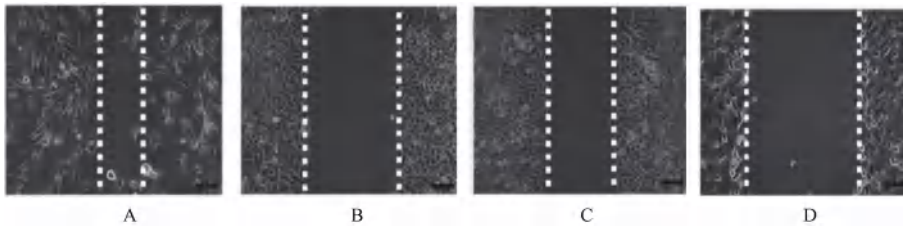
组别	存活率/%	迁移距离/nm	凋亡率/%
OS-RC-2 细胞组	100.00 ± 0.00	452.36 ± 42.58	5.98 ± 0.65
顺铂组	28.65 ± 5.73 <sup>a</sup>	125.63 ± 22.35 <sup>a</sup>	36.95 ± 2.38 <sup>a</sup>
淫羊藿苷低浓度组	57.25 ± 8.87 <sup>ab</sup>	218.63 ± 31.69 <sup>ab</sup>	19.29 ± 1.59 <sup>ab</sup>
淫羊藿苷高浓度组	15.14 ± 2.54 <sup>abc</sup>	65.69 ± 16.13 <sup>abc</sup>	46.49 ± 3.17 <sup>abc</sup>
F	286.421	193.753	420.071
P	0.000	0.000	0.000

注: 与 OS-RC-2 细胞组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与顺铂组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与淫羊藿苷低浓度组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$

Note: vs. the OS-RC-2 cell group, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; vs. the cisplatin group, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; vs. the icariin low-concentration group, <sup>c</sup> $P < 0.05$

### 2.2 肾癌 OS-RC-2 细胞迁移能力比较

与 OS-RC-2 细胞组比较, 顺铂组和淫羊藿苷低、高浓度组细胞迁移距离缩短; 与顺铂组比较, 淫羊藿苷低浓度组细胞迁移距离增加, 淫羊藿苷高浓度组细胞迁移距离缩短; 与淫羊藿苷低浓度组比较, 淫羊藿苷高浓度组细胞迁移距离缩短, 上述差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 1、图 1。



A. OS-RC-2 细胞组; B. 顺铂组; C. 淫羊藿苷低浓度组; D. 淫羊藿苷高浓度组; 各组 0 h 时划痕宽度一样, 72 h 时划痕宽度越窄, 说明迁移距离越大

A. the OS-RC-2 cell group; B. the cisplatin group; C. the icariin low-concentration group; D. the icariin high-concentration group;

the scratch width is the same at 0 h in each group, and the narrower the scratch width at 72 h, the greater the migration distance

图 1 四组肾癌 OS-RC-2 细胞 72 h 时划痕宽度

Fig 1 Scratch width of renal cancer OS-RC-2 cells among four groups at 72 h

### 2.3 肾癌 OS-RC-2 细胞凋亡率比较

与 OS-RC-2 细胞组比较, 顺铂组和淫羊藿苷低、高浓度组细胞凋亡率升高; 与顺铂组比较, 淫羊藿苷低浓度组细胞凋亡率降低, 淫羊藿苷高浓度组细胞凋亡率升高; 与淫羊藿苷低浓度组比较, 淫羊藿苷高浓度组细胞凋亡率升高, 上述差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 1、图 2。

### 2.4 肾癌 OS-RC-2 细胞 PTEN、AKT 的 mRNA 表达比较

与 OS-RC-2 细胞组比较, 顺铂组和淫羊藿苷低、高浓度组细胞 PTEN、AKT 的 mRNA 表达水平降低; 与顺铂组比较, 淫羊藿苷低浓度组细胞 PTEN、AKT 的 mRNA 表达水平升高, 淫羊藿苷高浓度组细胞 PTEN、AKT 的 mRNA 表达水平降低; 与淫羊藿苷低浓度组比较, 淫羊藿苷高浓度组细胞 PTEN、AKT 的 mRNA 表达水平降低, 上述差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 2。

### 2.5 肾癌 OS-RC-2 细胞 PTEN、AKT 的蛋白表达比较

与 OS-RC-2 细胞组比较, 顺铂组和淫羊藿苷低、高浓度组

表 2 四组肾癌 OS-RC-2 细胞 PTEN、AKT 的 mRNA 表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

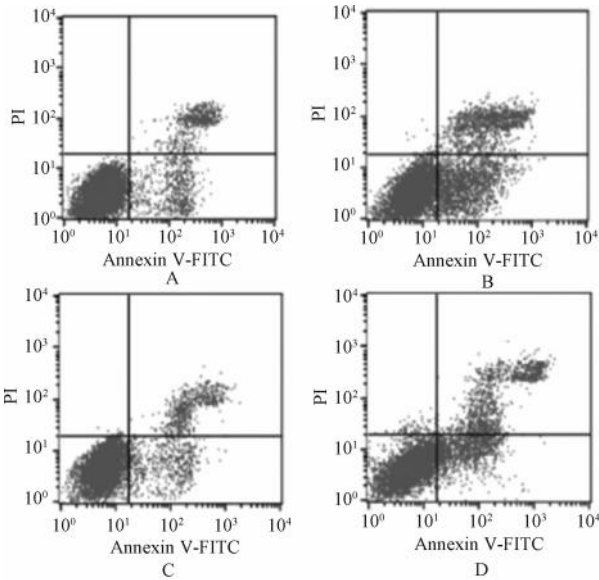
Tab 2 Comparison of the mRNA expression levels of PTEN and AKT in renal cancer OS-RC-2 cells among four groups ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	PTEN mRNA	AKT mRNA
OS-RC-2 细胞组	6.59 ± 0.37	5.84 ± 0.35
顺铂组	1.99 ± 0.18 <sup>a</sup>	1.74 ± 0.17 <sup>a</sup>
淫羊藿苷低浓度组	3.84 ± 0.21 <sup>ab</sup>	3.42 ± 0.22 <sup>ab</sup>
淫羊藿苷高浓度组	1.03 ± 0.09 <sup>abc</sup>	0.76 ± 0.07 <sup>abc</sup>
F	648.996	579.689
P	0.000	0.000

注: 与 OS-RC-2 细胞组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与顺铂组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与淫羊藿苷低浓度组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$

Note: vs. the OS-RC-2 cell group, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; vs. the cisplatin group, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; vs. the icariin low-concentration group, <sup>c</sup> $P < 0.05$

细胞 PTEN、AKT 的蛋白表达水平降低; 与顺铂组比较, 淫羊藿苷低浓度组细胞 PTEN、AKT 的蛋白表达水平升高, 淫羊藿苷高浓度组细胞 PTEN、AKT 的蛋白表达水平降低; 与淫羊藿苷



A. OS-RC-2 细胞组; B. 顺铂组; C. 淫羊藿苷低浓度组; D. 淫羊藿苷高浓度组

A. the OS-RC-2 cell group; B. the cisplatin group; C. the icariin low-concentration group; D. the icariin high-concentration group

图2 四组肾癌 OS-RC-2 细胞凋亡率比较

Fig 2 Comparison of apoptosis rate in renal cancer OS-RC-2 cells among four groups

低浓度组比较,淫羊藿苷高浓度组细胞 PTEN、AKT 的蛋白表达水平降低,上述差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),见表 3、图 3。

表 3 四组肾癌 OS-RC-2 细胞 PTEN、AKT 蛋白表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Tab 3 Comparison of the protein expression levels of PTEN and AKT in renal cancer OS-RC-2 cells among four groups ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

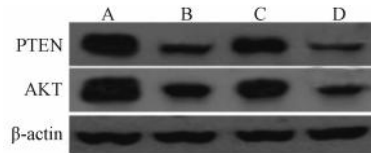
组别	PTEN 蛋白 ( $\beta$ -actin)	AKT 蛋白 ( $\beta$ -actin)
OS-RC-2 细胞组	2.63 $\pm$ 0.43	2.84 $\pm$ 0.47
顺铂组	0.91 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	1.05 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>
淫羊藿苷低浓度组	1.54 $\pm$ 0.26 <sup>ab</sup>	1.69 $\pm$ 0.27 <sup>ab</sup>
淫羊藿苷高浓度组	0.51 $\pm$ 0.05 <sup>abc</sup>	0.62 $\pm$ 0.08 <sup>abc</sup>
F	74.717	68.719
P	0.000	0.000

注:与 OS-RC-2 细胞组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与顺铂组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与淫羊藿苷低浓度组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$

Note: vs. the OS-RC-2 cell group, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; vs. the cisplatin group, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; vs. the icariin low-concentration group, <sup>c</sup> $P < 0.05$

### 3 讨论

RCC 全球发病率每年约升高 2%,化学疗法的应用显著改善了 RCC 的疗效,但 RCC 患者的预后仍然很差<sup>[12]</sup>。因此,需要发现新型的 RCC 治疗药物。淫羊藿苷为小檗科植物淫羊藿、箭叶淫羊藿、柔毛淫羊藿和巫山淫羊藿的乙醇提取物,具有抗恶性肿瘤作用,具有抗炎、抗肿瘤和免疫调节等多种作用<sup>[13]</sup>。蒋绍艳等<sup>[14]</sup>的研究结果发现,淫羊藿苷可通过上调半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 蛋白表达,抑制人卵巢癌细胞 SKOV3



A. OS-RC-2 细胞组; B. 顺铂组; C. 淫羊藿苷低浓度组; D. 淫羊藿苷高浓度组

A. the OS-RC-2 cell group; B. the cisplatin group; C. the icariin low-concentration group; D. the icariin high-concentration group

图3 四组肾癌 OS-RC-2 细胞 PTEN、AKT 蛋白表达印迹图  
Fig 3 Western blot of the protein expression levels of PTEN and AKT in renal cancer OS-RC-2 cells among four groups

增殖和侵袭并诱导其凋亡。Song 等<sup>[15]</sup>的研究结果发现,淫羊藿苷通过调控沉默信息调节因子 6(SIRT6)/核因子  $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)通路抑制乳腺癌细胞迁移,从而表现出抗肿瘤活性。Kim 等<sup>[16]</sup>的研究结果表明,淫羊藿苷通过上调细胞外调节蛋白激酶(ERK)的表达使人结肠癌细胞对凋亡敏感,从而诱导人结肠癌细胞凋亡,具有抗恶性肿瘤作用。文艳梅等<sup>[17]</sup>的研究结果表明,淫羊藿苷可调控磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K)/AKT 通路的表达,从而抑制 A549 细胞增殖和迁移。本研究结果显示,淫羊藿苷低、高浓度组细胞存活率、迁移距离较 OS-RC-2 细胞组低,凋亡率较 OS-RC-2 细胞组高;淫羊藿苷高浓度组细胞存活率、迁移距离较淫羊藿苷低浓度组低,凋亡率较淫羊藿苷低浓度组高,与上述研究结果一致,同时说明淫羊藿苷对肾癌 OS-RC-2 细胞具有抑制增殖、迁移及促进凋亡的作用,且具有浓度依赖效应。

PTEN 的高表达参与多种恶性肿瘤的进化过程。研究结果表明,PTEN 通过调节 AKT 信号通路,抑制口腔鳞状癌细胞增殖和侵袭<sup>[18]</sup>。此外,PTEN 可以使黏着斑激酶去磷酸化,后者会下调有丝分裂原活化蛋白激酶(MAPK)途径,从而调节细胞黏附。AKT 是受 PTEN 调节的细胞因子。Kong 等<sup>[19]</sup>研究结果显示,上调 PTEN 表达可促进 AKT 的表达,进而促进子宫内膜癌细胞的增殖、迁移和侵袭。AKT 被认为是调节肿瘤细胞侵袭和转移的重要因子。高水平的 AKT 表达增加了人黑色素瘤细胞的侵袭和转移,并且这种调节可能与 AKT 对基质金属蛋白酶 2(MMP-2)和基质金属蛋白酶 9(MMP-9)表达的调控机制有关<sup>[20]</sup>。AKT 与 MMP-2、MMP-9 的表达呈明显正相关,表明在肿瘤的侵袭和转移过程中,AKT 的表达上调,促进了 MMP-2 和 MMP-9 的转录表达,进而促进肿瘤组织的侵袭和转移<sup>[21-22]</sup>。本研究结果显示,淫羊藿苷低、高浓度组细胞 PTEN、AKT 的 mRNA、蛋白表达水平较 OS-RC-2 细胞组低;且随着淫羊藿苷浓度的升高,PTEN、AKT 的 mRNA、蛋白表达水平呈降低趋势。说明淫羊藿苷可降低肾癌 OS-RC-2 细胞 PTEN、AKT 的 mRNA、蛋白的表达,也说明了淫羊藿苷抗肾癌 OS-RC-2 细胞作用与 PTEN、AKT 表达之间的潜在联系。但是,尚不清楚淫羊藿苷诱导肾癌 OS-RC-2 细胞中 PTEN、AKT 表达的具体机制,需要进一步研究。

综上所述,淫羊藿苷对肾癌 OS-RC-2 细胞具有抑制增殖、

迁移和促进凋亡的作用,其机制与淫羊藿苷可降低肾癌 OS-RC-2 细胞 PTEN、AKT 的 mRNA、蛋白的表达,进而抑制 PTEN/AKT 通路的激活有关。

## 参考文献

[1] Kamai T, Kijima T, Tsuzuki T, et al. Increased expression of adenosine 2A receptors in metastatic renal cell carcinoma is associated with poorer response to anti-vascular endothelial growth factor agents and anti-PD-1/Anti-CTLA4 antibodies and shorter survival [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2021, 70(7):2009-2021.

[2] Capitanio U, Bensalah K, Bex A, et al. Epidemiology of renal cell carcinoma [J]. *Eur Urol*, 2019, 75(1):74-84.

[3] Ljungberg B, Albiges L, Abu-Ghanem Y, et al. European association of urology guidelines on renal cell carcinoma; the 2019 update [J]. *Eur Urol*, 2019, 75(5):799-810.

[4] Barata PC, Rini BI. Treatment of renal cell carcinoma: current status and future directions [J]. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(6):507-524.

[5] Luebke AM, Attarchi-Tehrani A, Meiners J, et al. Loss of PSP94 expression is associated with early PSA recurrence and deteriorates outcome of PTEN deleted prostate cancers [J]. *Cancer Biol Med*, 2019, 16(2):319-330.

[6] Jamaspishvili T, Berman DM, Ross AE, et al. Clinical implications of PTEN loss in prostate cancer [J]. *Nat Rev Urol*, 2018, 15(4):222-234.

[7] Zhu H, Xu Y, Li M, et al. Inhibition Sequence of miR-205 Hinders the Cell Proliferation and Migration of Lung Cancer Cells by Regulating PETN-Mediated PI3K/AKT Signal Pathway [J]. *Mol Biotechnol*, 2021, 63(7):587-594.

[8] Ouyang L, Yang M, Wang X, et al. Long non-coding RNA FER1L4 inhibits cell proliferation and promotes cell apoptosis via the PTEN/AKT/p53 signaling pathway in lung cancer [J]. *Oncol Rep*, 2021, 45(1):359-367.

[9] 路宇仁, 陈映冰, 崔元璐, 等. 淫羊藿苷药理作用研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(17):209-220.

[10] Wang P, Zhang J, Xiong X, et al. Icaritin suppresses cell cycle transition and cell migration in ovarian cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(4):2321-2328.

[11] 陈茹, 苏莹, 柳江. 淫羊藿苷通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路对卵巢癌细胞 CAOV3 增殖的影响 [J]. *医学研究杂志*, 2019, 48

(3):44-49.

[12] 王昱政, 胡樱. 1992-2016 年中国肾癌死亡趋势的年龄-时期-队列分析 [J]. *中华流行病学杂志*, 2021, 42(3):508-512.

[13] 李聪聪, 赵鹏, 秦燕勤, 等. 淫羊藿苷的药理活性研究进展 [J]. *中医学报*, 2020, 35(4):781-786.

[14] 蒋绍艳, 常宏, 樊丹怡, 等. 淫羊藿苷对人卵巢癌细胞株的肿瘤恶性行为的抑制作用研究 [J]. *四川大学学报:医学版*, 2018, 49(4):530-534.

[15] Song L, Chen X, Mi L, et al. Icaritin-induced inhibition of SIRT6/NF- $\kappa$ B triggers redox mediated apoptosis and enhances anti-tumor immunity in triple-negative breast cancer [J]. *Cancer Sci*, 2020, 111(11):4242-4256.

[16] Kim B, Seo JH, Lee KY, et al. Icaritin sensitizes human colon cancer cells to TRAIL-induced apoptosis via ERK-mediated upregulation of death receptors [J]. *Int J Oncol*, 2020, 56(3):821-834.

[17] 文艳梅, 梁宗安, 徐治波, 等. 淫羊藿苷抑制 PI3K/AKT 通路对肺腺癌 A549 细胞存活和转移的影响 [J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36(17):2091-2095.

[18] Qu Z, Zhang R, Su M, et al. USP13 serves as a tumor suppressor via the PTEN/AKT pathway in oral squamous cell carcinoma [J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11:9175-9183.

[19] Kong C, Zhu Z, Li Y, et al. Downregulation of HOXA11 enhances endometrial cancer malignancy and cisplatin resistance via activating PTEN/AKT signaling pathway [J]. *Clin Transl Oncol*, 2021, 23(7):1334-1341.

[20] Yao X, Jiang W, Yu D, et al. Luteolin inhibits proliferation and induces apoptosis of human melanoma cells in vivo and in vitro by suppressing MMP-2 and MMP-9 through the PI3K/AKT pathway [J]. *Food Funct*, 2019, 10(2):703-712.

[21] Li H, Zhao J, Jia X, et al. miR-21 promotes growth, invasion and migration of lung cancer cells by AKT/P-AKT/cleaved-caspase 3/MMP-2/MMP-9 signaling pathway [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2020, 13(4):692-700.

[22] 张萌, 张向东, 夏永欣, 等. 钙周期素结合蛋白促进胃癌细胞迁移侵袭和 MMP-2、MMP-9、p-ERK1/2、p-AKT 水平上调 [J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2019, 28(2):134-141.

(收稿日期:2021-09-06)

(上接第 1338 页)

[10] 中华中医药学会儿童肺炎联盟. 儿童肺炎支原体肺炎中西医结合诊治专家共识(2017 年制定) [J]. *中国实用儿科杂志*, 2017, 32(12):881-885.

[11] 徐志立, 张莹, 陶小军, 等. 中药与抗感染西药联用中的增效减毒相互作用 [J]. *时珍国医国药*, 2017, 28(1):202-204.

[12] 杨春, 梁文旺, 李日东. 麻杏石甘汤治疗小儿支原体肺炎的优势及机制探析 [J]. *世界中医药*, 2019, 14(3):691-695.

[13] 蔡玲利, 钟森, 王金堂, 等. 肺炎支原体肺炎喘息患儿潮气呼吸肺功能变化 [J]. *湖北医药学院学报*, 2021, 40(2):149-153.

[14] 廖震, 楼凌云, 管敏昌, 等. 血清 IL-18、IL-33 及 FeNO 与儿童支原体肺炎的相关性研究 [J]. *中华全科医学*, 2019, 17(6):984-986.

[15] 袁凌跃, 李江, 杨泳, 等. 白三烯 B4 在“肺保护性”通气致肺损伤中的作用机制 [J]. *南方医科大学学报*, 2020, 40(10):1465-1471.

[16] 庄鹏晖, 刘亮亮, 郑国玺, 等. 支气管哮喘患者血清肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、白细胞介素-8 和嗜酸性粒细胞阳离子蛋白水平变化及意义 [J]. *陕西医学杂志*, 2020, 49(12):1597-1599, 1603.

[17] 王琳, 易金玲, 陈海燕, 等. 外阴硬化性苔藓患者外阴组织 Foxp3 表达及外周血 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> CD127<sup>low</sup> 调节性 T 淋巴细胞数量的变化及意义 [J]. *中华妇产科杂志*, 2020, 55(8):544-548.

[18] 许惠敏, 马娜. 儿童重症支气管肺炎发生过程中 NF- $\kappa$ B、ROR $\gamma$ t 和 FOXP3 转录因子的表达差异研究 [J]. *数理医药学杂志*, 2020, 33(2):228-229.

(收稿日期:2021-05-14)