

人参皂苷CK联合5-氟尿嘧啶对人胰腺癌PANC-1细胞的增殖、凋亡及上皮间质转化的影响^Δ

崔江河^{1*}, 韩光宇^{2#}, 何光梅³, 尹媛媛¹, 马娜¹, 刘琳¹(1.牡丹江医学院附属红旗医院消化科, 黑龙江牡丹江 157011; 2.牡丹江医学院附属红旗医院普外科, 黑龙江牡丹江 157011; 3.牡丹江医学院附属红旗医院泌尿外科, 黑龙江牡丹江 157011)

中图分类号 R361⁺.3 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)31-4388-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.31.18

摘要 目的:研究人参皂苷CK联合5-氟尿嘧啶(5-FU)对人胰腺癌PANC-1细胞的增殖、凋亡及上皮间质转化(EMT)的影响。方法:将对数生长期的PANC-1细胞分为空白对照组、人参皂苷CK组(30 mg/L)、5-FU组(25 mg/L)和联用组(人参皂苷CK 30 mg/L+5-FU 25 mg/L)。采用MTT法检测各组细胞作用24、48、72 h后的细胞增殖抑制率,流式细胞术检测作用48 h后的细胞凋亡率,酶联免疫吸附法检测作用24、48、72、96 h后细胞中纤连蛋白表达,Western blot法检测作用48 h后细胞中波形蛋白、N-钙黏蛋白、E-钙黏蛋白、蛋白激酶(Akt)及磷酸化Akt(p-Akt)蛋白表达。结果:人参皂苷CK、5-FU及其二者联用对细胞的增殖均有抑制作用;与空白对照组比较,人参皂苷CK组、5-FU组和联用组各作用时间点的早期和晚期凋亡率、E-钙黏蛋白表达水平均明显升高($P < 0.05$),纤连蛋白、波形蛋白、N-钙黏蛋白表达水平和p-Akt/Akt水平均明显降低($P < 0.05$),其中联用组上述指标效果均优于人参皂苷CK组和5-FU组($P < 0.05$)。结论:人参皂苷CK和5-FU均可抑制PANC-1细胞增殖、诱导细胞凋亡、抑制EMT,该作用可能与抑制磷脂酰肌醇3-激酶/Akt通路有关;且二者联用效果更好。

关键词 人参皂苷CK;5-氟尿嘧啶;人胰腺癌PANC-1细胞;联合给药;增殖;凋亡;上皮间质转化

Effects of Ginsenoside CK Combined with 5-Fluorouracil on the Proliferation, Apoptosis and Epithelial Mesenchymal Transition of Human Pancreatic Cancer PANC-1 Cells

CUI Jianghe¹, HAN Guangyu², HE Guangmei³, YIN Yuanyuan¹, MA Na¹, LIU Lin¹(1.Dept. of Gastroenterology, Hongqi Hospital Affiliated to Mudanjiang Medical University, Heilongjiang Mudanjiang 157011, China; 2.Dept. of General Surgery, Hongqi Hospital Affiliated to Mudanjiang Medical University, Heilongjiang Mudanjiang 157011, China; 3.Dept. of Urology Surgery, Hongqi Hospital Affiliated to Mudanjiang Medical University, Heilongjiang Mudanjiang 157011, China)

达,从而引起胰腺癌细胞的凋亡。

参考文献

- [1] Rahib L, Smith BD, Aizenberg R, et al. Matrisian projecting cancer incidence and deaths to 2030: the unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(14):2913-2921.
- [2] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics: 2016[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(1):7-30.
- [3] 张乐, 方羽, 陆国红, 等. 土木香化学成分及药理研究概况[J]. *中成药*, 2015, 37(6):1313-1316.
- [4] 小西天二. 土木香中抑制肿瘤细胞增殖的成分[J]. *国外医学: 中医中药分册*, 2003, 25(3):174.

- [5] 赵永明, 张嫚丽, 霍长虹, 等. 土木香化学成分的研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2009, 21(4):616-618.
- [6] Ren Y, J Yu, Kinghorn AD. Development of anticancer agents from plant-derived sesquiterpene lactones[J]. *Curr Med Chem*, 2016, 23(23):2397-2420.
- [7] Hamacher-Brady A, Brady NR. Bax/Bak-dependent, Drp1-independent targeting of X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP) into inner mitochondrial compartments counteracts Smac/DIABLO-dependent effector Caspase activation[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(36):22005-22018.
- [8] 赵秀梅, 周冰, 张桂贤, 等. 扶正解毒祛瘀方联合奥沙利铂对人结肠癌 HT-29 细胞增殖与凋亡的影响及机制研究[J]. *中国药房*, 2017, 28(19):2613-2616.
- [9] Horbay R, Bilyy R. Mitochondrial dynamics during cell cycling[J]. *Apoptosis*, 2016, 21(12):1327-1335.

^Δ 基金项目:牡丹江市科学技术计划项目(No.Z2015s0055)

* 主治医师。研究方向:消化系统疾病的诊断及治疗。电话:0453-6582800。E-mail:18215039@qq.com

通信作者:主治医师。研究方向:普外科临床与科研。电话:0453-6582800。E-mail:hanguangyu1981@163.com

(收稿日期:2017-02-09 修回日期:2017-08-10)

(编辑:林静)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of ginsenoside CK combined with 5-fluorouracil (5-FU) on the proliferation, apoptosis and epithelial mesenchymal transition (EMT) of human pancreatic cancer PANC-1 cells. METHODS: PANC-1 cells of logarithmic growth phase were randomly divided into blank control group, ginsenoside CK group (30 mg/L), 5-FU group (25 mg/L) and combination group (ginsenoside CK 30 mg/L+5-FU 25 mg/L). MTT method was used to detect the cell proliferation inhibition rate in each group after 24, 48, 72 h; flow cytometry was used to detect the cell apoptosis rate after 48 h; enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect the fibronectin expression in cells after 24, 48, 72, 96 h; and Western blot was used to detect the expressions of vimentin, *N*-cadherin, *E*-cadherin, protein kinase (Akt) and phosphorylated Akt (p-Akt) protein in cells after 48 h. RESULTS: Compared with blank control group, the cell proliferation inhibition rate, early and late apoptotic rates, protein expression level of *E*-cadherin in ginsenoside CK group, 5-FU group and combination group were obviously increased ($P < 0.05$), while the protein expression levels of fibronectin, vimentin, *N*-cadherin, and p-Akt/Akt levels were obviously decreased ($P < 0.05$); the effects of above-mentioned indexes in combination group were superior to ginsenoside CK group and 5-FU group ($P < 0.05$). CONCLUSIONS: Both ginsenoside CK and 5-FU can inhibit the proliferation of PANC-1 cells, induce their apoptosis and inhibit EMT, which may be associated with inhibiting phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway. In addition, the combination of ginsenoside CK and 5-FU can produce a better effect.

KEYWORDS Ginsenoside CK; 5-fluorouracil; Human pancreatic cancer PANC-1 cells; Combined administration; Proliferation; Apoptosis; Epithelial mesenchymal transition

胰腺癌为多发的恶性消化系统肿瘤,发病率呈逐年上升趋势。由于早期诊断存在困难,多数患者在确诊时就已出现周围器官转移和侵袭,手术切除率不到30%,5年生存率低于5%^[1]。而全身化疗能够根除机体内残余的肿瘤细胞,从而提高外科手术的治愈率。因此,化疗在胰腺癌的治疗中占有重要地位。5-氟尿嘧啶(5-FU)是临床上治疗胰腺癌的常用药物之一,疗效确切,但容易引起骨髓抑制、外周神经毒性、口腔黏膜炎等较大的毒副作用,加之耐药性的出现,限制了其临床应用范围的扩大及疗效的进一步提高^[2]。人参皂苷CK为人参皂苷在生物体内的活性转化产物,具有抗肿瘤、保肝、提高免疫力、抗炎及降血糖等多种药理活性^[3]。有研究表明,中药联合传统化疗药物能显著降低化疗药物的毒副作用,提高抗肿瘤疗效^[4-5]。因此,本研究拟通过人参皂苷CK联合5-FU,探讨联合用药对人胰腺癌细胞PANC-1的增殖、凋亡及上皮间质转化(EMT)的影响,以期为临床中药联合传统化疗药物治疗胰腺癌提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

TDL-50B型离心机(上海安亭科学仪器厂);MCO-5AC型细胞培养箱(日本Sanyo公司);550型酶标仪(美国Bio-Rad公司);EPICS XL/XL-MCL型流式细胞仪(美国Beckman公司);DYCZ-24DN型蛋白电泳及转印仪(北京六一仪器厂)。

1.2 药品与试剂

人参皂苷CK(四川维克奇生物科技有限公司,批号:20160128,纯度: $>98\%$);5-FU注射液(上海旭东海普药业有限公司,批号:151415,规格:0.25 g:10 mL);胎牛血清、RPMI 1640培养基(美国Gibco公司);MTT检测试剂盒(美国Amresco公司);膜联蛋白V-异硫氰酸荧光

素/碘化丙啶(Annexin V-FITC/PI)细胞凋亡检测试剂盒(南京凯基生物科技发展有限公司);纤连蛋白酶联免疫吸附(ELISA)检测试剂盒(上海酶联生物科技有限公司);鼠源波形蛋白、*N*-钙黏蛋白、*E*-钙黏蛋白、蛋白激酶(Akt)、磷酸化Akt(p-Akt)及甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)多克隆抗体(美国Cell Signaling Technology公司);辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗(北京中杉金桥生物技术有限公司)。

1.3 细胞

人胰腺癌PANC-1细胞购自中国科学院上海细胞库。

2 方法

2.1 分组与给药

将对数生长期的PANC-1细胞分为4组,即空白对照组、人参皂苷CK组(30 mg/L)、5-FU组(25 mg/L)和联用组(人参皂苷CK 30 mg/L+5-FU 25 mg/L),每组设3个复孔。空白对照组细胞仅加入完全培养基,其余组细胞加入含相应药物的完全培养基。

2.2 MTT法检测细胞增殖抑制率

常规方法培养PANC-1细胞,至对数生长期时,用0.25%的胰蛋白酶消化,制备单细胞悬液,接种于96孔细胞培养板中,每孔 1×10^4 个细胞。培养24 h至细胞完全贴壁后,弃培养液,按“2.1”项下分组加入相应完全培养基,孵育24、48、72 h后,每孔加入10 μ L MTT(5 mg/mL)溶液,继续孵育4 h。用酶标仪检测492 nm波长处光密度(OD),按公式计算细胞增殖抑制率,细胞增殖抑制率($\%$)= $(1 - OD_{\text{给药组}} / OD_{\text{空白对照组}}) \times 100\%$ 。

2.3 流式细胞术检测细胞凋亡率

将PANC-1细胞接种于6孔培养板中,每孔 1×10^6 个细胞,培养24 h至细胞完全贴壁后,弃培养液,按“2.1”项下分组并加入相应完全培养基,孵育48 h。3 000 \times 离心

10 min, 收集细胞并重悬于预冷的磷酸盐缓冲液(PBS)中; 3 000×g离心10 min, 加入预冷的75%乙醇, 固定30 min; 3 000×g离心10 min, 加入5 μL Annexin V - FITC/PI溶液, 在4℃条件下孵育20 min后, 补加400 μL PBS溶液。用流式细胞仪检测并采用Cell Quest软件分析早期和晚期细胞凋亡情况。

2.4 ELISA法检测细胞中纤连蛋白表达

将PANC-1细胞接种于6孔培养板中, 每孔 1×10^6 个细胞, 培养24 h至细胞完全贴壁后, 弃培养液, 按“2.1”项下分组并加入相应完全培养基, 分别孵育24、48、72、96 h。收集细胞上清液, 按照ELISA检测试剂盒说明书操作步骤进行裂解、离心, 检测各组细胞中纤连蛋白表达水平。

2.5 Western blot法检测细胞中波形蛋白、N-钙黏蛋白、E-钙黏蛋白、Akt和p-Akt蛋白表达

将PANC-1细胞接种于6孔培养板中, 每孔 1×10^6 个细胞, 培养24 h至细胞完全贴壁后, 弃培养液, 按“2.1”项下分组并加入相应完全培养基, 继续孵育48 h。3 000×g离心10 min, 收集细胞, 加入细胞裂解缓冲液, 剧烈振荡30 s混匀, 于冰上放置30 min; 12 000×g离心10 min, 取上清液, 分装, 存放于-80℃冰箱中, 备用。取等量蛋白, 常规方法行10%十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)及半干法转膜后, 分别加入适量鼠源波形蛋白、N-钙黏蛋白、E-钙黏蛋白、Akt、p-Akt和GAPDH多克隆抗体(1:500), 在4℃条件下孵育24 h; 加入HPR标记的二抗(1:2 000), 常温下孵育2 h。增强化学发光法显色, X线曝光显影。图像分析仪扫描后, 采用IPP 6.0软件分析各条带平均光密度值, 蛋白相对表达水平分别以波形蛋白/GAPDH(内参)、N-钙黏蛋白/GAPDH、E-钙黏蛋白/GAPDH、p-Akt/Akt的平均光密度比值表示。

2.6 统计学方法

采用SPSS 17.0软件进行统计分析。数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组比较采用单因素方差分析, 两两比较采用Bonferroni法。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 PANC-1细胞增殖抑制率

人参皂苷CK、5-FU及其二者联用对细胞增殖均有抑制作用。与人参皂苷CK组和5-FU组比较, 联用组细胞作用24、48、72 h后的细胞增殖抑制率均显著升高($P < 0.05$)。各组细胞增殖抑制率的测定结果见表1。

3.2 PANC-1细胞凋亡率

与空白对照组比较, 人参皂苷CK组、5-FU组和联用组细胞作用48 h后早、晚期细胞凋亡率均显著升高($P < 0.05$)。与人参皂苷CK组和5-FU组比较, 联用组细胞的早、晚期细胞凋亡率均显著升高($P < 0.05$)。各组细胞凋亡率的流式图见图1, 测定结果见表2。

表1 各组细胞增殖抑制率的测定结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 1 Determination results of cell proliferation inhibition rate in each group($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	增殖抑制率, %		
	24 h	48 h	72 h
人参皂苷CK组	9.75 ± 1.25	19.84 ± 2.63	22.28 ± 3.09
5-FU组	17.15 ± 2.13 [#]	27.13 ± 3.42 [#]	36.47 ± 4.78 [#]
联用组	30.42 ± 4.30 ^{#Δ}	49.85 ± 5.61 ^{#Δ}	64.88 ± 8.54 ^{#Δ}

注: 与人参皂苷CK组比较, [#] $P < 0.05$; 与5-FU组比较, ^Δ $P < 0.05$

Note: vs. ginsenoside CK group, [#] $P < 0.05$; vs. 5-FU group, ^Δ $P < 0.05$

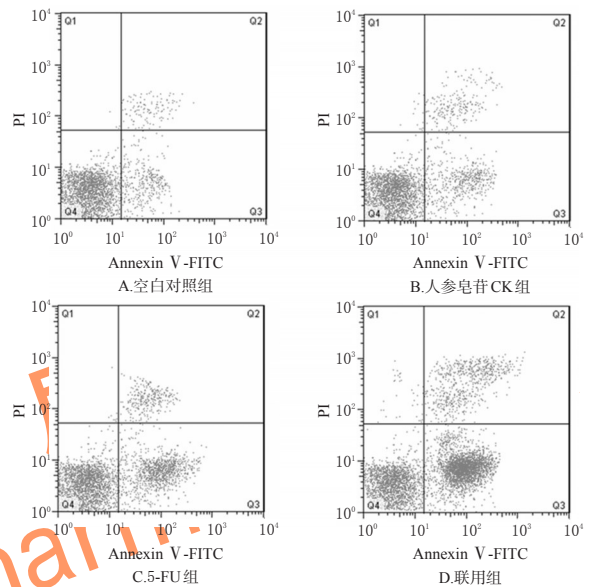


图1 各组细胞凋亡率的流式图

Fig 1 Flow cytometry chart of cell apoptosis rate in each group

表2 各组细胞凋亡率的测定结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 2 Determination results of cell apoptosis rate in each group($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	细胞凋亡率, %	
	早期	晚期
空白对照组	3.22 ± 0.47	2.39 ± 0.25
人参皂苷CK组	15.51 ± 2.34 [*]	7.28 ± 1.57 [*]
5-FU组	19.62 ± 3.68 [#]	9.34 ± 1.32 [#]
联用组	41.19 ± 6.64 ^{#Δ}	15.06 ± 2.40 ^{#Δ}

注: 与空白对照组比较, ^{*} $P < 0.05$; 与人参皂苷CK组比较, [#] $P < 0.05$; 与5-FU组比较, ^Δ $P < 0.05$

Note: vs. blank control group, ^{*} $P < 0.05$; vs. ginsenoside CK group, [#] $P < 0.05$; vs. 5-FU group, ^Δ $P < 0.05$

3.3 PANC-1细胞中纤连蛋白表达水平

与空白对照组比较, 人参皂苷CK组、5-FU组和联用组细胞作用24、48、72、96 h后细胞中纤连蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$), 且随着作用时间的增加, 表达水平逐渐降低。与人参皂苷CK组和5-FU组比较, 联用组细胞作用24、48、72、96 h后细胞中纤连蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$)。各组细胞中纤连蛋白表达的测

定结果见表3。

表3 各组细胞中纤连蛋白表达的测定结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 3 Determination results of fibronectin expression in cells in each group ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	纤连蛋白, ng/mL			
	24 h	48 h	72 h	96 h
空白对照组	74.50 ± 8.33	69.25 ± 7.59	70.38 ± 8.96	68.76 ± 8.21
人参皂苷CK组	66.64 ± 8.34*	60.02 ± 6.12*	54.07 ± 6.24*	48.84 ± 5.29*
5-FU组	63.58 ± 7.05*	52.92 ± 6.11**	45.49 ± 6.06**	35.21 ± 3.18**
联用组	52.82 ± 7.80*** ^Δ	43.40 ± 5.53*** ^Δ	32.48 ± 4.13*** ^Δ	28.66 ± 4.34*** ^Δ

注:与空白对照组比较, * $P < 0.05$; 与人参皂苷CK组比较, * $P < 0.05$; 与5-FU组比较, ^Δ $P < 0.05$

Note: vs. blank control group, * $P < 0.05$; vs. ginsenoside CK group, * $P < 0.05$; vs. 5-FU group, ^Δ $P < 0.05$

3.4 PANC-1 细胞中波形蛋白、N-钙黏蛋白及 E-钙黏蛋白表达水平

与空白对照组比较, 人参皂苷CK组、5-FU组和联用组细胞作用48 h后细胞中波形蛋白、N-钙黏蛋白表达水平均显著降低, E-钙黏蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$)。与人参皂苷CK组和5-FU组比较, 联用组细胞作用48 h后细胞中波形蛋白、N-钙黏蛋白表达水平显著降低, E-钙黏蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$)。各组细胞中波形蛋白、N-钙黏蛋白及 E-钙黏蛋白表达的电泳图见图2, 测定结果见表4。

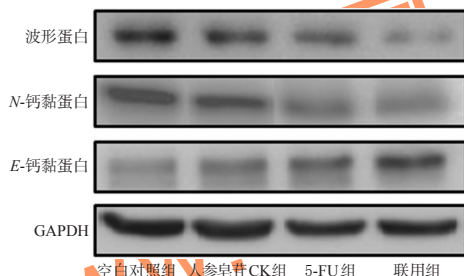


图2 各组细胞中波形蛋白、N-钙黏蛋白及 E-钙黏蛋白表达的电泳图

Fig 2 Electrophoresis charts of expressions of vimentin, N-cadherin and E-cadherin in cells in each group

表4 各组细胞中波形蛋白、N-钙黏蛋白及 E-钙黏蛋白表达的测定结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 4 Determination results of expressions of vimentin, N-cadherin and E-cadherin in cells in each group ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	波形蛋白/GAPDH	N-钙黏蛋白/GAPDH	E-钙黏蛋白/GAPDH
空白对照组	0.45 ± 0.06	0.62 ± 0.08	0.22 ± 0.04
人参皂苷CK组	0.33 ± 0.04*	0.51 ± 0.06*	0.30 ± 0.05*
5-FU组	0.26 ± 0.04**	0.38 ± 0.05**	0.35 ± 0.06**
联用组	0.21 ± 0.03*** ^Δ	0.29 ± 0.05*** ^Δ	0.43 ± 0.06*** ^Δ

注:与空白对照组比较, * $P < 0.05$; 与人参皂苷CK组比较, * $P < 0.05$; 与5-FU组比较, ^Δ $P < 0.05$

Note: vs. blank control group, * $P < 0.05$; vs. ginsenoside CK group, * $P < 0.05$; vs. 5-FU group, ^Δ $P < 0.05$

3.5 PANC-1 细胞中 Akt、p-Akt 蛋白表达

空白对照组、人参皂苷CK组、5-FU组和联用组细胞作用48 h后细胞中 p-Akt/Akt 分别为 0.45 ± 0.06 、 0.27 ± 0.02 、 0.25 ± 0.02 、 0.18 ± 0.01 。与空白对照组比较, 人参皂苷CK组、5-FU组和联用组细胞中 p-Akt/Akt 均显著降低($P < 0.05$)。与人参皂苷CK组和5-FU组比较, 联用组细胞中 p-Akt/Akt 显著降低($P < 0.05$)。各组细胞中 Akt、p-Akt 蛋白表达的电泳图见图3。

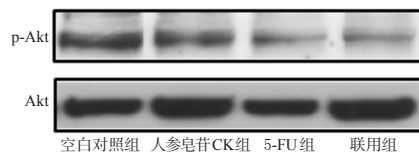


图3 各组细胞中 Akt、p-Akt 蛋白表达的电泳图
Fig 3 Electrophoresis charts of expressions of Akt, p-Akt protein in cells in each group

4 讨论

人参皂苷是人参的主要活性成分, 目前已分离、鉴定出40余种单体化合物, 而人参皂苷CK为二醇型皂苷, 是其他类型的二醇型人参皂苷在肠道内的活性代谢产物, 在天然人参中并不存在。研究表明, 人参的许多生物活性都与人参皂苷CK有关, 如人参皂苷Rb₁在肠道中很少被吸收, 只是以“天然活性前体”形式存在, 而人参皂苷CK才是被吸收和发挥生物学作用的真正活性物质^[6]。与其他人参皂苷单体比较, 人参皂苷CK的抗肿瘤活性和增强免疫活性是最强的, 且由于其具有较好的水溶性, 可以直接制成注射剂发挥作用, 因此得到了研究者越来越多的关注^[7]。人参皂苷CK的抗肿瘤作用报道较多, 其对膀胱癌、鼻咽癌、肝细胞癌、乳腺癌及结肠癌等均具有一定的抑制作用, 而对胰腺癌的抑制作用及与现有化疗药物联用的相关研究较少^[8]。本研究发现, 与空白对照组比较, 人参皂苷CK组、5-FU组和联用组的细胞增殖抑制率均显著升高, 且联用组高于人参皂苷CK组和5-FU组。有研究发现, 人参皂苷CK可以通过降低线粒体跨膜电位、增加细胞色素C释放、激活半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3(Caspase-3)等途径, 诱导前列腺癌PC-3细胞及人白血病HL-60细胞发生凋亡^[9]。由此可见, 人参皂苷CK的抗肿瘤作用主要是通过诱导肿瘤细胞凋亡而实现的。本研究结果表明, 与空白对照组比较, 人参皂苷CK组、5-FU组和联用组PANC-1细胞的早、晚期凋亡率均显著升高, 且联用组高于人参皂苷CK组和5-FU组。以上结果表明, 人参皂苷CK、5-FU均具有抑制PANC-1细胞增殖及诱导凋亡作用, 而联用的效果强于单用。

EMT是以上皮细胞特性丧失及间质细胞特性获得为特征, 是肿瘤细胞发生侵袭及转移的重要依据。纤连蛋白是参与细胞和基质以及细胞与细胞之间黏附、迁移的细胞外基质糖蛋白。在EMT进程中, 纤连蛋白表达

明显升高^[10]。本研究发现,与空白对照组比较,人参皂苷CK组、5-FU组和联用组的PANC-1细胞中纤连蛋白表达水平均显著降低,且联用组低于人参皂苷CK组和5-FU组。波形蛋白、N-钙黏蛋白和E-钙黏蛋白是EMT进程的重要标志性分子,在EMT进程中,波形蛋白、N-钙黏蛋白表达增加,E-钙黏蛋白表达降低^[11]。本研究进一步发现,与空白对照组比较,人参皂苷CK组、5-FU组和联用组PANC-1细胞中波形蛋白及N-钙黏蛋白表达水平均显著降低,而E-钙黏蛋白表达水平显著升高,且联用组效果较人参皂苷CK组和5-FU组更明显。以上结果表明,人参皂苷CK和5-FU均具有抑制EMT的作用,总体上两者联用效果强于单用。

在肿瘤细胞的增殖与凋亡过程中,磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/Akt信号通路扮演着重要角色,多数肿瘤细胞中的PI3K/Akt信号通路处于活化状态^[12]。PI3K可促使Akt发生磷酸化,当PI3K/Akt信号通路处于活化状态时,Akt的磷酸化形式p-Akt的比例升高,反之降低。多种化疗药物均可以通过阻断PI3K/Akt信号通路而发挥抗肿瘤作用^[13]。此外,PI3K/Akt信号通路的激活可以促进EMT的发生。研究证实,抑制PI3K/Akt信号通路的激活可以抑制乳腺癌MCF-7细胞和BT-20细胞的EMT进程^[14-15]。本研究发现,与空白对照组比较,人参皂苷CK组、5-FU组和联用组细胞中p-Akt/Akt均显著降低,且联用组低于人参皂苷CK组和5-FU组。以上结果提示,抑制PANC-1细胞的PI3K/Akt信号通路活化可能是人参皂苷CK、5-FU及二者联合给药发挥抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡及抑制EMT进程的潜在机制之一。

综上所述,人参皂苷CK和5-FU对人胰腺癌PANC-1细胞均具有抑制增殖、诱导凋亡及抑制EMT的作用,该作用可能与抑制PI3K/Akt信号通路活化有关,且两者联用时效果更好。

参考文献

[1] Kimbara S, Kondo S. Immune checkpoint and inflammation as therapeutic targets in pancreatic carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(33): 7440-7452.

[2] Li Z, Wang N, Huang C, et al. Downregulation of caveolin-1 increases the sensitivity of drug-resistant colorectal cancer HCT116 cells to 5-fluorouracil[J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(1): 483-487.

[3] Zheng ZZ, Ming YL, Chen LH, et al. Compound K-induced apoptosis of human hepatocellular carcinoma MHCC97-H cells in vitro[J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(1): 325-331.

[4] 管振华,李学良.榄香烯乳联合5-氟尿嘧啶对人胃癌细胞AGS增殖的抑制作用研究[J]. *中国药房*, 2014, 25(25):

2332-2334.

[5] 冯怡锟,付春景,黄幼田,等.丹皮酚联合5-FU对食管癌EC9706细胞增殖及凋亡的影响[J]. *世界华人消化杂志*, 2010, 18(7): 646-651.

[6] Upadhyaya J, Kim MJ, Kim YH, et al. Enzymatic formation of compound-K from ginsenoside Rb1 by enzyme preparation from cultured mycelia of *Armillaria mellea*[J]. *J Ginseng Res*, 2016, 40(2): 105-112.

[7] 邓晶,蒋永新.人参皂苷CK抗肿瘤活性研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2009, 17(11): 2234-2236.

[8] Wang H, Jiang D, Liu J, et al. Compound K induces apoptosis of bladder cancer T24 cells via reactive oxygen species-mediated p38 MAPK pathway[J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2013, 28(8): 607-614.

[9] Kang KA, Piao MJ, Kim KC, et al. Compound K, a metabolite of ginseng saponin, inhibits colorectal cancer cell growth and induces apoptosis through inhibition of histone deacetylase activity[J]. *Int J Oncol*, 2013, 43(6): 1907-1914.

[10] 郭猛,魏艳霞,任佳伟,等.青蒿素联合顺铂对胃癌细胞增殖、凋亡及上皮间质转化的影响[J]. *中成药*, 2016, 38(2): 431-434.

[11] Agajanian M, Runa F, Kelber JA. Identification of a PEAK1/ZEB1 signaling axis during TGF β /fibronectin-induced EMT in breast cancer[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 465(3): 606-612.

[12] Gu HZ, Lin RR, Wang HC, et al. Effect of momordica charantia protein on proliferation, apoptosis and the AKT signal transduction pathway in the human endometrial carcinoma Ishikawa H cell line in vitro[J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(5): 3032-3038.

[13] Peng Y, Pu J, Tang C, et al. Curcumin inhibits heat-induced apoptosis by suppressing NADPH oxidase 2 and activating the Akt/mTOR signaling pathway in bronchial epithelial cells[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(5): 2091-2103.

[14] Wang R, Song Y, Liu X, et al. UBE2C induces EMT through Wnt/ β -catenin and PI3K/Akt signaling pathways by regulating phosphorylation levels of Aurora-A[J]. *Int J Oncol*, 2017, 50(4): 1116-1126.

[15] Yang Z, Xie H, He D, et al. Infiltrating macrophages increase RCC epithelial mesenchymal transition (EMT) and stem cell-like populations via AKT and mTOR signaling[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(28): 44478-44491.

(收稿日期:2017-03-06 修回日期:2017-06-09)

(编辑:邹丽娟)