doi:10.11659/jjssx.06E017063

·基础研究·

L-左旋肌肽对人肝癌细胞 HepG2 增殖及凋亡作用的实验研究

刘 强[1],彭玉萍[1],戴社教[2],马小斌[3] (1.西安交通大学第二附属医院影像科,陕西 西安 710004;2.西安交通大学第二附属医院消化内科,陕西 西安 710004;3.西安交通大学第二附属医院肿瘤科,陕西 西安 710004)

[摘 要] **目的** 探讨 L-左旋肌肽对肝癌 HepG2 细胞的凋亡作用及相关机制。**方法** 体外培养人肝癌 HepG2 细胞,将对数期生长的人肝癌 HepG2 细胞分为空白对照组和 L-左旋肌肽 5、20、50 mmol/L 处理组,按照分组条件分别用生理盐水和 L-左旋肌肽 5、20、50 mmol/L 处理各组细胞。采用 CCK-8 法处理 24 h 和 48 h 后检测各组细胞生长情况;干预 48 h 后流式细胞仪检测各组 HepG2 细胞凋亡和细胞周期情况;Western blot 方法检测各处理组 48 h 后,Caspase-8、PI3K 及 Akt 蛋白的表达情况。**结果** CCK-8 和流式结果显示,L-左旋肌肽 20 mmol/L 和 50 mmol/L 干预 HepG2 细胞 24 h 和 48 h 后均可显著抑制细胞生长,并且该抑制作用具有明显的时效性和量效性。Western blot 结果显示,L-左旋肌肽干预细胞 48 h 后,PI3K 和 Akt 蛋白表达随 L-左旋肌肽浓度的增高而逐次下调,而 Caspase-8 蛋白表达量升高。**结论** L-左旋肌肽对人肝癌 HepG2 细胞增殖有抑制作用,并能诱导 HepG2 细胞的凋亡,其作用机制可能与 PI3K/Akt 通路活性抑制,Caspase-8 表达上调有关。

[关键词] L-左旋肌肽;肝细胞癌;凋亡;增殖;PI3K/Akt

[中图分类号] R571 [文献标识码] A [收稿日期] 2017-06-06

Study in L-carnosine on the proliferation and apoptosis of human hepatocellular carcinoma HepG2 cells

LIU Qiang[1], PENG Yu-ping[1], DAI She-jiao[2], MA Xiao-bin[3] (1. Department of Medical Imaging, Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an Shaanxi 710004, China; 2. Department of Gastroenterology, Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an Shaanxi 710004, China; 3. Department of Oncology, Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an Shaanxi 710004, China)

Abstract: Objective To study the L-carnosine induced apoptosis of human hepatocellular carcinoma HepG2 cells and its mechanism. **Methods** Human hepatocellular carcinoma HepG2 cells were cultured in vitro, then the cells in logarithmic phase were divided into 5 mM, 20 mM, 50 mM L-carnosine group and control group, treated with 5 mM, 20 mM, 50 mM L-carnosine and saline respectively. The proliferation of HepG2 cells was measured by CCK-8 assay after 24 hours and 48 hours treatment. The cell apoptosis and cell cycle were detected by flow cytometry after 48 hours treatment. The protein expression of Caspase-8, PI3K and Akt were detected by Western blot in each group after 48 hours treatment. **Results** CCK-8 and flow cytometry assay showed that both 20 mM and 50 mM L-carnosine treated group significantly inhibited the proliferation of HepG2 cells after 24 hours and 48 hours, and the inhibition were in a time and dose-dependent manner. Western blot revealed that the expressions of PI3K and Akt were down-regulated with the increase of L-carnosine concentration, while the expression of Caspase-8 was increased. **Conclusion** L-carnosine exhibits an inhibitory effect of the proliferation and promote apoptosis of human liver cancer cell line HepG2. The mechanism may be associated with the inhibition of the PI3K/Akt signaling pathway and activation of Caspase-8 signaling pathway.

Keywords: L-carnosine; hepatocellular carcinoma; apoptosis; proliferation; PI3K/Akt

肝癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一[1],同时也是癌症导致死亡的第三大常见原因[2]。肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)占原发性肝癌的90%以上,并且是一个主要的公共健康问题。肝细胞癌患者由于缺乏自觉症状,因此在确诊时多已进入晚期,常规实体瘤的治疗常常以治疗失败、复发或预后差为结局,生存率通常低于10%[3]。由于化疗对肝细胞癌来说治疗难度较大,局部治疗和选择性的放疗主要为姑息治疗[4],因此新的治疗药物的开发对于肝癌标准治疗方案的补充或替代都非常必要。

近些年,一些天然物质的抗肿瘤功效越来越受到大家的关注。L-左旋肌肽(β-Ala-His)是一种天然的二肽类物质,在 L-左旋肌肽被发现以来,已经有足够多的体内外实验证实其具有抗氧化、抗炎、抗衰老及抗肿瘤等生理功能[5-8]。据报道,L-左旋肌肽能够参与调节肿瘤的生长、代谢等过程,尽管目前已有研究提出在某些肿瘤细胞中,L-左旋肌肽可通过抑制细胞增殖、细胞周期阻滞、细胞凋亡的诱导,甚至是参与某些肿瘤细

[基金项目] 陕西省社会发展科技攻关项目(2013k12-03-20)

[通信作者] 马小斌,E-mail:binbinmxb@sohu.com

胞糖酵解过程中能量代谢调节等作用来发挥抗肿瘤活性,但是 L-左旋肌肽具体抗肿瘤活性的分子机制还未阐明[9-11]。本研究利用 L-左旋肌肽在体外对人肝癌 HepG2 细胞的抗肿瘤作用展开初步的临床前探索,并对 L-左旋肌肽作用于 HepG2 细胞的抗瘤作用机制进行初步探讨。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

人肝癌 HepG2 细胞株(ATCC,美国);胎牛血清(fetal bovine serum,FBS;四季青,中国);DMEM 高糖培养基(Gibco,美国);CCK-8 试剂盒(碧云天,中国);BCA 蛋白定量试剂盒(南京建成,中国);预染蛋白电泳 marker(Thermo,美国);Annexin V-FITC/PI 双标凋亡检测试剂盒(Beckman Coulter,美国);碘化丙啶(propidium iodide,PI;天津天浩,中国)。

1.2 实验方法

1.2.1 实验分组 人肝癌 HepG2 细胞株培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基中,放置培养箱内 5% CO_2、37 ℃条件下常规培养,取对数生长期细胞分为 L-左旋肌肽 5、20、50 mmol/L 组和空白对照组,分别用 L-左旋肌肽 5、20、50 mmol/L 和生理盐水处理各组细胞。

1.2.2 CCK-8 法检测细胞增殖情况 取对数生长期 HepG2 细胞,调整细胞密度为 5×10^4/孔接种于 96 孔板中,培养 24 h 待细胞贴壁后,分别加入 L-左旋肌肽 5、20、50 mmol/L 和生理盐水处理,其中每组设 5 个平行复孔。37 ℃培养箱培养 24 h、48 h 后,弃培养液,各组细胞分别加入含 10 μL CCK-8 试剂的培养液每孔 100 μL,37 ℃培养箱继续培养 2 h,酶标仪波长450 nm 处测定吸光度(A)值,检测各组细胞的增殖情况。

1.2.3 流式细胞仪检测细胞周期及凋亡情况 取对数生长期 HepG2 细胞,调整密度为 2×10^5/mL 接种于 6 孔板,待细胞贴壁后,按分组条件加入不同浓度 L-左旋肌肽处理,48 h 后收集每组细胞,用预冷 PBS 清洗 2 遍后离心,加入 500 μL binding buffer 重悬。取 100 μL 悬浮液,和 5 μL AnnexinV- FITC、5 μL PI(终浓度为 20 μg/mL)室温避光条件下孵育 30 min。最后取 400 μL PBS 加至每组细胞中,流式细胞仪进行细胞凋亡检测。同法收集并洗涤细胞,70% 乙醇固定细胞并过夜,PBS 清洗 2 遍,于沉淀中加入含 0.2% Triton X-100、50 μg/mL PI 以及 100 μg/mL RNase A 的预冷 PBS 溶液,避光孵育 30 min,流式细胞仪检测周期情况。

1.2.4 Western blot 检测相关蛋白表达情况 根据分组条件收集各组 HepG2 细胞,加入细胞裂解液后冰上裂解。BCA 试剂盒对各组蛋白浓度定量,以总蛋白量每孔 20 μg 上样进行 SDS-PAGE 电泳。凝胶上分离的蛋白转至 PVDF 膜。脱脂牛奶封闭后,加入 Caspase-8、PI3K、Akt 以及 β-actin 小鼠单克隆抗体,4 ℃孵育 24 h 后,使用山羊抗小鼠 IgG-HRP 二抗孵育 2 h,洗膜后进行电化学发光显影,检测目的条带表达。

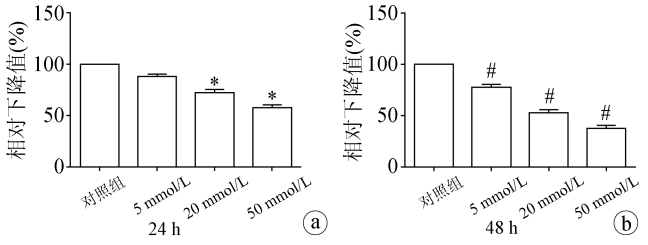
1.3 统计学方法

数据采用 SPSS 19.0 软件行统计学分析,多组间计量资料采用单因素方差分析,两组间比较采用 SNK-q 进行检验,$P<0.05$ 为差异有统计学意义,$P<0.01$ 为差异具有极显著统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度 L-左旋肌肽处理 24 h 和 48 h 对人肝癌 HepG2 细胞增殖的影响

通过 CCK-8 法检测 5、20、50 mmol/L L-左旋肌肽处理 HepG2 细胞 24 h 和 48 h 后细胞增殖情况。L-左旋肌肽 20 mmol/L 和 50 mmol/L 处理 HepG2 细胞 24 h、48 h 后,细胞的生长均被显著抑制,且 L-左旋肌肽 50 mmol/L 处理组的抑制作用比 20 mmol/L 处理组更为明显(图 1)。L-左旋肌肽 5 mmol/L 处理 HepG2 细胞 24 h 与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。L-左旋肌肽的同一作用浓度下,细胞生长抑制作用随着干预时间加长而增强。因此,以上结果表明,L-左旋肌肽对人肝癌 HepG2 细胞的生长具有抑制作用,而其抑制作用则呈现时间和浓度的依赖性。



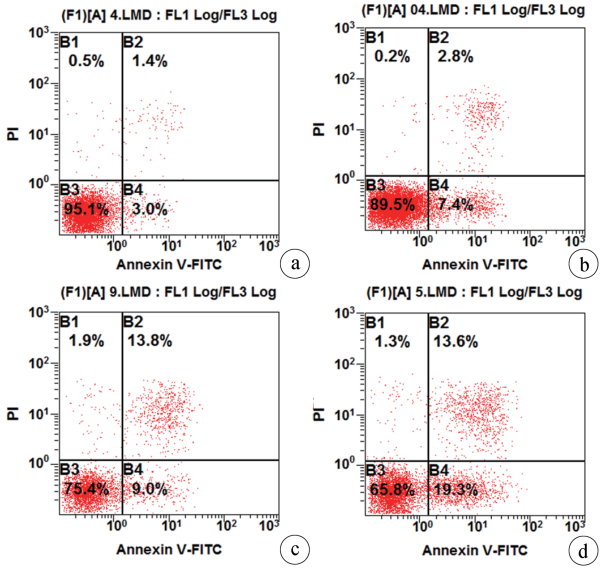
*:与对照组比较,$P<0.01$;#:与对照组比较,$P<0.001$

图 1 不同浓度 L-左旋肌肽处理 HepG2 细胞 24 h、48 h 的细胞增殖情况

2.2 不同浓度 L-左旋肌肽对 HepG2 细胞凋亡的影响

检测结果显示,L-左旋肌肽处理 HepG2 细胞 48 h 后能够促细胞凋亡。其中,20 mmol/L 和 50 mmol/L L-左旋肌肽组和对照组相比,可显著促进 HepG2 细胞凋亡,且 50 mmol/L 组凋亡率比 20 mmol/L 处理组更高;5 mmol/L 组对 HepG2 细胞虽呈现一定的促凋亡作

用,但与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$),见图2。结果表明,L-左旋肌肽对人肝癌HepG2的细胞凋亡作用呈现浓度依赖性。

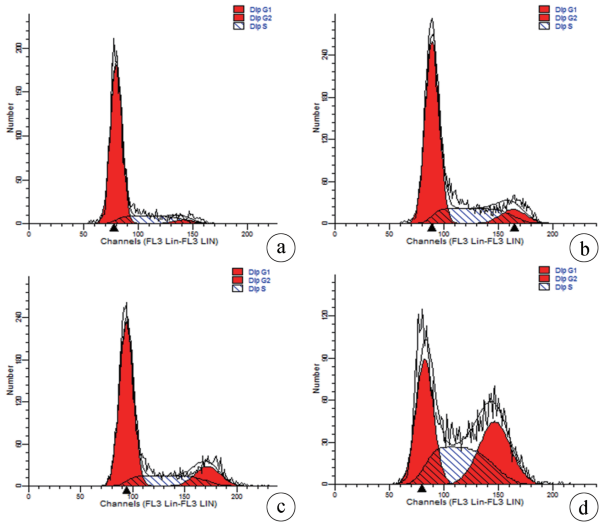


a:0 mmol/L组;b:5 mmol/L组;c:20 mmol/L组;d:50 mmol/L组

图2 不同浓度L-左旋肌肽处理HepG2细胞48 h后对细胞凋亡的影响

2.3 不同浓度L-左旋肌肽对HepG2细胞周期的影响

结果如图3所示,L-左旋肌肽处理HepG2细胞48 h后能够影响细胞周期的变化。L-左旋肌肽0 mmol/L组细胞大部分位于G0/G1期,L-左旋肌肽20 mmol/L、50 mmol/L处理细胞48 h后,细胞周期更多被阻滞于G2/M期,且该作用呈现剂量依赖性。



a:0 mmol/L组;b:5 mmol/L组;c:20 mmol/L组;d:50 mmol/L组

图3 不同浓度L-左旋肌肽处理HepG2细胞48 h后对细胞周期的影响

2.4 L-左旋肌肽对HepG2细胞Caspase-8、PI3K、Akt蛋白表达的影响

Western blot检测L-左旋肌肽0、5、20、50 mmol/L处理HepG2细胞48 h后,Caspase-8、PI3K、Akt蛋白表达情况,结果显示,PI3K和Akt蛋白表达水平随着L-左旋肌肽浓度的增高而逐次下调,同时Caspase-8蛋白表达量升高(图4)。提示L-左旋肌肽可抑制PI3K/Akt通路的活性,促进Caspase-8的表达,继而促进HepG2细胞的凋亡。

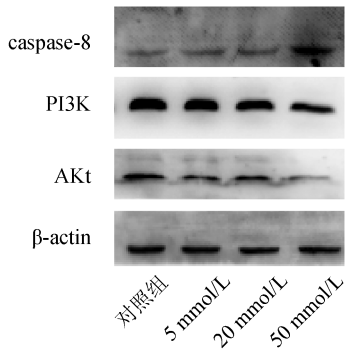


图4 不同浓度L-左旋肌肽处理HepG2细胞48 h后对Caspase-8、PI3K、Akt蛋白表达的影响

3 讨论

L-左旋肌肽是一个天然存在的组氨酸二肽类物质,可通过肌肽合成酶由β-丙氨酸和L-组氨酸内源合成[12],在哺乳动物脑部、肌肉、肾、皮肤、心、胃部及大量的骨骼肌当中广泛存在。现已证实L-左旋肌肽具有多种生物功能,包括抗氧化活性、金属离子螯合能力、抑制蛋白质糖基化、抗炎以及抗衰老等特性[5-8]。L-左旋肌肽的另一吸引广泛学者关注的特性则是其潜在的抗肿瘤作用。与L-左旋肌肽相关的肿瘤体外实验包括胃癌、结肠癌、卵巢癌和脑部癌细胞等均已证实该二肽物质可抑制肿瘤细胞生长[12-16]。虽然L-左旋肌肽对肿瘤组织糖酵解ATP生成过程的影响被认为是调节肿瘤细胞能量代谢的关键,但对肿瘤细胞作用的主要分子靶点依然还存在诸多未知。因此,本研究主要通过不同浓度L-左旋肌肽对人肝癌细胞株HepG2进行干预,初步探讨L-左旋肌肽对人肝癌细胞的增殖、凋亡以及细胞周期的影响。实验结果显示,L-左旋肌肽对人肝癌HepG2细胞的增殖具有显著的抑制作用,可将细胞阻滞于G2/M期,明显促进HepG2细胞的凋亡。在此基础之上,我们又对PI3K/Akt和Caspase通路相关的PI3K、Akt、Caspase-8蛋白表达情况进行检测,数据显示PI3K和Akt蛋白表达随L-左旋肌肽浓度的增高而逐次下调,同时Caspase-8蛋白表达量升高。这提示我们,L-左旋肌肽对人肝癌HepG2细胞增殖有抑制作用,并能诱导HepG2细胞的凋亡,其作用机制可能与PI3K/Akt通路活性抑制,Caspase-8

表达上调有关。

目前关于 PI3K/Akt 信号通路在肿瘤细胞的作用,已发展成一个深入研究的领域。PI3K/Akt 信号通路与肿瘤细胞的增殖和凋亡有关,是肿瘤细胞增殖与存活的一个重要调节者[17-20]。现已有文献报道,在人类多种肿瘤细胞中,如结肠癌、乳腺癌、肝癌、胃癌和肺癌等,PIK3CA 基因的改变导致 PI3K 激酶活性增强,释放 PI3K 引起异常的 Akt 活化[21-23]。PI3K/Akt 信号通路可以通过跨膜受体向蛋白质酪氨酸激酶传递信息,激活 PI3K 并催化 PIP3,然后产生信号到 Akt,激活 Akt 并通过磷酸化作用调节下游靶蛋白 Caspase-9、p53、Bad、mTOR、NF-κB 及其他蛋白、介导胰岛素、表皮生长因子和细胞因子表达,抑制细胞凋亡,因此该途径已成为癌症治疗的重要靶点之一[24]。在哺乳动物细胞中,Caspase-8 主要介导了外在的死亡受体途径,继而诱导凋亡产生。Caspase-8 属于 Caspase 家族的凋亡启动分子,和作为凋亡执行分子的 Caspase-3 在 Caspase 级联反应中处于核心地位。在死亡受体如 Fas、DR4 及 DR5 等介导的外源性激活途径中,Caspase-8 被激活后可引发下游的同源酶如 Caspase-6、7 等,最终引起执行分子的 Caspase-3 活化,导致细胞不可逆的凋亡[25]。在本研究中,我们发现经过处理的人肝癌 HepG2 细胞其 PI3K 和 Akt 蛋白表达水平随 L-左旋肌肽浓度的增高而逐次下调,因此推测,L-左旋肌肽可通过抑制 PI3K/Akt 信号通路的活化,激活下级级联反应,从而调节 HepG2 细胞的增殖和凋亡。鉴于 Caspase 作为 PI3K/Akt 信号通路下游参与凋亡的关键酶,我们主要考察了外源激活途径的核心启动分子 Caspase-8 的表达情况,结果发现,Caspase-8 随 L-左旋肌肽浓度的增加而表达上调,这提示 L-左旋肌肽有可能通过抑制 PI3K/Akt 信号通路的活化,激活下游 Caspase-8,最终通过外源死亡受体途径诱导了人肝癌 HepG2 细胞的凋亡。对于 L-左旋肌肽对人肝癌的临床前研究还需进一步探究,其中包括 L-左旋肌肽抑制 PI3K/Akt 信号通路和诱发 Caspase 家族的具体信号途径以及相应的动物模型研究。

综上,本研究结果表明 L-左旋肌肽能抑制人肝癌 HepG2 细胞增殖并诱导凋亡,其作用机制可能与 L-左旋肌肽抑制 PI3K/Akt 信号通路,上调 Caspase-8 表达有关。尽管其具体的分子机制还未明确,但是本研究为 L-左旋肌肽应用于临床抗肝癌的治疗提供了理论依据。

[参考文献]

[1] Zuo TT, Zheng RS, Zhang SW, et al. Incidence and mortality of liver cancer in China in 2011[J]. Chin J Cancer, 2015, 34(11): 508 - 513. doi: 10.1186/s40880 - 015 - 0056 - 0.

[2] Altekruse SF, Henley SJ, Cucinelli JE, et al. Changing hepatocellular carcinoma incidence and liver cancer mortality rates in the United States[J]. Am J Gastroenterol, 2014, 109(4): 542 - 553. doi: 10.1038/ajg.2014.11.

[3] Park HS, Park K, Lee DH, et al. Polyphenolic extract isolated from Korean Lonicera japonica Thunb. induce G2/M cell cycle arrest and apoptosis in HepG2 cells: involvements of PI3K/Akt and MAPKs[J]. Food Chem Toxicol, 2012, 50(7): 2407 - 2416. doi: 10.1016/j.fct.2012.04.034.

[4] Rai V, Abdo J, Alsuwaidan AN, et al. Cellular and molecular targets for the immunotherapy of hepatocellular carcinoma[J]. Mol Cell Biochem, 2017. doi: 10.1007/s11010 - 017 - 3092 - z.

[5] Zhang ZY, Sun BL, Yang MF, et al. Carnosine attenuates early brain injury through its antioxidative and anti-apoptotic effects in a rat experimental subarachnoid hemorrhage model[J]. Cell Mol Neurobiol, 2015, 35(2): 147 - 157. doi: 10.1007/s10571 - 014 - 0106 - 1.

[6] Alsheblak MM, Elsherbiny NM, El-Karef A, et al. Protective effects of L-carnosine on CCl4 -induced hepatic injury in rats[J]. Eur Cytokine Netw, 2016, 27(1): 6 - 15. doi: 10.1684/ecn.2016.0372.

[7] Yapislar H, Aydogan S. Effect of carnosine on erythrocyte deformability in diabetic rats[J]. Arch Physiol Biochem, 2012, 118(5): 265 - 272. doi: 10.3109/13813455.2012.714790.

[8] Erken G, Bor-Kucukatay M, KilicToprak E, et al. The effect of L-carnosine on erythrocyte deformability and aggregation according to the cell age in young and aged rats[J]. Acta Medica (Hradec Kralove), 2013, 56(1): 23 - 28.

[9] Rybakova YS, Kalen AL, Eckers JC, et al. Increased manganese superoxide dismutase and cyclin B1 expression in carnosine-induced inhibition of glioblastoma cell proliferation[J]. Biomed Khim, 2015, 61(4): 510 - 518. doi: 10.18097/PBMC20156104510.

[10] Hayashi H, Kobayashi R, Suzuki A, et al. Preparation and clinical evaluation of a novel lozenge containing polaprezinc, a zinc-L-carnosine, for prevention of oral mucositis in patients with hematological cancer who received high-dose chemotherapy[J]. Med Oncol, 2016, 33(8): 91. doi: 10.1007/s12032 - 016 - 0795 - z.

[11] Ditte Z, Ditte P, Labudova M, et al. Carnosine inhibits carbonic anhydrase IX-mediated extracellular acidosis and suppresses growth of HeLa tumor xenografts[J]. BMC Cancer, 2014, 14(1): 358. doi: 10.1186/1471 - 2407 - 14 - 358.

[12] Quinn PJ, Boldyrev AA, Formazuyk VE. Carnosine: its properties, functions and potential therapeutic applications[J]. Mol Aspects Med, 1992, 13(5): 379 - 444.

[13] Renner C, Asperger A, Seyffarth A, et al. Carnosine inhibits growth of cells isolated from human glioblastoma multiforme[J]. Int J Pept Res Ther, 2008, 14(2): 127 - 135. doi: 10.1179/016164109X12518779082237.

[14] Pandurangan M, Mistry B, Enkhataivan G, et al. Efficacy of carnosine on activation of caspase 3 and human renal carcinoma cell inhibition[J]. Int J Biol Macromol, 2016, 92: 377 - 382. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.07.044.

[15] Mikuła-Pietrasik J, Książek K. L-Carnosine prevents the pro-cancerogenic activity of senescent peritoneal mesothelium towards ovarian cancer cells[J]. Anticancer Res, 2016, 36(2): 665 - 671.

doi:10.11659/jjssx.05E017005

·基础研究·

维生素 D 调控龟板提取物促骨髓间充质干细胞增殖分化的研究

陈金锋[1],张海玲[1],肖春苟[1],叶茂盛[1],郑二来[1],陈东风[2] (1.肇庆医学高等专科学校人体解剖与组织胚胎学教研室,广东 肇庆 526020;2.广州中医药大学,广东 广州 510006)

[摘 要] **目的** 观察维生素 D(Vit D)调控龟板提取物(PTE)促进骨髓间充质干细胞(MSCs)增殖过程的作用及其机制。**方法** 构建 PGL3-Id1 启动子,转染大鼠 MSCs,PTE 分别联合 10^{-6}、10^{-7}、10^{-8} mol/L 的 Vit D 作用于转染后的 MSCs 36 h,利用荧光素酶检测 MSCs 中 Id1 启动子的水平。1、3、30、100 μg/mL PTE 分别联合 10^{-7} mol/L Vit D 作用于 MSCs 36 h、3 d、7 d,RT-PCR 检测 VDR 的表达。**结果** PTE 促进了 MSCs 中 Id1 的表达,联合应用 Vit D,Id1 的表达会降低,这种差异具有极显著性统计学意义($P<0.01$),且不同剂量 Vit D 之间比较差异也有极显著性统计学意义($P<0.01$)。药物联合作用 36 h、3 d 和 7 d 时,均不同程度抑制了 VDR 的表达;作用 36 h 时 Vit D 联合大剂量 PTE 时抑制作用显著,与不加 PTE 组比较,差异有统计学意义($P<0.05$);而作用 3 d 和 7 d 时,Vit D 联合大剂量 PTE 时抑制作用更为明显;不同剂量 PTE 联合 Vit D 作用相同时间,不同剂量之间 VDR 的表达量差异有统计学意义($P<0.05$),而相同剂量 PTE 联合 Vit D 作用不同时间,7 d 与 36 h 时 VDR 表达量比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** Vit D 抑制了 PTE 促 MSCs 的增殖作用,核受体 VDR 可能是 PTE 调控 MSCs 增殖和分化的一个药物作用靶点。

[关键词] 龟板提取物;骨髓间充质干细胞;维生素 D;VDR

[中图分类号] R285.5;R329.2+8 [文献标识码] A [收稿日期] 2017-05-02

Vit D promotes proliferation and differentiation of mesenchymal stem cells through regulates extracts of plastrum testudinis

CHEN Jin-feng[1], ZHANG Hai-ling[1], XIAO Chun-gou[1], YE Mao-sheng[1], ZHENG Er-lai[1], CHEN Dong-feng[2] (1. Department of Anthropotomy and Histology and Embryology, Zhaoqing Medical College, Zhaoqing Guangdong 526020, China; 2. Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou Guangdong 510006, China)

Abstract: Objective To explore the effect and the mechanism of vitamin D(Vit D) promotes proliferation and differentiation of mesenchymal stem cells(MSCs) through regulates extracts of plastrum testudinis(PTE). **Methods** Established the PGL3-Id1 promoter and

[基金项目] 广东省中医药管理局课题(20141300);肇庆市科技创新计划项目(2013E2810)

[通信作者] 张海玲,E-mail:hailing0322@sina.com

[16] Shen Y, Yang J, Li J, et al. Carnosine inhibits the proliferation of human gastric cancer SGC-7901 cells through both of the mitochondrial respiration and glycolysis pathways[J]. PLoS One, 2014, 9(8): e104632. doi:10.1371/journal.pone.0104632.

[17] Zhang Z, Miao L, Wu X, et al. Carnosine inhibits the proliferation of human gastric carcinoma cells by retarding Akt/ mTOR/ p70S6K signaling[J]. J Cancer, 2014, 5(5): 382 - 389. doi: 10.7150/jca.8024.

[18] Zhao P, Guan HT, Dai ZJ, et al. Knockdown of SPOCK1 inhibits the proliferation and invasion in colorectal cancer cells by suppressing the PI3K/Akt pathway[J]. Oncol Res, 2016, 24(6): 437 - 445. doi:10.3727/096504016X14685034103554.

[19] Lux MP, Fasching PA, Schrauder MG, et al. The PI3K pathway: background and treatment approaches[J]. Breast Care(Basel), 2016, 11(6): 398 - 404. doi:10.1159/000453133.

[20] Liu Y, Wang R, Zhang L, Li J, et al. The lipid metabolism gene FTO influences breast cancer cell energy metabolism via the PI3K/AKT signaling pathway[J]. Oncol Lett, 13(6): 4685 - 4690. doi: 10.3892/ol.2017.6038.

[21] Li N, Miao Y, Shan Y, et al. MiR-106b and miR-93 regulate cell progression by suppression of PTEN via PI3K/Akt pathway in breast cancer[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(5): e2796. doi:10.1038/cddis.2017.119.

[22] Yang X, Ye X, Sun L, et al. Downregulation of serum RAB27B confers improved prognosis and is associated with hepatocellular carcinoma progression through PI3K-AKT-P21 signaling[J]. Oncotarget, 2017. doi:10.18632/oncotarget.18010.

[23] Wang B, Jiang H, Wang L, et al. Increased MIR31HG lncRNA expression increases gefitinib resistance in non-small cell lung cancer cell lines through the EGFR/PI3K/AKT signaling pathway[J]. Oncol Lett, 2017, 13(5): 3494 - 3500. doi:10.3892/ol.2017.5878.

[24] Pal I, Mandal M. PI3K and Akt as molecular targets for cancer therapy: current clinical outcomes[J]. Acta Pharmacol Sin, 2012, 33(12): 1441 - 1458. doi:10.1038/aps.2012.72.

[25] Tummers B, Green DR. Caspase-8: regulating life and death[J]. Immunol Rev, 2017, 277(1): 76 - 89. doi:10.1111/imr.12541.

(编辑:杨 颖)