

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.04.013

# 连翘苷对卵巢癌 SKOV3 细胞增殖、侵袭、凋亡及 MEK/ERK 信号通路的影响\*

杨立芬<sup>1</sup>, 何建清<sup>1</sup>, 尹立新<sup>2</sup>

1. 河北省唐山市妇幼保健院妇产科, 河北唐山 063000; 2. 河北省唐山市南湖医院外科, 河北唐山 063000

**摘要:**目的 探讨连翘苷对卵巢癌 SKOV3 细胞增殖、侵袭、凋亡及丝裂原激活蛋白激酶(MEK)/细胞外信号调节激酶(ERK)信号通路的影响。方法 体外培养卵巢癌 SKOV3 细胞和正常卵巢上皮 IOSE80 细胞, 检测连翘苷对 2 种细胞增殖的抑制情况, 计算半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>); 将 SKOV3 细胞分为阴性对照组、阳性对照组、连翘苷低剂量组、连翘苷中剂量组和连翘苷高剂量组。干预 SKOV3 细胞 48 h 后, 采用流式细胞术检测细胞凋亡情况, 采用 Transwell 法检测细胞侵袭情况, 同时采用蛋白免疫印迹法检测细胞中 MEK、磷酸化-MEK (p-MEK)、ERK、磷酸化-ERK (p-ERK)、上皮型 E 钙黏蛋白(E-cadherin)、B 细胞淋巴瘤/白血病-2 蛋白(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)水平。结果 连翘苷浓度 $\geq 5.0 \mu\text{mol/L}$ 时 SKOV3 细胞和 IOSE80 细胞的增殖率均低于连翘苷浓度为 2.5、0.0  $\mu\text{mol/L}$ 时的增殖率( $P < 0.05$ )。SKOV3 细胞的 IC<sub>50</sub> 为 22.59  $\mu\text{mol/L}$ , IOSE80 细胞的 IC<sub>50</sub> 为 73.62  $\mu\text{mol/L}$ 。与阴性对照组比较, 其余各组细胞凋亡率、E-cadherin 和 Bax 水平升高( $P < 0.05$ ), 线粒体膜电位(MMP)、细胞侵袭数、p-MEK/MEK、p-ERK/ERK、Bcl-2/Bax 及 Bcl-2 水平降低( $P < 0.05$ ); 与阳性对照组比较, 各连翘苷剂量组细胞凋亡率、E-cadherin、Bax 水平降低( $P < 0.05$ ), MMP、细胞侵袭数、p-MEK/MEK、p-ERK/ERK、Bcl-2/Bax 及 Bcl-2 水平升高( $P < 0.05$ )。结论 连翘苷可以抑制 SKOV3 细胞增殖和侵袭, 这可能与连翘苷抑制 MEK/ERK 信号通路, 诱导 SKOV3 细胞凋亡有关。

**关键词:**连翘苷; 卵巢癌; 增殖; 侵袭; 凋亡; 丝裂原激活蛋白激酶/细胞外信号调节激酶信号通路

中图分类号: R737.31; R961.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2025)04-0496-05

## Effects of forsythiaside on proliferation, invasion, apoptosis and the MEK/ERK signaling pathway in ovarian cancer SKOV3 Cells\*

YANG Lifen<sup>1</sup>, HE Jianqing<sup>1</sup>, YIN Lixin<sup>2</sup>

1. Department of Obstetrics and Gynecology, Tangshan Maternal and Child Health Hospital, Tangshan, Hebei 063000, China; 2. Department of Surgery, Tangshan Nanhu Hospital, Tangshan, Hebei 063000, China

**Abstract: Objective** To investigate the effect of forsythiaside on the proliferation, invasion and apoptosis of ovarian cancer SKOV3 cells, as well as its impact on the MEK/ERK signaling pathway. **Methods** Ovarian cancer SKOV3 cells and normal ovarian epithelial IOSE80 cells were cultured in vitro to assess the inhibitory effect of forsythiaside on cell proliferation and the half-maximal inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) was calculated. SKOV3 cells were divided into a negative control group, a positive control group, a low-dose forsythiaside group, a medium-dose forsythiaside group and a high-dose forsythiaside group. After 48 h of intervention with forsythiaside in SKOV3 cells, apoptosis was detected by flow cytometry, cell invasion was detected by Transwell assay, and Western blot was used to detect MEK, phosphorylated-MEK (p-MEK), ERK, phosphorylated-ERK (p-ERK), epithelial-type E-cadherin (E-cadherin), B cell lymphoma/leukemia-2 protein (Bcl-2) and Bcl-2-related X protein (Bax) levels. **Results** When the concentration of forsythiaside was  $\geq 5.0 \mu\text{mol/L}$ , the proliferation rates of SKOV3 cells and IOSE80 cells were lower than those at concentrations of 2.5  $\mu\text{mol/L}$

\* 基金项目: 河北省医学科学研究课题计划(20191534)。

作者简介: 杨立芬, 女, 副主任医师, 主要从事妇科肿瘤与内分泌疾病的诊疗研究。

and  $0.0 \mu\text{mol/L}$  ( $P < 0.05$ ). The  $\text{IC}_{50}$  of SKOV3 cells was  $22.59 \mu\text{mol/L}$ , and the  $\text{IC}_{50}$  of IOSE80 cells was  $73.62 \mu\text{mol/L}$ . Compared with the negative control group, the apoptosis rate, E-cadherin and Bax levels increased, while mitochondrial membrane potential (MMP), the number of invading cells, p-MEK/MEK, p-ERK/ERK, Bcl-2/Bax and Bcl-2 levels decreased in the other groups ( $P < 0.05$ ). Compared with the positive control group, apoptosis rate, E-cadherin and Bax levels decreased ( $P < 0.05$ ), while MMP, the number of invading cells, p-MEK/MEK, p-ERK/ERK, Bcl-2/Bax and Bcl-2 levels increased in each forsythiaside dose groups ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Forsythiaside can inhibit the proliferation and invasion of SKOV3 cells, which may be related to its inhibition of the MEK/ERK signaling pathway and induction of apoptosis in SKOV3 cells.

**Key words:** forsythiaside; ovarian cancer; proliferation; invasion; apoptosis; MEK/ERK signaling pathway

卵巢癌是最致命的妇科恶性肿瘤,约 90% 的卵巢癌为上皮性卵巢癌 (EOC),其 5 年生存率仅为 30%<sup>[1]</sup>。手术后化疗仍然是早期 EOC 最有效的治疗方法,但 75% 的 EOC 患者在晚期才被确诊,只能选择姑息治疗<sup>[2]</sup>。由于 EOC 具有转移早、耐药等特点,迫切需要探寻更高效的治疗方案<sup>[3]</sup>。天然植物一直被认为是抗癌药物的重要来源。流行病学研究表明,通过蔬菜、水果和中药摄入大量天然植物可降低癌症风险<sup>[4]</sup>。连翘苷是从中药连翘中提取的主要活性成分,具有抗衰老、抗氧化和抗炎等功效。研究显示,连翘苷可以抑制肝癌、肾癌等肿瘤细胞的恶性生物学行为,同时下调肺癌组织中血管内皮生长因子和上调血管生成抑制因子(内皮抑制素蛋白)表达而发挥抑制肺部肿瘤发展的作用,但连翘苷影响 EOC 发生、发展的相关机制研究较少<sup>[5-7]</sup>。既往研究显示,丝裂原激活蛋白激酶(MEK)/细胞外信号调节激酶(ERK)信号通路在包括卵巢癌在内的多种癌症的发生、发展中发挥重要作用<sup>[8]</sup>。因此,本研究分析连翘苷对卵巢癌 SKOV3 细胞增殖、侵袭和凋亡的影响,并探讨 MEK/ERK 信号通路在整个过程中的可能作用,为连翘苷治疗 EOC 提供理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 卵巢癌细胞(SKOV3 细胞,中国科学院上海细胞库)、正常卵巢上皮细胞(IOSE80 细胞,中国科学院上海细胞库)、连翘苷(纯度 $\geq 98\%$ ,南京广润生物制品有限公司)。

**1.2 仪器与试剂** 主要仪器包括 FACSCanto 型流式细胞仪(美国 BD 公司)、BD 垂直电泳仪(美国 BD 公司)、凝胶成像仪(美国 UVP 公司)。主要试剂包括顺铂(美国 Sigma 公司)、胎牛血清(浙江天杭生物科技有限公司)、EdU 免疫荧光试剂盒(美国 Invitrogen 公司)、Triton X-100(赛默飞世尔科技公司)、AnnexinV/PI 细胞凋亡检测试剂盒和线粒体膜电位(MMP)

检测试剂盒(美国 BD 公司)、RIPA 裂解液(碧云天生物技术研究)、MEK、磷酸化-MEK(p-MEK)、ERK、磷酸化-ERK(p-ERK)、上皮型 E 钙黏蛋白(E-cadherin)、B 细胞淋巴瘤/白血病-2 蛋白(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)和  $\beta$ -actin 抗体(上海 Beyotime 公司)。

## 1.3 方法

**1.3.1 细胞培养和细胞增殖率检测** 在  $37^\circ\text{C}$ 、 $5\%\text{CO}_2$  环境中用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基培养 SKOV3 细胞和 IOSE80 细胞,选取对数生长期细胞进行实验。将 SKOV3 细胞和 IOSE80 细胞接种于 96 孔板中( $5 \times 10^4$  个/孔),用不同浓度连翘苷(0.0、2.5、5.0、10.0、20.0、40.0、80.0、160.0  $\mu\text{mol/L}$ )干预 48 h 后,换用 50 mmol/L EdU 溶液孵育 4 h,再用 4% 甲醛固定 15 min,并用 0.5% Triton X-100 处理 20 min,用 Apollo 染色 30 min,再用 Hoechst 避光孵育 30 min。用荧光显微镜进行观察和拍照,计算细胞增殖率。细胞增殖率 = EdU 阳性细胞数/(C4-2 细胞数)。确定连翘苷的半数抑制浓度( $\text{IC}_{50}$ ),以连翘苷的  $\text{IC}_{50}$  作为连翘苷最高干预浓度。

**1.3.2 细胞分组及干预** 取 SKOV3 细胞,设置阴性对照组、阳性对照组、连翘苷低剂量组、连翘苷中剂量组和连翘苷高剂量组。阴性对照组不进行处理,阳性对照组给予浓度为  $10 \mu\text{mol/L}$  的顺铂<sup>[9]</sup>,连翘苷低剂量组、连翘苷中剂量组、连翘苷高剂量组依次给予浓度为  $1/4 \text{IC}_{50}$ 、 $1/2 \text{IC}_{50}$  和  $\text{IC}_{50}$  的连翘苷。干预 SKOV3 细胞 48 h 后进行相关检测。

**1.3.3 流式细胞术检测细胞凋亡情况和 MMP** 按 1.3.2 中的方法干预 SKOV3 细胞,以  $1 \times 10^6/\text{mL}$  接种于 6 孔板中(3 mL/孔),48 h 后收获细胞,用磷酸盐缓冲液洗涤细胞 2 次,根据 AnnexinV/PI 细胞凋亡检测试剂盒和 MMP 检测试剂盒说明书检测细胞凋亡率和 MMP。

**1.3.4 Transwell 法检测细胞侵袭数** 将 SKOV3

细胞接种在 24 孔 Transwell 小室中( $5 \times 10^5$  个/孔),按 1.3.2 中的方法干预 SKOV3 细胞,48 h 后取出小室,用 4% 甲醛溶液固定 10 min 后,再用 0.1% 结晶紫染液染色(30 min),用磷酸盐缓冲液冲洗干净后在倒置显微镜下计数一个视野中结晶紫着色细胞数。

**1.3.5 蛋白免疫印迹(Western blot)法检测细胞中 MEK、p-MEK、ERK、p-ERK、E-cadherin、Bcl-2 和 Bax**  
按 1.3.2 中的方法干预 SKOV3 细胞,以  $1 \times 10^6$  /mL 接种于 6 孔板中(3 mL/孔),48 h 后收获细胞,用磷酸盐缓冲液洗涤细胞 2 次,用 RIPA 裂解液裂解 30 min,离心取上清液,进行电泳(20  $\mu$ g/孔)、转膜。抗体孵育:MEK(1 : 200)、p-MEK(1 : 250)、ERK(1 : 400)、p-ERK(1 : 300)、E-cadherin(1 : 200)、Bcl-2(1 : 400)和 Bax(1 : 300),4  $^{\circ}$ C 孵育过夜,洗膜后用山羊抗鼠 IgG 二抗(1 : 10 000)在室温下孵育(30 min),显色,以  $\beta$ -actin 作为内对照,采集图像进行分析。计算 p-MEK/MEK、p-ERK/ERK、Bcl-2/Bax。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS25.0 统计软件进行统计分析,呈正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 SNK-*q* 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 不同浓度连翘苷干预后 SKOV3 细胞和 IOSE80 细胞增殖率比较** 连翘苷浓度  $\geq 5.0 \mu\text{mol/L}$  时 SKOV3 细胞和 IOSE80 细胞的增殖率均低于连翘苷浓度为 2.5、0.0  $\mu\text{mol/L}$  时的增殖率( $P < 0.05$ )。连翘苷对 SKOV3 细胞的  $\text{IC}_{50}$  为 22.59  $\mu\text{mol/L}$ ,对 IOSE80 细胞的  $\text{IC}_{50}$  为 73.62  $\mu\text{mol/L}$ 。根据 1.3.2 的分组要求,故选 20.0  $\mu\text{mol/L}$  作为连翘苷高剂量组的干预剂量,连翘苷中剂量组和连翘苷低剂量组的干预剂量依次为 10.0、5.0  $\mu\text{mol/L}$ 。见表 1。

表 1 不同浓度连翘苷干预后 SKOV3 细胞和 IOSE80 细胞增殖率比较( $\bar{x} \pm s, \%$ )

浓度( $\mu\text{mol/L}$ )	SKOV3 细胞	IOSE80 细胞
0.0	100.00 $\pm$ 13.28	100.00 $\pm$ 9.52
2.5	97.58 $\pm$ 10.29	99.78 $\pm$ 3.52
5.0	88.26 $\pm$ 7.62 <sup>ab</sup>	92.46 $\pm$ 8.61 <sup>ab</sup>
10.0	75.09 $\pm$ 5.10 <sup>ab</sup>	84.68 $\pm$ 9.40 <sup>ab</sup>
20.0	53.95 $\pm$ 8.40 <sup>ab</sup>	70.36 $\pm$ 5.31 <sup>ab</sup>
40.0	31.28 $\pm$ 9.26 <sup>ab</sup>	59.26 $\pm$ 6.29 <sup>ab</sup>
80.0	14.16 $\pm$ 5.92 <sup>ab</sup>	41.28 $\pm$ 10.21 <sup>ab</sup>
160.0	3.26 $\pm$ 2.18 <sup>ab</sup>	26.08 $\pm$ 6.28 <sup>ab</sup>
<i>F</i>	56.982	37.017
<i>P</i>	<0.001	<0.001

注:与 0.0  $\mu\text{mol/L}$  比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 2.5  $\mu\text{mol/L}$  比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

**2.2 各组 SKOV3 细胞凋亡率、MMP 和细胞侵袭数比较** 与阴性对照组比较,其余各组细胞凋亡率增加( $P < 0.05$ ),MMP 和细胞侵袭数降低( $P < 0.05$ );与阳性对照组比较,各连翘苷剂量组细胞凋亡率降低( $P < 0.05$ ),MMP 和细胞侵袭数增加( $P < 0.05$ )。各连翘苷剂量组细胞凋亡率、MMP 和细胞侵袭数比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 各组 SKOV3 细胞凋亡率、MMP 和细胞侵袭数比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	细胞凋亡率( $\%$ )	MMP( $\%$ )	细胞侵袭数(个)
阴性对照组	1.53 $\pm$ 0.08	100.00 $\pm$ 15.24	823.54 $\pm$ 61.02
阳性对照组	12.32 $\pm$ 0.83 <sup>a</sup>	73.26 $\pm$ 10.85 <sup>a</sup>	251.05 $\pm$ 17.20 <sup>a</sup>
连翘苷低剂量组	4.04 $\pm$ 0.40 <sup>ab</sup>	91.26 $\pm$ 4.10 <sup>ab</sup>	716.27 $\pm$ 59.27 <sup>ab</sup>
连翘苷中剂量组	5.17 $\pm$ 0.38 <sup>abc</sup>	84.39 $\pm$ 6.54 <sup>abc</sup>	483.55 $\pm$ 71.32 <sup>abc</sup>
连翘苷高剂量组	8.42 $\pm$ 0.79 <sup>abcd</sup>	77.26 $\pm$ 1.22 <sup>abcd</sup>	364.10 $\pm$ 19.53 <sup>abcd</sup>
<i>F</i>	27.118	18.460	42.027
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001

注:与阴性对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与阳性对照组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与连翘苷低剂量组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ;与连翘苷中剂量组比较,<sup>d</sup> $P < 0.05$ 。

**2.3 各组 p-MEK/MEK、p-ERK/ERK 和 E-cadherin 水平比较** 与阴性对照组比较,其余各组细胞中 p-MEK/MEK 和 p-ERK/ERK 降低,E-cadherin 水平升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );与阳性对照组比较,各连翘苷剂量组细胞中 p-MEK/MEK 和 p-ERK/ERK 升高,E-cadherin 水平降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。各连翘苷剂量组细胞中 p-MEK/MEK、p-ERK/ERK 和 E-cadherin 水平比较,差异均有统计学意义  $P < 0.05$ )。见表 3、图 1。

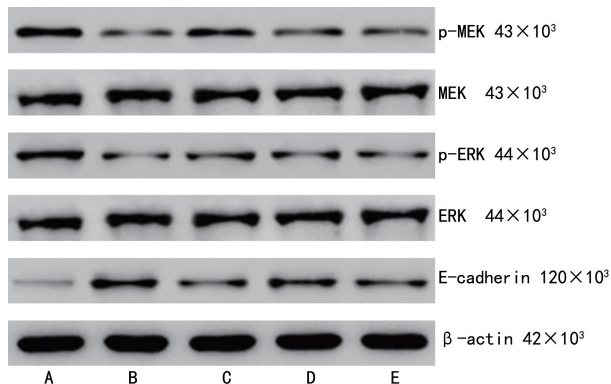
表 3 各组 p-MEK/MEK、p-ERK/ERK 和 E-cadherin 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	p-MEK/MEK	p-ERK/ERK	E-cadherin
阴性对照组	0.74 $\pm$ 0.09	0.69 $\pm$ 0.10	0.06 $\pm$ 0.02
阳性对照组	0.31 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.24 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	0.68 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>
连翘苷低剂量组	0.56 $\pm$ 0.08 <sup>ab</sup>	0.46 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>	0.20 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>
连翘苷中剂量组	0.47 $\pm$ 0.05 <sup>abc</sup>	0.39 $\pm$ 0.02 <sup>abc</sup>	0.33 $\pm$ 0.03 <sup>abc</sup>
连翘苷高剂量组	0.39 $\pm$ 0.10 <sup>abcd</sup>	0.30 $\pm$ 0.05 <sup>abcd</sup>	0.42 $\pm$ 0.12 <sup>abcd</sup>
<i>F</i>	19.293	26.038	13.114
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001

注:与阴性对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与阳性对照组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与连翘苷低剂量组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ;与连翘苷中剂量组比较,<sup>d</sup> $P < 0.05$ 。

**2.4 各组 Bcl-2、Bax 水平及 Bcl-2/Bax 比较** 与阴性对照组比较,其余各组细胞中 Bcl-2 水平、Bcl-2/

Bax 降低, Bax 水平升高, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与阳性对照组比较, 各连翘苷剂量组细胞中 Bcl-2 水平、Bcl-2/Bax 升高, Bax 水平降低, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 各连翘苷剂量组细胞中 Bcl-2 水平、Bcl-2/Bax 和 Bax 水平比较, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 4 和图 2。



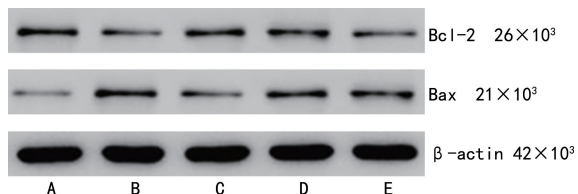
注: A 为阴性对照组; B 为阳性对照组; C 为连翘苷低剂量组; D 为连翘苷中剂量组; E 为连翘苷高剂量组。

图 1 各组 MEK、p-MEK、ERK、p-ERK 和 E-cadherin Western blot 检测结果

表 4 各组 Bcl-2、Bax 水平及 Bcl-2/Bax 比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	Bcl-2	Bax	Bcl-2/Bax
阴性对照组	0.42 ± 0.05	0.07 ± 0.02	6.00 ± 0.73
阳性对照组	0.21 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.37 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.57 ± 0.10 <sup>a</sup>
连翘苷低剂量组	0.36 ± 0.04 <sup>ab</sup>	0.15 ± 0.01 <sup>ab</sup>	2.40 ± 0.29 <sup>ab</sup>
连翘苷中剂量组	0.33 ± 0.08 <sup>abc</sup>	0.20 ± 0.04 <sup>abc</sup>	1.65 ± 0.37 <sup>abc</sup>
连翘苷高剂量组	0.27 ± 0.01 <sup>abcd</sup>	0.31 ± 0.02 <sup>abcd</sup>	0.87 ± 0.12 <sup>abcd</sup>
F	68.093	51.229	40.925
P	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与阴性对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与阳性对照组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与连翘苷低剂量组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 与连翘苷中剂量组比较, <sup>d</sup> $P < 0.05$ 。



注: A 为阴性对照组; B 为阳性对照组; C 为连翘苷低剂量组; D 为连翘苷中剂量组; E 为连翘苷高剂量组。

图 2 各组 Bcl-2、Bax Western blot 检测结果

### 3 讨论

EOC 通常被称为沉默的杀手, 因其症状不典型, 直到晚期才能被发现, 几乎失去了治疗的意义。EOC 除被诊断时间晚外, 药物使用有限、易耐药以及化疗相关的毒性也是其治疗的难点<sup>[10]</sup>。因此, 迫切需要开发新的药物。连翘苷是一种黄酮类化合物, 具有巨大

的药理潜力。因此, 本研究评估了连翘苷对卵巢癌 SKOV3 细胞的抗癌作用。结果表明, 连翘苷能显著抑制 SKOV3 细胞的生长 ( $IC_{50}$  为 22.59  $\mu\text{mol/L}$ )。并且连翘苷对正常卵巢上皮细胞 IOSE80 细胞的毒性较低 ( $IC_{50}$  为 73.62  $\mu\text{mol/L}$ ), 表明连翘苷对癌细胞的靶向作用更强。连翘苷的抗肿瘤作用已在肾癌和肝细胞癌中被证实<sup>[11]</sup>。与上述研究一致, 本研究通过流式细胞术检测发现, 连翘苷可以诱导 SKOV3 细胞凋亡。本研究结果得到了先前研究<sup>[12]</sup>的进一步支持, 该研究报道了连翘苷诱导癌细胞凋亡。同时, 本研究还探讨连翘苷治疗 EOC 的潜在机制。

EOC 的特点是腹腔内的局部生长和浅表浸润, 而不是像大多数肿瘤那样发生远处的血行转移。研究表明, E-cadherin 的丢失与 EOC 转移、腹膜扩散和患者预后差有关, 这表明 E-cadherin 具有抑制肿瘤侵袭的功能<sup>[13]</sup>。事实上, 小干扰 RNA (siRNA) 沉默 E-cadherin 后可以通过上调  $\alpha 5$  整合素来增强 EOC 细胞的侵袭能力<sup>[14]</sup>。本研究结果显示, 连翘苷可促进 SKOV3 细胞中 E-cadherin 的表达。

由于恶性肿瘤细胞的过度增殖和侵袭是肿瘤的特征, 本研究认为 E-cadherin 可能在 EOC 的增殖和侵袭中发挥重要作用。在 SKOV3 细胞中, 由细胞-细胞黏附引发的 MEK/ERK 的激活依赖于 E-cadherin, 靶向 E-cadherin 的 siRNA 及其特异性中和抗体都能够阻止 MEK 或 ERK 的磷酸化<sup>[15]</sup>。MEK 级联是调控正常细胞增殖、存活和凋亡的关键信号通路。MEK 级联的异常调控可导致癌症和人类其他疾病<sup>[16]</sup>。此外, PI3K/Akt 信号通路下游 mTOR 通路的异常阻断了成纤维细胞生长因子 2 (FGF2) 诱导的 E-cadherin 下调和细胞侵袭<sup>[17]</sup>。因此, 本研究探讨连翘苷对 MEK/ERK 通路的作用, 并观察到连翘苷可以抑制 MEK 和 ERK 的磷酸化, 这表明连翘苷可能是靶向该通路的潜在候选药物。虽然其抗癌作用没有顺铂强, 但考虑到其临床不良反应较少, 连翘苷依然是一个有潜力的抗癌药物<sup>[17]</sup>。

MEK/ERK 被激活后, 通过磷酸化一系列下游分子来维持肿瘤细胞存活和促进增殖。MEK/ERK 信号通路的激活已被证明通过诱导抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达来支持鳞状细胞癌细胞的生存<sup>[18]</sup>。Bcl-2 基因是关键抗凋亡基因之一, Bax 基因是促凋亡基因, Bcl-2 和 Bax 之间的平衡被认为在细胞凋亡通路中起主要作用<sup>[19]</sup>。Bcl-2/Bax 的平衡被破坏后, 导致线粒体膜通透性发生变化, 细胞液进入线粒体, 使 MMP 降低, 导致线粒体中三磷酸腺苷 (ATP) 合成能力下降, 进一步激活半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 (Caspase) 家

族,导致 Caspase-3 激活,最终诱导发生不可逆的细胞凋亡<sup>[20-21]</sup>。为了确定细胞凋亡是否遵循线粒体路径,本研究测定了连翘苷对 MMP 的影响,并观察到连翘苷显著降低了 MMP,这与 Bcl-2/Bax 降低有关。有研究显示,具有细胞凋亡诱导特性的药物表现出减轻耐药的潜力,本研究结果表明,连翘苷具有细胞凋亡诱导特性,提示连翘苷可能是治疗 EOC 的重要药物。

综上所述,连翘苷通过抑制 MEK/ERK 信号通路,诱导 SKOV3 细胞凋亡,从而抑制 SKOV3 细胞增殖和侵袭。本研究初步证实连翘苷是治疗 EOC 的潜在候选药物,但其具体作用剂量及潜在作用机制仍需开展大量实验来明确。本研究仅基于细胞学单一通路的研究,EOC 细胞功能的调控可能涉及多条信号通路的协调作用,本研究将在后续的研究中进行探讨。

## 参考文献

[1] 黄海涛,陈姝玉,耿旭,等. 2005—2016 年中国女性卵巢癌发病及死亡趋势研究[J]. 中国全科医学, 2022, 25(8): 990-994.

[2] DUPONT N C, ENSERRO D, BRADY M F, et al. Prognostic significance of ethnicity and age in advanced stage epithelial ovarian cancer: an NRG oncology/gynecologic oncology group study[J]. *Gynecol Oncol*, 2022, 164(2): 398-405.

[3] 中国医师协会微无创医学专业委员会妇科肿瘤学组, 中国研究型医院学会妇产科专业委员会. 晚期上皮性卵巢癌新辅助化疗指征的快速指南(2021 年版)[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2021, 37(4): 444-448.

[4] 李晓,邓佳丽,安玉艳,等. 基于类黄酮成分的不同品种无花果采收时机及抑癌活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2021, 33(9): 1527-1538.

[5] 高志强,陈君,李丁洋,等. 环状 RNA\_0054537 联合连翘苷调控肝癌细胞生物学特性的分子机制[J]. 中华实验外科杂志, 2020, 37(8): 1464-1468.

[6] 李绍智,练维生. 连翘苷调控 LINC00342 影响胃癌细胞增殖、迁移和侵袭及炎症因子表达的实验研究[J]. 世界华人消化杂志, 2022, 30(4): 182-190.

[7] 李绍霄,李邦亮. 连翘苷对体内外鼻咽癌血管新生的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2023, 40(3): 693-700.

[8] 任丽平,李先佳,金少举,等. 基于 Raf/MEK/ERK 信号通路及 ROS 水平研究石蒜碱调控肝癌 HepG-2 细胞凋亡的机制[J]. 中药药理与临床, 2021, 37(2): 28-32.

[9] 王慧,王静,闫冬娟,等. 二氢黄酮醇通过调控 HK2 表达对人卵巢癌顺铂耐药细胞株 SKOV3/DDP 的耐药性影响

[J]. 医学研究生学报, 2022, 35(8): 806-812.

[10] CHALIF J, YAO M, GRUNER M, et al. Incidence and prognostic significance of inguinal lymph node metastasis in women with newly diagnosed epithelial ovarian cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2022, 165(1): 90-96.

[11] 吴林斌,吴元肇,李晓丹,等. 连翘苷经 PI3K/Akt 信号通路干预肾细胞癌的机制研究[J]. 中草药, 2019, 50(10): 2377-2382.

[12] 周凡,高扬,胡艳平,等. 连翘苷调节相关信号通路对地塞米松诱导的成骨细胞自噬和凋亡的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2023, 29(7): 976-981.

[13] KIELBIK M, SZULC-KIELBIK I, KLINK M. E-Cadherin expression in relation to clinicopathological parameters and survival of patients with epithelial ovarian cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(22): 14383.

[14] 陈勇,刘颖,高鸿,等. E-钙黏蛋白 siRNA 促进胃癌细胞 SGC7901 耐药与增殖[J]. 基础医学与临床, 2011, 31(9): 1006-1010.

[15] 陈虹,潘琦文,李建湘,等. RNAi 沉默 N-cadherin 通过 MEK-ERK 信号通路抑制卵巢癌细胞增殖、侵袭、迁移及上皮-间质转化过程[J]. 西部医学, 2022, 34(8): 1140-1146.

[16] 李逊,严娇,蔡顺礼,等. HMMR 通过 MEK/ERK 信号通路促进肝细胞癌侵袭转移[J]. 陆军军医大学学报, 2022, 44(17): 1720-1727.

[17] 程国华,李雅蓉,刘兆玉,等. CENP-A 通过调控 PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B 信号通路对卵巢癌细胞侵袭、迁移的影响[J]. 中华内分泌外科杂志, 2021, 15(3): 248-253.

[18] LI X, WANG N, WU Y T, et al. ALDH6A1 weakens the progression of colon cancer via modulating the RAS/RAF/MEK/ERK pathway in cancer cell lines[J]. *Gene*, 2022, 842: 146757.

[19] 边庆华,彭皇青,周月娟,等. 藏红花水提取物通过调控 ERK、Bcl-2、Bax 蛋白表达影响人卵巢癌细胞 HO-8910 增殖[J]. 中国免疫学杂志, 2023, 39(1): 76-80.

[20] SONG D Q, LIU J, WANG F, et al. Procyanidin B2 inhibits lipopolysaccharide-induced apoptosis by suppressing the Bcl-2/Bax and NF- $\kappa$ B signalling pathways in human umbilical vein endothelial cells[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(4): 267.

[21] ALASWAD H A, MAHBUB A A, LE MAITRE C L, et al. Molecular action of polyphenols in leukaemia and their therapeutic potential[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(6): 3085.