DOI:10.16016/j.1000-5404.202104011

索拉非尼联合麦冬皂苷 D` 共同抑制 ERK 和 AKT 通路促进 PC3 细胞凋亡

张耀文,卢宗亮,李 龙,许红霞 400042 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)大坪医院临床营养科

[摘要] **目的** 探讨索拉非尼(sorafenib,Sor)联合麦冬皂苷 D`(Ophiopogonin D`,OPD`)对雄激素非依赖前列腺癌细胞(PC3 细胞)的抗肿瘤效应及其机制。**方法** 在体外实验中,Western blot 检测不同浓度的 OPD`(0、1.0、2.5、5.0 μmol/L)、Sor(0、2.5、5.0、10.0 μmol/L)、OPD`(2.5 μmol/L)+Sor(5.0 μmol/L)联合使用 24 h 后,对 PC3 细胞 AKT、p-AKT、ERK、p-ERK 表达的影响;流式细胞仪 Annexin V-FITC 和 PI 双染检测细胞凋亡。在体内实验中,构建 PC3 细胞异种移植瘤模型后,将裸鼠分为对照组、OPD`组(1.0 mg/kg)、Sor 组(2.5 mg/kg)、OPD`+Sor 联合使用组并进行相应干预,且每 3 天测量裸鼠体质量和肿瘤体积,至药物干预 21 d。**结果** Sor 主要下调 p-AKT 蛋白表达及 p-AKT/AKT 水平($P<0.05$),仅在 10.0 μmol/L 时,降低 p-ERK/ERK 水平($P<0.05$)。OPD` 主要下调 p-ERK 蛋白的表达及 p-ERK/ERK 水平($P<0.05$),仅在 5.0 μmol/L 时,降低 p-AKT/AKT 水平($P<0.05$)。2.5 μmol/L OPD` 和 5.0 μmol/L Sor 联用时,p-AKT 和 p-ERK 的蛋白表达及 p-AKT/AKT 和 p-ERK/ERK 水平均显著降低($P<0.05$)。细胞凋亡检测结果显示:两药联用组的凋亡指数明显高于 OPD` 或 Sor 单独用药组($P<0.05$)。体内实验结果显示:1.0 mg/kg OPD` 和 2.5 mg/kg Sor 联用组肿瘤体积和质量均低于其他组($P<0.05$)。**结论** 索拉非尼联合麦冬皂苷 D` 通过抑制 ERK 和 AKT 通路,促进雄激素非依赖前列腺癌细胞凋亡。

[关键词] 索拉非尼;麦冬皂苷 D`;雄激素非依赖前列腺癌;ERK;AKT;细胞凋亡
[中图法分类号] R737.25;R966;R979.1 [文献标志码] A

Sorafenib combined with ophiopogonin D` inhibits ERK and AKT pathways to promote apoptosis in androgen-independent prostate cancer PC3 cells

ZHANG Yaowen, LU Zongliang, LI Long, XU Hongxia Department of Clinical Nutrition, Daping Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400042, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the anti-tumor effect of sorafenib (Sor) combined with Ophiopogonin D`(OPD`) on androgen-independent prostate cancer (PC3) cells and its mechanism. **Methods** *In vitro*, the expression of AKT, p-AKT, ERK and p-ERK in PC3 cells was detected by Western blotting in 24 h after being treated with different concentrations of OPD`(0, 1, 2.5 and 5.0 μmol/L), Sor (0, 2.5, 5.0 and 10.0 μmol/L) and OPD`(2.5 μmol/L)+Sor (5.0 μmol/L), respectively. Apoptosis of PC3 cells was observed by flow cytometry with AnnexinV-FITC and propidium iodide (PI) double staining. *In vivo*, PC3 cells xenograft tumor model was constructed in nude mice. Subsequently, 24 nude mice were equally divided into control group, OPD` group (1.0 mg/kg), Sor group (2.5 mg/kg) and OPD`+Sor combined group. The body weight of nude mice and the tumor volume were measured and recorded every 3 days until 21 d after drug intervention. **Results** Sor mainly down-regulated the expression levels of p-AKT and p-AKT/AKT ($P<0.05$), and only decreased p-ERK/ERK level at the concentration of 10.0 μmol/L ($P<0.05$). While OPD` primarily down-regulated p-ERK and p-ERK/ERK levels ($P<0.05$), and only reduced p-AKT/AKT at

[基金项目] 重庆市自然科学基金面上项目(cstc2020jcyj-msxmX0499)
[通信作者] 许红霞,E-mail:hx_xu2015@163.com

1000-5404/Copyright © 2021, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

5.0 μmol/L ($P<0.05$). However, the protein levels of p-AKT, p-ERK, p-AKT/AKT, and p-ERK/ERK were all greatly diminished in the combined group (2.5 μmol/L OPD` +5.0 μmol/L Sor) ($P<0.05$). In addition, the apoptotic index was significantly higher in the combined group than the OPD` or Sor alone group ($P<0.05$). The results of *in vivo* experiments also showed that the tumor volume and tumor weight in the combined group (1.0 mg/kg OPD` +2.5 mg/kg Sor) were much lower than those in the other groups ($P<0.05$). **Conclusion** Sor combined with OPD` promotes apoptosis in PC3 cells by inhibiting ERK and Akt pathways.

[**Key words**] sorafenib; Ophiopogonin D`; androgen-independent prostate cancer; ERK; AKT; apoptosis

Supported by the General Program of Natural Science Foundation of Chongqing (cstc2020jcyj-msxmX0499). Corresponding author: XU Hongxia, E-mail: hx_xu2015@163.com

据世界卫生组织发布的全球癌症负担数据显示[1]:2020年新发前列腺癌141万,位居男性新发癌症第2位。雄激素受体(androgen receptor,AR)是维持早期前列腺癌生长的主要通路,是肿瘤发生、发展的关键驱动因素。去势治疗(androgen deprivation therapy,ADT)是临床治疗早期前列腺癌的首要手段。但长时间接受ADT后,患者往往发展成雄激素非依赖性前列腺癌(androgen-independent prostate cancer,AIPC)。AIPC是导致前列腺癌患者预后不良以及死亡的主要原因,现今依然没有有效的应对策略。

蛋白激酶A(protein kinase A,AKT)是维持细胞生存的关键分子,研究发现:过度抑制AR可激活AKT[2]。异常激活的AKT是促进AIPC发生、发展的主要因素,且影响患者的生存率及生存质量[3]。研究表明:在AIPC中抑制AKT,可减少细胞增殖[4],诱导细胞凋亡以及降低细胞活力,最终改善治疗效果。进一步研究表明:过度抑制AKT可反馈性激活胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase,ERK)[5]。异常激活的ERK已被证明与前列腺癌的进展和不良预后相关[6]。在前列腺癌中,过度抑制ERK可增加AKT依赖的肿瘤转移[6]。

索拉非尼(sorafenib,Sor)是第一个小分子多激酶抑制剂,在2013年的前列腺癌治疗指南中被推荐用于治疗晚期/难治性前列腺癌,但在治疗过程中伴随的不良反应及耐药性限制其对AIPC患者的应用。研究显示Sor可通过抑制AKT减少AIPC的增殖及诱导细胞凋亡[7],但并不影响ERK的活性。而在AIPC中同时使用AKT和ERK抑制剂可有效促进相互间的抗肿瘤效应[8]。植物化合物是抗肿瘤药物的丰富来源,而麦冬、桔梗等中药的有效抗肿瘤活性成份均主要为皂苷类。麦冬皂苷D`(Ophiopogonin D`,OPD`)是麦冬中的一种皂苷类单体,我们之前的研究表明OPD`可有效抑制AIPC细胞,并在相同剂量下对人免疫细胞无明显抑制作用[9],具有一定的成药潜力。进一步研究显示:麦冬中的麦冬皂苷D[10]、麦冬皂苷A[11]和麦冬皂苷B[12]可通过调控ERK影响细胞命运。但尚不清楚OPD`对ERK的作用以及是否可以促进Sor抗AIPC。因此,本研究采用AIPC细胞系(PC3细胞)评价OPD`和Sor对ERK及AKT的影响,以及在体内外模型中观察OPD`和Sor联用对AIPC的抗肿瘤作用。

1 材料与方法

1.1 化合物和试剂

OPD`购于成都曼思特生物科技有限公司(纯度>98%),Sor购于美国Selleck公司。Ham`F-12培养基、胎牛血清(FBS)购于美国Gibco公司,胰酶购于北京中杉金桥生物技术有限公司,磷酸盐缓冲液(PBS)购于江苏祥盛生物技术有限公司。Annexin V-FITC/PI试剂盒购于上海贝博生物。Western blot实验所用抗体:AKT、p-AKT(Ser473)、ERK和p-ERK(Thr202/Tyr204)购于美国Cell signaling technology公司。辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠/兔IgG(H+L)购于北京中杉金桥生物技术有限公司。二甲基亚砜(dimethylsulfoxide,DMSO)购于美国Sigma公司。细胞RIPA裂解液、SDS-PAGE凝胶配制试剂盒、SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(5×)以及BCA试剂盒均购于上海碧云天生物技术有限公司。ECL发光液和PVDF膜购于美国Bio-Rad公司。

1.2 细胞株和细胞培养

人前列腺癌PC3细胞为本实验室所保存(购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心)。PC3细胞培养于Ham`F-12培养基(含10% FBS),在37 ℃含5%CO_2的细胞培养箱中进行培养,根据细胞生长情况每2~3天进行传代。

1.3 Western blot检测相关蛋白表达

PC3细胞(8×10^5个)培养于25 cm^2细胞培养瓶

中,分别采用 1‰DMSO(对照组)、OPD`(1.0、2.5、5.0 μmol/L)、Sor(2.5、5.0、10.0 μmol/L)和 1‰DMSO(对照组)、2.5 μmol/L OPD`、5.0 μmol/L Sor、2.5 μmol/L OPD`+5.0 μmol/L Sor 联合处理。处理 24 h 后,提取细胞总蛋白,采用 BCA 法检测对照组、OPD`组、Sor 组、OPD`+Sor 联用组的蛋白浓度。取 30~50 μg 蛋白样品行 10%SDS-PAGE 分离蛋白,并将分离后的蛋白转移至 PVDF 膜上。用含 5%脱脂奶粉的封闭液室温封闭 2 h,于 4 ℃一抗(1∶1 000)孵育过夜。用 TBST 洗脱液洗膜(15 min×3 次),孵育辣根过氧化物酶共轭的山羊抗鼠/兔二抗 2 h,再次洗膜(15 min×3 次)。实验均独立重复 3 次,应用 Image Lab 系统采集图像并对各蛋白条带进行灰度值检测,以目的蛋白条带与内参照 GAPDH 条带灰度值之比表示目的蛋白的相对表达水平。

1.4　流式细胞仪检测细胞凋亡

将处于对数生长期的 PC3 细胞以 2×10^5/孔接种于 6 孔板,置于细胞培养箱中培养过夜后,分别以 1‰DMSO(对照组)、OPD`(2.5 μmol/L)、Sor(2.5、5.0、10.0 μmol/L)和 OPD`(2.5 μmol/L)+Sor(2.5、5.0、10.0 μmol/L)联合处理细胞 24 h,收集细胞及上清,以 1 500 r/min 离心 5 min,弃上清,PBS 洗涤 2 次后,用 Annexin V-FITC 和 PI(1∶2)配置结合液重新悬浮细胞,于 2~8 ℃避光孵育 5 min 后,用流式细胞仪进行检测。凋亡指数=(Q3 处理组+Q2 处理组)/(Q3 对照组+Q2 对照组)×100%,其中 Q2 表示晚期凋亡,Q3 表示早期凋亡。

1.5　裸鼠异种移植瘤模型

动物的护理和使用按照实验室动物使用指南进行。所有动物研究程序经陆军军医大学动物伦理委员会批准。雄性裸鼠 24 只(BALB/c,nu/nu,5~6 周龄),购于陆军军医大学实验动物中心,动物许可证号:SCXK(渝)20170002。收集培养的 PC3 细胞并重悬于含有 Matrigel 胶的无血清培养基中,然后皮下注射 100 μL(含 5×10^6 PC3 细胞)细胞悬液到裸鼠的右腹股沟。植瘤 6 d 后,按肿瘤大小排序,蛇形均衡分为 4 组:对照组(荷瘤模型)、OPD`组(1.0 mg/kg OPD`)、Sor 组(2.5 mg/kg Sor),OPD`+Sor 联用组(1.0 mg/kg OPD`+2.5 mg/kg Sor),每组 6 只。监测动物活动及一般状况,每 3 天测量 1 次体质量和肿瘤大小,并根据公式计算肿瘤体积:肿瘤体积=$(ab^2)/2$(a 为长边,b 为短边)。药物干预 21 d 后,处死小鼠,取肿瘤称量,并计算去瘤体质量。

1.6　统计学分析

采用 SPSS 23.0 统计软件,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD 检验。$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

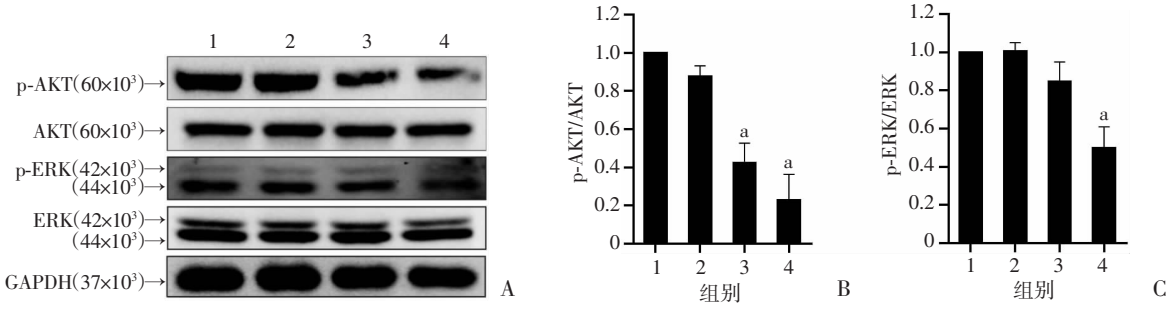
2　结果

2.1　Sor 对 AKT、p-AKT、ERK 和 p-ERK 蛋白表达的影响

不同浓度 Sor 处理 PC3 细胞 24 h 后,Western blot 检测结果显示:Sor 明显抑制 p-AKT 的表达并具有剂量依赖性(图 1A)。灰度值分析结果显示(图 1B、C):5.0、10.0 μmol/L Sor 组的 p-AKT/AKT 较对照组分别降低 57.7% 和 77.2%,差异具有统计学意义($P<0.05$),但仅 10.0 μmol/L Sor 可显著抑制 ERK 通路活性($P<0.05$),表明 AKT 通路对 Sor 更为敏感。

2.2　OPD`对 AKT、p-AKT、ERK 和 p-ERK 蛋白表达的影响

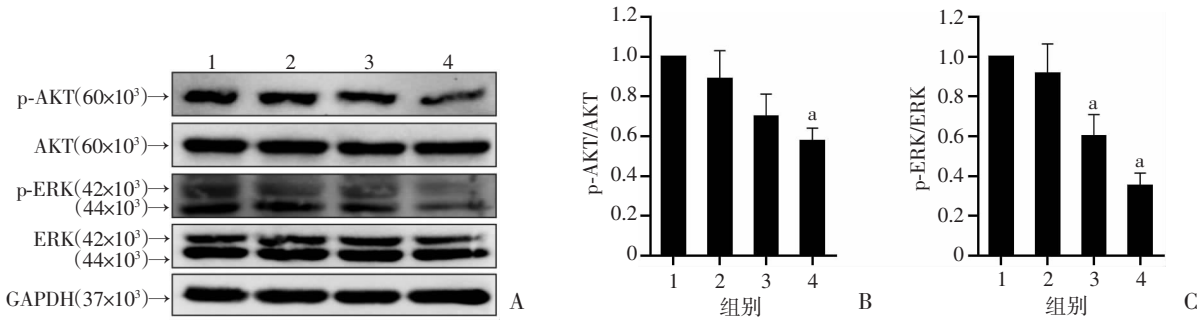
不同浓度 OPD`处理 PC3 细胞 24 h 后,Western blot 检测结果显示:OPD`显著抑制 p-ERK 的表达且具有剂量依赖(图 2A)。灰度值分析结果显示(图 2B、C):2.5 μmol/L 和 5.0 μmol/L OPD`组的 p-ERK/ERK 较对照组分别降低 40.2%和 64.9%,差异具有统计学意义($P<0.05$),而仅 5.0 μmol/L OPD`组可显著抑制 AKT 通路活性($P<0.05$),表明 ERK 通路对 OPD`更为敏感。



1:对照组;2~4:分别为 2.5、5.0、10.0 μmol/L Sor 组

A:Western blot 检测;B、C:p-AKT/AKT、p-ERK/ERK 水平的半定量分析　a:$P<0.05$,与对照组比较

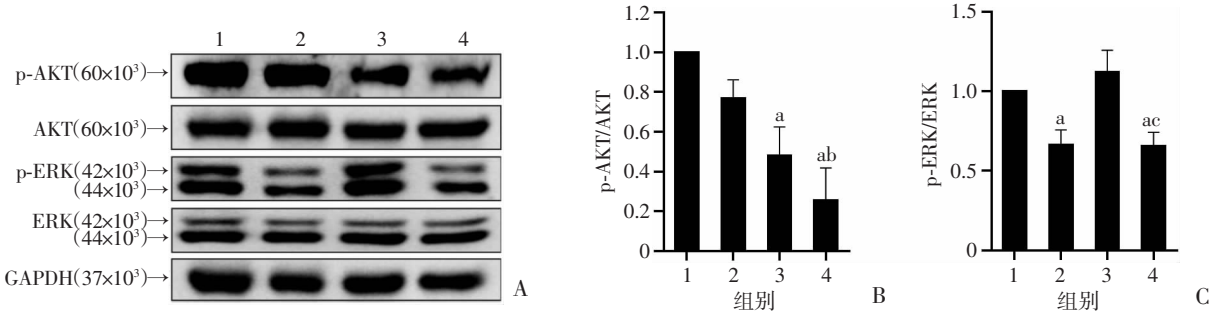
图 1　不同浓度 Sor 对 PC3 细胞 AKT、p-AKT、ERK 和 p-ERK 蛋白表达的影响



1:对照组;2~4:分别为 1.0、2.5、5.0 μmol/L OPD` 组

A:Western blot 检测;B、C:p-AKT/AKT、p-ERK/ERK 水平的半定量分析　a:$P<0.05$,与对照组比较

图 2　不同浓度 OPD` 对 PC3 细胞 AKT、p-AKT、ERK 和 p-ERK 蛋白表达的影响



1:对照组;2:2.5 μmol/L OPD` 组;3:5.0 μmol/L Sor 组;4:2.5 μmol/L OPD` +5.0 μmol/L Sor 联用组

A:Western blot 检测;B、C:p-AKT/AKT、p-ERK/ERK 水平的半定量分析　a:$P<0.05$,与对照组比较;b:$P<0.05$,与 2.5 μmol/L OPD` 组比较;c:$P<0.05$,与 5.0 μmol/L Sor 组比较

图 3　Sor 联用 OPD` 对 PC3 细胞 AKT、p-AKT、ERK 和 p-ERK 蛋白表达的影响

2.3　Sor 联用 OPD` 对 AKT、p-AKT、ERK 和 p-ERK 蛋白表达的影响

Western blot 检测结果显示:2.5 μmol/L OPD` 和 5.0 μmol/L Sor 联用组可下调 p-AKT 和 p-ERK 蛋白表达(图 3A)。灰度值分析结果显示(图 3B、C):与各药单用组比较,两药联用后可显著降低 p-AKT/AKT 与 p-ERK/ERK 水平,分别为 74.7% 和 34.4%($P<0.05$)。进一步分析表明:①p-AKT/AKT 水平,两药联用组较 2.5 μmol/L OPD` 组降低 51.5%($P<0.05$),但与 5.0 μmol/L Sor 组比较差异无统计学意义;②p-ERK/ERK 水平,两药联用组较 5.0 μmol/L Sor 组降低 46.6%($P<0.05$),但与 2.5 μmol/L OPD` 组比较差异无统计学意义。因此,两药联用在抑制 AKT 和 ERK 水平方面具有协同作用。

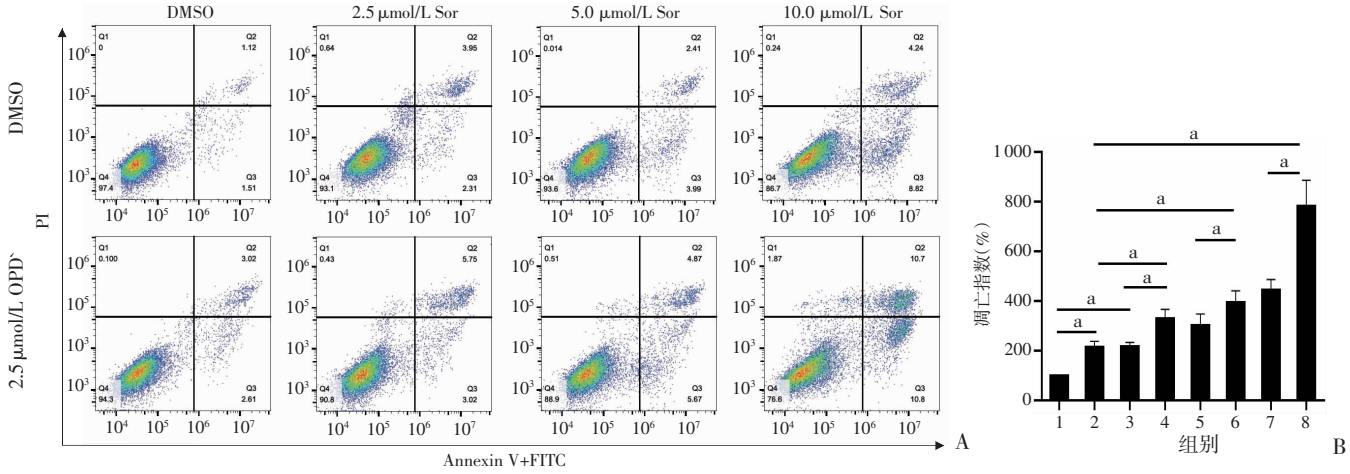
2.4　Sor 联用 OPD` 对雄激素非依赖前列腺癌细胞凋亡的影响

流式细胞仪检测结果显示:2.5 μmol/L OPD` 组可促进各浓度 Sor 诱导细胞凋亡的效果(图 4A)。进一步凋亡指数统计结果显示(图 4B):2.5 μmol/L OPD` 诱导 PC3 细胞的凋亡指数为(215.37±21.62)%,与 2.5、5.0、10.0 μmol/L Sor 联用后其凋亡指数均显著增加($P<0.05$),且 10.0 μmol/L Sor 与 2.5 μmol/L OPD` 联用后,其凋亡指数由(445.20±40.71)%增加至(781.72±103.43)%,增加 75.59%;而 2.5 μmol/L Sor 与 2.5 μmol/L OPD` 联用后,其凋亡指数由(216.18±17.02)%增加至(329.70±36.57)%,只增加 52.51%。表明 OPD` 更易促进高浓度 Sor 诱导 PC3 细胞凋亡。

2.5　Sor 联用 OPD` 对裸鼠肿瘤及体质量的影响

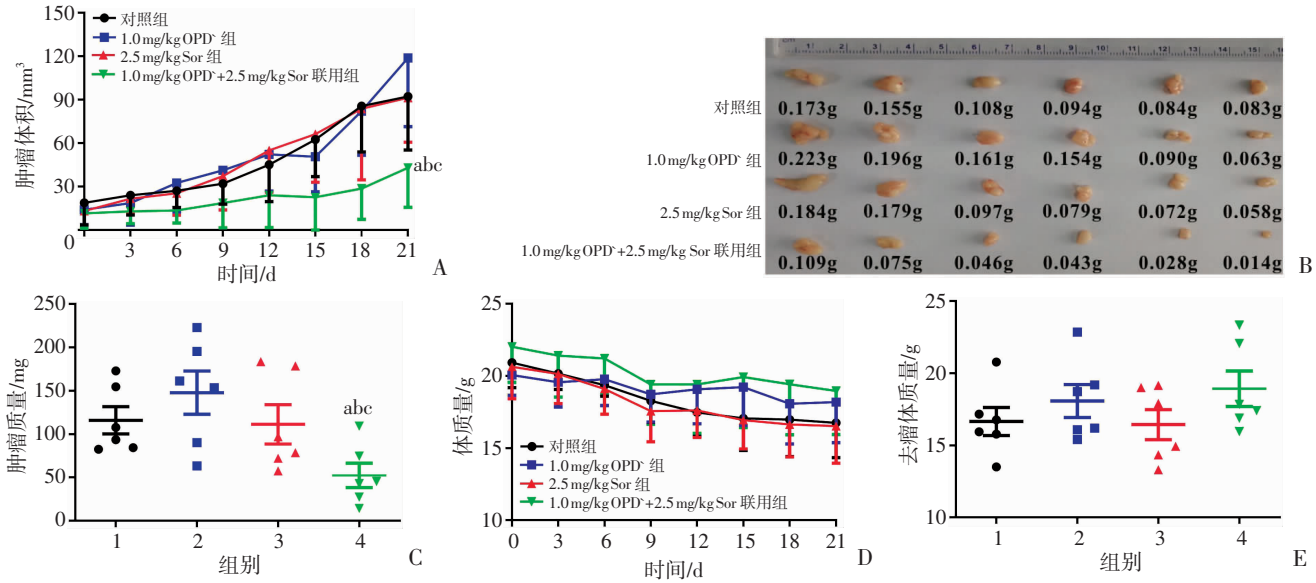
构建裸鼠 PC3 异种移植瘤模型来评价 Sor 和 OPD` 的抗肿瘤效果。结果显示:在干预过程中,联用组肿瘤体积明显小于其他 3 组($P<0.05$,图 5A)。干预结束后,1.0 mg/kg OPD` 和 2.5 mg/kg Sor 联用组肿瘤质量较对照组降低 54.84%,较 1.0 mg/kg OPD` 组降低 64.55%,较 2.5 mg/kg Sor 组降低 52.89%,且差异均有统计学意义($P<0.05$,图 5B、C)。表明 Sor 与 OPD` 在体内实验中可协同抑制肿瘤生长。

在干预过程中,1.0 mg/kg OPD` 组、1.0 mg/kg OPD` 和 2.5 mg/kg Sor 联用组裸鼠体质量略高于对照组和 2.5 mg/kg Sor 组,但 4 组间差异无统计学意义(图 5D)。干预结束后,各组间去瘤体质量差异均无统计学意义(图 5E)。



A:Annexin V-FITC 和 PI 双染检测 Sor 联用 OPD` 对 PC3 细胞凋亡的作用;B:Sor 联用 OPD` 的凋亡指数 1:对照组;2:2.5 μmol/L OPD` 组;3:2.5 μmol/L Sor 组;4:2.5 μmol/L OPD` +2.5 μmol/L Sor 联用组;5:5.0 μmol/L Sor 组;6:2.5 μmol/L OPD` +5.0 μmol/L Sor 联用组;7:10.0 μmol/L Sor 组;8:2.5 μmol/L OPD` +10.0 μmol/L Sor 联用组;a:$P<0.05$

图 4 不同浓度 Sor 联用 OPD` 对 PC3 细胞凋亡的影响



1:对照组;2:1.0 mg/kg OPD` 组;3:2.5 mg/kg Sor 组;4:1.0 mg/kg OPD` +2.5 mg/kg Sor 联用组;a:$P<0.05$,与对照组比较;b:$P<0.05$,与 1.0 mg/kg OPD` 组比较;c:$P<0.05$,与 2.5 mg/kg Sor 组比较

A:肿瘤体积变化;B:干预结束后肿瘤大体形态;C:干预结束后肿瘤质量比较;D:体质量变化;E:去瘤体质量比较

图 5 各组裸鼠肿瘤体积及质量、体质量及去瘤体质量比较

3 讨论

ADT 是治疗前列腺癌的标准方法,通过抑制 AR 通路来阻滞雄激素依赖型前列腺癌的进展[13]。然而,前列腺癌患者在接受 18~24 个月 ADT 治疗后,会对其产生耐药性导致发展为 AIPC,是前列腺癌患者死亡的主要原因。本研究基于 AIPC 生存通路的变化,证明共同抑制 AKT 和 ERK 通路可有效诱导 AIPC 细胞死亡。

目前针对 AIPC 治疗的靶标主要包括 PI3K/AKT/mTOR 通路、Wnt/β-catenin 通路、AR、NF-κB、Cyclin D1、Bcl-2 家族和 MicroRNA 等[14]。在前列腺癌从雄激素依赖发展到雄激素非依赖的过程中,高表达的 PI3K/AKT/mTOR 通路作为主要驱动因素促使肿瘤细

胞对 ADT 产生耐药性。目前针对 AKT 小分子抑制剂的研究主要集中在竞争性抑制剂和变构抑制剂。临床Ⅱ期研究表明:高选择性的 AKT 竞争性抑制剂——ipatasertib 可显著提高阿比特龙对转移性难治性前列腺癌的治疗效果,改善患者生存率及 PSA 水平[15]。AKT 变构抑制剂的代表——MK2206 可抑制前列腺癌细胞运动、有氧糖酵解以及乳酸的生成,从而达到治疗前列腺癌的目的[16]。本研究证实 Sor 可作为一种 AKT 抑制剂诱导 AIPC 细胞凋亡。除此之外,Sor 还一直用于治疗肾癌、肝癌以及分泌性甲状腺癌[17]。最新研究表明:Sor 可维持 FLT3-ITD 阳性的白血病患者经骨髓移植后的治疗效果,降低白血病的复发风险及延长生命周期[18]。

在转移性难治性前列腺癌中,约有 30%的患者存在 ERK 异常表达[19]。小分子抑制剂中的 PD98059 通过 MEK1 抑制 ERK 功能,促使前列腺癌侵袭能力下降[20]。植物化合物中的薯蓣皂苷也可通过抑制 ERK 阻滞 AIPC 细胞侵袭[21]。本研究发现 OPD` 可抑制 p-ERK 表达诱导 AIPC 细胞凋亡。我们之前的研究还证实 OPD` 可通过 RIPK1 促进 AIPC 细胞死亡[9]。OPD` 的肠道代谢物——薯蓣皂苷[22]可通过下调 ERK 抑制 TGF-β 介导的上皮间质转化以及肝癌细胞转移[23]。它也可以通过阻止 ERK 激活,诱导喉癌细胞凋亡、阻滞细胞周期以及细胞侵袭[24]。除此之外,与 OPD` 仅在糖基上存在差异的麦冬皂苷 D,可通过下调 MMP-9 抑制乳腺癌细胞转移和侵袭[25]。

AKT 和 ERK 常在多种癌症中被异常激活,且长期作为癌症治疗的靶标,但仅运用单靶标治疗的临床收益有限。三期临床研究结果显示 ipatasertib 仅能使 30%的前列腺癌患者获益[26]。盐霉素可抑制前列腺癌中 AKT 的磷酸化,但同时激活 ERK 依赖的自噬通路,使细胞避免凋亡。而在联用 ERK 抑制剂 PD98059 或 SB203580 后,可有效阻断盐霉素诱导的自噬,提高其诱导细胞凋亡的能力[27]。本研究发现 Sor 和 OPD` 在低浓度下能分别抑制 p-AKT 和 p-ERK 的表达,且在该浓度下,凋亡实验结果表明 OPD` 可有效促进 Sor 诱导 AIPC 细胞凋亡。在体内实验中,进一步证实了 OPD` 能促进 Sor 抗肿瘤的效应。除此之外,Sor 还可与氯福克酚协同诱导内质网应激从而诱导前列腺癌细胞死亡[28]。皂苷中的人参皂苷 R3 可通过抑制 NF-κB 提高前列腺癌对紫杉醇和其他化疗药物的敏感性[29]。

综上所述,本研究发现同时靶向 ERK 和 AKT 通路可提高药物对 AIPC 患者的疗效,在一定程度上证明 Sor 与 OPD` 在治疗 AIPC 方面能发挥协同作用且不影响小鼠体质量,但仍需进行更多效应及毒理学研究阐明其他联用效果、机制以及毒副作用,为 Sor 联合 OPD` 这一策略运用于临床治疗 AIPC 提供更多的理论依据。

参考文献:

[1] FERLAY J, COLOMBET M, SOERJOMATARAM I, *et al*. Cancer statistics for the year 2020: an overview[J]. Int J Cancer, 2021. [Published online ahead of print]. DOI:10.1002/ijc.33588.

[2] CARVER B S, CHAPINSKI C, WONGVIPAT J, *et al*. Reciprocal feedback regulation of PI3K and androgen receptor signaling in PTEN-deficient prostate cancer[J]. Cancer Cell, 2011, 19(5): 575-586. DOI:10.1016/j.ccr.2011.04.008.

[3] TOREN P, ZOUBEIDI A. Targeting the PI3K/Akt pathway in prostate cancer: challenges and opportunities(review)[J]. Int J Oncol, 2014,45(5): 1793-1801. DOI:10.3892/ijo.2014.2601.

[4] YU S W, SHEN G X, KHOR T O, *et al*. Curcumin inhibits Akt/mammalian target of rapamycin signaling through protein phosphatase-dependent mechanism[J]. Mol Cancer Ther, 2008, 7(9): 2609-2620. DOI:10.1158/1535-7163.MCT-07-2400.

[5] BUTLER D E, MARLEIN C, WALKER H F, *et al*. Inhibition of the PI3K/AKT/mTOR pathway activates autophagy and compensatory Ras/Raf/MEK/ERK signalling in prostate cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(34): 56698-56713. DOI:10.18632/oncotarget.18082.

[6] GAN Y, SHI C, INGE L, *et al*. Differential roles of ERK and Akt pathways in regulation of EGFR-mediated signaling and motility in prostate cancer cells[J]. Oncogene, 2010, 29(35): 4947-4958. DOI:10.1038/onc.2010.240.

[7] OH S J, ERB H H, HOBISCH A, *et al*. Sorafenib decreases proliferation and induces apoptosis of prostate cancer cells by inhibition of the androgen receptor and Akt signaling pathways[J]. Endocr Relat Cancer, 2012, 19(3): 305-319. DOI:10.1530/ERC-11-0298.

[8] KINKADE C W, CASTILLO-MARTIN M, PUZIO-KUTER A, *et al*. Targeting AKT/mTOR and ERK MAPK signaling inhibits hormone-refractory prostate cancer in a preclinical mouse model[J]. J Clin Invest, 2008,118(9): 3051-3064. DOI:10.1172/JCI34764.

[9] LU Z L, WANG H, ZHU M X, *et al*. Ophiopogonin D′, a natural product from Radix ophiopogonis, induces *in vitro* and *in vivo* $RIPK_1$-dependent and caspase-independent apoptotic death in androgen-independent human prostate cancer cells[J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 432. DOI:10.3389/fphar.2018.00432.

[10] QIAN J C, JIANG F R, WANG B, *et al*. Ophiopogonin D

prevents H_2O_2-induced injury in primary human umbilical vein endothelial cells[J]. J Ethnopharmacol, 2010, 128(2): 438-445. DOI:10.1016/j.jep.2010.01.031.

[11] SHENG X, YANG Y, LIU J, *et al*. Ophiopogonin A alleviates hemorrhagic shock-induced renal injury *via* induction of Nrf2 expression[J]. Front Physiol, 2020, 11(619740. DOI:10.3389/fphys.2020.619740.

[12] ZHONG Y, LIN Z, LU J, *et al*. CCL2-CCL5/CCR4 contributed to radiation-induced epithelial-mesenchymal transition of HPAEpiC cells *via* the ERK signaling pathways[J]. Am J Transl Res, 2019,11(2): 733-743.

[13] LUO J, WANG D, WAN X C, *et al*. Crosstalk between AR and wnt signaling promotes castration-resistant prostate cancer growth[J]. Onco Targets Ther, 2020, 13: 9257-9267. DOI:10.2147/OTT.S245861.

[14] ABD W N, LAJIS N H, ABAS F, *et al*. Mechanism of anti-cancer activity of curcumin on androgen-dependent and androgen-independent prostate cancer[J]. Nutrients, 2020, 12(3): DOI:10.3390/nu12030679.

[15] DE BONO J S, DE GIORGI U, RODRIGUES D N, *et al*. Randomized phase Ⅱ study evaluating Akt blockade with ipatasertib, in combination with abiraterone, in patients with metastatic prostate cancer with and without PTEN loss[J]. Clin Cancer Res, 2019, 25(3): 928-936. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-18-0981.

[16] TEE, SUSTER I, TRUONG S, *et al*. Targeted AKT inhibition in prostate cancer cells and spheroids reduces aerobic glycolysis and generation of hyperpolarized [1-^{13}C] lactate[J]. Mol Cancer Res, 2018, 16(3): 453-460. DOI:10.1158/1541-7786.MCR-17-0458.

[17] ESCUDIER B, WORDEN F, KUDO M. Sorafenib: key lessons from over 10 years of experience[J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2019, 19(2): 177-189. DOI:10.1080/14737140.2019.1559058.

[18] BURCHERT A, BUG G, FRITZ L V, *et al*. Sorafenib maintenance after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia with FLT3-internal tandem duplication mutation (SORMAIN)[J]. J Clin Oncol, 2020, 38(26): 2993-3002. DOI:10.1200/JCO.19.03345.

[19] NICKOLS N G, NAZARIAN R, ZHAO S G, *et al*. MEK-ERK signaling is a therapeutic target in metastatic castration resistant prostate cancer[J]. Prostate Cancer Prostatic Dis, 2019, 22(4): 531-538. DOI:10.1038/s41391-019-0134-5.

[20] SUTHIPHONGCHAI T, PHIMSEN S, SAKULKHU U, *et al*. PD98059-inhibited invasion of Dunning rat prostate cancer cells involves suppression of motility but not MMP-2 or uPA secretion[J]. Oncol Rep, 2006,15(6): 1605-1610. DOI:10.3892/or.15.6.1605.

[21] CHEN P S, SHIH Y W, HUANG H C, *et al*. Diosgenin, a steroidal saponin, inhibits migration and invasion of human prostate cancer PC-3 cells by reducing matrix metalloproteinases expression[J]. PLoS ONE, 2011, 6(5): e20164. DOI:10.1371/journal.pone.0020164.

[22] 沈岚, 徐德生, 冯怡, 等. 大鼠肠内菌对麦冬皂苷D′代谢的研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(8): 618-620.
SHEN L, XU D S, FENG Y, *et al*. Effect of intestinal bacteria on metabolism of ophiopognin saponin D′ in rats[J]. China J Chin Mater Med, 2005, 30(8): 618-620.

[23] CHEN B N, ZHOU S K, ZHAN Y J, *et al*. Dioscin inhibits the invasion and migration of hepatocellular carcinoma HepG2 cells by reversing TGF-β1-induced epithelial-mesenchymal transition[J]. Molecules, 2019, 24(12): E2222. DOI:10.3390/molecules24122222.

[24] SI L L, ZHENG L L, XU L N, *et al*. Dioscin suppresses human laryngeal cancer cells growth via induction of cell-cycle arrest and MAPK-mediated mitochondrial-derived apoptosis and inhibition of tumor invasion[J]. Eur J Pharmacol, 2016, 774: 105-117. DOI:10.1016/j.ejphar.2016.02.009.

[25] ZHANG Y Y, HAN Y W, ZHAI K F, *et al*. Ophiopogonin-D suppresses MDA-MB-435 cell adhesion and invasion by inhibiting matrix metalloproteinase-9[J]. Mol Med Rep, 2015, 12(1): 1493-1498. DOI: 10.3892/mmr.2015.3541.

[26] CAO Z, LIAO Q J, SU M, *et al*. AKT and ERK dual inhibitors: The way forward?[J]. Cancer Lett, 2019, 459: 30-40. DOI:10.1016/j.canlet.2019.05.025.

[27] KIM K Y, PARK K I, KIM S H, *et al*. Inhibition of autophagy promotes salinomycin-induced apoptosis via reactive oxygen species-mediated PI3K/AKT/mTOR and ERK/p38 MAPK-dependent signaling in human prostate cancer cells[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(5): E1088. DOI:10.3390/ijms18051088.

[28] FAN L X, HE Z L, HEAD S A, *et al*. Clofoctol and sorafenib inhibit prostate cancer growth *via* synergistic induction of endoplasmic reticulum stress and UPR pathways[J]. Cancer Manag Res, 2018, 10: 4817-4829. DOI:10.2147/CMAR.S175256.

[29] KIM S M, LEE S Y, CHO J S, *et al*. Combination of ginsenoside Rg3 with docetaxel enhances the susceptibility of prostate cancer cells *via* inhibition of NF-kappaB[J]. Eur J Pharmacol, 2010, 631(1/2/3): 1-9. DOI:10.1016/j.ejphar.2009.12.018.

(**收稿**:2021-04-02;**修回**:2021-06-09)

(编辑 汪勤俭)