

引用本文:郭南,贾元威,项婷,等.豆腐果苷对骨关节炎大鼠软骨和滑膜组织影响[J].安徽医药,2022,26(10):1915-1919.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.10.002.



◇ 药学研究 ◇

豆腐果苷对骨关节炎大鼠软骨和滑膜组织影响

郭南¹,贾元威²,项婷¹,王萍¹,詹翠娇¹,王昌茂¹,沈杰^{1,2},杨斌²

作者单位:¹皖南医学院药学院,安徽 芜湖 241002;²皖南医学院弋矶山医院临床药学部,安徽 芜湖 241001

通信作者:沈杰,男,硕士生导师,副研究员,研究方向为临床药理学,Email:5845348@qq.com

基金项目:皖南医学院弋矶山医院引进人才专项基金资助项目(YR201913;YR202015);皖南医学院弋矶山医院科研能力“高峰”培育计划精英基金资助项目(GF2019J05;GF2019J06);皖南医学院弋矶山医院科技创新团队“攀峰”培育计划项目(KPF2019016);皖医中青年基金(WK2018F04)

摘要: 目的 研究豆腐果苷对骨关节炎大鼠软骨结构和滑膜组织的影响。方法 碘乙酸钠注射SD雄性大鼠膝关节造模成功后,随机区组分组法分为三组,即假手术组、模型组、豆腐果苷 50 mg·kg⁻¹·d⁻¹组。豆腐果苷灌胃 21 d后,取大鼠膝关节制成组织切片,HE染色观察膝关节软骨和滑膜病理变化,并进行评分;番红固绿染色观察大鼠膝关节软骨病理变化,并进行Mankin评分。研究起止时间为2019年12月至2020年7月。结果 相对于假手术组,模型组大鼠膝关节软骨和滑膜均受到不同程度损伤,滑膜病理评分显著升高[(6.88±0.83)分比(0.50±0.53)分]($P<0.01$),且软骨结构、软骨细胞和番红固绿染色的Mankin评分也显著升高[分别是(3.88±0.83)分比(0.50±0.53)分,(1.75±0.46)分比(0.25±0.46)分,(2.38±0.74)分比(0.38±0.52)分]($P<0.01$)。然而,连续给予豆腐果苷灌胃 21 d后,相对于模型组,大鼠的关节软骨结构和滑膜组织损伤程度均有显著改善,膝关滑膜病理评分显著降低[(3.50±0.53)分比(6.88±0.83)分]($P<0.01$),且软骨结构、软骨细胞和番红固绿染色的Mankin评分也显著降低[分别为(1.63±0.52)分,(1.13±0.64)分,(0.88±0.64)分]($P<0.05$)。结论 豆腐果苷可减轻骨关节炎大鼠膝关节软骨和滑膜损伤,具有减轻滑膜炎症、保护软骨的作用。

关键词: 山龙眼科; 骨关节炎,膝; 豆腐果苷; 软骨; 滑膜; 大鼠,Sprague-Dawley

Effect of helicid on cartilage and synovium tissue of osteoarthritis rats

GUO Nan¹,JIA Yuanwei²,XIANG Ting¹,WANG Ping¹,ZHAN Cuijiao¹,
WANG Changmao¹,SHEN Jie^{1,2},YANG Bin²

Author Affiliations:¹School of Pharmacy, Wannan Medical College, Wuhu, Anhui 241002, China;²Department of Clinical Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu, Anhui 241001, China

Abstract: **Objective** To evaluate the effects of helicid on pathologic changes of cartilage and synovium in osteoarthritis (OA) rats. **Methods** After the knee joints of SD male rats were successfully molded by sodium iodoacetate injection, they were random block grouping assigned into three groups, namely, sham-operated group, model group, and helicid 50 mg·kg⁻¹·d⁻¹ group. After 21 days of helicid gavage, tissue sections were taken from the knee joints of rats, and the pathological changes of knee cartilage and synovial membrane were observed by hematoxylin & eosin (HE) staining and scored; the pathological changes of knee cartilage of rats were observed by Safranin O-Fast Green staining and scored by Mankin. The study starts and ends from December 2019 to July 2020. **Results** Compared with the sham-operated group, the knee cartilage and synovium of the model group were damaged to different degrees, and the synovial pathological scores were significantly higher [(6.88±0.83) vs. (0.50±0.53)] ($P<0.01$), and Mankin scores for cartilage structure, chondrocytes, and Safranin O-Fast Green staining were significantly higher [(3.88±0.83) vs. (0.50±0.53), (1.75±0.46) vs. (0.25±0.46), and (2.38±0.74) vs. (0.38±0.52), respectively] ($P<0.01$). However, after 21 days of continuous administration of helicid gavage, compared with the model group, the degree of damage to articular cartilage structures and synovial tissues in the rats was significantly improved, with a significant decrease in the knee joint synovial pathological score [(3.50±0.53) vs. (6.88±0.83)] ($P<0.01$) and a significant decrease in the Mankin scores for cartilage structure, chondrocytes and Safranin O-Fast Green staining [(1.63±0.52), (1.13±0.64), and (0.88±0.64), respectively] ($P<0.05$). **Conclusion** Helicid could reduce the injury of cartilage structure and the synovial tissue in knee joints of rats with osteoarthritis and has the effect of reducing synovial inflammation and protecting cartilage.

Key words: Proteaceae; Osteoarthritis,knee; Helicid; Cartilage; Synovium; Rats,Sprague-Dawley

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是以关节退化或老化作为病理基础,以关节肿胀、疼痛或功能障碍作为主要临床表现的一类关节炎性疾病^[1-3],近年来骨关节炎发病也见于青少年^[4]。目前临床尚无满意的治疗方法,临床治疗为减轻炎症症状和改善功能状态,常用药物有止痛药、非甾体抗炎药、肾上腺皮质激素^[5]等,长期应用会导致胃肠道不良反应和代谢紊乱等副作用。青少年病人急需一种具有明确疗效且副作用小的治疗药物。

豆腐果苷(图1, helicid, 对甲醛苯-O- β -D-阿咯吡喃糖苷)提取自山龙眼科山龙眼属植物深绿山龙眼果实,是此种属植物来源唯一已上市成功应用于临床的酚苷类物质^[6]。毒理学研究表明, 27 mg·kg⁻¹·d⁻¹、270 mg·kg⁻¹·d⁻¹、1 350 mg·kg⁻¹·d⁻¹剂量母体染毒对大鼠仔代的早期生理发育及中枢神经系统的发育没有影响^[7]。文献报道,口服豆腐果苷在6.25~50.00 mg/kg范围内的镇痛作用呈剂量依赖性。本课题组前期基于豆腐果苷抗骨关节炎模型(OA模型)大鼠疼痛的药效学研究发现,给予25 mg/kg、50 mg/kg、100 mg/kg剂量豆腐果苷21 d后,均可使骨关节炎模型大鼠的机械痛阈值上升,药效学行为呈现钟形曲线,50 mg/kg剂量组升高机械痛值阈值作用最强^[8]。因此本研究选择50 mg/kg豆腐果苷作为给药剂量。

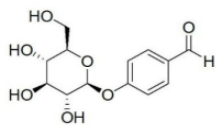


图1 豆腐果苷分子结构式

采用膝关节注射一定浓度碘乙酸钠可快速建立稳定、高效的OA大鼠模型,且大鼠病理表现与关节炎患者临床表现相似,包括关节疼痛、间歇性炎症和关节神经损伤。这种方法是研究骨关节炎的经典可靠模型^[9-10]。

本研究旨在首次探讨对骨关节炎模型大鼠具有明确镇痛作用的豆腐果苷50 mg/kg剂量给药后,大鼠膝关节滑膜和软骨的病理变化。本研究分别采用HE染色与番红固绿染色分别对大鼠软骨和滑膜进行染色观察,并分别进行相应的评分鉴定,以定量评价豆腐果苷对大鼠骨关节炎的影响。

1 材料与方法

1.1 材料 健康雄性SD大鼠共24只[上海杰思捷实验动物有限公司,生产许可证号SCXK(沪)2018-0004],SPF级,体质量(180±20)g。恒温(22±2)℃,12 h光照/黑暗循环条件下自由饮水饮食适应性饲养1周后,开展动物实验。本研究所有动物实验操作均符合一般动物实验伦理学原则。研究起止时间为2019年12月至2020年7月。

1.2 药品与试剂 豆腐果苷(TCI Japan公司,纯度>98%,批号QCCYK-GS);碘乙酸钠(Sigma-Aldrich, ≥98%,批号SLBZ7569);苏木素染色液(无锡市江原实业技贸总公司,批号200423);番红染色液和固绿染色液(Sigma公司);伊红染色液(无锡市江原实业技贸总公司,批号200609)。

1.3 主要仪器 荧光倒置显微镜(T8 TOKYO, Nikon公司, JAPAN);切片机(型号LEICA 2245, Germany);精密电子天平(AL104-IC, METTLER TOLEDO);数显游标卡尺(杭州钢拓工具有限公司)。

1.4 方法

1.4.1 骨关节炎大鼠模型 结合相关研究提及的大鼠骨关节炎造模方法进行造模^[11-12]。操作过程大致为,使用10%水合氯醛(3 mL/kg, ip)对大鼠进行麻醉;直至大鼠所有感觉反射停止,对左右膝关节进行剃毛,医用碘伏消毒后用75%乙醇脱碘2次;膝关节屈曲45°,自髌骨下韧带外侧进行关节腔穿刺,进针到股骨髁后稍微回退,一次性膝关节腔注射50 μL碘乙酸钠(0.9%灭菌生理盐水配制,浓度为3 mg/50 μL);将大鼠膝盖伸展和弯曲30 s,使碘乙酸钠溶液分散至整个膝关节处。同时,假手术组对大鼠膝关节注射等量生理盐水。

1.4.2 分组和给药 造模成功后,将假手术大鼠分为一组,骨关节炎模型大鼠随机区组分组法分为模型组和50 mg/kg豆腐果苷治疗组,每组8只。豆腐果苷给药方法:大鼠禁食12 h,造模前1天开始于上午7:30~8:30以50 mg/kg剂量豆腐果苷溶液灌胃大鼠,模型组和假手术组分别给予等量生理盐水灌胃。灌胃每天1次,持续21 d。

1.4.3 膝关节标本收集、制备、观察 给药21 d后,使用1%戊巴比妥钠(35 mg/kg)腹腔注射麻醉大鼠,并颈椎脱臼法处死大鼠。固定大鼠后,分离右侧膝关节皮肤及皮下组织,剔除周围的肌肉组织,保留股骨远1/4和胫骨近端1/4截取整个大鼠膝关节,并于4%多聚甲醛溶液中固定24 h以上。固定后的大鼠膝关节用15% EDTA脱钙4周后,进行石蜡包埋,切片,以及HE和番红固绿染色分别观察与评价软骨和滑膜病理变化。本研究在2月龄青年期大鼠体内开展,此月龄大鼠发育不完全,潮线尚不清晰^[13-14],所以在评价时采用改良的Mankin评分,潮线完整性和清晰度不计入评分。

1.4.3.1 HE染色评价 荧光倒置显微镜下观察关节软骨、滑膜形态,分别对假手术组、模型组及豆腐

果昔给药组滑膜组织病理学进行鉴定评分。(1)滑膜组织病理评分^[15]。炎细胞:0分,无;1分,稀疏、散在;2分,较密集;3分,大量。(2)纤维组织增生:0分,无;1分,少量增生;2分,中等;3分,大量。(3)滑膜组织增生:0分,无;1分,单层;2分,2层;3分,3层。(4)巨噬细胞增生:0分,无;1分,稀疏;2分,较密集;3分,大量。

1.4.3.2 Mankin 评分 荧光倒置显微镜下观察大鼠膝关节软骨与软骨下骨和骨组织间关系。并对软骨病理变化进行 Mankin 评分^[16]。评分标准^[17]:(1)软骨结构:正常,0分;表面不规则,1分;血管翳,2分;血管翳和表面不规则,3分;到过渡带的裂隙,4分;到放射带的裂隙,5分;到钙化带的裂隙,6分。(2)软骨细胞:正常,0分;细胞形态固缩及脂质变性,1分;大量簇集样细胞团,1分;数量明显消失,3分。(3)番红固绿染色:正常,0分;轻度减少,1分;中度减少,2分;重度减少,3分;未着色,4分。(4)潮线完整性:完整,0分;被血管破坏,1分;总分14分。

1.5 统计学方法 SPSS 19.0 软件用于本实验数据的统计分析,采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 膝关节形态观察 图2可见假手术组关节面色泽正常,关节表面光滑,未见关节肿胀及积液形成。模型组较之假手术组,关节软骨表面不规则,有溃疡形成,腔内出现积液。豆腐果昔组关节表面与模型组相比,关节软骨表面较完整,溃疡有较大改善,腔内未出现积液。我们通过对处死后大鼠,采用数显游标卡尺测量各组大鼠膝关节直径,研究各组大鼠膝关节的肿胀程度。如图2所示,可以清晰观察到豆腐果昔可显著缓解模型组关节肿胀。上述结果共同表明豆腐果昔可以减轻碘乙酸钠诱导的关节损伤。

2.2 各组大鼠膝关节软骨 HE 染色结果 由图3中大鼠膝关节软骨 HE 染色结果可知,假手术组膝关节软骨表面光滑,且细胞排列规则,四层结构清晰,软骨基质染色均匀,未见炎细胞浸润。相对于假手术组,模型组大鼠膝关节软骨表面粗糙且有绒毛状,软骨细胞排列紊乱,软骨基质染色不均,部分区域的细胞核固缩、坏死,有炎性细胞浸润和血管生成。但是在给予豆腐果昔治疗后,大鼠软骨表面较完整,软骨基质染色较均匀,四层结构较清晰,细胞排列较整齐。结果表明豆腐果昔可以减轻碘乙酸钠导致的大鼠关节软骨组织病变。

2.3 各组大鼠膝关节滑膜 HE 染色结果 图4中大

鼠膝关节滑膜 HE 染色结果显示,假手术组可见大量的脂肪细胞和滑膜细胞;模型组较假手术组表现出更多的炎性细胞浸润,滑膜组织明显增厚,有散在的炎性细胞如淋巴细胞出现。但豆腐果昔组炎性细胞明显减少,部分可见脂肪细胞和增生的血管。结果表明豆腐果昔可以减轻碘乙酸钠诱导的炎性细胞增加。

2.4 各组大鼠滑膜组织病理评分结果 对各组大鼠的滑膜组织病理特征进行评分可得,模型组大鼠的评分相对于假手术组显著增大 $[(6.88 \pm 0.83) \text{ 比 } (0.50 \pm 0.53)] (P < 0.01)$,在灌胃 50 mg/kg 豆腐果昔 21 d 后,大鼠的滑膜病理评分显著降低 $[(3.50 \pm 0.53) \text{ 比 } (6.88 \pm 0.83)] (P < 0.01)$ 。以上数据表明 50 mg/kg 的豆腐果昔可以显著改善骨关节炎大鼠的滑膜病理损伤。

2.5 各组大鼠膝关节软骨番红固绿染色结果 如图5,由大鼠膝关节软骨的番红固绿染色图可观察到,假手术组软骨细胞的细胞核呈粉红色,细胞质呈蓝绿色,其软骨细胞形态结果与 HE 染色结果基本相同,且软骨基质完整,染色均匀,无蛋白多糖丢失。而模型组番红显色明显降低,软骨基质分布不均匀,蛋白多糖丢失明显。在给予豆腐果昔治疗后,软骨较模型组基质分布均匀,蛋白多糖丢失有显著改善,表明豆腐果昔可以改善大鼠膝关节软骨损伤。

2.6 各组大鼠膝关节软骨 Mankin 评分结果 豆腐果昔以 50 mg/kg 剂量灌胃大鼠 21 d 后的膝关节软骨 Mankin 评分结果如表1所示。数据显示,较假手术组,模型组大鼠膝关节软骨结构、软骨细胞和番红固绿染色 Mankin 评分值均显著上升 $(P < 0.01)$,而在豆腐果昔干预后,各项指标评分值较模型组均有显著下降,以上数据提示豆腐果昔 50 mg/kg 可以减轻碘乙酸钠诱导的青年大鼠膝关节病变程度。

表1 各组大鼠膝关节 Mankin 评分比较/(分, $\bar{x} \pm s$)

组别	关节数	Mankin 评分		
		软骨结构	软骨细胞	番红固绿染色
假手术组	8	0.50±0.53	0.25±0.46	0.38±0.52
模型组	8	3.88±0.83 ^①	1.75±0.46 ^①	2.38±0.74 ^①
豆腐果昔组	8	1.63±0.52 ^②	1.13±0.64 ^②	0.88±0.64 ^②
F 值		64.67	37.56	52.43
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:①与假手术组比较, $P < 0.01$ 。②与模型组比较, $P < 0.05$ 。

3 讨论

骨关节炎是较为常见的关节疾病,影响全球约 2.4 亿人,伴有极高的发病率和死亡率,可导致残疾,严重降低了病人的生活水平^[18-19],并存在一定数量

的青少年病人。进行性、不可逆的软骨退化是骨关节炎标志病理特征之一,并且与滑膜、软骨下骨和半月板及其他关节组织的病理发展密切相关^[20]。向大鼠膝关节定量注射碘乙酸钠建立 OA 模型是药理学当中研究骨关节炎的经典方法。本研究的重点是探讨豆腐果苷对碘乙酸钠诱导的大鼠 OA 模型软骨和滑膜组织的影响。与模型组大鼠相比,豆腐果苷可明显减轻膝关节肿胀程度,改善关节软骨组织形态,并且减少了软骨基质中蛋白多糖的丢失,以及抑制了膝关节滑膜组织增厚和炎症细胞的增加。其原因可能与豆腐果苷的抗炎、镇痛机制有关,后续将开展系列研究,进一步探索豆腐果苷减轻滑膜炎、保护软骨的作用机制。

在 OA 的治疗药物中目前最常见的为非甾体类抗炎药、对乙酰氨基酚等^[21],但因其长期给药有严重的不良反应,限制了其使用。目前,对 OA 治疗方法的研究表明天然产物及其衍生物具有一定的潜力,如附子^[22]等。豆腐果苷在止痛、镇静、抗抑郁、心脑血管系统疾病及各种衍生物的研究等方面都有一定的疗效,且毒副作用低,可长期使用^[23]。或许可与非甾体抗炎药联合使用或交替使用,以加强疗效降低毒副作用,但还有待实验进一步证实。

此外有研究表明,豆腐果苷结构类似物天麻素(gastrodin,对羟甲基苯-O-β-D-吡喃葡萄糖苷)可通过抑制 OA 大鼠软骨退化而抑制 OA 进程。本研究结果也显示豆腐果苷可抑制 OA 大鼠软骨退化。我们猜想,其发挥作用的机制是否与天麻素相似,即通过抑制核转录因子 NF-κB 途径,减少炎症因子,包括 IL-6, TNF-α 等的释放来发挥抗炎作用^[24],这有待进一步研究。据报道,豆腐果苷及其代谢产物与天麻素有很多相似药效学作用,对此类具有明确药效作用且不良反应极少的天然产物的深入研究,是发现新的天然产物及新的作用靶标与通路的重要途径。

综上,豆腐果苷可显著改善碘乙酸钠诱导的骨关节炎大鼠膝关节滑膜和软骨的病理损伤。本研究为豆腐果苷应用于软骨病变和滑膜炎的临床防治提供了一定的理论基础。此外,本课题组在研究结果的基础上还将对豆腐果苷发挥骨关节炎治疗作用的具体分子机制进一步研究。

(本文图 2~5 见插图 10-1)

参考文献

[1] 何继晨,严君逸,程琢玉,等.诱导多能干细胞来源间充质干细胞对大鼠骨关节炎的治疗作用[J].安徽医药,2019,23(8):1496-1500.

[2] LI J, LI YX, LUO LJ, et al. The effectiveness and safety of acu-

puncture for knee osteoarthritis: an overview of systematic reviews [J/OL]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98 (28): e16301. DOI: 10.1097/MD.00000000000016301.

[3] 杨晓,周建林,彭昊.透明质酸治疗膝关节炎的研究进展[J].安徽医药,2016,20(2):209-213.

[4] WHITTAKER JL, TOOMEY CM, NETTEL-AGUIRRE A, et al. Health-related outcomes after a youth sport-related knee injury [J]. *Med Sci Sports Exerc*, 2019, 51(2):255-263.

[5] JONES IA, TOGASHI R, WILSON ML, et al. Intra-articular treatment options for knee osteoarthritis [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2019, 15(2):77-90.

[6] 陈炜,姚晚萍.神衰果素片的稳定性研究[J].中草药,1998,29(10):669-670.

[7] 刘辛,耿菊敏,李健,等.豆腐果苷对大鼠仔代的早期神经行为毒性[J].中成药,2002,24(4):278-280.

[8] 项婷,贾元威,郭南,等.豆腐果苷通过抑制 TrkA-TRPV1 信号通路减轻大鼠膝骨关节炎疼痛[J].天然产物研究与开发,2020,32(10):1659-1666.

[9] PHILPOTT HT, O'BRIEN M, MCDUGALL JJ. Attenuation of early phase inflammation by cannabidiol prevents pain and nerve damage in rat osteoarthritis [J]. *Pain*, 2017, 158(12):2442-2451.

[10] 周康,叶妙勇,马轲,等.碘乙酸致大鼠膝骨关节炎疼痛模型的实验研究[J].浙江中西医结合杂志,2020,30(3):202-206.

[11] OIESTAD BE, JUHL CB, EITZEN I, et al. Knee extensor muscle weakness is a risk factor for development of knee osteoarthritis. A systematic review and meta-analysis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2015, 23(2):171-177.

[12] CICILLOT S, ROSSI AC, DYAR KA, et al. Muscle type and fiber type specificity in muscle wasting [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(10):2191-2199.

[13] 高改霞,卫小春,李凯,等.大鼠膝关节软骨不同染色方法的差异[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(24):4385-4389.

[14] LI X, LANG W, YE H, et al. Tougu Xiaotong capsule inhibits the tidemark replication and cartilage degradation of papain-induced osteoarthritis by the regulation of chondrocyte autophagy [J]. *Int J Mol Med*, 2013, 31(6):1349-1356.

[15] 蔡辉,郑召岭,商玮,等.姜黄素对佐剂性关节炎大鼠滑膜病理的影响[J].徐州医学院学报,2008,28(6):367-369.

[16] MANKIN HJ, LIPPIELLO L. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 1970, 52(3):424-434.

[17] PAULI C, WHITESIDE R, HERAS FL, et al. Comparison of cartilage histopathology assessment systems on human knee joints at all stages of osteoarthritis development [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2012, 20(6):476-485.

[18] TANG X, WANG SF, ZHAN SY, et al. The prevalence of symptomatic knee osteoarthritis in China: results from the China health and retirement longitudinal study [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2016, 68(3):648-653.

[19] 陈俊杰,杨洋,周莉莉,等.临床药师干预膝骨关节炎病人自我管理行为的效果评价[J].安徽医药,2019,23(4):839-842.

[20] CHARLIER E, DEROYER C, CIREGIA F, et al. Chondrocyte dedifferentiation and osteoarthritis (OA) [J]. *Biochem Pharmacol*, 2019, 165:49-65.

- [21] HWANG HS, KIM HA. Chondrocyte apoptosis in the pathogenesis of osteoarthritis [J]. Int J Mol Sci, 2015, 16 (11) : 26035-26054.
- [22] TONG P, XU S, CAO G, et al. Chondroprotective activity of a detoxicated traditional Chinese medicine (Fuzi) of Aconitum carmichaeli Debx against severe-stage osteoarthritis model induced by mono-iodoacetate[J]. J Ethnopharmacol, 2014, 151(1) : 740-744.
- [23] ZHANG MQ, WANG TX, LI R, et al. Helicid alleviates pain and sleep disturbances in a neuropathic pain-like model in mice [J]. J Sleep Res, 2017, 26(3) : 386-393.
- [24] CHEN J, GU YT, XIE JJ, et al. Gastrodin reduces IL-1 β -induced apoptosis, inflammation, and matrix catabolism in osteoarthritis chondrocytes and attenuates rat cartilage degeneration in vivo[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 97: 642-651.
- (收稿日期: 2020-09-09, 修回日期: 2020-09-19)

引用本文: 王书芬, 倪猛, 薛萌. 生长抑素联合人转录因子叉头框蛋白 D1 通过磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B 通路调控胰腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的机制研究[J]. 安徽医药, 2022, 26(10) : 1919-1924. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2022.10.003.



◇ 药学研究 ◇

生长抑素联合人转录因子叉头框蛋白 D1 通过磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B 通路调控胰腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的机制研究

王书芬^a, 倪猛^b, 薛萌^b

作者单位: 南阳市中心医院, ^a西药药理学部, ^b消化内科一病区, 河南 南阳 473000

基金项目: 南阳市科技攻关项目(192102310326)

摘要: 目的 探讨生长抑素联合人转录因子叉头框蛋白 D1(FOXD1)通过磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B(PI3K/AKT)通路调控胰腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的机制研究。方法 研究于 2018 年 12 月至 2019 年 12 月进行, 通过体外培养 PANC-1 细胞, 经过不同浓度(0 mg/L、100 mg/L、200 mg/L、400 mg/L)的生长抑素(SST)处理细胞, 记为生长抑素各剂量组, 其中 0 mg/L 和 400 mg/L 的生长抑素作为对照组(Control)和生长抑素组(SST); 将过表达载体(pcDNA)和过表达 FOXD1(FOXD1)转染至 PANC-1 细胞, 经过 400 mg/L 的生长抑素及 20 mol/L 的 PI3K 抑制剂 LY294002 处理细胞, 记为 SST+pcDNA 组、SST+FOXD1 组和 SST+FOXD1+LY294002 组。四甲基偶氮盐微量酶反应比色法(MTT)检测细胞增殖; Transwell 检测细胞迁移和侵袭; 蛋白质印迹法(Western blotting)检测增殖细胞核抗原(PCNA)、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、FOXD1 和 PI3K/AKT 相关蛋白的表达; 实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)检测 FOXD1 mRNA 的表达。结果 与 Control 组相比, SST 组可以抑制 FOXD1 mRNA(0.47±0.03)及蛋白表达(0.42±0.04)、增殖(0.52±0.05)、迁移(66.8±7.2)和侵袭(63.7±6.5)能力, 下调 p-PI3K(0.43±0.04)、p-AKT(0.39±0.03)蛋白表达; 与 SST+pcDNA 组相比, SST+FOXD1 组可以促进以抑制 FOXD1 mRNA(0.67±0.05)及蛋白表达(0.64±0.06)、增殖(0.71±0.07)、迁移(86.9±8.5)和侵袭(81.5±7.3)能力, 上调 p-PI3K(0.62±0.05)、p-AKT(0.65±0.06)蛋白表达。与 SST+FOXD1 组相比, SST+FOXD1+LY294002 组可以抑制 FOXD1 mRNA(0.37±0.04)及蛋白表达(0.35±0.03)、增殖(0.53±0.05)、迁移(67.2±6.5)和侵袭(62.5±5.2)。结论 生长抑素通过调控 FOXD1 的表达抑制胰腺癌细胞增殖、迁移和侵袭, 其作用机制可能与抑制 PI3K/AKT 通路有关。

关键词: 生长抑素; 胰腺肿瘤; 人转录因子叉头框蛋白 D1(FOXD1); 磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B 通路(PI3K/AKT 通路)

Study on the mechanism of somatostatin combined with human transcription factor forkhead box protein D1 in regulating the proliferation, migration and invasion of pancreatic cancer cells through the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B pathway

WANG Shufen^a, NI Meng^b, XUE Meng^b

Author Affiliation: ^aDepartment of Western Medicine, ^bDepartment of Gastroenterology, Nanyang Central Hospital, Nanyang, Henan 473000, China

Abstract: **Objective** To investigate the mechanism of somatostatin combined with human transcription factor forkhead box protein