

• 基础研究 •

NCAPG 对大肠癌细胞 HCT116 增殖和凋亡的影响

汪家航¹ 林明强¹ 张捷平²

【摘要】 目的 探讨非染色体结构维持蛋白复合体 I G 亚基 (Non-SMC condensin I complex subunit G, NCAPG) 对大肠癌细胞生长的作用和对增殖凋亡的影响。**方法** 敲减 NCAPG 的小干扰 RNA (si-NCAPG) 转染人大肠癌细胞株 HCT116, Western blot 检测 si-NCAPG 对大肠癌细胞中 NCAPG 蛋白表达的影响; 通过观察细胞形态、细胞活力评价 si-NCAPG 对大肠癌细胞生长的影响, 并筛选效果最好的序列用于后续实验。通过克隆形成、细胞周期和凋亡、Western blot 实验评价 si-NCAPG 对大肠癌细胞生长、周期和凋亡的影响。**结果** si-NCAPG 显著降低大肠癌细胞中 NCAPG 的蛋白表达 ($P < 0.05$), 抑制大肠癌细胞数目和细胞活力 ($P < 0.05$), 使细胞阻滞在 G₂/M 期 ($P < 0.05$), 并促进细胞凋亡 ($P < 0.05$)。敲减 NCAPG 降低 Cyclin B1、CDK1 和 Bcl-2 蛋白表达水平和升高 BAX 的蛋白表达水平 ($P < 0.05$)。**结论** 敲减 NCAPG 通过阻滞细胞在 G₂/M 期和促进细胞凋亡, 达到抑制大肠癌细胞生长的作用。

【关键词】 非染色体结构维持蛋白复合体 I G 亚基; 大肠癌; 细胞生长; 凋亡

【中图分类号】 R735.3⁺4 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1002-2600(2024)03-0094-06

Effects of NCAPG on the proliferation and apoptosis of colorectal cancer cell HCT116

WANG Jiahang¹, LIN Mingqiang¹, ZHANG Jieping²

¹ Department of Gastrointestinal Surgery, Fuzhou Second General Hospital, Fuzhou, Fujian 350025, China; ² Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350000, China

【Abstract】 Objective To investigate the effect and mechanism of Non-SMC condensin I complex subunit G (NCAPG) on the growth, proliferation and apoptosis of colorectal cancer cells (CRC). **Methods** siRNA-NCAPG was transfected into human colorectal cancer cell line HCT116 cells. The effect of si-NCAPG on the expression of NCAPG in HCT116 cells was detected by Western blot. The effect of si-NCAPG on the growth of HCT116 cells was evaluated by observing cell morphology and cell viability, and the best sequences were screened for subsequent experiments. The effects of si-NCAPG on the cell growth, cycle and apoptosis of HCT116 cells were evaluated by clonal formation, cell cycle, apoptosis, and western blot. **Results** si-NCAPG significantly decreased the expression of NCAPG protein level ($P < 0.05$), inhibited the cell number and cell viability ($P < 0.05$), induced cell cycle arrest in G₂/M phase ($P < 0.05$) and promoted cell apoptosis in HCT116 cells ($P < 0.05$). Knocking down NCAPG reduced expression levels of Cyclin B1, CDK1 and Bcl-2 protein and increased expression levels of BAX protein. **Conclusion** si-NCAPG significantly inhibits the growth of CRC by inducing cell cycle arrest at G₂/M phase and promoting cell apoptosis.

【Key words】 NCAPG; colorectal cancer; cell growth; apoptosis

癌症是世界范围内的主要公共卫生问题, 其危害重大。2020 年全球癌症数据显示, 大肠癌的发病率和死亡率在所有肿瘤中分别排第 3 位和第 2 位, 其新增病例和死亡病例分别超过 180 万和 86 万^[1-2], 防控形势严峻。因此, 探讨大肠癌的发病

机制, 发现潜在的靶标, 对大肠癌的早期诊断、预后评估具有重要意义。非染色体结构维持蛋白复合体 I G 亚基 (Non-SMC condensin I complex subunit G, NCAPG) 是集缩素复合体的重要组成单位, 负责染色体的聚缩与稳定^[3-6]。研究报道 NCAPG 与

基金项目: 2021 年福州市卫生健康中青年科学研究项目 (2021-S-wq19); 福建省创伤骨科急救与康复临床医学研究中心项目 (2020Y2014)

作者单位: 1 福州市第二总医院胃肠外科, 福州 350025; 2 福建中医药大学, 福州 350122

DOI: 10.20148/j.fmj.2024.03.030

大肠癌等多种肿瘤生长密切相关^[5-12]，但对大肠癌细胞增殖和凋亡的影响尚不清楚。因此，本研究拟通过小干扰 RNA 敲减 NCAPG (si-NCAPG)，探讨 NCAPG 对大肠癌细胞增殖和凋亡的影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

McCoy's 5A 培养液购买于江苏凯基生物技术有限公司；胎牛血清、0.25% 乙二胺四乙酸 (ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA) 胰酶、二辛可宁酸 (bicinchoninic acid, BCA) 蛋白定量试剂盒、FxCycle PI/RNase 染色液等购买自美国 Thermo Fisher Scientific 公司；Annexin V-PI 染色液和甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 抗体购买自中国 Abbkine 公司；siRNA 购买自广州锐博生物技术有限公司；结晶紫染色液购买自上海碧云天生物公司；细胞周期蛋白 B1 (CyclinB1) 抗体、细胞周期蛋白依赖性激酶 (cyclin-dependent protein kinase 1, CDK1) 抗体、B 淋巴细胞瘤-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 抗体和 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2-associated X protein, BAX) 抗体购买自美国 CST 公司。二抗 HRP 标记的羊抗兔 IgG 抗体购买自中国 SAB 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 从中国科学院细胞库购买人大肠癌细胞株 HCT116 细胞，细胞培养采用 10% 胎牛血清 McCoy's 5A 培养液，置于含 37℃、5% CO₂ 的培养箱中，选择对数生长期的细胞用于后续实验。

1.2.2 细胞转染 针对 NCAPG 序列设计 3 个小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA)，序列如下：si-NCAPG-1, GCATTACCTTACAGGATTT；si-NCAPG-2, CACAAATGTTGCTGAGTTA；si-NCAPG-3, GGCCAAGACTTCCCAAGAT。HCT116 细胞按 1.0×10^5 /mL 密度接种到 6 孔板中，过夜培养后，采用 si-Ctrl 和 si-NCAPG 3 个序列分别转染 48 h，通过 Western blot 确定转染效率，选择合适的序列进行后续实验。

1.2.3 电子显微镜观察大肠癌细胞生长状态 根据上述方法接板并转染 48 h，采用电子显微镜观察 HCT116 细胞的生长数目和状态。

1.2.4 蛋白免疫印迹法检测细胞中 NCAPG、Cyclin B1、CDK1、Bax、Bcl-2 等蛋白表达情况 根据上述方法接板并转染 48 h，将细胞进行消化离

心后进行总蛋白提取。BCA 法测定蛋白浓度和变性。蛋白样本按相同质量的蛋白量 (50 μg) 上样后进行 10% SDS-PAGE 电泳 (90 V 电泳 30 min, 110 V 电泳 60 min)，按照蛋白分子量大小进行转模，将蛋白转移至 PVDF 膜上，封闭液室温封闭 2 h，加入相应的一抗 (1:1 000) 置于 4℃ 摇床过夜。TBST 洗涤 3 次，加入相对应的二抗 HRP 标记的羊抗兔 IgG (1:5 000) 室温孵育 2 h，TBST 洗涤 3 次，采用 Bio-Rad 凝胶成像系统扫描并进行蛋白灰度值分析。

1.2.5 CCK8 实验检测大肠癌细胞活力 根据上述方法接板并转染 48 h，重新消化细胞，按 0.2×10^5 /mL 密度接种到 96 孔板中继续培养 1~5 d，加入 10 μL 的 CCK8 溶液，孵育 2 h 后，通过酶标仪在 450 nm 波长处避光读取各孔的吸光度 (A) 值，根据 A 值计算出细胞活力。计算方法：以第 1 天 A 值为 1，分别计算不同时间点细胞的相对活力。

1.2.6 集落形成检测大肠癌细胞存活能力 根据上述方法接板并转染 48 h，重新消化细胞，按 500 个/孔接种到 12 孔培养板中继续培养，每 2~3 d 进行换液，连续培养 10~14 d，PBS 清洗 1 次，4% 多聚甲醛室温固定 20 min，PBS 清洗 3 次，结晶紫染色液室温染色 15 min，PBS 清洗干净后采用照相机常规拍照，计算各组细胞形成集落的数量，以对照组细胞存活率为 100% 计算其他各组细胞的存活率。

1.2.7 流式细胞周期检测大肠癌细胞周期改变 根据上述方法接板并转染 48 h，消化细胞，经 70% 冰乙醇过夜固定，清洗细胞后，加入 0.4 mL 的 FxCycle PI/RNase 染色液中室温避光孵育 30 min，采用流式细胞仪进行检测并根据结果分析细胞的周期分布。

1.2.8 Annexin-V/PI 染色检测大肠癌细胞凋亡 根据上述方法接板并转染 48 h，消化细胞，加入 100 μL 的 1× Binding Buffer 后混匀，分别加入 5 μL 的 Annexin V-AbFlour™ 647 和 2 μL 的 PI 染色液充分混匀，置于 37℃ 避光反应 15 min，加入 400 μL 1× Binding Buffer 混匀，染色后 30 min 内采用流式细胞仪检测细胞凋亡的情况。

1.3 数据分析与统计

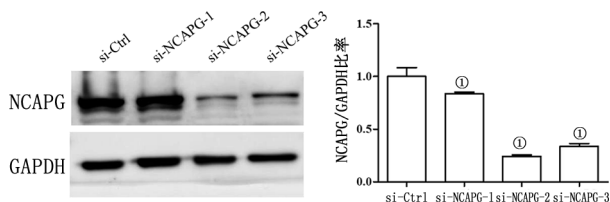
使用 SPSS 26.0 软件 (SPSS/PC+) 进行数据统计分析。采用 Graphpad prism 5.0 版进行数据作图。两组间均数采用独立样本 *t* 检验，3 组及 3 组以上均数采用单因素方差分析，两两比较采用 LSD

检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 敲减 NCAPG 对 HCT116 细胞中 NCAPG 蛋白表达的影响

为了研究 NCAPG 对大肠癌细胞生长的影响,通过设计 si-RNA 并转染大肠癌 HCT116 细胞,通过 Western blot 验证 si-NCAPG 的敲减效果。如图 1 所示,与 si-Ctrl 组相比, si-NCAPG 3 个序列均能显著降低 HCT116 细胞中的蛋白表达,尤其是第二和第三序列 ($P<0.05$)。



注: ①与 si-Ctrl 细胞相比, $P<0.05$ 。

图 1 敲减 NCAPG 对大肠癌细胞 HCT116 蛋白表达水平的影响

2.2 敲减 NCAPG 对 HCT116 细胞形态的影响

如图 2 所示,在大肠癌细胞 HCT116 中,与 si-Ctrl 组相比,可以看出 3 个序列 si-NCAPG 组细胞数目有所减少,死细胞较多,可见敲减 NCAPG 能够抑制大肠癌细胞的生长。

2.3 敲减 NCAPG 对 HCT116 细胞活力的影响

进一步通过 CCK8 法检测敲减 NCAPG 对大肠癌细胞活力的影响。如图 3 所示,与 si-Ctrl 组相比,除了第 4 天 si-NCAPG-1 之外,其他第 2~5 天敲减 NCAPG 的 3 个序列都能够显著降低 HCT116 细胞的细胞活力,差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。介于第二序列敲减效果最明显,且对细胞活力的影响显著,后期选用第二序列进行下列相关

实验。

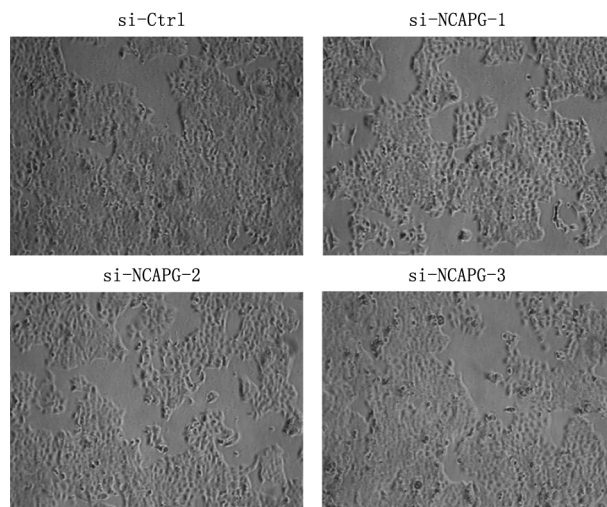
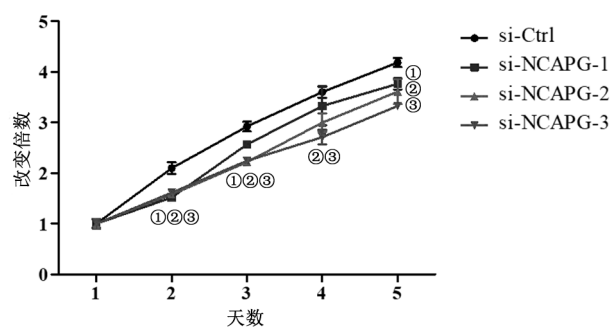


图 2 敲减 NCAPG 对 HCT116 细胞数量的影响 (200×)

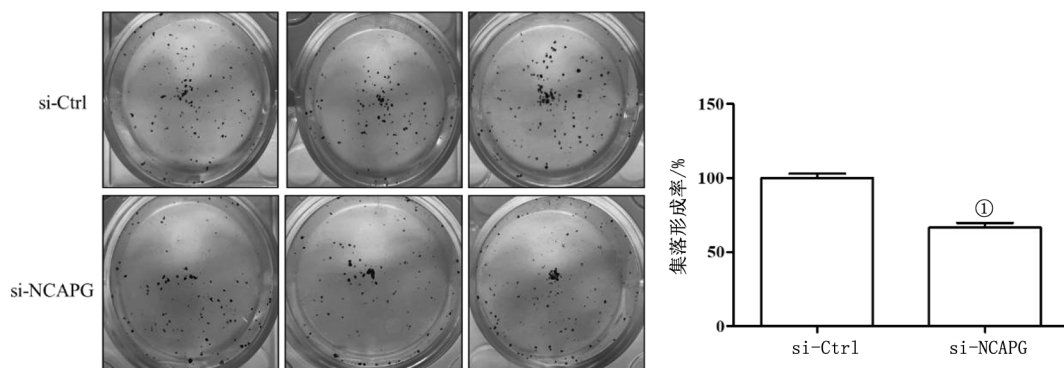


注: ①②③分别指 si-NCAPG-1、si-NCAPG-2、si-NCAPG-3 与 si-Ctrl 细胞相比, $P<0.05$ 。

图 3 CCK-8 检测敲减 NCAPG 对 HCT116 细胞活力的影响

2.4 敲减 NCAPG 对 HCT116 集落形成能力的影响

如图 4 所示,敲减 NCAPG 能够显著降低 HCT116 细胞的集落形成数目,抑制大肠癌细胞 HCT116 的存活能力 ($t=7.738$, $P<0.05$)。



注: ①与 si-Ctrl 细胞相比, $P<0.05$ 。

图 4 集落形成实验检测敲减 NCAPG 对 HCT116 细胞存活能力的影响

2.5 敲减 NCAPG 对 HCT116 细胞周期的影响

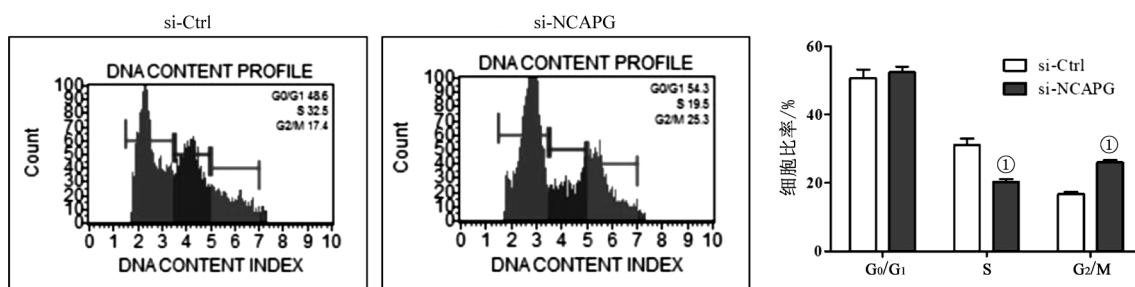
如图 5 所示,与 si-Ctrl 组相比,敲减 NCAPG 后在 G₂/M 期的细胞比例明显增加,而在 S 期的细胞比例下降。由此可见,敲减 NCAPG 后将细胞阻滞在 G₂/M 期 ($t = 9.257$, $P < 0.05$; $t = -16.644$, $P < 0.05$)。

2.6 敲减 NCAPG 对 HCT116 细胞凋亡的影响

进一步通过 Annexin V/PI 和流式细胞仪检测敲减 NCAPG 对大肠癌细胞凋亡的影响。如图 6 所示,与 si-Ctrl 组细胞相比,敲减 NCAPG 后凋亡细胞比例增加 ($t = -3.222$, $P < 0.05$)。

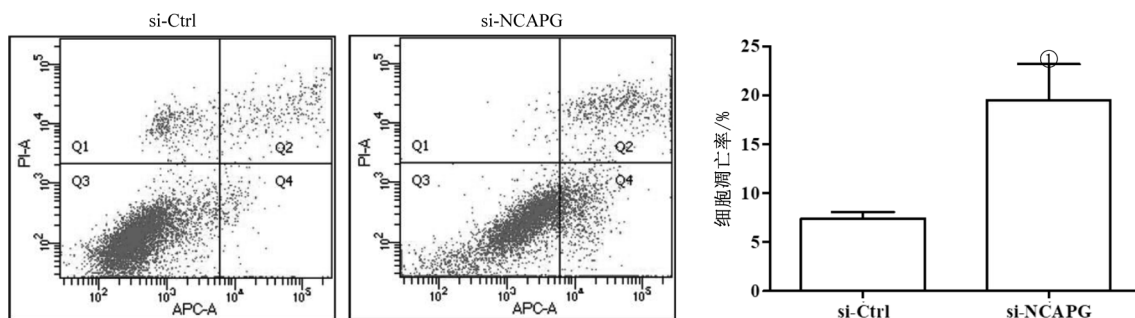
2.7 敲减 NCAPG 对 HCT116 细胞 Cyclin B1、CDK1、Bax、Bcl-2 蛋白表达的影响

进一步采用蛋白免疫印迹法方法检测细胞周期和凋亡相关蛋白 Cyclin B1、CDK1、Bax、Bcl-2 的表达。如图 7 所示,与 si-Ctrl 对照组相比,敲减 NCAPG 使 Cyclin B1、CDK1 和 Bcl-2 蛋白表达降低, BAX 蛋白表达增高 ($P < 0.05$)。提示敲减 NCAPG 通过调控 Cyclin B1 和 CDK1 蛋白的表达阻滞大肠癌细胞周期,调控 BAX 和 Bcl-2 蛋白的表达,从而诱导大肠癌细胞凋亡。



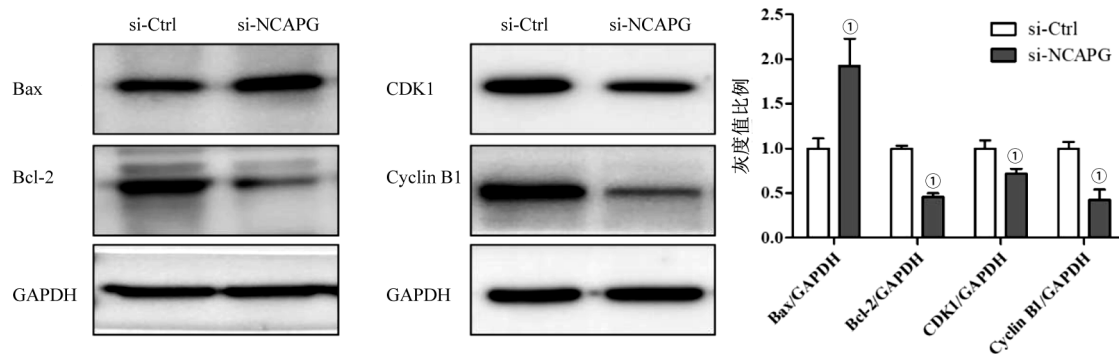
注: ①与 si-Ctrl 细胞相比, $P < 0.05$ 。

图 5 流式细胞术检测敲减 NCAPG 对 HCT116 大肠癌细胞周期的影响



注: ①与 si-Ctrl 细胞相比, $P < 0.05$ 。

图 6 流式细胞术检测敲减 NCAPG 对 HCT116 细胞凋亡的影响



注: ①与 si-Ctrl 细胞相比, $P < 0.05$ 。

图 7 免疫印迹法检测敲减 NCAPG 对 HCT116 细胞 Cyclin B1、CDK1、Bax、Bcl-2 蛋白表达的影响

3 讨论

大肠癌发病机制复杂,目前尚未完全阐明。因

此,寻找新的相关靶基因对于深入阐明大肠癌的发病机制及诊断、预防和治疗均有重要意义。现有研

究证明: NCAPG 与多种肿瘤的生长密切相关, 其在多种肿瘤组织的表达均高于正常组织, 并与肿瘤患者的生存期和不良预后呈正相关^[3-6]。SUN 等^[5]发现 NCAPG 过表达与胃癌多种临床病理特征相关, NCAPG 的表达下调可抑制胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭, 提示 NCPAG 敲除后与细胞周期和上皮-间质过渡相关分子的失调。SUN 等^[6]发现 NCAPG 促进 NSCLC 发生和进展的功能与非小细胞肺癌 (NSCLC) 密切相关, LGALS1 在 NSCLC 中也上调, 可能与 NCAPG 直接相互作用。GUO 等^[7]发现 NCAPG 表达水平与低甲基化状态相关, 并与肿瘤免疫细胞浸润和免疫细胞相关生物标志物表达呈正相关, 提示 NCAPG 高表达与肝细胞癌血管侵犯患者预后不良有关。史艳龙等人^[11]发现 NCAPG 在大肠癌组织中呈阳性表达, 与肿瘤的分化程度、淋巴结转移和血管侵犯相关, 可能通过与 β -catenin 结合激活 Wnt/ β -catenin 信号通路, 进而调控大肠癌的转移, 提示 NCAPG 对大肠癌的发生发展具有重要的调控作用。本研究在此基础上通过转染敲减 NCAPG 基因 (si-NCAPG) 进行相关细胞生物学实验, 结果发现敲减 NCAPG 可以显著抑制 HCT116 细胞数量、细胞活力和细胞克隆球形成的能力, 从而抑制细胞生长, 为大肠癌的发病机制提供基础理论研究依据。

近年来的研究发现, 肿瘤的发生发展与细胞周期的进程密切相关, 通过改变细胞周期的进展从而对肿瘤细胞的增殖与浸润产生影响^[13]。NCAPG 被证实参与细胞周期、有丝分裂及前中期染色体聚缩, 其生理功能确保细胞分裂过程中姐妹染色单体的分离, 保持染色体重装为棒状有丝分裂染色体^[14]。为此, 进一步探讨 NCAPG 对 HCT116 细胞周期的调控作用, 结果发现敲减 NCAPG 可降低 HCT116 细胞中 Cyclin B1 和 CDK1 蛋白表达水平, 从而阻滞大肠癌细胞从 G₂ 期向 M 期的转变^[15], 这可能是导致大肠癌细胞周期改变的关键因素。

细胞凋亡对维持组织器官的正常形态和功能起重要作用, 其中 Bcl-2 和 Bax 是最有代表性的抑制凋亡和促进凋亡基因, 可调控肿瘤细胞的凋亡^[16]。本研究也进一步证实敲减 NCAPG 降低 HCT116 细胞中 Bcl-2 蛋白表达水平, 促进 Bax 蛋白表达水平, 从而促进大肠癌细胞凋亡。然而, NCAPG 如何调控细胞凋亡, 其涉及的相关机制通路可能是未来研究的另一个新方向。大肠癌发病机制复杂, 本论文仅使用人大肠癌细胞株 HCT116 细胞进行相关实验

研究, 缺少使用其他细胞株进行的相关实验研究, 在后续的研究中可以通过体内、组学分析等实验手段深入探讨 NCAPG 调控大肠癌细胞的机制。

综上所述, 敲减 NCAPG 通过诱导大肠癌细胞周期于 G₂/M 期阻滞和促进细胞凋亡, 抑制大肠癌细胞的生长, 为 NCAPG 调控大肠癌的发病机制提供新思路。

参考文献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 3 (71): 209-249.
- [2] SIEGEL R L, MILLER K D, WAGLE N S, et al. Cancer statistics, 2023 [J]. CA Cancer J Clin, 2023, 1 (73): 17-48.
- [3] XIAO C, GONG J, JIE Y, et al. NCAPG is a promising therapeutic target across different tumor types [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 387.
- [4] CAI X, GAO J, SHI C, et al. The role of NCAPG in various of tumors [J]. Biomed Pharmacother, 2022, 155: 113635.
- [5] SUN D P, LIN C C, HUNG S T, et al. Aberrant expression of NCAPG is associated with prognosis and progression of gastric cancer [J]. Cancer Manag Res, 2020, 12: 7837-7846.
- [6] SUN H, ZHANG H, YAN Y, et al. NCAPG promotes the oncogenesis and progression of non-small cell lung cancer cells through upregulating LGALS1 expression [J]. Mol Cancer, 2022, 21 (1): 55.
- [7] GUO Z Y, ZHU Z T. NCAPG is a prognostic biomarker associated with vascular invasion in hepatocellular carcinoma [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2021, 25 (23): 7238-7251.
- [8] SHI Y, GE C, FANG D, et al. NCAPG facilitates colorectal cancer cell proliferation, migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition by activating the Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. Cancer Cell Int, 2022, 22 (1): 119.
- [9] TANG F, YU H, WANG X, et al. NCAPG promotes tumorigenesis of bladder cancer through NF- κ B signaling pathway [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2022, 622: 101-107.
- [10] WANG Y, GAO B, TAN P Y, et al. Genome-wide CRISPR knockout screens identify NCAPG as an essential oncogene for hepatocellular carcinoma tumor growth [J]. FASEB J, 2019, 33 (8): 8759-8770.
- [11] 史艳龙. NCAPG 在结直肠癌中作用及其机制的初步研究 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2022: 26-29.
- [12] 张明珠. NCAPG 经 AKT 通路对卵巢癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响及机制研究 [D]. 锦州: 锦州医科大学, 2023: 18-19.
- [13] 谭慧心, 董彦宏, 关文辉, 等. 细胞周期调控与肿瘤发生和治疗的关系研究 [J]. 哈尔滨商业大学学报, 2015, 6 (31): 667-670.
- [14] 曹富平. 基于 GEO 数据库及生物信息学方法分析肝细胞癌差异基因 [D]. 南昌: 南昌大学, 2023: 14-19.
- [15] ZHANG H, ZHANG X, LI X, et al. Effect of CCNB1 silencing on cell cycle, senescence, and apoptosis through the

p53 signaling pathway in pancreatic cancer [J]. J Cell Physiol, 2018, 234 (1): 619-631.

unknowns [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 1 (500): 26-34.

[16] EDLICH F. BCL-2 proteins and apoptosis: Recent insights and

• 基础研究 •

基于 PI3K/Akt 通路探讨氟尿嘧啶对大鼠软骨细胞凋亡的影响

郑世雄 林 煜 刘合亮 魏艳珍

【摘要】 目的 以 PI3K/Akt 信号通路为切入点, 探讨氟尿嘧啶抑制膝关节炎模型大鼠软骨细胞凋亡的作用机制。**方法** 将 36 只雄性 SD 大鼠随机分为空白对照组、模型对照组和氟尿嘧啶治疗组, 采用改良 Hulth 法制备膝关节炎模型, 术后 6 周空白对照组和模型对照组于膝关节腔内注射生理盐水, 氟尿嘧啶治疗组按 2 mg/kg 重组氟尿嘧啶注射液关节腔内注射, 持续干预 15 d 后取材; 番红-固绿染色观察软骨组织结构变化, AB-PAS 染色观察软骨基质黏蛋白分布变化, Real-time PCR 和 Western blot 分别检测软骨组织 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、Bcl-2 和 Bax mRNA 和蛋白的表达水平。**结果** 模型对照组软骨 4 层结构紊乱, 可见软骨缺失和软骨细胞凋亡, 基质浅染甚至失染, 酸性黏蛋白分布缩小和中性黏蛋白分布扩大, 潮线不清; p-PI3K、p-Akt、Bcl-2 mRNA 和蛋白表达水平均明显降低 ($P < 0.01$), Bax mRNA 和蛋白表达明显升高 ($P < 0.01$)。与模型对照组相比, 氟尿嘧啶治疗组软骨结构较规则, 未见明显软骨缺失和细胞凋亡, 基质染色较深, 酸性黏蛋白分布扩大和中性黏蛋白分布缩小, 潮线可见; p-PI3K、p-Akt、Bcl-2 mRNA 和蛋白表达水平均明显升高 ($P < 0.01$), Bax mRNA 和蛋白表达明显降低 ($P < 0.01$)。**结论** 关节腔内注射氟尿嘧啶可调控 PI3K/Akt 信号通路, 抑制软骨细胞凋亡和基质降解, 延缓关节软骨退变的病理进程。

【关键词】 膝关节炎; 氟尿嘧啶; 细胞凋亡; PI3K/Akt 信号通路

【中图分类号】 R684.3; R-332 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2024)03-0099-05

Effect of fluorouracil on chondrocyte apoptosis in rat based on PI3K/Akt signaling pathway

ZHENG Shixiong, LIN Yu, LIU Heliang, WEI Yanzhen

Department of Orthopedics, Fuzhou Second General Hospital, Fuzhou, Fujian 350007, China

【Abstract】 Objective To explore the mechanism of fluorouracil inhibiting chondrocyte apoptosis in knee osteoarthritis rats based on PI3K/Akt signaling pathway. **Methods** Thirty six male SD rats were randomly divided into blank control group, model control group and fluorouracil group. Knee osteoarthritis model was established by modified Hulth's technique. Six weeks after surgery, the blank control group and the model control group were injected with physiological saline into the knee joint cavity, the fluorouracil treatment group were injected with 2 mg/kg fluorouracil into the knee joint cavity, for 15 days. The changes of cartilage tissue structure were observed by safranin-fast green staining. The distribution of cartilage matrix mucin was observed by AB-PAS staining. The expression levels of PI3K, p-PI3K, Akt, p-Akt, Bcl-2 and Bax mRNA and protein in cartilage tissue were detected by real-time PCR and western blot, respectively. **Results** In the model control group, the four layers of cartilage were disordered, cartilage loss and chondrocyte apoptosis were observed, the matrix was lightly stained or even lost, the distribution of acid mucin was reduced and the distribution of neutral mucin was expanded, and the tide line was unclear. The mRNA and protein expression levels of p-PI3K, p-Akt and Bcl-2 decreased significantly ($P < 0.01$), and the mRNA and protein expression levels of Bax significantly increased ($P < 0.01$). Compared with the model control group, in the fluorouracil treatment group the cartilage structure was more regular, no significant cartilage loss and apoptosis were observed,

基金项目: 福州市科技计划项目 (2020-WS-68); 福建省创伤骨科急救与康复临床医学研究中心项目 (2020Y2014)

作者单位: 福建省福州市第二总医院创伤骨科, 福州 350007

通信作者: 魏艳珍, Email: bear019@126.com

DOI: 10.20148/j.fmj.2024.03.031