

引用本文:冯艳坤,陈治军.酮咯酸通过胰岛素样生长因子2信号通路抑制卵巢癌的生长和转移[J].安徽医药, 2023, 27(1): 190-194. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2023.01.041.



◇医院药学◇

## 酮咯酸通过胰岛素样生长因子2信号通路抑制卵巢癌的生长和转移

冯艳坤,陈治军

作者单位:武汉市第一医院麻醉科,湖北 武汉 430022

通信作者:陈治军,男,主任医师,博士生导师,研究方向为神经病理性疼痛, Email: 582378291@qq.com

基金项目:国家自然科学基金(81460177)

**摘要:** **目的** 探讨酮咯酸对卵巢癌生长、转移影响及机制。**方法** 实验于2019年8月至2020年3月进行。细胞计数试剂盒(CCK-8)法检测不同剂量(0.10 g/L、0.50 g/L、1.00 g/L、1.50 g/L)酮咯酸对人卵巢癌细胞SKOV3的抑制率,筛选酮咯酸的最佳作用浓度。SKOV3细胞分为NC组、酮咯酸组、DMSO组、Linsitinib组、酮咯酸+pcDNA 3.1组和酮咯酸+pcDNA 3.1-IGF2组,Transwell法检测各组细胞迁移和侵袭,蛋白质印迹法(Western blotting)法检测各组细胞中胰岛素样生长因子2(IGF2)、胰岛素样生长因子1受体(IGF1R)的蛋白表达。裸鼠分为NC组和酮咯酸组,每组10只,观察酮咯酸对肿瘤生长及肿瘤组织中IGF2、IGF1R的蛋白表达的影响。**结果** 与NC组相比,不同剂量(0.10、0.50、1.00、1.50 g/L)酮咯酸组细胞抑制率升高[(6.99±0.06)%、(23.31±2.11)%、(51.39±6.91)%、(76.14±4.36)%比(0.02±0.00)% $P<0.05$ ],选择1.0 g/L酮咯酸为最佳浓度。与NC组相比,酮咯酸组细胞迁移数[(54±5)个比(103±9)个]和侵袭数[(41±4)个比(76±6)个]及细胞中IGF2(0.31±0.03比1.01±0.06)和IGF1R蛋白(0.26±0.02比0.99±0.08)表达均显著降低(均 $P<0.05$ )。与NC组或DMSO组相比,Linsitinib组细胞迁移数[(63±6)个比(98±9)个、(99±7)个]和侵袭数[(51±5)个比(73±6)个、(75±6)个]及细胞中IGF2(0.28±0.02比0.98±0.05、1.00±0.07)和IGF1R(0.29±0.02比0.99±0.06、1.02±0.08)蛋白表达均显著降低(均 $P<0.05$ )。与酮咯酸组或酮咯酸+pcDNA 3.1组相比,酮咯酸+pcDNA 3.1-IGF2组细胞迁移数[(87±7)个比(52±5)个、(53±5)个]和侵袭数[(75±6)个比(44±4)个、(42±4)个]及细胞中IGF2(1.28±0.13比0.31±0.03、0.33±0.04)和IGF1R(1.19±0.12比0.26±0.02、0.27±0.03)蛋白表达均显著升高(均 $P<0.05$ )。与NC组相比,酮咯酸组裸鼠肿瘤的质量[(0.53±0.05)g比(1.01±0.07)g]和体积[(0.55±0.05)cm<sup>3</sup>比(1.00±0.04)cm<sup>3</sup>]均显著降低( $P<0.05$ ),肿瘤组织中IGF2(0.46±0.04比0.99±0.08)和IGF1R(0.52±0.05比0.97±0.09)蛋白表达均显著降低(均 $P<0.05$ )。**结论** 酮咯酸可在体外抑制卵巢癌细胞迁移和侵袭及体内肿瘤生长,其机制可能与抑制IGF2信号通路有关。

**关键词:** 酮咯酸; IGF2信号通路; 卵巢肿瘤; 迁移; 侵袭; 免疫印迹法; Transwell; 小鼠,近交BALB C

### Ketorolac inhibits ovarian cancer growth and metastasis via IGF2 signaling pathway

FENG Yankun, CHEN Zhijun

Author Affiliation: Department of Anesthesiology, Wuhan No.1 Hospital, Wuhan, Hubei 430022, China

**Abstract:** **Objective** To investigate the effect of ketorolac on the growth and metastasis of ovarian cancer and its mechanism. **Methods** Experiments were conducted from August 2019 to March 2020. Cell counting kit (CCK-8) method was used to detect the inhibition rates of ketorolac (0.10 g/L, 0.50 g/L, 1.00 g/L, 1.50 g/L) on human ovarian cancer cell line SKOV3. The optimal concentration of ketorolac was sorted out. Patients were assigned into NC group, ketorolac group, DMSO group, Linsitinib group, ketorolac + pcDNA 3.1 group and ketorolac + pcDNA3.1-IGF2 group. Cell migration and invasion were detected by Transwell, the protein expressions of insulin-like growth factor 2 (IGF2) and insulin-like growth factor 1 receptor (IGF1R) were detected by western blotting. Nude mice were assigned into NC group and ketorolac group, with 10 in each group. Observation was made of the effect of ketorolac on tumor growth and protein expressions of IGF2 and IGF1R in tumor tissue. **Results** Compared with the NC group, the cell inhibition rates of ketorolac groups at different doses (0.10 g/L, 0.50 g/L, 1.00 g/L, 1.50 g/L) increased [(6.99±0.06)%, (23.31±2.11)%, (51.39±6.91)%, (76.14±4.36)% vs. (0.02±0.00)%,  $P<0.05$ ], and 1.00 g/L of ketorolac was selected as the best concentration. Compared with the NC group, the number of cell migration [(54±5) vs. (103±9)], the number of invasion [(41±4) vs. (76±6)] and the protein expressions of IGF2 [(0.31±0.03) vs. (1.01±0.06)] and IGF1R [(0.26±0.02) vs. (0.99±0.08)] in the ketorolac groups were significantly reduced (all  $P<0.05$ ). Compared with the NC group or the DMSO group, the number of cell migration [(63±6) vs. (98±9), (99±7)], the number of invasion [(51±5) vs. (73±5), (75±6)] and the protein expressions of IGF2 [(0.28±0.02) vs. (0.98±0.05), (1.00±0.07)] and IGF1R [(0.29±0.02) vs. (0.99±0.06), (1.02±0.08)] in the Linsitinib group were significantly reduced (all  $P<0.05$ ). Compared with the ketorolac group or the ketorolac+

pcDNA 3.1 group, the number of cell migration [(87±7) *vs.* (52±5), (53±5)], the number of cell invasion [(75±6) *vs.* (44±4), (42±4)] and the protein expressions of IGF2 [(1.28±0.13) *vs.* (0.31±0.03), (0.33±0.04)] and IGF1R [(1.19±0.12) *vs.* (0.26±0.02), (0.27±0.03)] in the ketorolac+pcDNA 3.1-IGF2 group were significantly increased (all  $P<0.05$ ). Compared with the NC group, the weight [(0.53±0.05) g *vs.* (1.01±0.07) g] and volume [(0.55±0.05) cm<sup>3</sup> *vs.* (1.00±0.04) cm<sup>3</sup>] of the nude mouse tumors in the ketorolac group were significantly reduced (both  $P<0.05$ ), and the protein expressions of IGF2 [(0.46±0.04) *vs.* (0.99±0.08)] and IGF1R [(0.52±0.05) *vs.* (0.97±0.09)] in tumor tissue were significantly reduced (both  $P<0.05$ ). **Conclusion** Ketorolac can inhibit the migration and invasion of ovarian cancer cells in vitro and tumor growth in vivo, and its mechanism may be related to the inhibition of IGF2 signaling pathway.

**Key words:** Ketorolac; IGF2 signaling pathway; Ovarian neoplasms; Migration; Invasion; Western blotting; TraNCwell; Mice, inbred BALB C

卵巢癌(ovarian cancer, OC)是一种严重威胁世界女性生命的恶性肿瘤,其死亡率居女性癌症之首<sup>[1]</sup>。卵巢癌具有高复发率、高侵袭性及易耐药的特性,以至于其预后极差<sup>[2-4]</sup>。因此,开发新的治疗药物意义重大。非甾体类抗炎药物(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)目前在一些国家作为止痛剂用于原发性癌症的手术,酮咯酸为其中之一<sup>[5]</sup>。胰岛素样生长因子2(insulin-like growth factor 2, IGF2)信号通路在很多肿瘤中均表现出活性异常升高,包括卵巢癌<sup>[6-7]</sup>。研究表明,酮咯酸可以减少乳腺癌的复发,其在卵巢癌中具发挥抑制癌症恶化的作用,但是其具体的作用机制与IGF2信号通路之间的关系尚缺乏理论依据。本研究于2019年8月至2020年3月以卵巢癌细胞为研究对象,观察酮咯酸对卵巢癌细胞迁移侵袭及卵巢癌肿瘤的影响,其揭示其机制与酮咯酸抑制IGF2信号通路活性有关,将可为酮咯酸在卵巢癌治疗中的应用提供支持。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 人卵巢癌细胞SKOV3购自美国菌种保藏中心(american type culture collection, ATCC);无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级BALB/C裸鼠(18~20 g)30只,购自湖南斯莱克实验生物有限公司,动物使用许可证号为SCXK(湘)2016-0002,本研究符合一般动物实验伦理学原则;酮咯酸注射液购自辉瑞公司;IGF2信号通路特异性抑制剂Linsitinib购自MCE;杜氏细胞培养基(dulbecco's modified eagle medium, DMEM)购自Hyclone公司;胎牛血清均购自杭州四季青;细胞计数试剂盒(cell counting kit-8, CCK-8)试剂盒购自GLPBIO;Transwell小室购自corning;Lipofectamine™2000购自Invitrogen;聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜购自上海安普公司;十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)试剂盒购自北京Leagene;电化学发光(electronics components laboratory, ECL)试剂盒和RIPA蛋白裂解液购自碧云天;兔抗人IGF2、胰岛素样生长因子1受体(Insulin-

like growth factor 1 receptor, IGF1R)和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)多克隆抗体及兔抗鼠IGF2、IGF1R和GAPDH多克隆抗体购自武汉博士德。

## 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养** 卵巢癌细胞SKOV3使用含有10%胎牛血清的DMEM培养基在37℃、5%二氧化碳的细胞培养箱中培养。

**1.2.2 细胞转染与分组** SKOV3细胞分为正常对照组(NC组)、不同浓度(0.10 g/L、0.50 g/L、1.00 g/L、1.50 g/L)酮咯酸组。NC组细胞正常培养基培养48 h;酮咯酸组细胞分别用含0.10 g/L、0.50 g/L、1.00 g/L、1.50 g/L酮咯酸培养48 h。将二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)溶解的1 μmol的Linsitinib处理的SKOV3细胞标记为Linsitinib组,含等量DMSO的培养基处理的SKOV3细胞标记为DMSO组。用脂质体法将pcDNA 3.1、pcDNA 3.1-IGF2转染至SKOV3细胞,并用1.00 g/L的酮咯酸处理48 h,分别标记为酮咯酸+pcDNA 3.1组、酮咯酸+pcDNA 3.1-IGF2组。

**1.2.3 CCK-8法检测细胞抑制率** 调整细胞至10<sup>5</sup>个/毫升,接种到96孔板,置于细胞培养箱中培养48 h。每孔加入CCK-8溶液20 μL,490 nm波长测吸光度(optical density, OD)值。细胞存活率(%)=(1-OD<sub>实验组</sub>/OD<sub>对照组</sub>)×100%。

**1.2.4 Transwell小室检测细胞迁移侵袭** 收集细胞,用不含血清的培养基培养12 h,然后取100 μL加入小室上室内。在小室下室加入含有胎牛血清的培养基600 μL。将小室置于细胞培养箱中培养48 h,取出后用棉签轻轻拭去上室下表面的细胞,然后对细胞进行甲醇固定和结晶紫染色,最后在显微镜下对细胞进行拍照,计数。

细胞的迁移和侵袭检测均按照以上操作方法进行,不同之处在于检测侵袭所选用的小室膜上表面铺有基质胶,需要在37℃温箱进行凝固。

**1.2.5 蛋白质印迹法检测细胞中IGF2、IGF1R的蛋白表达** 收集细胞或研磨好的肿瘤组织,用细胞裂

解液对其裂解,结束后,用沸水浴法对蛋白进行变性,12 000 rpm,离心 5 min,取上清液,用二喹啉甲酸(bicinchoninic acid disodium, BCA)蛋白定量试剂盒对蛋白进行定量。将准备好的双层电泳胶中的梳子轻轻拔出,小心将样品打入梳子孔,避免产生气泡。打开电泳槽电源先进性稳流电泳,再进行稳压电泳。结束后,在转膜仪上进行低温转膜,然后进行脱脂奶粉封闭 2 h。最后将稀释好的兔抗人 IGF2 (1:1 000)、IGF1R (1:1 000)和 GAPDH (1:1 000)一抗进行 4 ℃孵育 24 h。洗膜 3 次,在用稀释好的山羊抗兔二抗 (1:5 000)室温孵育 2 h,结束后洗膜。显影曝光,用 ECL 显影试剂盒在暗室中进行显影、曝光和定影。最后用 Quantity One 凝胶分析软件对胶片进行处理,测定各组蛋白条带的吸光度,以目的条带和 GAPDH 条带的比值作为蛋白表达水平。

**1.2.6 裸鼠成瘤实验** 取 0.2 mL 浓度为  $1 \times 10^6$  个/毫升的卵巢癌 SKOV3 细胞,接种至裸鼠右前肢,SPF 环境下继续饲养。接种后 1 周后,出现肉眼可见的肿瘤。然后把 SPF 裸鼠分为 NC 组和酮咯酸组,每组 10 只。酮咯酸组裸鼠灌胃 5 mg/kg 酮咯酸,NC 组裸鼠灌胃等量生理盐水,每 3 天灌胃 1 次。每周 1 次,测量肿瘤的最长直径 a(mm)和最短直径 b(mm),肿瘤体积  $V=a \times b^2 \times 0.52$  计算肿瘤体积( $\text{mm}^3$ ),取平均值。第 21 天时处死裸鼠,小心剥离肿瘤组织,称量瘤体质量。蛋白质印迹法检测组织中 IGF2、IGF1R 蛋白表达,其中 IGF2、IGF1R 稀释度均为 1:1 000。

**1.3 统计学方法** 实验中所用数据均采用 SPSS 21.0 软件进行分析。计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间多重比较采用 one-way ANOVA 单因素方差分析,两两比较采用 Bonferroni 校正的  $t$  检验,以  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

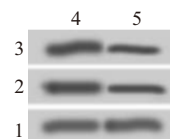
## 2 结果

**2.1 酮咯酸对卵巢癌细胞的抑制作用** NC 组、不同剂量 (0.10 g/L、0.50 g/L、1.00 g/L、1.50 g/L) 酮咯酸组细胞抑制率分别为  $(0.02 \pm 0.00)\%$ 、 $(6.99 \pm 0.06)\%$ 、 $(23.31 \pm 2.11)\%$ 、 $(51.39 \pm 6.91)\%$ 、 $(76.14 \pm 4.36)\%$ ,五组间比较差异显著 ( $F=639.34, P < 0.001$ )。与 NC 组相比,不同剂量 (0.10 g/L、0.50 g/L、1.00 g/L、1.50 g/L) 酮咯酸组 SKOV3 细胞抑制率均显著升高 ( $P < 0.001$ ),且具有剂量依赖性。由于 1.0 g/L 的酮咯酸对 SKOV3 细胞的抑制率接近 50%,故选用 1.0 g/L 酮咯酸用于后续研究。

**2.2 酮咯酸对卵巢癌细胞迁移和侵袭的影响** NC 组、酮咯酸组细胞迁移数分别为  $(103 \pm 9)$  个、 $(54 \pm 5)$  个,侵袭数分别为  $(76 \pm 6)$  个、 $(41 \pm 4)$  个。与 NC 组相比,酮咯酸组细胞迁移数和侵袭数均显著降低 ( $t=$

14.27、14.56; 均  $P < 0.001$ ), 见图 1。

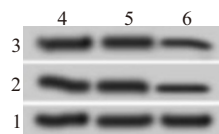
**2.3 酮咯酸对卵巢癌细胞中 IGF2 信号通路的影响** NC 组、酮咯酸组细胞中 IGF2 蛋白表达分别为  $1.01 \pm 0.06$ 、 $0.31 \pm 0.03$ , IGF1R 蛋白表达分别为  $0.99 \pm 0.08$ 、 $0.26 \pm 0.02$ 。与 NC 组相比,酮咯酸组细胞中 IGF2 和 IGF1R 蛋白表达均显著降低 ( $t=31.30$ 、26.55; 均  $P < 0.001$ )。见图 2。



注:1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH);2—胰岛素样生长因子1受体蛋白(IGF1R);3—胰岛素样生长因子2蛋白(IGF2);4—正常对照;5—酮咯酸组。

图2 酮咯酸对SKOV3细胞中IGF2和IGF1R蛋白表达的影响

**2.4 IGF2抑制剂对卵巢癌细胞迁移和侵袭的影响** 与 NC 组或 DMSO 组相比, Linsitinib 组细胞中 IGF2 和 IGF1R 蛋白表达均显著降低 ( $P < 0.001$ ), 细胞迁移数和侵袭数均显著降低 ( $P < 0.001$ ), 而 NC 组与 DMSO 组各检测指标比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图 3、4; 表 1。



注:1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH);2—胰岛素样生长因子1受体蛋白(IGF1R);3—胰岛素样生长因子2蛋白(IGF2);4—正常对照;5—DMSO组;6—IGF2抑制剂。

图3 IGF2抑制剂对SKOV3细胞中IGF2和IGF1R蛋白表达影响

表1 IGF2抑制剂对SKOV3细胞中IGF2、IGF1R蛋白表达及迁移和侵袭的影响/ $\bar{x} \pm s$

| 组别         | 重复次数 | IGF2                | IGF1R               | 迁移             | 侵袭             |
|------------|------|---------------------|---------------------|----------------|----------------|
| NC组        | 9    | $0.98 \pm 0.05$     | $0.99 \pm 0.06$     | $98 \pm 9$     | $73 \pm 6$     |
| DMSO组      | 9    | $1.00 \pm 0.07$     | $1.02 \pm 0.08$     | $99 \pm 7$     | $75 \pm 6$     |
| Linsitinib | 9    | $0.28 \pm 0.02^{①}$ | $0.29 \pm 0.02^{①}$ | $63 \pm 6^{①}$ | $51 \pm 5^{①}$ |
| F值         |      | 582.00              | 442.99              | 68.36          | 49.36          |
| P值         |      | <0.001              | <0.001              | <0.001         | <0.001         |

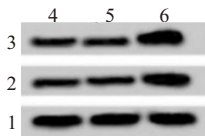
注:IGF2为胰岛素样生长因子2蛋白,IGF1R为胰岛素样生长因子1受体蛋白。

①与NC组或DMSO组比较, $P < 0.05$ 。

**2.5 过表达 IGF2 逆转了酮咯酸对卵巢癌细胞迁移和侵袭的抑制作用** 与酮咯酸组或酮咯酸+pcDNA 3.1 组相比,酮咯酸+pcDNA 3.1-IGF2 组细胞中 IGF2 和 IGF1R 蛋白表达均显著升高 ( $P < 0.05$ ), 细胞迁移数和侵袭数均显著升高 ( $P < 0.05$ ), 而酮咯酸组与酮咯酸+pcDNA 3.1 组各检测指标比较差异无统计学



意义( $P>0.05$ )。见图5,6;表2。



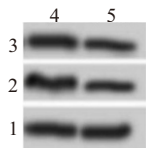
注:1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH);2—胰岛素样生长因子1受体蛋白(IGF1R);3—胰岛素样生长因子2蛋白(IGF2);4—酮咯酸组;5—酮咯酸+pcDNA 3.1组;6—酮咯酸+pcDNA 3.1-IGF2组。

图5 过表达IGF2逆转了酮咯酸对SKOV3细胞中IGF2、IGF1R蛋白表达及迁移和侵袭的影响

| 表2 过表达IGF2逆转了酮咯酸对SKOV3细胞中IGF2、IGF1R蛋白表达及迁移和侵袭的影响/ $\bar{x} \pm s$ |      |                        |                        |                   |                   |
|-------------------------------------------------------------------|------|------------------------|------------------------|-------------------|-------------------|
| 组别                                                                | 重复次数 | IGF2                   | IGF1R                  | 迁移                | 侵袭                |
| 酮咯酸                                                               | 9    | 0.31±0.03              | 0.26±0.02              | 52±5              | 44±4              |
| 酮咯酸+pcDNA 3.1                                                     | 9    | 0.33±0.04              | 0.27±0.03              | 53±5              | 42±4              |
| 酮咯酸+pcDNA 3.1-IGF2                                                | 9    | 1.28±0.13 <sup>①</sup> | 1.19±0.12 <sup>①</sup> | 87±7 <sup>①</sup> | 75±6 <sup>①</sup> |
| F值                                                                |      | 427.69                 | 490.53                 | 108.27            | 135.92            |
| P值                                                                |      | <0.001                 | <0.001                 | <0.001            | <0.001            |

注:IGF2为胰岛素样生长因子2蛋白,IGF1R为胰岛素样生长因子1受体蛋白。  
①与酮咯酸对+空载体组比较, $P<0.05$ 。

2.6 酮咯酸对裸鼠成瘤及IGF2信号通路的影响  
与NC组相比,酮咯酸组裸鼠肿瘤的质量和体积均显著降低( $P<0.001$ ),肿瘤组织中IGF2和IGF1R蛋白表达均显著降低( $P<0.001$ )。见图7,表3。



注:1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH);2—胰岛素样生长因子1受体蛋白(IGF1R);3—胰岛素样生长因子2蛋白(IGF2);4—正常对照组;5—酮咯酸组。

图7 酮咯酸对裸鼠肿瘤组织中IGF2和IGF1R蛋白表达的影响

| 表3 酮咯酸对裸鼠肿瘤生长和IGF2和IGF1R蛋白表达的影响/ $\bar{x} \pm s$ |      |                        |                        |                        |                        |
|--------------------------------------------------|------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 组别                                               | 重复次数 | 肿瘤灶质量                  | 肿瘤灶体积                  | IGF2                   | IGF1R                  |
| NC组                                              | 10   | 1.01±0.07              | 1.00±0.04              | 0.99±0.08              | 0.97±0.09              |
| 酮咯酸                                              | 10   | 0.53±0.05 <sup>①</sup> | 0.55±0.05 <sup>①</sup> | 0.46±0.04 <sup>①</sup> | 0.52±0.05 <sup>①</sup> |
| t值                                               |      | 17.65                  | 22.22                  | 18.74                  | 13.82                  |
| P值                                               |      | <0.001                 | <0.001                 | <0.001                 | <0.001                 |

注:IGF2为胰岛素样生长因子2蛋白,IGF1R为胰岛素样生长因子1受体蛋白。  
①与NC组比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

酮咯酸在癌症治疗中可用于控制癌症相关的疼痛,并在癌症手术期间和手术后用作止痛剂<sup>[8-9]</sup>。随着分子生物技术的不断发展,酮咯酸在癌症中的新功能也不断被发现。Desmedt等<sup>[10]</sup>在研究中发现,酮咯酸治疗可以明显的降低原发性乳腺癌治疗后的复发率,这是酮咯酸在乳腺癌治疗中发现的新功能,为酮咯酸的功能开发提供参考。在卵巢癌的系列研究中报道,酮咯酸可通过直接作用于细胞分裂控制蛋白42(cell division control protein 42, Cdc42)和Ras相关C3肉毒杆菌毒素底物(Substrates of Ras - associated C3 botulinum toxin, Rac1)参与卵巢癌细胞的迁移侵袭能力的调控<sup>[11-12]</sup>。最近,Hudson等<sup>[13]</sup>阐明,反式手性的酮咯酸在疼痛控制中具有功效,顺势手性的酮咯酸可能通过Rac1、Cdc42在癌症中发挥益处,二者在卵巢癌中具有不同的作用靶点。

基于以上研究成果,我们推测酮咯酸对卵巢癌细胞和肿瘤生长应该具有一定的调控作用。本研究检测了酮咯酸处理的卵巢癌细胞的抑制率发现,酮咯酸可呈浓度依赖性抑制卵巢癌细胞,且可明显抑制卵巢癌细胞的迁移和侵袭;重要的是,酮咯酸还可以抑制体内裸鼠成瘤的生长,这说明酮咯酸在卵巢癌中确实具有抑制癌症进一步恶化的功能,这个实验结果与相关报道结果一致<sup>[14]</sup>。深入研究,通过蛋白质印迹法检测酮咯酸处理的卵巢癌细胞中IGF2信号通路关键蛋白IGF2、IGF1R的表达发现,酮咯酸可下调IGF2、IGF1R表达,抑制IGF2信号通路的活性,猜测IGF2信号通路可能参与酮咯酸在卵巢癌中的功能。

IGF2信号通路具有多种生长因子受体,包括胰岛素样生长因子1受体(IGF-1R)、胰岛素受体(insulin receptor, IR),这些受体在与它们各自的胰岛素生长因子配体IGF-I、IGF-II结合后被激活,并在肿瘤的发展、存活和化学治疗中起重要作用<sup>[15-17]</sup>。在许多临床前研究中,抗IGF-1R/IR靶向策略被证明可有效减少卵巢癌的生长<sup>[18]</sup>。Tian等<sup>[19]</sup>在研究中发现,胰岛素样生长IGF2信号通路通过右美托咪定的介导对卵巢癌大鼠免疫功能及癌细胞侵袭迁移产生影响。Gao等<sup>[20]</sup>在卵巢癌的研究中发现,上调IGF2能够促进卵巢癌的进一步恶性化发展。由此可见,IGF2信号通路在卵巢癌中的功能已得到肯定,推测其与酮咯酸的功能之间应该也存在一定联系。

本研究检测了酮咯酸处理的卵巢癌细胞中IGF2信号通路的活性发现,酮咯酸可抑制该通路的

活化,这也说明了酮咯酸在卵巢癌中发挥抗癌作用。进一步研究发现,抑制IGF2信号通路能够促进卵巢癌细胞的迁移和侵袭,而激活IGF2信号通路则能够逆转酮咯酸对卵巢癌细胞的迁移侵袭抑制作用,这个结果说明了不仅酮咯酸能够抑制IGF2信号通路的活性,相反,IGF2信号通路也可以反向逆转酮咯酸对卵巢癌细胞迁移侵袭的抑制作用。为了更充分的揭示酮咯酸在卵巢癌中与IGF2信号通路之间的作用关系,我们又进行了体内裸鼠成瘤实验发现,酮咯酸不仅可抑制裸鼠体内卵巢癌肿瘤的生长,还可抑制IGF2信号通路的活性。

综上所述,酮咯酸可抑制卵巢癌细胞的迁移侵袭和肿瘤的生长,其机制与失活IGF2信号通路相关,为酮咯酸用于卵巢癌的临床治疗提供一定的理论依据。

(本文图1,4,6见插图1-7)

### 参考文献

- [1] ZHENG MJ, LI X, HU YX, et al. Identification of molecular marker associated with ovarian cancer prognosis using bioinformatics analysis and experiments [J]. J Cell Physiol, 2019, 234 (7): 11023-11036.
- [2] ESCALONA RM, BILANDZIC M, WESTERN P, et al. TIMP-2 regulates proliferation, invasion and STAT3-mediated cancer stem cell-dependent chemoresistance in ovarian cancer cells [J]. BMC Cancer, 2020, 20(1): 960-983.
- [3] NIU YC, TONG J, SHI XF, et al. MicroRNA-654-3p enhances cisplatin sensitivity by targeting QPRT and inhibiting the PI3K/AKT signaling pathway in ovarian cancer cells [J]. Exp Ther Med, 2020, 20(2): 1467-1479.
- [4] ZUO Y, ZHENG W, TANG Q, et al. miR-576-3p overexpression enhances cisplatin sensitivity of ovarian cancer cells by dysregulating PD-L1 and cyclin D1 [J]. Mol Med Rep, 2021, 23(1): 81.
- [5] VADIVELU N, CHANG D, HELANDER EM, et al. Ketorolac, oxymorphone, tapentadol, and tramadol: a comprehensive review [J/OL]. Anesthesiol Clin, 2017, 35(2): e1-e20. DOI: 10.1016/j.anclin.2017.01.001.
- [6] CUI XH, HU SY, ZHU CF, et al. Expression and prognostic analyses of the insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein family in human pancreatic cancer [J]. BMC Cancer, 2020, 20 (1): 1160-1174.
- [7] DONG Y, LI J, HAN F, et al. High IGF2 expression is associated with poor clinical outcome in human ovarian cancer [J]. Oncol Rep, 2015, 34(2): 936-942.
- [8] NGUYEN BCQ, TAKAHASHI H, UTO Y, et al. 1,2,3-triazolyl ester of ketorolac: a "click chemistry"-based highly potent PAK1-blocking cancer-killer [J]. Eur J Med Chem, 2017, 126 (1): 270-276.
- [9] MALLANDRICH M, CALPENA AC, CLARES B, et al. Nano-engineering of ketorolac tromethamine platforms for ocular treatment of inflammatory disorders [J]. Nanomedicine (Lond), 2021, 16(5): 401-414.
- [10] DESMEDT C, DEMICHELI R, FORNILI M, et al. Potential benefit of intra-operative administration of ketorolac on breast cancer recurrence according to the patient's body mass index [J]. J Natl Cancer Inst, 2018, 110(10): 1115-1122.
- [11] GUO Y, KENNEY SR, COOK L, et al. A novel pharmacologic activity of ketorolac for therapeutic benefit in ovarian cancer patients [J]. Clin Cancer Res, 2015, 21(22): 5064-5072.
- [12] GUO Y, KENNEY SR, MULLER CY, et al. R-ketorolac targets Cdc42 and Rac1 and alters ovarian cancer cell behaviors critical for invasion and metastasis [J]. Mol Cancer Ther, 2015, 14(10): 2215-2227.
- [13] HUDSON LG, COOK LS, GRIMES MM, et al. Dual actions of ketorolac in metastatic ovarian cancer [J]. Cancers (Basel), 2019, 11(8): 1049-1065.
- [14] GRIMES MM, KENNEY S R, DOMINGUEZ DR, et al. The R-enantiomer of ketorolac reduces ovarian cancer tumor burden in vivo [J]. BMC Cancer, 2021, 21(1): 40-55.
- [15] SEOL HS, AKIYAMA Y, LEE SE, et al. Loss of miR-100 and miR-125b results in cancer stem cell properties through IGF2 up-regulation in hepatocellular carcinoma [J]. Sci Rep, 2020, 10 (1): 21412-21422.
- [16] MABROUK NMK, ELKAFFASH D M, ABDEL-HADI M, et al. Identification of the possible therapeutic targets in the insulin-like growth factor 1 receptor pathway in a cohort of Egyptian hepatocellular carcinoma complicating chronic hepatitis C type 4 [J]. Drug Target Insights, 2020, 14(5): 1-11.
- [17] CHIU YF, WU CC, KUO MH, et al. Critical role of SOX2-IGF2 signaling in aggressiveness of bladder cancer [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 8261-8273.
- [18] LIEFERS VAL, MEIJERING RAM, REYNERS AKL, et al. IGF system targeted therapy: Therapeutic opportunities for ovarian cancer [J]. Cancer Treat Rev, 2017, 60(1): 90-99.
- [19] TIAN H, HOU L, XIONG Y, et al. Effect of dexmedetomidine-mediated insulin-like growth factor 2 (IGF2) signal pathway on immune function and invasion and migration of cancer cells in rats with ovarian cancer [J]. Med Sci Monit, 2019, 25(1): 4655-4664.
- [20] GAO YQ, CHENG HY, LIU KF. Long non-coding RNA DANCR upregulates IGF2 expression and promotes ovarian cancer progression [J]. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2020, 24(18): 9239.

(收稿日期:2021-03-11,修回日期:2021-04-14)