

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.22.013

BKM120 对紫杉醇耐药卵巢癌细胞的抑制作用*

林城江, 陈 冰

(上海交通大学医学院附属瑞金医院药剂科, 上海 200025)

摘要:目的 研究 BKM120 对卵巢癌 A2780 细胞和紫杉醇耐药卵巢癌 A2780/Taxol 细胞的抑制作用。方法 采用 MTT 法检测 A2780 和 A2780/Taxol 细胞存活情况, 设溶剂对照组和实验①、②、③、④、⑤、⑥、⑦组(BKM120 浓度分别为 0, 0.1, 0.3, 1.0, 3.0, 10.0, 30.0, 100.0 $\mu\text{mol/L}$)。PI 单染检测细胞周期的分布情况; TUNEL 荧光染色检测细胞凋亡情况, 采用 Western blot 法检测凋亡相关蛋白表达水平, 设阳性对照组[顺铂(DDP)组, 10 $\mu\text{mol/L}$]、溶剂对照组和实验 A、B、C、D 组(BKM120 浓度分别为 0, 0.3, 1.0, 3.0, 10.0 $\mu\text{mol/L}$)。结果 与溶剂对照组比较, 实验②、③、④、⑤、⑥、⑦组 A2780 和 A2780/Taxol 细胞增殖抑制率显著升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); BKM120 对 A2780 和 A2780/Taxol 细胞半数抑制浓度分别为 $(2.25 \pm 0.13) \mu\text{mol/L}$ 和 $(4.17 \pm 0.43) \mu\text{mol/L}$ 。与溶剂对照组比较, 实验 C、D 组 G2 期 A2780 和 A2780/Taxol 细胞显著增多($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); DDP 组和实验 A、B、C、D 组 A2780 和 A2780/Taxol 凋亡细胞显著增多($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 实验 C 组、D 组 A2780 和 A2780/Taxol 细胞 Bcl-2、Pro-caspase 3、P-gp 蛋白表达水平和 P-Akt/Akt 显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结论 BKM120 可降低紫杉醇耐药卵巢癌 A2780/Taxol 细胞的存活率, 其机制可能与抑制 A2780 和 A2780/Taxol 细胞的增殖, 下调 P-Akt 及 P-gp 蛋白表达水平诱导细胞凋亡有关。

关键词: BKM120; 卵巢癌; 多药耐药; P-Akt; 紫杉醇耐药卵巢癌 A2780/Taxol 细胞; 抑制作用

中图分类号: R965; R979.1

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2021)22-0051-06

Inhibitory Effect of BKM120 on Paclitaxel-Resistant Ovarian Cancer Cells

LIN Chengjiang, CHEN Bing

(Department of Pharmacy, Ruijin Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, China 200025)

Abstract: Objective To research the inhibitory effect of BKM120 on ovarian cancer A2780 cells and paclitaxel-resistant ovarian cancer A2780/Taxol cells. **Methods** Methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay was used to detect the survival of A2780 and A2780/Taxol cells, and the solvent control group and experiment groups ①, ②, ③, ④, ⑤, ⑥, and ⑦ (the concentrations of BKM120 were 0, 0.1, 0.3, 1.0, 3.0, 10.0, 30.0, 100.0 $\mu\text{mol/L}$, respectively) were set up. PI single staining was used to detect the distribution of the cell cycle, TUNEL fluorescent staining was used to detect cell apoptosis, Western blot was used to detect the expression levels of apoptosis-related proteins, and the positive control groups [cisplatin (DDP) group, 10 $\mu\text{mol/L}$], solvent control group and experiment groups A, B, C, D (the concentrations of BKM120 were 0, 0.3, 1.0, 3.0, 10.0 $\mu\text{mol/L}$, respectively) were set up. **Results** Compared with those in the solvent control group, the proliferation inhibition rate of A2780 and A2780/Taxol cells in experiment groups ②, ③, ④, ⑤, ⑥, and ⑦ significantly increased ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). The IC_{50} of BKM120 on A2780 and A2780/Taxol cells were $(2.25 \pm 0.13) \mu\text{mol/L}$ and $(4.17 \pm 0.43) \mu\text{mol/L}$, respectively. Compared with those in the solvent control group, the number of A2780 and A2780/Taxol cells in the G2 period in the experiment groups C and D significantly increased ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), the number of A2780 and A2780/Taxol apoptotic cells in DDP group and experiment groups A, B, C, and D significantly increased ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), while the expression levels of Bcl-2, Pro-caspase 3, P-gp protein and the P-Akt/Akt of A2780 and A2780/Taxol cells in DDP group and experiment groups C and D significantly decreased ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). **Conclusion** BKM120 can reduce the survival rate of paclitaxel-resistant ovarian cancer A2780/Taxol cells. The mechanism may be related to the inhibition of the proliferation of A2780 and A2780/Taxol cells, and the down-regulation of P-Akt and P-gp protein expression levels to induce cell apoptosis.

Key words: BKM120; ovarian cancer; multidrug resistance; P-Akt; paclitaxel-resistant ovarian cancer A2780/Taxol cells; inhibitory effect

卵巢癌为女性常见恶性肿瘤, III ~ IV 期卵巢癌患者 经过手术及化学治疗(简称化疗)后, 5 年生存率仅 20% ~

*基金项目: 国家自然科学基金[81973387]。

第一作者: 林城江, 男, 博士研究生, 药师, 研究方向为临床药理学, (电子信箱)lcj04304@rjh.com.cn。

- rats[J]. Journal of Hainan Medical University (English Edition), 2016, 22(18): 6-10.
- [15] 魏景美, 马玉花. 苯磺酸左旋氨氯地平联合降压益肾颗粒对原发性高血压患者的临床疗效观察[J]. 中国医药, 2018, 13(5): 660-663.
- [16] CHENG YQ, TAN BY, YU XH, et al. Synergism of amlodipine and candesartan on blood pressure reduction and organ protection in hypertensive rats[J]. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 2018, 45(6): 514-524.
- [17] 蔡旭阳, 杨 甜, 金朝辉, 等. 高血压患者使用左旋氨氯地平的安全性系统评价[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2019, 11(7): 25-28.
- (收稿日期: 2021-03-24; 修回日期: 2021-06-21)

30%^[1-5]。其常规化疗一线药物主要为紫杉醇类与铂类药物。多药耐药性(MDR)是细胞对一种药物产生耐药性的同时,对其他结构和作用靶点类似或不相似的抗肿瘤药物也产生耐药性^[6-8]。P-糖蛋白(P-gp)过表达是研究最多的一种多药耐药机制,它是三磷酸腺苷(ATP)依赖性“药泵”,多种多药耐药细胞均可过度表达P-gp,其水平与耐药程度有关。YANG等^[9]发现,P-gp和抗凋亡相关蛋白的过表达与卵巢癌细胞对紫杉醇的耐药相关。磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)信号通路具有调节细胞增殖、分化、凋亡等多种功能,并参与肿瘤的多药耐药^[10-12]。BKM120属口服泛I型PI3K抑制剂,作用于p110 α ,p110 β ,p110 δ 和p110 γ ,抑制细胞内Akt的磷酸化,在体内外抑制多种肿瘤细胞的生长^[13-16]。紫杉醇耐药卵巢癌细胞是以大剂量紫杉醇长期作用于卵巢癌A2780细胞后建立的具有稳定紫杉醇耐药性细胞株,即A2780/Taxol细胞。虽有报道称BKM120对卵巢癌A2780细胞增殖有明显的抑制作用^[17],但尚无紫杉醇耐药卵巢癌A2780/Taxol细胞的作用报道。本研究探讨了BKM120对A2780/Taxol细胞的抑制作用及作用机制。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与细胞

1.1.1 仪器

CX23型光学倒置显微镜(日本Olympus公司);371型气套式CO₂恒温培养箱(美国Thermo Electron公司);FACSCalibur型流式细胞仪(美国Becton Dickinson公司);Sp-100UV型紫外分光光度计(英国Unicam公司);Power Pac 200/MINI型通用电泳仪、MINI-Protean型电泳槽、Trans-Blot SD型半干转膜仪(美国Bio Rad公司);BX43型荧光正置显微镜(日本Olympus公司);Tanon 4600型凝胶成像分析仪(中国上海天能科技有限公司);1-14K型台式低温高速冷冻离心机(德国Sigma公司);SW-CJ-1B型净化工作台(中国苏州净化设备厂)。

1.1.2 试剂

BKM120(美国MCE公司);顺铂(DDP,齐鲁制药有限公司);青霉素(河南新乡华星药厂);链霉素(吉林济邦药业有限公司);紫杉醇(哈尔滨三联药业股份有限公司);DMEM培养液、RPMI-1640培养液(美国Gibco公司);胎牛血清(FBS,天津市灏洋生物制品科技有限公司);二甲基亚砜(DMSO)、碘化丙啶(PI,美国Sigma公司);MTT试剂盒、TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);P-Akt抗体、Akt抗体、Bcl-2抗体、Pro-caspase 3抗体、P-gp抗体、 β -actin抗体(美国Santa Cruz Biotechnology公司);SDS溶液(北京索莱宝科技有限公司)。

1.1.3 细胞

卵巢癌A2780细胞、紫杉醇耐药卵巢癌细胞A2780/Taxol(南京凯基生物科技发展有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

取A2780细胞适量,培养于含10% FBS、100 U/mL青霉素、100 μ g/mL链霉素的DMEM培养液中;取A2780/Taxol细胞适量,培养于含10% FBS、100 U/mL青霉素、100 μ g/mL链霉素、800 ng/mL紫杉醇的RPMI-1640培养液中。2种细胞均在37℃及5% CO₂培养箱中培养。每周进行2次传代处理。

1.2.2 BKM120对细胞增殖的影响

采用MTT法。取对数生长期的2种细胞,分别制成密度为10⁵ mL⁻¹的细胞悬液,接种于96孔板中,每孔0.1 mL,设溶剂对照组和实验①、②、③、④、⑤、⑥、⑦组。分别置37℃及5% CO₂培养箱中培养24 h后加入经RPMI-1640培养液稀释的BKM120,其终浓度分别为0,0.1,0.3,1.0,3.0,10.0,30.0,100.0 μ mol/L。药物作用24,48,72 h后,每孔加入10 μ L 0.5% MTT溶液,继续培养4 h。每孔加入100 μ L 10% SDS溶液,置37℃及5% CO₂培养箱中培养过夜。采用酶联免疫吸附检测仪在570 nm波长处检测吸光度值(OD)。平行操作3次,计算细胞增殖抑制率[(1-OD_{实验组})/OD_{对照组}×100%]。并计算半数抑制浓度(IC₅₀)。

1.2.3 BKM120对细胞周期的影响

取对数生长期的2种细胞,分别接种到无菌6孔板中,培养过夜,贴壁。设溶剂对照组和实验A,B,C,D组及DDP组,分别以终浓度为0,0.3,1.0,3.0,10.0 μ mol/L的BKM120和10.0 μ mol/L DDP培养液作用24 h,收集细胞,用预冷的磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤3次,并用70%乙醇在-20℃下固定过夜。离心,弃去固定液,然后用PBS洗涤细胞后重悬浮于含100 μ g/mL的PI,50 μ g/mL的RNA酶,0.1%的Triton X-100的PBS中,37℃,避光,染色30 min。采用流式细胞仪检测,每份样本采集10⁵个细胞,结果用ModFit软件进行分析。平行操作3次。

1.2.4 BKM120对细胞凋亡的影响

取2种细胞(3.5×10⁵个/孔),分别接种于含高压灭菌盖玻片的6孔培养板中贴壁过夜。分组方法同1.2.3项下,加入不同浓度(0,0.3,1.0,3.0,10.0 μ mol/L)的BKM120和10 μ mol/L DDP,作用24 h后弃去培养液。PBS洗1次,加入4%多聚甲醛固定45 min,0.1% Triton X-100冰浴2~3 min,PBS洗涤2次,加入50 μ L TUNEL检测液,37℃避光孵育60 min,以50%甘油封片,显微镜下放大200倍观察细胞形态并拍

照。平行操作 3 次。

1.2.5 BKM120 对细胞中相关蛋白表达的影响

采用 Western blot 法。将 2 种细胞(10^6 个/孔)接种于 6 孔板中过夜。分组方法同 1.2.3 项下,加入不同浓度(0, 0.3, 1.0, 3.0, 10.0 $\mu\text{mol/L}$)BKM120 和 10 $\mu\text{mol/L}$ DDP 处理 24 h。吸除培养液, PBS 冲洗, 吸净 PBS, 每孔加入 100 μL Trizol, 冰上裂解 20 min, 收集细胞, 置 1.5 mL EP 管中, 4 $^{\circ}\text{C}$ 下 12 000 g 离心 5 min, 取上清液, 以 Lowry 法检测蛋白含量。各组取 50 μg 上样, 根据蛋白分子量以 8% 或 12% SDS-PAGE 电泳后半干转, 转至 PVDF 膜上, 5% 脱脂奶粉(含 0.1% 吐温 20)室温封闭 1 h, 加入一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 封闭孵育过夜, TBST 清洗 4 次, 每次 8 min。加入辣根过氧化物酶标记的二抗, 室温振荡 2 h, 回收二抗, 用含 0.1% 吐温 20 的 TBST 清洗 4 次, 每次 8 min。加入 ECL 化学发光试剂, 将 PVDF 膜放入暗盒中, 压上 X 胶片, 取出胶片后显影、定影、清洗。以凝胶成像仪扫描, 分析目的条带与内参条带的灰度比值, 即为各目的蛋白相对表达水平。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计学软件分析。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示, 行单因素方差分析和 LSD- t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BKM120 对细胞增殖的抑制作用

用 0.1 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 BKM120 处理 A2780 细胞和 A2780/Taxol 细胞 24, 48, 72 h, 1 $\mu\text{mol/L}$ BKM120 作用 24 h 有明显的增殖抑制作用, 且随着时间的延长作用增强。BKM120 对 A2780 细胞的 IC_{50} 为 $(2.25 \pm 0.13) \mu\text{mol/L}$, 对 A2780/Taxol 细胞的 IC_{50} 为 $(4.17 \pm 0.43) \mu\text{mol/L}$ 。详见表 1。

2.2 BKM120 对细胞周期的影响

A2780 细胞和 A2780/Taxol 细胞在 BKM120 作用 24 h 后出现 G1 期细胞减少, G2 期阻滞, 且具有剂量依赖性。从 3.0 $\mu\text{mol/L}$ 开始, 实验组与溶剂对照组 G2 期细胞数有显著差异($P < 0.01$)。详见表 2、图 1。

2.3 BKM120 对细胞凋亡的诱导作用

BKM120 作用于 A2780 细胞和 A2780/Taxol 细胞 24 h 后, 细胞基因组 DNA 发生断裂, 末端 3'-OH 显露出来, 可在末端脱氧核苷酸转移酶作用下添加荧光素标记的 dUTP, 显微镜下观察呈现绿色荧光(见图 2)。BKM120 诱导细胞凋亡呈剂量依赖性, 经 LSD- t 检验, 从 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 开始, 实验组与溶剂对照组间有显著差异($P < 0.01$)。详见表 3。

表 1 各组细胞增殖抑制率比较($\bar{X} \pm s, \%, n=3$)

Tab. 1 Comparison of the inhibition rate of cell proliferation in each group ($\bar{X} \pm s, \%, n=3$)

组别	浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	A2780 细胞			A2780/Taxol 细胞		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
溶剂对照组	0	0	0	0	0	0	0
实验①组	0.1	0.00 $\pm$ 0.00	6.08 $\pm$ 3.87	0.90 $\pm$ 1.01	0.80 $\pm$ 0.80	2.81 $\pm$ 1.41	0.80 $\pm$ 1.01
实验②组	0.3	0.43 $\pm$ 2.48	16.31 $\pm$ 3.71*	3.20 $\pm$ 3.54	3.01 $\pm$ 4.27	9.68 $\pm$ 3.84*	1.10 $\pm$ 1.34
实验③组	1.0	14.50 $\pm$ 9.96**	30.25 $\pm$ 1.58**	26.57 $\pm$ 14.70**	7.12 $\pm$ 0.37*	19.80 $\pm$ 3.81**	13.52 $\pm$ 4.41**
实验④组	3.0	27.92 $\pm$ 3.10**	58.58 $\pm$ 1.86**	62.94 $\pm$ 11.61**	14.71 $\pm$ 1.02**	42.73 $\pm$ 6.56**	51.53 $\pm$ 9.50**
实验⑤组	10.0	39.25 $\pm$ 6.55**	78.18 $\pm$ 1.87**	86.02 $\pm$ 6.65**	11.49 $\pm$ 5.83*	58.15 $\pm$ 3.26**	70.83 $\pm$ 0.72**
实验⑥组	30.0	34.72 $\pm$ 4.22**	76.24 $\pm$ 1.40**	81.15 $\pm$ 7.88**	10.81 $\pm$ 5.11**	55.20 $\pm$ 1.30**	73.73 $\pm$ 1.60**
实验⑦组	100.0	41.09 $\pm$ 5.40**	81.29 $\pm$ 2.05**	88.92 $\pm$ 6.42**	25.02 $\pm$ 5.07**	64.66 $\pm$ 4.36**	79.58 $\pm$ 1.78**

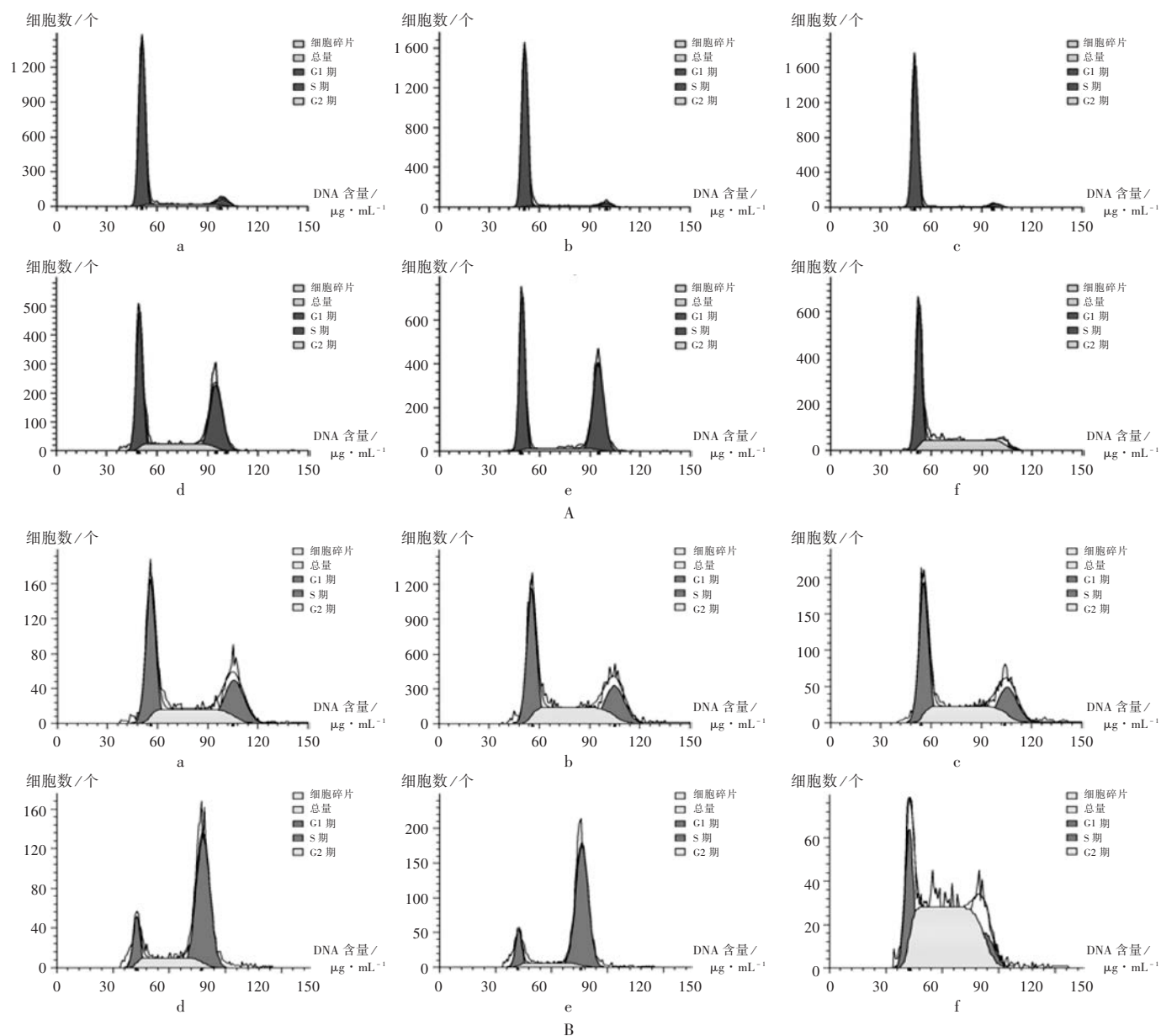
注:与溶剂对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。下表同。

Note: Compared with those in the solvent control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, as well as the following tables.

表 2 各组细胞周期阻滞情况比较($\bar{X} \pm s, \%, n=3$)

Tab. 2 Comparison of cell cycle arrest in each group ($\bar{X} \pm s, \%, n=3$)

组别	浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	A2780 细胞			A2780/Taxol 细胞		
		G1	S	G2	G1	S	G2
溶剂对照组	0	84.67 $\pm$ 3.66	9.72 $\pm$ 1.69	5.60 $\pm$ 2.82	51.11 $\pm$ 6.31	29.14 $\pm$ 6.50	19.75 $\pm$ 9.86
实验 A 组	0.3	87.47 $\pm$ 0.96	8.02 $\pm$ 0.61	4.51 $\pm$ 0.89	51.03 $\pm$ 7.63	31.43 $\pm$ 5.49	17.54 $\pm$ 8.53
实验 B 组	1.0	91.23 $\pm$ 1.26	5.08 $\pm$ 0.71*	3.69 $\pm$ 0.56	56.33 $\pm$ 11.66	28.18 $\pm$ 7.16	15.50 $\pm$ 6.42
实验 C 组	3.0	46.61 $\pm$ 5.81**	12.45 $\pm$ 6.05*	40.93 $\pm$ 3.71**	21.72 $\pm$ 8.10**	18.19 $\pm$ 4.84**	60.09 $\pm$ 6.23**
实验 D 组	10.0	49.30 $\pm$ 5.40**	10.33 $\pm$ 2.33	40.38 $\pm$ 6.12**	21.17 $\pm$ 7.84**	8.53 $\pm$ 1.54**	70.29 $\pm$ 6.30**
DDP 组	10.0	56.63 $\pm$ 8.34**	40.31 $\pm$ 6.83**	3.06 $\pm$ 1.52	25.50 $\pm$ 5.87**	53.15 $\pm$ 15.84**	21.37 $\pm$ 10.42



a. 溶剂对照组 b-e. 实验 A,B,C,D 组 f. DDP 组

A. A2780 细胞 B. A2780/Taxol 细胞

图1 细胞周期分布图

a. solvent control group b-e. experiment groups A,B,C and D f. DDP group

A. A2780 cells B. A2780/Taxol cells

Fig.1 The distribution figures of cell cycle

2.4 BKM120 对细胞中相关蛋白表达的抑制作用

BKM120 可下调 P-Akt 蛋白的表达,并呈浓度依赖性。 $3\text{ }\mu\text{mol/L}$ BKM120 作用于 A2780 细胞和 A2780/Taxol 细胞 24 h 能显著降低 P-Akt 蛋白表达水平,但对 Akt 蛋白表达水平无影响;BKM120 可显著降低 Bcl-2 和 Pro-caspase3 蛋白表达水平,说明 BKM120 能抑制 Bcl-2 蛋白表达,促进 caspase3 蛋白表达。详见图 3、表 4。

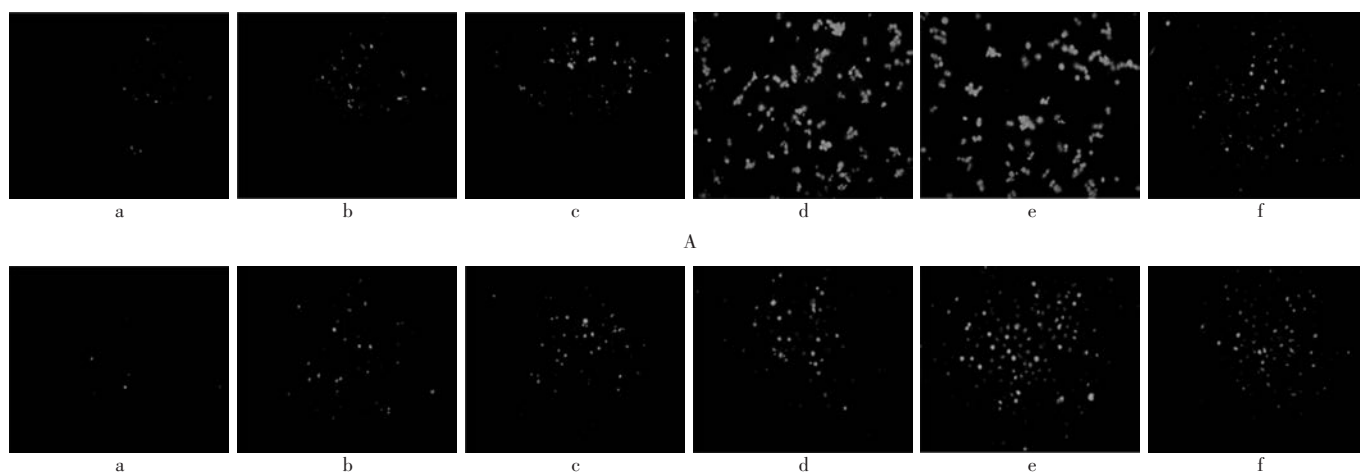
2.5 BKM120 对 A2780/Taxol 细胞中 P-gp 蛋白表达的抑制作用

BKM120 下调 P-gp 蛋白的表达,并呈浓度依赖

性。 $3\text{ }\mu\text{mol/L}$ BKM120 作用于 A2780/Taxol 细胞 24 h 能显著下调 P-gp 蛋白表达。详见图 3、表 4。

3 讨论

PI3K 为一种由调节亚单位 p85 或 p101 和催化亚单位 p110 组成的脂激酶,通过催化 PIP2,使其发生磷酸化,转化为 PIP3,激活下游 Akt 等^[18]。Akt 磷酸化活化使许多蛋白质磷酸化,调节细胞活动。研究表明,PI3K/Akt 信号通路在多种恶性肿瘤中表达异常,如卵巢癌、乳腺癌、肝细胞癌、肾癌、前列腺癌、淋巴瘤等。在 PI3K/Akt 信号通路中涉及多个基因,如 PIK3CA, Akt1, PTEN



a. 溶剂对照组 b-e. 实验 A,B,C,D 组 f. DDP 组

A. A2780 细胞 B. A2780/Taxol 细胞

图 2 细胞光镜图

a. solvent control group b-e. experiment groups A,B,C and D f. DDP group

A. A2780 cells B. A2780/Taxol cells

Fig. 2 Light micrograph of cells

表 3 各组细胞凋亡率比较 ($\bar{X} \pm s, \%, n=3$)

Tab. 3 Comparison of the apoptosis rate in each group ($\bar{X} \pm s, \%, n=3$)

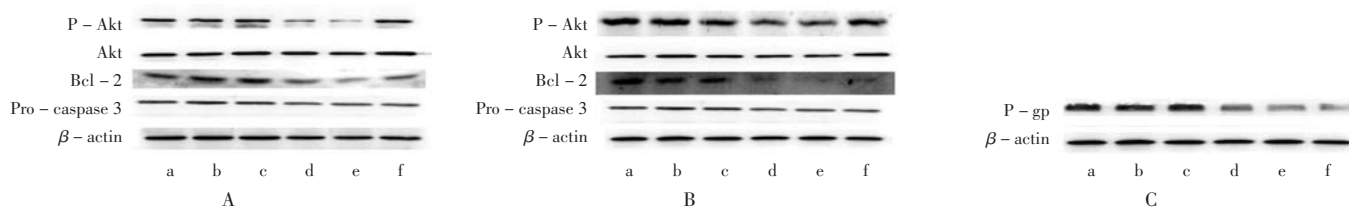
组别	浓度($\mu\text{mol/L}$)	A2780 细胞	A2780/Taxol 细胞
溶剂对照组	0	1.56 ± 0.66	4.50 ± 1.59
实验 A 组	0.3	$15.09 \pm 3.34^*$	$12.29 \pm 6.07^{**}$
实验 B 组	1.0	$23.76 \pm 3.78^{**}$	$18.20 \pm 3.55^{**}$
实验 C 组	3.0	$42.00 \pm 3.84^{**}$	$29.58 \pm 4.33^{**}$
实验 D 组	10.0	$43.28 \pm 2.22^{**}$	$30.79 \pm 4.54^{**}$
DDP 组	10.0	$19.92 \pm 2.14^{**}$	$17.69 \pm 2.03^{**}$

等发生突变^[19-23]。

本研究结果表明, BKM120 抑制 A2780 细胞和 A2780/Taxol 细胞的增殖, 其作用呈剂量和时间依赖性, IC_{50} 均较低, 说明其起始有效作用浓度较低, 预示有较好的安全性; 细胞周期检测结果表明, BKM120 可使大部分 A2780 细胞和 A2780/Taxol 细胞阻滞于 G2 期, 降低肿瘤细胞的增殖速率; TUNEL 荧光染色结果显示,

BKM120 诱导 A2780 细胞和 A2780/Taxol 细胞的凋亡, 并呈剂量依赖性, 可显著杀伤肿瘤细胞; Western blot 实验结果表明, BKM120 下调了 Akt 蛋白磷酸化水平, 转运蛋白 P-gp 和抗凋亡蛋白 Bcl-2 在 A2780/Taxol 细胞中表达水平降低。另外, caspase 3 的活化在凋亡发生的过程中发挥着重要作用。研究发现, BKM120 下调了 Pro-caspase 3 的蛋白表达, 表明 BKM120 通过抑制 Akt 蛋白的磷酸化, Bcl-2 的表达和激活 caspase 3 诱导 A2780/Taxol 细胞凋亡, 同时还有效抑制了转运蛋白 P-gp 的表达, 显著减少了紫杉醇耐药肿瘤细胞的药物外排作用, 为之后的联合用药提供了很好的条件。

综上所述, BKM120 可抑制 A2780 细胞和 A2780/Taxol 细胞的增殖, 并通过下调 Akt 蛋白的磷酸化水平和抑制转运蛋白 P-gp 的表达, 降低 Bcl-2 蛋白表达水平, 激活 caspase 3 诱导细胞凋亡。本研究为未来临床使用 BKM120 治疗耐药卵巢癌提供了一定的理论依据。



a. 溶剂对照组 b-e. 实验 A,B,C,D 组 f. DDP 组

A. A2780 细胞 B,C. A2780/Taxol 细胞

图 3 蛋白电泳图

a. solvent control group b-e. experiment groups A,B,C and D f. DDP group

A. A2780 cells B,C. A2780/Taxol cells

Fig. 3 Protein electrophoresis

表 4 各组蛋白表达水平比较 ($\bar{X} \pm s, \%, n=3$)

Tab. 4 Comparison of the expression levels of protein in each group ($\bar{X} \pm s, \%, n=3$)

组别	浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	A2780 细胞			A2780/Taxol 细胞			
		P - Akt/Akt	Bcl - 2	Pro - caspase 3	P - Akt/Akt	Bcl - 2	Pro - caspase 3	P - gp
溶剂对照组	0	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00
实验 A 组	0.3	80.24 $\pm$ 4.05	98.57 $\pm$ 2.76	97.94 $\pm$ 1.26	102.10 $\pm$ 6.64	94.78 $\pm$ 1.04	95.62 $\pm$ 2.51	97.02 $\pm$ 1.33
实验 B 组	1.0	84.77 $\pm$ 6.96	85.68 $\pm$ 3.17	96.99 $\pm$ 1.77	97.60 $\pm$ 5.96	102.80 $\pm$ 1.72	88.15 $\pm$ 2.61	98.19 $\pm$ 1.70
实验 C 组	3.0	67.67 $\pm$ 5.21**	75.79 $\pm$ 2.09*	81.74 $\pm$ 2.31*	54.26 $\pm$ 2.16**	74.37 $\pm$ 2.20*	75.24 $\pm$ 0.64**	83.12 $\pm$ 2.31*
实验 D 组	10.0	43.20 $\pm$ 3.74**	63.64 $\pm$ 3.46*	73.19 $\pm$ 4.31**	46.15 $\pm$ 1.46**	72.81 $\pm$ 1.57**	79.36 $\pm$ 1.92**	81.59 $\pm$ 3.45*
DDP 组	10.0	82.57 $\pm$ 3.28	60.38 $\pm$ 8.64**	81.33 $\pm$ 7.34*	84.44 $\pm$ 2.98	89.77 $\pm$ 1.49	77.82 $\pm$ 2.14**	80.44 $\pm$ 3.30*

参考文献

- [1] EBELL MH, CULP MB, RADKE TJ. A Systematic Review of Symptoms for the Diagnosis of Ovarian Cancer[J]. Am J Prev Med, 2016,50(3):384 - 394.
- [2] WEFERS C, LAMBERT LJ, TORENSMA R, et al. Cellular immunotherapy in ovarian cancer: Targeting the stem of recurrence[J]. Gynecol Oncol, 2015, 137(2):335 - 342.
- [3] WALDRON L, HAIBE - KAINS B, CULHANE AC, et al. Comparative meta - analysis of prognostic gene signatures for late - stage ovarian cancer[J]. J Natl Cancer Inst, 2014, 106(5):1 - 12.
- [4] LONGUESPEE R, BOYON C, DESMONS A, et al. Ovarian cancer molecular pathology [J]. Cancer Metastasis Rev, 2012, 31(3/4):713 - 732.
- [5] GUAN LY, LU Y. New developments in molecular targeted therapy of ovarian cancer [J]. Discov Med, 2018, 26(144):219 - 229.
- [6] BAGULEY BC. Classical and Targeted Anticancer Drugs: An Appraisal of Mechanisms of Multidrug Resistance [J]. Methods Mol Biol, 2016, 1395:19 - 37.
- [7] VOLM M, EFFERTH T. Prediction of Cancer Drug Resistance and Implications for Personalized Medicine [J]. Front Oncol, 2015, 5:282.
- [8] GILLET JP, CALCAGNO AM, VARMA S, et al. Multidrug resistance - linked gene signature predicts overall survival of patients with primary ovarian serous carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(11):3197 - 3206.
- [9] YANG X, SHEN J, GAO Y, et al. Nsc23925 prevents the development of paclitaxel resistance by inhibiting the introduction of P - glycoprotein and enhancing apoptosis [J]. Int J Cancer, 2015, 137(8):2029 - 2039.
- [10] POLIVKA J JR, JANKU F. Molecular targets for cancer therapy in the PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. Pharmacol Ther, 2014, 142(2):164 - 175.
- [11] MARTINI M, CIRAOLO E, GULLUNI F, et al. Targeting PI3K in Cancer: Any Good News ?[J]. Front Oncol, 2013, 3:108.
- [12] WANG D, WANG M, JIANG N, et al. Effective use of PI3K inhibitor BKM120 and PARP inhibitor Olaparib to treat PIK3CA mutant ovarian cancer[J]. Oncotarget, 2016, 7(11):13153 - 13166.
- [13] ALLEGRETTI M, RICCIARDI MR, LICCHETTA R, et al. The pan - class I phosphatidyl - inositol - 3 kinase inhibitor NVP - BKM120 demonstrates anti - leukemic activity in acute myeloid leukemia[J]. Sci Rep, 2015, 5:18137.
- [14] HU Y, GUO R, WEI J, et al. Effects of PI3K inhibitor NVP - BKM120 on overcoming drug resistance and eliminating cancer stem cells in human breast cancer cells[J]. Cell Death Dis, 2015, 6(12):e2020.
- [15] FOSTER KA, JANE EP, PREMKUMAR DR, et al. NVP - BKM120 potentiates apoptosis in tumor necrosis factor - related apoptosis - inducing ligand - resistant glioma cell lines via up-regulation of Noxa and death receptor 5 [J]. Int J Oncol, 2015, 47(2):506 - 516.
- [16] BURGER MT, PECCHI S, WAGMAN A, et al. Identification of NVP - BKM120 as a Potent, Selective, Orally Bioavailable Class I PI3 Kinase Inhibitor for Treating Cancer [J]. ACS Med Chem Lett, 2011, 2(10):774 - 779.
- [17] WANG NN, ZHAO LJ, WU LN, et al. Mechanistic analysis of taxol - induced multidrug resistance in an ovarian cancer cell line [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(9):4983 - 4988.
- [18] KUDOH A, OISHI T, ITAMUCHI H, et al. Dual inhibition of phosphatidylinositol 3' - kinase and mammalian target of rapamycin using NVP - BEZ235 as a novel therapeutic approach for mucinous adenocarcinoma of the ovary [J]. Int J Gynecol Cancer, 2014, 24(3):444 - 453.
- [19] TSEGA A, CHATZIANDREOU I, MICHALOPOULOS NV, et al. Mutation of genes of the PI3K/AKT pathway in breast cancer supports their potential importance as biomarker for breast cancer aggressiveness [J]. Virchows Arch, 2016, 469(1):35 - 43.
- [20] CHEN Y, ZHANG L, YANG C, et al. Discovery of benzenesulfonamide derivatives as potent PI3K/mTOR dual inhibitors with *in vivo* efficacies against hepatocellular carcinoma [J]. Bioorg Med Chem, 2016, 24(5):957 - 966.
- [21] GUO H, GERMAN P, BAI S, et al. The PI3K/AKT Pathway and Renal Cell Carcinoma [J]. J Genet Genomics, 2015, 42(7):343 - 353.
- [22] ZHU W, HU X, XU J, et al. Effect of PI3K/Akt Signaling Pathway on the Process of Prostate Cancer Metastasis to Bone[J]. Cell Biochem Biophys, 2015, 72(1):171 - 177.
- [23] JIN Z, QING K, OUYANG Y, et al. Low dose of lenalidomide and PI3K/mTOR inhibitor trigger synergistic cytotoxicity in activated B cell - like subtype of diffuse large B cell lymphoma [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2016, 35:52.

(收稿日期:2020 - 11 - 25;修回日期:2021 - 06 - 11)