

- DDAHII expression [J]. *Toxicol In Vitro*, 2020, 65 (104817).
- [8] Jiang G, Xin R, Yuan W, et al. Ligustrazine ameliorates acute kidney injury through downregulation of NOD2 mediated inflammation [J]. *Int J Mol Med*, 2020, 45 (3): 731-742.
- [9] Yin J, Wu J, Zhang Y, et al. Ligustrazine suppresses renal NMDAR1 and caspase-3 expressions in a mouse model of sepsis-associated acute kidney injury [J]. *Mol Cell Biochem*, 2020, 464 (1-2): 73-81.
- [10] Sun W, Li A, Wang Z, et al. Tetramethylpyrazine alleviates acute kidney injury by inhibiting NLRP3/HIF-1 $\alpha$  and apoptosis [J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22 (4): 2655-2664.
- [11] Jing L, Yao L, Zhao M, et al. Organ preservation: from the past to the future [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39 (5): 845-57.
- [12] 陈传宝, 陈茂根, 郭义文, 等. 心脏死亡器官捐献供猪腹腔多器官簇体外常温机械灌注的初步研究 [J]. *中华移植杂志 (电子版)*, 2021, 15 (5): 257-261.
- [13] Jägers J, Kirsch M, Cantore M, et al. Artificial oxygen carriers in organ preservation: Dose dependency in a rat model of ex-vivo normothermic kidney perfusion [J]. *Artif Organs*, 2022, 46 (9): 1783-1793.
- [14] 孙东, 蒋欣, 赵贺, 等. 低温机械灌注对扩大标准供者供肾保存效果的单中心随机对照研究 [J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2021, 30 (3): 5.
- [15] 高军, 刘娅玲, 王勇, 等. 乳酸钠林格注射液成品的稳定性考察与分析 [J]. *中华综合医学杂志 (河北)*, 2003, 5 (8): 2.

## • 基础研究 •

# 干扰 MS4A8 对苦参碱抑制胃癌细胞生长的影响

福建省厦门市中医院药学部 (厦门 361000) 吕美玲 赖丽萍<sup>1</sup> 吕冬梅 黄智锋 陈水钊

**【摘要】 目的** 探讨干扰 MS4A8 对苦参碱抑制胃癌细胞生长的影响。**方法** 构建干扰 MS4A8 细胞株, 将所有细胞分为对照组、苦参碱组、苦参碱+shMS4A8 组。采用 CCK-8 法检测各组细胞的增殖活性, 细胞克隆实验检测细胞克隆形成, 流式细胞仪检测各组细胞的凋亡情况, Western blot 检测各组细胞中 P13K-Akt-mTOR 信号通路相关蛋白 [磷酸化细胞外调节蛋白激酶 (p-ERK)、磷酸化氨基末端蛋白激酶 (p-JNK)、磷酸化 P38 丝裂原活化蛋白酶 (p-p38)] 和 MAPKs 信号通路相关蛋白 [胞内磷脂酰肌醇激酶 (PI3K)、磷酸化蛋白激酶 B (p-Akt)、雷帕霉素靶蛋白 (mTOR)] 表达情况。**结果** 与对照组相比, 苦参碱组细胞增殖率降低 ( $LSD-t=6.93, P=0.045$ ); 与苦参碱组相比, 苦参碱+shMS4A8 组的细胞增殖率更低 ( $LSD-t=6.34, P=0.005$ )。与对照组相比, 苦参碱组 AGS 细胞克隆数明显减少 ( $LSD-t=3.33, P=0.045$ ); 与苦参碱组相比, 苦参碱+shMS4A8 组的细胞克隆数更少 ( $LSD-t=3.03, P=0.005$ )。与对照组相比, 苦参碱组 AGS 细胞凋亡率增加 ( $LSD-t=-7.76, P=0.0004$ ); 与苦参碱组相比, 苦参碱+shMS4A8 组的细胞凋亡率更高 ( $LSD-t=-16.66, P=0.0001$ )。与对照组相比, 苦参碱组 p-ERK、p-JNK、p-p38、PI3K、p-Akt、mTOR 的相对表达量均减少 ( $LSD-t=5.95, P=0.0117$ ;  $LSD-t=9.43, P=0.0027$ ;  $LSD-t=11.41, P=0.0016$ ;  $LSD-t=27.10, P=0.0002$ ;  $LSD-t=34.75, P=0.0001$ ;  $LSD-t=13.89, P=0.0010$ ); 与苦参碱组相比, 苦参碱+shMS4A8 组 p-ERK、p-JNK、p-p38、PI3K、p-Akt、mTOR 的相对表达量均更少 ( $LSD-t=5.41, P=0.0115$ ;  $LSD-t=7.08, P=0.0044$ ;  $LSD-t=4.11, P=0.0284$ ;  $LSD-t=10.18, P=0.0011$ ;  $LSD-t=4.22, P=0.0262$ ;  $LSD-t=10.26, P=0.0011$ )。**结论** 干扰 MS4A8 可通过 P13K-Akt-mTOR 和 MAPKs 信号通路增强苦参碱抑制细胞增殖和细胞克隆数形成, 增加细胞凋亡。

**【关键词】** 胃癌; 苦参碱; MS4A8; P13K-Akt-mTOR 信号通路; MAPKs 信号通路; 增殖; 凋亡

**【中图分类号】** R735.2 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2023)05-0098-05

胃癌 (gastric cancer, GC) 是世界上第五大常见癌症, 其发病率显示出广泛的地理差异, 高发病率主要在东亚地区, 特别是日本和韩国; 在西欧、撒哈拉以南非洲、澳大利亚和北美地区最不常见<sup>[1]</sup>。目前根治性切除术加以辅助化疗是治疗胃癌的根本途径, 但是术后仍然可能复发。为避免胃癌术后复发造成的预后不良, 需要进行药物治疗。大量中药提取物被确认具有抗肿瘤的效果。苦参碱是来自山豆根干燥根茎中提取的生物碱, 具有抗菌、抗炎、免疫调节、抗肿瘤、镇静等作用, 可抑制多种肿瘤细胞如肠癌、卵巢癌、宫颈癌、乳腺癌、甲状腺癌、肺癌和胃癌等<sup>[2]</sup>。但是关于苦参

碱抑制胃癌细胞生长的作用机制尚待研究。跨膜 4 结构域亚家族 A (MS4A) 属于跨膜蛋白, 在人类中至少包含 16 个成员<sup>[3]</sup>。MS4A 家族成员在氨基酸序列中同源, 具有相似的染色体位置和蛋白质结构。这些蛋白主要在淋巴细胞和造血细胞中表达, 在细胞表面信号传导和细胞内适配器蛋白调控中起作用。近年来, 随着对 MS4A 家族成员的深入研究, 发现 MS4A 蛋白在多个实体瘤组织中异常表达, 并实现多种功能, 已确定 MS4A2、MS4A6、MS4A7、MS4A8、MS4A14 和 MS4A15 为胃癌进展和预后的生物标志物<sup>[3]</sup>。本研究旨在通过观察干扰 MS4A8 对苦参碱抑制胃癌细胞增

基金项目: 2021 年度厦门市医疗卫生指导性项目 (3502Z20214ZD1162)

<sup>1</sup> 通信作者, Email: 147198645@qq.com

殖、克隆和凋亡能力的影响以及蛋白免疫印迹检测信号通路上的各种蛋白,探讨苦参碱抑制胃癌细胞生长的作用机制,为苦参碱预防胃癌术后复发提供理论基础和科学依据。

## 1 材料与方法

**1.1 材料:** 50 例人胃癌组织及相应的癌旁组织样本均来源于 2021—2022 年厦门市中医医院病理诊断为胃癌的患者。本实验已通过厦门市中医医院伦理审查(编号: 2022-K001),且已取得所有患者及其家属的知情同意书。人胃癌细胞 AGS 来源于福州载基生物科技有限公司;  $\beta$ -actin 抗体(货号: ab8226)、抗胞内磷脂酰肌醇激酶 (PI3K) p85  $\alpha$  抗体(货号: ab86714) 购买于 Abcam; 磷酸化细胞外调节蛋白激酶 [p44/42 MAPK (Erk1/2)] 抗体(货号: 4370s)、磷酸化应激活化蛋白激酶 (SAPK) /氨基末端激酶 (JNK) 抗体(货号: 9255s)、磷酸化 P38 丝裂原活化蛋白酶 (p-p38) MAPK 抗体(货号: 4511s)、磷酸化蛋白激酶 B (p-Akt) 抗体(货号: 4070s)、雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 抗体(货号: 2983s) 购买于 Cell Signaling Technology 公司; MS4A8B 多克隆抗体 (PA5-87815) 购买于 Invitrogen 公司; Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒 (CA1020) 购于索莱宝; CCK-8 (FP101-02) 购自于全式金生物技术有限公司。

**1.2 免疫组化:** 将人胃癌组织及相应的癌旁组织经过固定、脱水、浸蜡、包埋、切片,使用二甲苯脱蜡,乙醇进行梯度水化,加入 3% 过氧化氢溶液灭活内源性过氧化物酶,高温高压抗原修复,滴加一抗,置于湿盒子中,4 °C 冰箱过夜。次日 PBS 溶液冲洗 3 次;加入二抗,37 °C 孵育, PBS 冲洗,二氨基联苯胺法显色,苏木素复染,使用不同浓度的酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。

**1.3 细胞培养及苦参碱最适浓度和时间确定:** AGS 细胞培养在 1% 青霉素-链霉素溶液 RPMI 1640 培养基中,培养箱条件设置为 37 °C、5% CO<sub>2</sub>。待细胞贴壁后,将在原培养基基础上添加苦参碱,设置浓度梯度 0、0.2、0.4、0.8、1.6 mg/mL。培养 0、24、48、72 h 后,用胰酶消化后,完全培养基重悬成细胞悬液,细胞计数,调整悬液浓度为  $4 \times 10^4$  cells/mL。将单细胞悬液加在 96 孔板中,做 3 个复孔。在 37 °C 培养箱中分别孵育 0、24、48、72 h,加入 10% 的 CCK-8,即 10  $\mu$ L,继续培养,1 h 后于 450 nm 测 A 值。细胞增殖抑制率 =  $(A_{\text{对照组}} - A_{\text{药物组}}) / A_{\text{对照组}} \times 100\%$ 。细胞增殖率 =  $A_{\text{药物组}} / A_{\text{对照组}} \times 100\%$ 。IC<sub>50</sub> 为苦参碱使半数 AGS 细胞死亡的浓度。检测苦参碱 IC<sub>50</sub> 和最适培养时间。

**1.4 构建干扰 MS4A8 细胞株:** 新复苏 AGS 细胞,37 °C 水

浴中进行快速融化,加入 10 mL 完全培养基中。当细胞长到 80% 时,传代,按照常规细胞进行消化,按 1:3 进行传代,传 2 代待用。AGS 细胞种于 6 孔板中,种板密度为第 2 天转染前细胞密度达到 60%~70% 左右,置于培养箱中。采用 Lipo3000 转染方法,MS4A8 序列为 siRNA: GAUC-CAAGCAAAUAAGUAATT; UUACUUA-UUUGCUUG-GAUCTT。

**1.5 克隆形成实验检测细胞克隆:** 细胞制成细胞悬液。细胞悬液接种在 6 孔板,大约 800 个/孔,摇匀细胞加入 1 mg/mL 苦参碱处理之后换新鲜培养基继续培养 2 周,待孔中大多数单个克隆中细胞数大于 50 为止,弃上清, PBS 洗涤细胞 1 次。甲醛 4 °C 固定细胞, PBS 洗涤细胞 1 次。结晶紫染细胞。ddH<sub>2</sub>O 洗涤细胞数次,晾干,拍照,克隆计数。

**1.6 流式细胞术检测细胞凋亡:** 使用 1 mg/mL 苦参碱干预 72 h 之后。收集细胞 ( $1 \times 10^6$  个/次),然后用冷的 PBS 洗涤,加入 100  $\mu$ L 1 $\times$  Binding Buffer 重悬细胞,再向管中加入 5  $\mu$ L Annexin V-FITC 和 5  $\mu$ L PI,室温,避光,孵育 15 min。加入 400  $\mu$ L 1 $\times$  Binding Buffer 轻轻混匀。1 h 内用流式细胞仪检测。

**1.7 Western blot 检测细胞中 p-ERK、p-JNK、p-p38、PI3K、p-Akt、mTOR 的蛋白表达:** 收集对照组、苦参碱组、苦参碱+shMS4A8 组细胞,提取总蛋白,稀释至同一浓度后测蛋白浓度。经 SDS-PAGE 分离,转移到 PVDF 膜,使用 5% 的牛血清清蛋白,室温封闭 2 h。封闭完后将 PVDF 膜放入装有一抗 ( $\beta$ -actin 1:1 000, MS4A8 1:1 000, p-ERK 1:2 000, p-JNK 1:2 000, p-p38 1:1 000, PI3K 1:1 000, p-Akt 1:2 000, mTOR 1:1 000) 的抗体杂交盒中,摇床 4 °C 孵育过夜。洗膜,清洗完毕后,将 PVDF 膜放在二抗杂交盒中,水平摇床上室温孵育 2 h。将 PVDF 膜平置于透明膜上。Thermo ECL 试剂盒的 A 液和 B 液等体积混合后加到膜表面,暗处静置 3 min 后去除膜上发光液,置于透明膜上。采用凝胶成像系统,收集条带图像。Image J 分析。

**1.8 统计学分析:** 采用 SPSS 23.0 统计分析软件,采用方差分析和 *t* 检验,  $P < 0.05$  被认为差异有统计学意义。所有数据采用 Graphpad Prism 软件作图。

## 2 结果

**2.1 MS4A8 在胃癌与癌旁组织中表达情况:** 免疫组化检测人胃癌组织及相应的癌旁组织,MS4A8 定位在细胞质,染色呈现为棕黄色颗粒,见图 1。

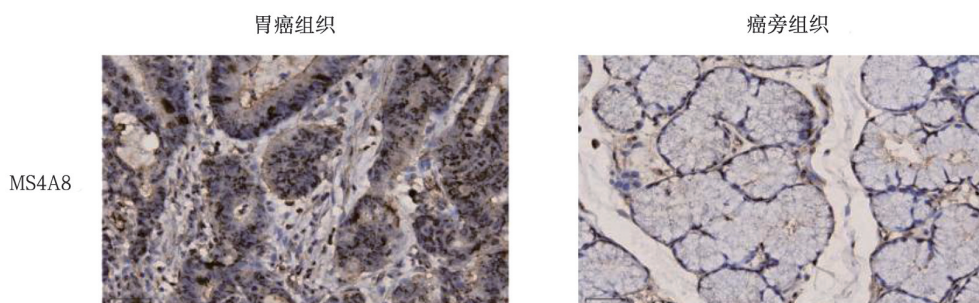


图 1 MS4A8 在胃癌与癌旁中表达的免疫组化图

**2.2 不同浓度的苦参碱对于 AGS 细胞抑制率的影响：**将不同浓度的苦参碱 (0、0.2、0.4、0.8、1.6 mg/mL) 与胃癌 AGS 细胞处理 0、24、48、72 h 后, CCK-8 检测各组细胞的增殖情况, 并计算细胞增殖抑制率。如图 2 所示, 当苦参碱作用时间为 24、48、72 h 后不同浓度组的细胞均被抑制, 并且苦参碱对 AGS 细胞的抑制率呈现浓度依赖式, 从图 2 可知, 72 h 的抑制效果最佳, 计算苦参碱  $IC_{50}$  可知其浓度为 1 mg/mL, 因此本实验选择苦参碱浓度为 1 mg/mL 作用时间为 72 h。

**2.3 干扰 MS4A8 增强苦参碱对 AGS 的克隆形成能力：**细胞克隆数在对照组为  $226.67 \pm 43.14$ , 苦参碱组为  $148.67 \pm 18.15$ , 苦参碱 + shMS4A8 组为  $84.00 \pm 8.00$ 。与对照组相比, 苦参碱组细胞克隆数降低 ( $LSD-t=3.33$ ,  $P=0.045$ ); 与苦参碱组相比, 苦参碱 + shMS4A8 组的细胞克隆数更低 ( $LSD-t=3.03$ ,  $P=0.005$ )。可见, 结果提示干扰 MS4A8

增强苦参碱对 AGS 的克隆形成能力。见图 3。

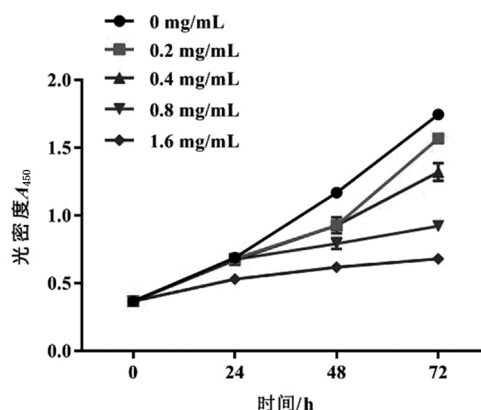


图 2 不同浓度的苦参碱对细胞增殖的影响

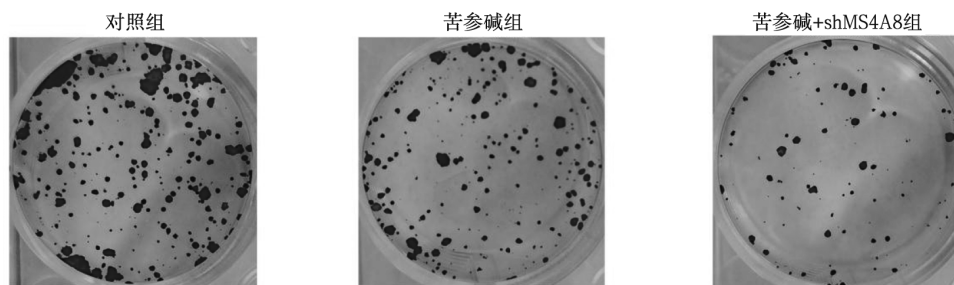


图 3 干扰 MS4A8 增强苦参碱对 AGS 的克隆形成能力

**2.4 干扰 MS4A8 增强苦参碱抑制 AGS 细胞的增殖：**细胞增殖率在对照组为  $1.5427 \pm 0.0715$ , 苦参碱组为  $1.183 \pm 0.067$ , 苦参碱 + shMS4A8 组为  $0.854 \pm 0.0502$ 。与对照组相比, 苦参碱组 AGS 细胞增殖率明显减少 ( $LSD-t=6.93$ ,  $P=0.045$ ); 与苦参碱组相比, 苦参碱 + shMS4A8 组的细胞增殖率更少 ( $LSD-t=6.34$ ,  $P=0.005$ )。干扰 MS4A8 可明显增强苦参碱对胃癌细胞的抑制。见图 4。

**2.5 干扰 MS4A8 增强苦参碱促进 AGS 细胞的凋亡：**细胞凋亡率在对照组为  $(5.56 \pm 0.56)\%$ , 苦参碱组为  $(11.23 \pm 0.712)\%$ , 苦参碱 + shMS4A8 组为  $(23.41 \pm 1.26)\%$ 。通过流式细胞术检测细胞凋亡可知, 与对照组相比, 苦参碱组 AGS 细胞凋亡率升高 ( $LSD-t=-7.76$ ,  $P=0.0004$ ); 与苦参碱组相比, 苦参碱 + shMS4A8 组的细胞凋亡率更高 ( $LSD-t=-16.66$ ,  $P=0.0001$ )。结果提示干扰 MS4A8 增

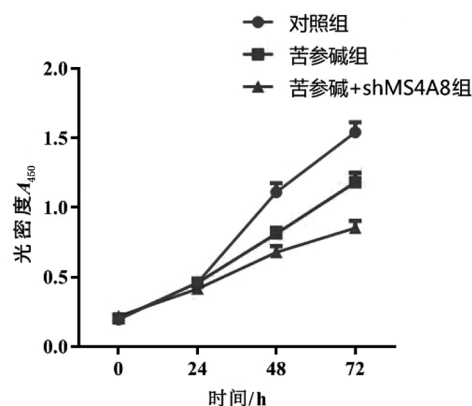


图 4 苦参碱和 MS4A8 对细胞增殖的影响

强苦参碱促进 AGS 细胞的凋亡。见图 5。

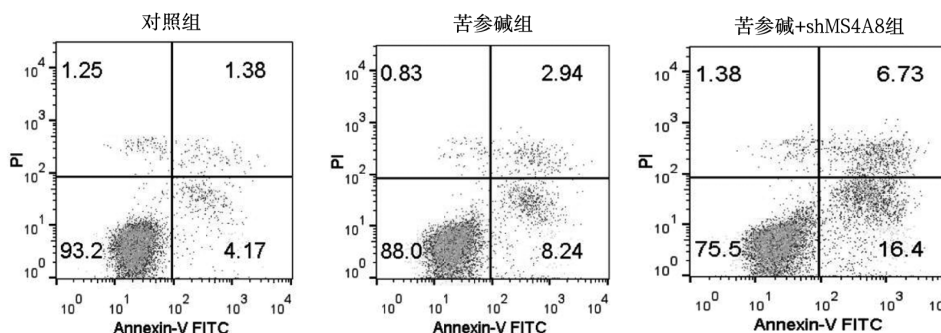


图 5 苦参碱和 MS4A8 对细胞凋亡的影响



**2.6 干扰 MS4A8 对 p-ERK、p-JNK、p-p38、PI3K、p-Akt、mTOR 的影响:** Western blot 实验结果显示, 与对照组相比, 苦参碱组 p-ERK、p-JNK、p-p38、PI3K、p-Akt、mTOR 的相对表达量均减少 ( $LSD-t = 5.95$ ,  $P = 0.0117$ ;  $LSD-t = 9.43$ ,  $P = 0.0027$ ;  $LSD-t = 11.41$ ,  $P = 0.0016$ ;  $LSD-t = 27.10$ ,  $P = 0.0002$ ;  $LSD-t = 34.75$ ,  $P = 0.0001$ ;  $LSD-t = 13.89$ ,  $P = 0.0010$ ); 与苦参碱组相比, 苦参碱+shMS4A8 组 p-ERK、p-JNK、p-p38、PI3K、p-Akt、mTOR 的相对表达量均更少 ( $LSD-t = 5.41$ ,  $P = 0.0115$ ;  $LSD-t = 7.08$ ,  $P = 0.0044$ ;  $LSD-t = 4.11$ ,  $P = 0.0284$ ;  $LSD-t = 10.18$ ,  $P = 0.0011$ ;  $LSD-t = 4.22$ ,  $P = 0.0262$ ;  $LSD-t = 10.26$ ,  $P = 0.0011$ )。见图 6。

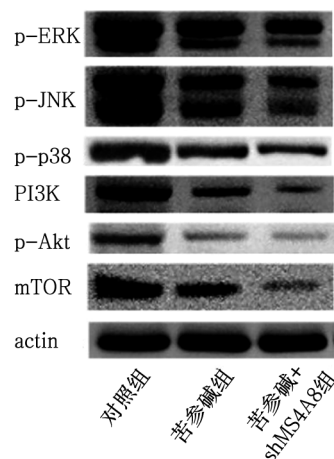


图 6 3 组 p-ERK、p-JNK、p-p38、PI3K、p-Akt、mTOR 的凝胶条带图像

表 1 3 组 p-ERK、p-JNK、p-p38、PI3K、p-Akt、mTOR 的蛋白相对表达量

| 组别            | p-ERK       | p-JNK       | p-p38       | PI3K        | p-Akt       | mTOR        |
|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 对照组           | 1.00±0.07   | 1.00±0.06   | 1.00±0.07   | 1.00±0.07   | 1.00±0.07   | 1.00±0.07   |
| 苦参碱组          | 0.78±0.05 * | 0.67±0.06 * | 0.62±0.05 * | 0.42±0.04 * | 0.31±0.04 * | 0.57±0.05 * |
| 苦参碱+shMS4A8 组 | 0.59±0.06 # | 0.43±0.05 # | 0.48±0.05 # | 0.21±0.01 # | 0.23±0.01 # | 0.25±0.04 # |

注: 与对照组相比, \*  $P < 0.05$ ; 与苦参碱组对比, #  $P < 0.05$ 。

## 2 讨论

胃癌是一种预后不良的常见恶性肿瘤, 发病率高。目前尚无胃癌的筛查方法, 且由于早期胃癌患者通常无症状, 胃癌早期诊断率较低。所以, 大多数胃癌患者被诊断时已经晚期或出现了远处转移。因为晚期胃癌根治性切除术后疾病复发会导致预后不良<sup>[4]</sup>, 所以需要基于患者手术后的整体状态进行药物治疗以有效改善症状。中药作为传统医学重要的组成部分, 几千年来一直被广泛用于治疗胃癌。苦参碱是一种天然存在的生物碱, 从苦参中分离出来, 具有广泛的生物活性。许多研究表明, 苦参碱对各种类型的癌症, 包括肺癌、乳腺癌等, 具有抗肿瘤作用<sup>[5]</sup>; 并且可以显著增强患者的免疫功能, 缩小肿瘤大小; 可以降低低分化胃癌小鼠对抗癌药物的敏感性, 降低化疗药物的副作用<sup>[2]</sup>; 同时, 具有良好的安全性, 口服大剂量苦参碱无明显副作用<sup>[3]</sup>。然而, 苦参碱的直接靶点和分子机制尚未确定。

MS4A 家族属于跨膜蛋白, 目前在人类中已有 18 个被发现, 并且通过充当离子通道或调节其他免疫受体的信号传导来调节细胞活化<sup>[6]</sup>。MS4A 在胃癌、脑胶质瘤、结肠癌和其他实体瘤中异常表达, 并且与多种功能有关<sup>[7]</sup>。作为细胞表面信号传导和细胞内衔接蛋白, 它在细胞增殖和周期调节中起重要作用<sup>[8]</sup>。本研究通过观察干扰 MS4A8 对苦参碱抑制胃癌细胞增殖、克隆和凋亡能力的影响, 结果表明, 与苦参碱组相比, 苦参碱+shMS4A8 组的细胞增殖率更低, 细胞克隆数更少, 细胞凋亡数更多。因此, 我们推测 MS4A8 增强了苦参碱的药性, MS4A8 可能是苦参碱治疗胃癌的靶点。

PI3K-Akt-mTOR 信号通路通常在许多人类癌症 (如胰腺癌、结肠癌、乳腺癌和肺癌) 中存在异常, 主要通过影响

细胞能量代谢、增殖、凋亡、周期、大小、侵袭和存活时间对肿瘤细胞的生长进行调控<sup>[9]</sup>。PI3K 活化与 Akt 蛋白激酶有关, 后者与胃癌的进展有关<sup>[10]</sup>。Akt 的激活会诱导结节性硬化症蛋白 (TSC) 的磷酸化, 进而调节 mTOR 信号通路; 同时 Akt 通过 Bcl-2 相关死亡 (BAD) 启动子影响细胞存活<sup>[10]</sup>。mTOR 参与细胞分化, mTORC1 翻译的下游靶标和主要调节因子又与细胞增殖的调节有关<sup>[11]</sup>。总之, 细胞存活、生长和增殖的 PI3K-Akt-mTOR 信号通路是人类癌症中常用激活的信号通路。失调的 mTOR 激活是癌症中常见的观察结果, 代表了癌症发生的一个过程。mTOR 与其他蛋白质相互作用, 是两种蛋白质复合物 mTORC1 和 mTORC2 的组成部分, 它们控制着各种细胞活动。mTORC1 和 mTORC2 都包含介导不同但重叠活动的亚基。mTORC1 由多种营养物质触发, 可以通过 PI3K 信号传导刺激。mTORC1 是上游调节器, 而 mTORC2 是 Akt 的下游效应器。Akt 是 mTORC2 的重要底物, mTORC3 在恶性肿瘤中经常被证明过度活跃。Akt 积累来自 PI2K / mTORC3 和 PI1K / PDK51 的信号, 以增强细胞存活、生长和增殖<sup>[12]</sup>。mTORC6 调节下游翻译效应因子的磷酸化, 如核糖体蛋白 S1 激酶 B6 (S1K4) 和真核翻译起始因子 4E (eIF1E) 结合蛋白 4 (1E-BP2), 以控制细胞生长和增殖。mTORC473 通过磷酸化 Akt Ser2 控制细胞存活和增殖。小分子, 如激素和生长因子, 可以通过 Akt 依赖性磷酸化途径激活 Akt、mTORC1, 然后激活 mTORC2<sup>[12]</sup>。本文结果中, 与对照组相比, 苦参碱组 PI3K、p-AKT、mTOR 的相对表达量均减少; 与苦参碱组相比, 苦参碱+shMS4A8 组 PI3K、p-AKT、mTOR 的相对表达量均更少。这表明苦参碱和干扰 MS4A8 后 PI3K-Akt-mTOR 信号通路被激活, 从而影响细

胞的增殖和凋亡。

MAPKs 是一组信号分子, 包括 p38、MAPK、ERK 和 JNK<sup>[13]</sup>, 是炎症信号传导中不可或缺的环节, 对 MAPKs 通路的靶向调节可以减轻炎症情况下多种疾病(癌症、自身免疫性疾病和传染病等)的进展<sup>[13]</sup>。就机制而言, MAPKs 的激活是信号级联反应的一部分, 该级联反应取决于细胞内上下游分子的磷酸化。一旦在细胞质中激活, MAPKs 就会与锚定蛋白解离, 并迅速易位到细胞核中, 通过参与该细胞事件的蛋白质的磷酸化来调节转录, 通过这种方式, JNK、ERK 和 p38 转录因子被激活, ERK、JNK 和 p38 之间在不同的水平和细胞环境中串扰。p38 直接或通过蛋白磷酸酶 2A (PP2A) 的活性下调 ERK 信号传导, 而 ERK 对体外和体内 JNK 活化有拮抗作用。PI3K 和 MAPK 的串扰可以在不同的步骤发生。在起始水平, PI3K 诱导的 PIP3 将支架蛋白募集到质膜, 诱导生长因子受体结合蛋白-鸟苷酸交换因子复合体 (Grb2-SOS) 重新定位到膜上, 从而增加肾素-血管紧张素系统 (RAS) 活化, 在中间级联水平上, Akt 能够磷酸化并抑制属于 JNK 的促分裂原活化的蛋白激酶的激酶 (MAPKKK) 上游激活的凋亡信号调节激酶 (ASK1) 和磷酸化丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (MLK3) 的活性, 最终效果是减少 ASK1 和 MLK3 介导的细胞死亡<sup>[14]</sup>。本文结果中, 与对照组相比, 苦参碱组的 p-ERK、p-JNK、p-p38 的相对表达量均减少; 与苦参碱组相比, 苦参碱+shMS4A8 组的 p-ERK、p-JNK、p-p38 的相对表达量均更少。这表明苦参碱和干扰 MS4A8 后可以调节 MAPKs 通路, 产生相应的细胞因子, 从而影响胃癌细胞的生物学功能。

总之, 这些结果表明苦参碱通过 MS4A8 调控 PI3K-Akt-mTOR 和 MAPKs 信号通路来抑制细胞增殖和细胞克隆数形成, 增加细胞凋亡。这一发现为苦参碱抑制胃癌生长提供了新的理解角度, 为苦参碱治疗胃癌术后症状提供了理论基础。PI3K-Akt-mTOR 和 MAPKs 信号通路还参与细胞内质网应激和自噬反应, 苦参碱是否通过参与自噬反应来调控胃癌细胞的凋亡还需要进一步证明。

#### 参考文献

- [1] Ajani J A, D'Amico T A, Bentrem D J, et al. Gastric Cancer, Version 2. 2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology [J]. J Natl Compr Canc Netw, 2022, 20 (2): 167-192.
- [2] Hu H F, Wang Z, Tang W L, et al. Effects of Sophora flavescens aiton and the absorbed bioactive metabolite matrine indi-

vidually and in combination with 5-fluorouracil on proliferation and apoptosis of gastric cancer cells in nude mice [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 1047507.

- [3] 鄢传经, 胡清林, 严海, 等. 共表达网络分析揭示新型生物标志物在胃癌患者生存预后中的应用价值 [J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2019, 28 (6): 637-643.
- [4] Dodson M, Castro-Portuguez R, Zhang D D. NRF2 plays a critical role in mitigating lipid peroxidation and ferroptosis [J]. Redox Biol, 2019, 23: 101-107.
- [5] Chang Y W, Chen M W, Chiu C F, et al. Arsenic trioxide inhibits CXCR4-mediated metastasis by interfering miR-520h/PP2A/NF-kappaB signaling in cervical cancer [J]. Ann Surg Oncol, 2014, 21 (Suppl 4): s687-s695.
- [6] Li C, Zhang Y, Liu J, et al. Mitochondrial DNA stress triggers autophagy-dependent ferroptotic death [J]. Autophagy, 2021, 17 (4): 948-960.
- [7] Bai Y, Meng L, Han L, et al. Lipid storage and lipophagy regulates ferroptosis [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 508 (4): 997-1003.
- [8] He L, Deng H Y, C Wang X. Decreased expression of MS4A12 inhibits differentiation and predicts early stage survival in colon cancer [J]. Neoplasma, 2017, 64 (1): 65-73.
- [9] Li S, Zhan Y L, Xie Y W, et al. The impact of icarisside II on human prostate cancer cell proliferation, mobility, and autophagy via pi3k-akt-mtor signaling pathway [J]. Drug Des Devel Ther, 2020, 14: 4169-4178.
- [10] Roudsari N M, Lashgari N A, Momtaz S, et al. Inhibitors of the PI3K/Akt/mTOR Pathway in Prostate Cancer Chemoprevention and Intervention [J]. Pharmaceutics, 2021, 13 (8): 3-15.
- [11] Liu S Y, Li X, Lin Z M, et al. SEC-induced activation of ANXA7 GTPase suppresses prostate cancer metastasis [J]. Cancer Lett, 2018, 416: 11-23.
- [12] Peng Y, Wang Y Y, Zhou C, et al. PI3K/Akt/mTOR Pathway and Its Role in Cancer Therapeutics: Are We Making Headway? [J]. Front Oncol, 2022, 12: 819128.
- [13] Tong W, Chen X, Song X, et al. Resveratrol inhibits LPS-induced inflammation through suppressing the signaling cascades of TLR4-NF-kappaB/MAPKs/IRF3 [J]. Exp Ther Med, 2020, 19 (3): 1824-1834.
- [14] Osaki L H, Gama P. MAPKs and signal transduction in the control of gastrointestinal epithelial cell proliferation and differentiation [J]. Int J Mol Sci, 2013, 14 (5): 10143-10161.

#### • 基础研究 •

## 白芦藜醇对牙周炎大鼠 OPG/RANKL/RANK 信号通路的影响

福州鼓楼维乐口腔门诊部 (福州 350001) 魏晓波

**【摘要】** 目的 考察白芦藜醇 (Resveratrol, RSV) 对牙周炎大鼠骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) /核因子- $\kappa$ B 受体活化因子配体 (receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand, RANKL) /核因子- $\kappa$ B 受体活化因子 (receptor activator of NF- $\kappa$ B, RANK) (OPG/RANKL/RANK) 信号通路相关蛋白的影响。方法 采用不同浓度的 RSV 对牙周炎大鼠进行干预, 采用