

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2026.06.009

· 基础研究 ·

月见草素 B 调控 PI3K/AKT/NF- κ B 通路对卵巢癌 SKOV3 细胞恶性生物学行为的影响

张颖¹, 魏顺英¹, 海好婷², 王生兰² (1. 青海红十字医院 妇一科, 青海 西宁 810000; 2. 青海红十字医院 产二科, 青海 西宁 810000)

[摘要] **目的:** 探讨月见草素 B 调控磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(AKT)/核因子- κ B(NF- κ B)通路对卵巢癌 SKOV3 细胞恶性生物学行为的影响。**方法:** CCK-8 法测定月见草素 B 对 SKOV3 细胞的半数抑制浓度(IC₅₀), 参考 IC₅₀ 值及相关文献确定后续实验剂量。SKOV3 细胞分为对照组, 月见草素 B 低(6.25 μ mol/L)、中(12.5 μ mol/L)、高(25 μ mol/L)剂量组, PI3K 抑制剂(LY294002)组, 月见草素 B 高剂量 + PI3K 激活剂(740Y-P)组。CCK-8 法、5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)染色法检测各组细胞增殖能力; Transwell 侵袭实验、划痕实验、流式细胞术分别检测各组细胞侵袭、迁移能力与凋亡情况; RT-qPCR 检测各组细胞中增殖相关基因细胞周期蛋白 D1(Cyclin D1)、迁移相关基因迁移侵袭增强子 1(MIEN1)及凋亡相关基因 p53 mRNA 表达情况; Western blotting 检测各组细胞中 PI3K/AKT/NF- κ B 通路相关蛋白 p-PI3K、p-AKT、NF- κ B p65 的表达。**结果:** 月见草素 B 处理 SKOV3 细胞 24 h 的 IC₅₀ 值为 28.70 μ mol/L。与对照组相比, 月见草素 B 低、中、高剂量组及 LY294002 组 SKOV3 细胞增殖能力、侵袭细胞数及划痕愈合率均降低(均 $P < 0.05$), Cyclin D1、MIEN1 mRNA 及 p-PI3K、p-AKT、NF- κ B p65 蛋白表达下调(均 $P < 0.05$), 而细胞凋亡率与 p53 mRNA 表达则升高(均 $P < 0.05$); 与 LY294002 组相比, 高剂量月见草素 B 对 SKOV3 细胞增殖能力、侵袭细胞数及划痕愈合率的抑制作用更显著(均 $P < 0.05$), 对 Cyclin D1、MIEN1 mRNA 及 p-PI3K、p-AKT、NF- κ B p65 蛋白的下调及对细胞凋亡率与 p53 mRNA 表达的上调均更明显(均 $P < 0.05$)。与月见草素 B 高剂量组相比, 月见草素 B 高剂量 + 740Y-P 组 SKOV3 细胞增殖能力、侵袭细胞数及划痕愈合率升高(均 $P < 0.05$), Cyclin D1、MIEN1 mRNA 及 p-PI3K、p-AKT、NF- κ B p65 蛋白表达上调(均 $P < 0.05$), 细胞凋亡率与 p53 mRNA 表达降低($P < 0.05$)。**结论:** 月见草素 B 可能通过抑制 PI3K/AKT/NF- κ B 通路, 抑制卵巢癌 SKOV3 细胞增殖、侵袭与迁移, 并诱导细胞凋亡。

[关键词] 月见草素 B; 卵巢癌; SKOV3 细胞; 凋亡; 增殖; 侵袭; 迁移

[中图分类号] R737.31; R730.21 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2026)06-0670-08

Effect of oenotherin B on the malignant biological behaviors of ovarian cancer SKOV3 cells by regulating the PI3K/AKT/NF- κ B signaling pathway

ZHANG Ying¹, WEI Shunying¹, HAI Yuting², WANG Shenglan² (1. 1st Department of Obstetrics and Gynecology, Qinghai Red Cross Hospital, Xining 810000, Qinghai, China; 2. 2nd Department of Obstetrics and Gynecology, Qinghai Red Cross Hospital, Xining 810000, Qinghai, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of oenotherin B on the malignant biological behavior of ovarian cancer SKOV3 cells by regulating the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (AKT)/nuclear factor-kappa B (NF- κ B) pathway. **Methods:** The half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀) of oenotherin B on SKOV3 cells was determined by the CCK-8 assay, and the subsequent experimental doses were determined based on the IC₅₀ value and relevant literature. SKOV3 cells were divided into the control group, low-dose oenotherin B group (6.25 μ mol/L), medium-dose oenotherin B group (12.5 μ mol/L), high-dose oenotherin B group (25 μ mol/L), PI3K inhibitor (LY294002) group, and high-dose oenotherin B combined with PI3K activator (740Y-P) group. The cell proliferation ability of each group was detected by CCK-8 assay and 5-ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU) staining. Transwell invasion assay, wound healing assay and flow cytometry were used to detect cell invasion, migration ability and apoptosis in each group, respectively. RT-qPCR was applied to detect the mRNA expression levels of proliferation-related gene Cyclin D1, migration-related gene migration and invasion enhancer 1 (MIEN1), and apoptosis-related gene p53 in each group. Western blotting was used to determine the expression levels of PI3K/AKT/NF- κ B pathway-related proteins including p-PI3K, p-AKT and NF- κ B p65 in each group. **Results:** The IC₅₀ value

[基金项目] 青海省卫生健康科研项目(2023-wjzdx-17)

[作者简介] 张颖, 女, 本科, 主治医师

[通信作者] 王生兰(扫码获取作者通信方式)



of oenotherin B against SKOV3 cells after 24 h of treatment was 28.70 $\mu\text{mol/L}$. Compared with the control group, the proliferation ability, number of invasive cells and wound healing rate of SKOV3 cells were significantly decreased in the low-, medium- and high-dose oenotherin B groups as well as the LY294002 group (all $P < 0.05$); the mRNA expression levels of Cyclin D1 and MIEN1, as well as the protein expression levels of p-PI3K, p-AKT and NF- κ B p65 were markedly downregulated (all $P < 0.05$), while the cell apoptosis rate and p53 mRNA expression were remarkably upregulated (all $P < 0.05$). Compared with the LY294002 group, the high-dose oenotherin B exhibited more pronounced inhibitory effects on cell proliferation, invasion, and migration (all $P < 0.05$), as well as greater downregulation of Cyclin D1 and MIEN1 mRNA and p-PI3K, p-AKT, and NF- κ B p65 protein expression, and more significant upregulation of apoptosis rate and p53 mRNA expression (all $P < 0.05$). Compared with the high-dose oenotherin B group, the high-dose oenotherin B + 740Y-P group showed increased cell proliferation, invasion, and migration (all $P < 0.05$), upregulated Cyclin D1 and MIEN1 mRNA and p-PI3K, p-AKT, and NF- κ B p65 protein expression (all $P < 0.05$), and decreased apoptosis rate and p53 mRNA expression (all $P < 0.05$). **Conclusion:** Oenotherin B may inhibit the PI3K/AKT/NF- κ B signaling pathway, thereby suppressing the proliferation, invasion and migration of ovarian cancer SKOV3 cells and inducing cell apoptosis.

[Key words] oenotherin B; ovarian cancer; SKOV3 cell; apoptosis; proliferation; invasion; migration

[Chin J Cancer Biother, 2026, 33(6): 670-677. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2026.06.009]

卵巢癌是影响女性生殖器官最普遍的恶性肿瘤之一,在妇科肿瘤中死亡率最高,对女性的生命健康构成重大威胁^[1-2]。卵巢癌具有起病隐匿、恶性程度高、易转移的特点。这些特点导致其预后不良^[3]。目前药物治疗是卵巢癌临床治疗的主要手段之一,然而现有治疗方案仍存在易发生不良反应与耐药等局限^[4-5],因此开发新的治疗药物具有重要临床意义。月见草素B是一种具有大环结构的二聚体鞣花单宁,具有抗氧化、抗肿瘤等作用^[6]。已有研究^[7]发现,月见草素B可抑制乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭,并诱导细胞凋亡。但关于月见草素B对卵巢癌细胞恶性生物学行为的影响鲜有报道。磷脂酰肌醇3激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)/核因子- κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)通路的抑制减弱卵巢癌细胞的侵袭和迁移^[8];且有研究^[9]发现月见草素B调控PI3K/AKT/NF- κ B通路能够抑制非小细胞肺癌细胞增殖。但月见草素B是否可通过调控PI3K/AKT/NF- κ B通路影响卵巢癌细胞恶性生物学行为尚不清楚。基于此,本研究以卵巢癌SKOV3细胞为对象,通过采用梯度浓度月见草素B及PI3K抑制剂(LY294002)干预SKOV3细胞,并设置月见草素B + PI3K激活剂(740Y-P)进行拯救实验,系统评估月见草素B是否通过PI3K/AKT/NF- κ B通路影响SKOV3细胞的增殖、迁移、侵袭及凋亡。本研究阐明月见草素B调控PI3K/AKT/NF- κ B通路抗卵巢癌的作用机制,可为卵巢癌治疗提供新的实验依据,并为天然产物来源的抗肿瘤药物研发拓展新思路。

1 材料与方法

1.1 细胞

人卵巢癌细胞SKOV3细胞购自上海钰博生物科技有限公司。细胞培养于含10%胎牛血清

(fetal bovine serum, FBS)和1%青霉素-链霉素双抗的DMEM高糖培养基中,置于37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的恒温培养箱中培养。

1.2 试剂

月见草素B购自深圳海思安生物技术有限公司,FBS、DMEM高糖培养基均购自南京森贝伽生物科技有限公司,青霉素-链霉素溶液购自武汉普诺赛生命科技有限公司,PI3K抑制剂LY294002、PI3K激活剂740Y-P均购自美国MCE公司,CCK-8试剂盒购自济南远达晶美生物科技有限公司,5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)染色试剂盒购自上海东寰生物科技有限公司,Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒购自上海泽叶生物科技有限公司,TRIzol试剂购自美国Invitrogen公司,逆转录试剂盒PrimeScriptTM RT Master Mix购自日本TaKaRa公司,SYBR Green qPCR试剂盒购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司,兔源一抗p-PI3K、p-AKT、NF- κ B p65、GAPDH、PI3K、AKT、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔二抗均购自英国Abcam公司。

1.3 CCK-8法测定月见草素B对SKOV3细胞的半数抑制浓度(half-maximal inhibitory concentration, IC_{50})

SKOV3细胞以 5×10^3 个/孔的密度接种于96孔板中,常规培养24 h,弃去原培养液,分别加入含月见草素B(0、3.125、6.25、12.5、25、50 $\mu\text{mol/L}$)的新鲜培养液继续培养24 h,每孔加入10 μL CCK-8溶液继续培养2 h。最后,使用酶标仪在450 nm波长处测定各孔的光密度(D)值。细胞活力 = (实验孔 D 值 - 空白孔 D 值) / (对照孔 D 值 - 空白孔 D 值) $\times 100\%$,其中不含细胞仅含培养液的孔为空白孔,含细胞不加月见草素B处理的孔为对照孔。GraphPad Prism 9.0软件通过非线性回归拟合S形剂量-反应曲线,计算出月见草素B处理SKOV3细胞24 h的 IC_{50} 值。每组设置6个复孔,独立重复实验3次。

1.4 细胞分组与处理

SKOV3细胞分为对照组、月见草素B低剂量组、月见草素B中剂量组、月见草素B高剂量组、PI3K抑制剂(LY294002)组、月见草素B高剂量+PI3K激活剂(740Y-P)组。对照组SKOV3细胞常规培养;月见草素B低、中、高剂量组SKOV3细胞分别用6.25、12.5、25 $\mu\text{mol/L}$ 月见草素B处理24 h^[7]; LY294002组SKOV3细胞用10 $\mu\text{mol/L}$ LY294002处理24 h^[8];月见草素B高剂量+740Y-P组SKOV3细胞用25 $\mu\text{mol/L}$ 月见草素B和10 $\mu\text{mol/L}$ 740Y-P共同处理24 h^[10]。

1.5 CCK-8法检测SKOV3细胞增殖能力

SKOV3细胞以 5×10^3 个/孔的密度接种于96孔板中,按照分组处理24 h后,每孔加入10 μL CCK-8溶液,37 $^{\circ}\text{C}$ 培养2 h。酶标仪在450 nm波长处测定各孔的 D 值, D 值与活细胞数量呈正相关,即 D 值越大表示活细胞数量越多,细胞增殖能力越强。

1.6 EdU染色法检测SKOV3细胞EdU阳性率

各组SKOV3细胞用50 $\mu\text{mol/L}$ EdU溶液处理1 h后,用4%多聚甲醛固定细胞30 min,加入2 mg/mL甘氨酸中和残留固定液,室温处理5 min,加入0.5% Triton X-100通透10 min。随后,每孔加入Click-iT反应混合液,室温避光反应30 min以标记EdU阳性细胞。最后用DAPI对细胞核进行染色,在荧光显微镜下随机选取5个视野计数EdU阳性细胞,并统计EdU阳性率,EdU阳性率=(EdU阳性细胞数/总细胞核数) $\times 100\%$ 。

1.7 Transwell细胞侵袭实验检测SKOV3细胞侵袭能力

取各组SKOV3细胞,用无血清培养液重悬,以 2×10^4 个/孔接种于预先包被基质胶的Transwell上室,下室加入含有10% FBS的培养基。37 $^{\circ}\text{C}$ 培养24 h后,用棉棒轻轻擦拭上室未侵袭的细胞,用4%多聚甲醛固定侵袭至下室的细胞30 min,0.5%结晶紫染色后,显微镜下随机选取5个视野进行拍照,计数每个视野内的侵袭细胞数。

1.8 划痕实验检测SKOV3细胞迁移能力

将各组SKOV3细胞以 5×10^6 个/孔的密度接种于6孔板中,待细胞汇合度达到80%后用200 μL 移液枪头尖端在单层细胞表面垂直划痕。用PBS轻柔洗涤细胞2~3次,洗去脱落的细胞,随后更换为无血清培养基。继续培养,在显微镜下观察并拍摄培养0 h和24 h的图像,ImageJ软件测量划痕宽度,每组随机选取3个视野,每视野测量5个位点,取平均值,计算划痕愈合率。划痕愈合率=(0 h划痕宽度-24 h划痕宽度)/0 h划痕宽度 $\times 100\%$ 。

1.9 流式细胞术检测SKOV3细胞凋亡情况

各组SKOV3细胞用胰蛋白酶消化后,收集细胞悬液,200 $\times g$ 离心5 min,PBS洗涤。再次以200 $\times g$ 离心5 min,弃上清,将细胞重悬于500 μL 结合缓冲液中。取100 μL 细胞悬液(约含 1×10^5 个细胞),将细胞悬液与5 μL Annexin V-FITC和5 μL PI室温避光结合15 min。每管补加400 μL 结合缓冲液,轻柔混匀。流式细胞仪检测细胞凋亡情况。凋亡率=早期凋亡细胞百分比(Annexin V⁺/PI⁻)+晚期凋亡细胞百分比(Annexin V⁺/PI⁺)。

1.10 RT-qPCR检测SKOV3细胞中细胞周期蛋白D1(Cyclin D1)、迁移侵袭增强子1(MIEN1)和p53 mRNA的表达

按照TRIzol试剂说明书提取各组SKOV3细胞总RNA,测定RNA浓度和纯度,取1 μg 总RNA,按照逆转录试剂盒说明书操作将RNA逆转录为cDNA。以cDNA为模板使用ABI StepOnePlus实时荧光定量PCR仪进行RT-qPCR操作,反应程序:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性30 s;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性5 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 退火30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s,共40个循环。Cyclin D1正向引物为5'-AGGCACGTC TTACATGACCA-3',反向引物为5'-CCCTAGTGC TGTTCTTCTGACA-3'; MIEN1正向引物为5'-ACT CTCCTCACTCACAAG-3',反向引物为5'-TGACGA CCAGATCATTCT-3'; p53正向引物为5'-TTACAA TCAGCCACATTC-3',反向引物为5'-GCCTTG AAGTTAGAGAAA-3'; GAPDH正向引物为5'-TCT CTGATTTGGTCGTAT-3',反向引物为5'-TTGATG GCAACAATATCC-3'。以GAPDH为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算Cyclin D1、MIEN1、p53 mRNA的相对表达量。

1.11 Western blotting检测SKOV3细胞中p-PI3K、p-AKT、NF- κ B p65蛋白表达情况

RIPA裂解缓冲液裂解各组SKOV3细胞并提取总蛋白,采用BCA法定量,取30 μg 蛋白与10 μL 上样缓冲液在95 $^{\circ}\text{C}$ 下煮沸10 min,SDS-PAGE分离蛋白,转膜后,使用5%脱脂奶粉室温封闭60 min。分别加入一抗p-PI3K(1:5 000)、p-AKT(1:6 000)、NF- κ B p65(1:4 000)、PI3K(1:3 000)、GAPDH(1:3 000)、AKT(1:1 000)在4 $^{\circ}\text{C}$ 下反应过夜,加入二抗(1:3 000)在室温下反应120 min。加入ECL试剂显色,使用Tanon 5200全自动化学发光成像分析系统捕获图像,采用Image J软件对条带灰度值进行定量分析,以目的蛋白与内参GAPDH的灰度值比值表示目的蛋白的相对表达量。

1.12 统计学处理

采用GraphPad Prism 9.0软件进行统计分析。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析

和SNK-q事后检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 月见草素B处理浓度的筛选

月见草素B处理SKOV3细胞24 h的 IC_{50} 值为 $28.70 \mu\text{mol/L}$, 参考 IC_{50} 值及相关文献^[7], 本研究最终选择 6.25 、 12.5 和 $25 \mu\text{mol/L}$ (接近 IC_{50} 值)作为低、中、高剂量进行后续实验(图1)。

2.2 月见草素B对SKOV3细胞增殖的影响

CCK-8法与EdU染色法结果(图2)显示, 与对照组相比, 月见草素B低、中、高剂量组及LY294002组SKOV3细胞增殖能力均降低(均 $P < 0.05$), 且月见草素B高剂量组的下降最为显著; 与LY294002组相比, 月见草素B高剂量组对SKOV3细胞增殖能力的抑制作用更显著($P < 0.05$)。与月见草素B高剂量组相比, 月见草素B高剂量+740Y-P组SKOV3细胞增殖

能力升高($P < 0.05$), 表明740Y-P可部分逆转月见草素B的抑制作用。

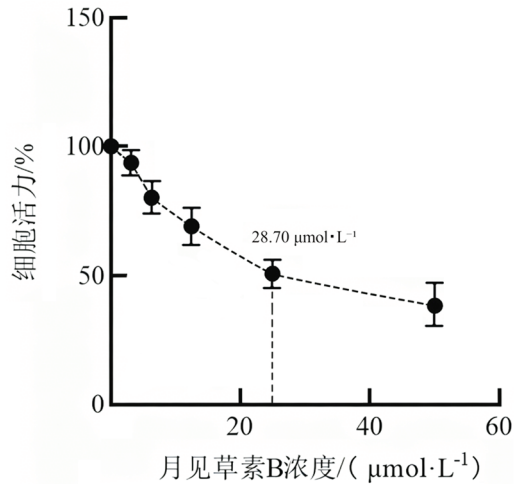
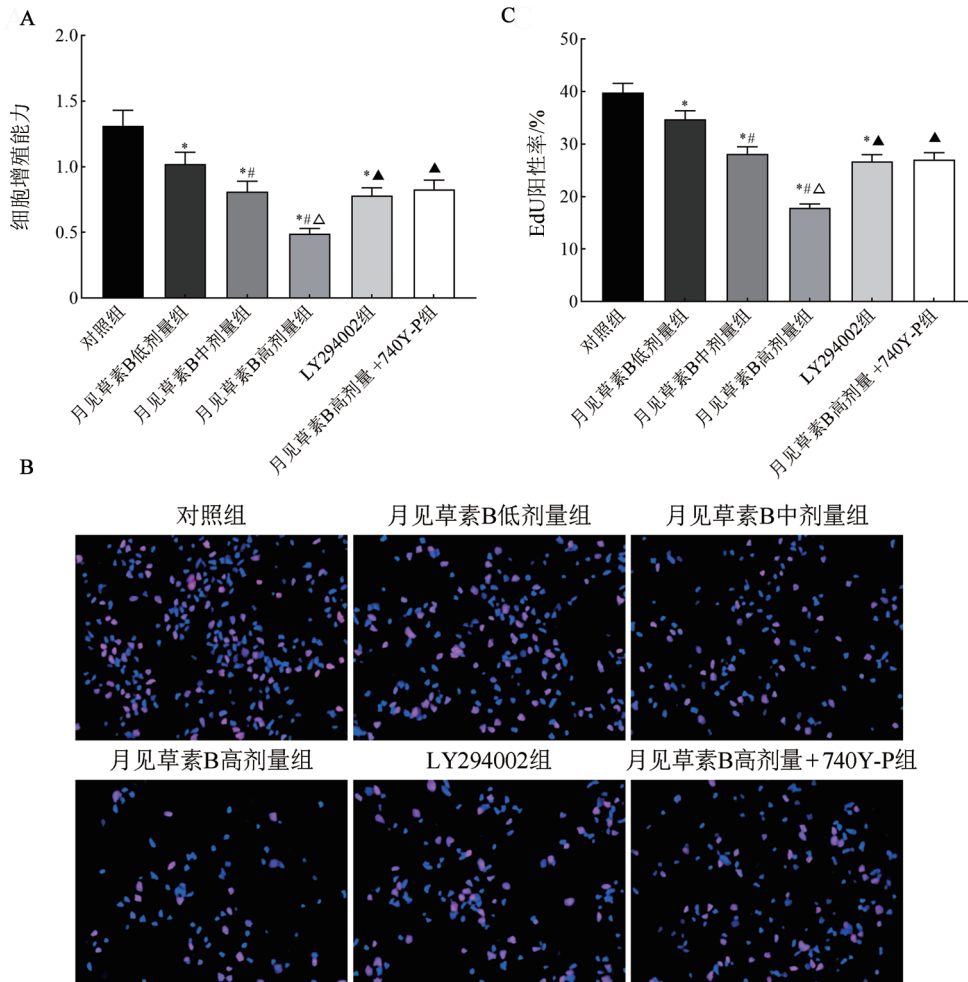


图1 不同浓度月见草素B干预后SKOV3细胞活力变化



A: CCK-8法检测SKOV3细胞增殖能力; B: EdU染色检测SKOV3细胞增殖($\times 200$); C: 各组SKOV3细胞EdU阳性率比较。
*与对照组相比, #与月见草素B低剂量组相比, Δ 与月见草素B中剂量组相比, \blacktriangle 与月见草素B高剂量组相比, 均 $P < 0.05$ 。

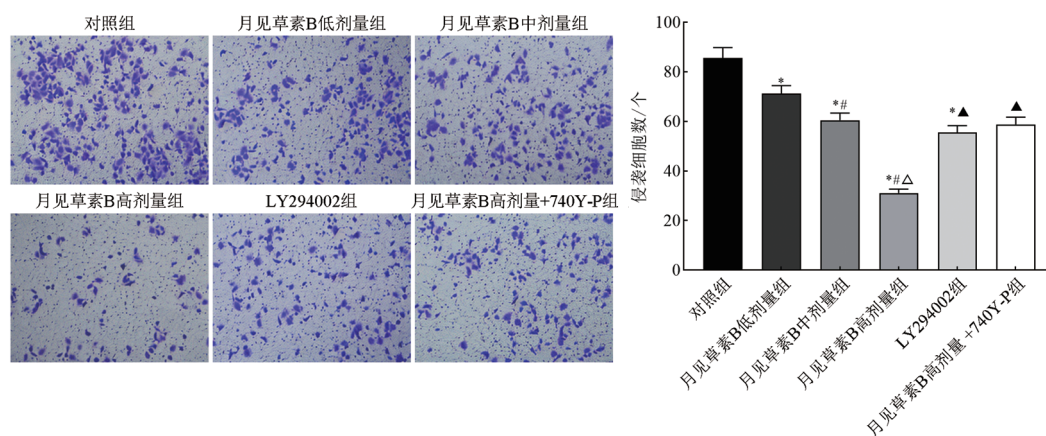
图2 月见草素B对SKOV3细胞增殖能力的影响

2.3 月见草素B对SKOV3细胞侵袭的影响

Transwell侵袭实验结果(图3)显示,与对照组相比,月见草素B低、中、高剂量组及LY294002组SKOV3细胞侵袭数量均减少,且月见草素B高剂量组减少最显著($P < 0.05$)。与LY294002组相比,月见草素B高剂量组对SKOV3细胞侵袭的抑制作用更显著($P < 0.05$)。与月见草素B高剂量组相比,月见草素B高剂量+740Y-P组SKOV3细胞侵袭数量增多($P < 0.05$),表明740Y-P可部分逆转月见草素B对SKOV3细胞侵袭的抑制作用。

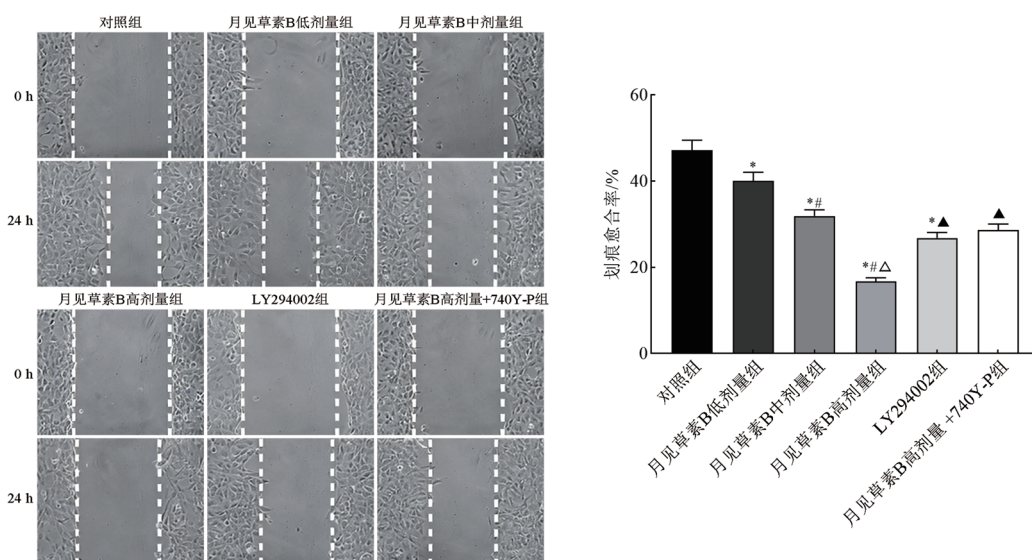
2.4 月见草素B抑制SKOV3细胞迁移

与对照组相比,月见草素B低、中、高剂量组及LY294002组SKOV3细胞划痕愈合率均降低,且月见草素B高剂量组降低最显著($P < 0.05$)。与LY294002组相比,月见草素B高剂量组SKOV3细胞划痕愈合率的降低更为显著($P < 0.05$)。与月见草素B高剂量组相比,月见草素B高剂量+740Y-P组SKOV3细胞划痕愈合率升高($P < 0.05$),表明740Y-P可部分逆转月见草素B对SKOV3细胞迁移的抑制作用(图4)。



*与对照组相比, #与月见草素B低剂量组相比, Δ与月见草素B中剂量组相比, ▲与月见草素B高剂量组相比, 均 $P < 0.05$ 。

图3 Transwell细胞侵袭实验检测月见草素B对SKOV3细胞侵袭能力的影响($\times 200$)



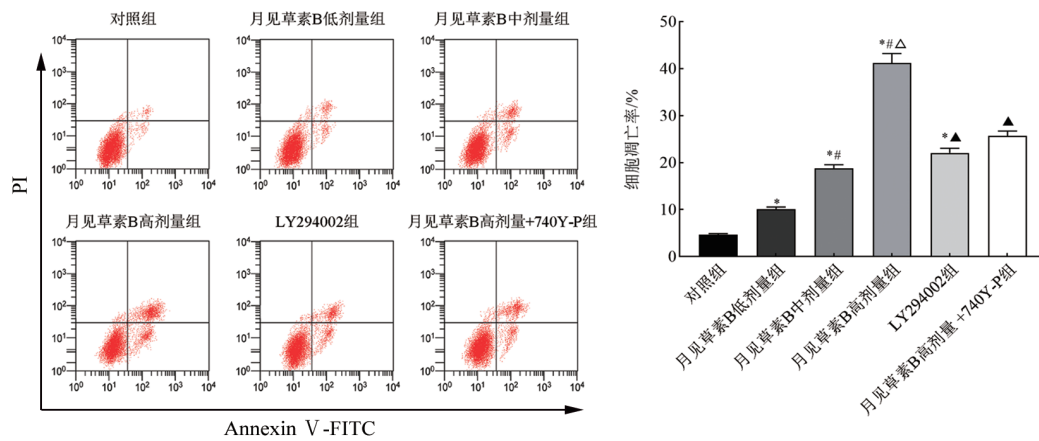
*与对照组相比, #与月见草素B低剂量组相比, Δ与月见草素B中剂量组相比, ▲与月见草素B高剂量组相比, 均 $P < 0.05$ 。

图4 划痕愈合实验检测月见草素B对SKOV3细胞迁移能力的影响($\times 200$)

2.5 月见草素B促进SKOV3细胞凋亡

与对照组相比,月见草素B低、中、高剂量组及LY294002组SKOV3细胞凋亡率升高,且月见草素B高剂量组的升高最为明显($P < 0.05$);与LY294002相比,高剂量月见草素B对SKOV3细胞凋亡的促进作用更显著($P < 0.05$)。与月见草素B高剂量组相比,月见草素B高剂量+740Y-P组SKOV3细胞凋亡率降低($P < 0.05$),表明740Y-P可部分逆转月见草素B对SKOV3细胞凋亡的促进作用(图5)。

与对照组相比,月见草素B低、中、高剂量组及LY294002组SKOV3细胞凋亡率升高,且月见草素B高剂量组的升高最为明显($P < 0.05$);与LY294002相比,高剂量月见草素B对SKOV3细胞凋亡的促进作用更显著($P < 0.05$)。与月见草素B高剂量组相比,月见草素B高剂量+740Y-P组SKOV3细胞凋亡率降低($P < 0.05$),表明740Y-P可部分逆转月见草素B对SKOV3细胞凋亡的促进作用(图5)。



*与对照组相比, #与月见草素B低剂量组相比, Δ与月见草素B中剂量组相比, ▲与月见草素B高剂量组相比, 均 $P < 0.05$ 。

图5 流式细胞术检测月见草素B对SKOV3细胞凋亡的影响

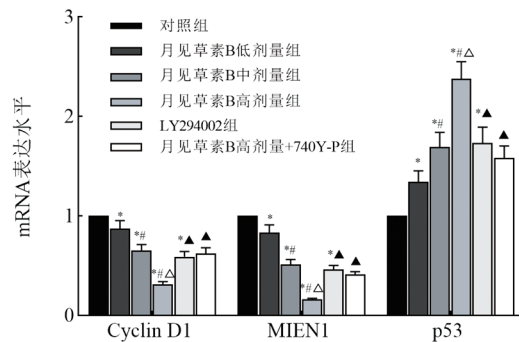
2.6 月见草素B影响SKOV3细胞中Cyclin D1、MIEN1、p53 mRNA的表达

与对照组相比, 月见草素B低、中、高剂量组及LY294002组SKOV3细胞中Cyclin D1、MIEN1 mRNA表达降低, p53 mRNA表达升高, 且月见草素B高剂量组变化趋势最明显 ($P < 0.05$); 与LY294002组相比, 月见草素B高剂量组对Cyclin D1、MIEN1 mRNA表达的下调及对p53 mRNA表达的上调作用更显著 ($P < 0.05$)。与月见草素B高剂量组相比, 月见草素B高剂量 + 740Y-P组SKOV3细胞中Cyclin D1、MIEN1 mRNA表达升高, p53 mRNA表达降低 ($P < 0.05$), 表明740Y-P可部分逆转月见草素B对上述mRNA的调控作用(图6)。

2.7 月见草素B影响SKOV3细胞中PI3K/AKT/NF-κB通路相关蛋白的表达

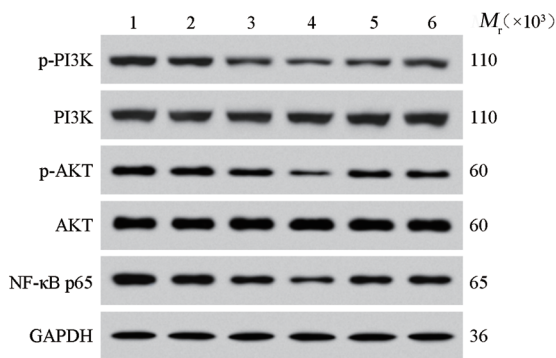
与对照组相比, 月见草素B低、中、高剂量组及LY294002组SKOV3细胞中p-PI3K、p-AKT、NF-κB p65蛋白表达均降低, 且月见草素B高剂量组降低最为显著 ($P < 0.05$)。与LY294002相比, 高剂量月见草

素B对p-PI3K、p-AKT、NF-κB p65蛋白表达的下调作用更显著 ($P < 0.05$)。与月见草素B高剂量组相比, 月见草素B高剂量 + 740Y-P组SKOV3细胞中p-PI3K、p-AKT、NF-κB p65蛋白表达升高 ($P < 0.05$), 表明740Y-P可部分逆转月见草素B对PI3K/AKT/NF-κB通路的抑制作用(图7)。



*与对照组相比, #与月见草素B低剂量组相比, Δ与月见草素B中剂量组相比, ▲与月见草素B高剂量组相比, 均 $P < 0.05$ ($n = 6$)。

图6 各组SKOV3细胞中Cyclin D1、MIEN1、p53 mRNA表达比较



1: 对照组; 2: 月见草素B低剂量组; 3: 月见草素B中剂量组; 4: 月见草素B高剂量组; 5: LY294002组; 6: 月见草素B高剂量 + 740Y-P组。

*与对照组相比, #与月见草素B低剂量组相比, Δ与月见草素B中剂量组相比, ▲与月见草素B高剂量组相比, 均 $P < 0.05$ 。

图7 Western blotting检测月见草素B对SKOV3细胞中p-PI3K、p-AKT、NF-κB p65蛋白表达的影响

3 讨论

由于卵巢癌起病隐匿, 缺乏早期诊断标志物, 多数患者确诊时已属晚期^[11]。肿瘤细胞失控的增殖、侵袭、迁移及凋亡抑制是卵巢癌治疗过程中面临的核心难题, 使其成为病死率较高的妇科肿瘤^[12]。鉴于目前的药物治疗常伴有较多的不良反应及耐药问题, 开发新型治疗药物对于治疗卵巢癌意义重大。

月见草素 B 是从月见草根中提取的一种大环鞣花单宁类化合物, 具有抗癌、抗炎及抗氧化活性^[13]。已有研究^[14-15]证实, 月见草素 B 可抑制乳腺癌细胞和前列腺癌细胞增殖。本研究进一步拓展了月见草素 B 抗肿瘤研究范围, 发现低、中、高剂量月见草素 B 均可显著抑制卵巢癌 SKOV3 细胞增殖、侵袭及迁移, 并诱导细胞凋亡, 且效应呈现剂量依赖性。从分子机制上看, 月见草素 B 处理显著下调了细胞周期调节蛋白 Cyclin D1 和迁移侵袭相关因子 MIEN1 的 mRNA 表达, 同时上调了促凋亡因子 p53 的转录水平。Cyclin D1 是细胞增殖的主要调节因子^[16]; MIEN1 过表达是多种癌症的特征, 并促进癌细胞迁移和侵袭^[17]; p53 是多种细胞凋亡的重要调节因子, 其被激活可以诱导细胞凋亡^[18]。上述基因表达变化与细胞表型结果高度一致, 从转录水平印证了月见草素 B 对卵巢癌细胞恶性生物学行为的抑制作用。

PI3K/AKT 通路在肿瘤中常处于异常激活状态, 其可通过激活下游因子 NF- κ B 调控肿瘤细胞的存活、增殖、凋亡等过程^[19-21]。研究^[22-23]证实, 激活 PI3K/AKT/NF- κ B 通路促进了胰腺癌和卵巢癌的恶性进展。本研究中采用 LY294002 抑制 PI3K/AKT/NF- κ B 通路, 结果显示 LY294002 抑制了 SKOV3 细胞增殖、侵袭及迁移, 促进了细胞凋亡, 表明抑制 PI3K/AKT/NF- κ B 通路可抑制卵巢癌细胞增殖、侵袭及迁移, 诱导细胞凋亡。此外, 低、中、高剂量月见草素 B 均抑制了 SKOV3 细胞中 p-PI3K、p-AKT、NF- κ B p65 蛋白表达, 且高剂量月见草素 B 的抑制作用最明显, 说明月见草素 B 可能通过抑制 PI3K/AKT/NF- κ B 通路抑制卵巢癌细胞增殖、侵袭及迁移, 诱导细胞凋亡。为验证这一假设, 本研究使用 PI3K 激活剂 740Y-P 进行了拯救实验, 结果显示, 740Y-P 逆转了高剂量月见草素 B 对 SKOV3 细胞增殖、侵袭及迁移的抑制作用, 以及对细胞凋亡的促进作用。综合以上正反验证结果, 本研究结果提示, 月见草素 B 抑制卵巢癌细胞增殖、侵袭及迁移, 诱导细胞凋亡的机制可能与 PI3K/AKT/NF- κ B 通路的抑制有关。

本研究另一值得关注的发现是, 高剂量月见草素 B 对 SKOV3 细胞增殖、侵袭及迁移的抑制效应, 显

著强于经典的 PI3K 抑制剂 LY294002, 提示月见草素 B 的抗肿瘤作用可能并非仅源于对 PI3K/AKT/NF- κ B 通路的单纯抑制。作为结构复杂的天然化合物, 月见草素 B 可能通过多靶点协同发挥抗肿瘤作用。与合成抑制剂 LY294002 相比, 这种多途径、多靶点的作用模式, 不仅为其更强的药效提供了合理解释, 也预示其在临床上可能具有更低的耐药性风险和更好的安全性, 这正是当前靶向治疗药物研发中所追求的核心优势。因此, 月见草素 B 有望成为一个具有进一步开发潜力的新型抗卵巢癌药物, 其具体作用靶点及化学结构优势值得深入研究。

综上所述, 月见草素 B 可能通过抑制 PI3K/AKT/NF- κ B 通路抑制卵巢癌细胞增殖、侵袭及迁移, 诱导细胞凋亡。该研究可能为卵巢癌的治疗提供新的参考依据。然而本研究存在一定局限性。首先, 本研究仅选用 SKOV3 细胞进行实验, 未能在其他卵巢癌细胞模型(如 OVCAR-3、A2780 等细胞)中验证月见草素 B 的效应及机制。此外, 本研究的结论基于细胞实验, 月见草素 B 的体内抗肿瘤功效及系统性毒性仍需通过动物模型实验进一步验证。本研究的另一不足之处在于未设置 740Y-P 的单独处理组。尽管拯救实验结果表明 740Y-P 成功逆转了月见草素 B 对 SKOV3 细胞恶性表型的抑制作用, 但由于缺乏该激活剂单独作用组的对比数据, 尚不能排除 740Y-P 自身对细胞增殖、凋亡、侵袭等生物学行为可能存在的潜在影响。在后续研究中将增设 740Y-P 单独处理组, 更严谨地评估该激活剂的独立效应, 从而更精确地阐释月见草素 B 的作用机制。

[参考文献]

- [1] WANG X, LIU Q, WU S S, et al. Identifying the effect of celastrol against ovarian cancer with network pharmacology and *in vitro* experiments[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 739478. DOI: 10.3389/fphar.2022.739478.
- [2] LIU S Y, ZHOU S Q, WANG B, et al. Effects of curcumin nanoparticles on the proliferation and migration of human ovarian cancer cells assessed through the NF- κ B/PRL-3 signaling pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 141: 112964. DOI: 10.1016/j.intimp.2024.112964.
- [3] ZHANG Y Y, SUN L L, CHEN T S, et al. LncRNA FGFR3-AS1 is a prognostic indicator for ovarian cancer and induces cell proliferation and hinders apoptosis[J]. *Iran J Public Health*, 2023: 2412-2416. DOI: 10.18502/ijph.v52i11.14040.
- [4] HAVASI A, CAINAP S S, HAVASI A T, et al. Ovarian cancer-insights into platinum resistance and overcoming it[J]. *Medicina*, 2023, 59(3): 544. DOI: 10.3390/medicina59030544.
- [5] ATALLAH G A, KAMPAN N C, CHEW K T, et al. Predicting prognosis and platinum resistance in ovarian cancer: role of immunohistochemistry biomarkers[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3):

1973. DOI:10.3390/ijms24031973.
- [6] SILVA C A, VÉRAS J H, VENTURA J A, et al. Oenothlein B from *Eugenia uniflora* leaves exerts pro-angiogenic effects by increasing VEGF and TNF- α levels[J]. Cytokine, 2024, 182: 156706. DOI: 10.1016/j.cyto.2024.156706.
- [7] 罗茂红, 何娅, 李红, 等. 月见草素B通过调控P53抑制乳腺癌细胞的增殖和迁移[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(14): 3904-3912. DOI: 10.19540/j.cnki.cjmm.20230413.702.
- [8] 程国华, 李雅蓉, 刘兆玉, 等. CENP-A通过调控PI3K/AKT/NF- κ 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. DOI:10.3760/cma.j.cn.115807-20210126-00031.
- [9] PEI X D, XIAO J S, WEI G J, et al. Oenothlein B inhibits human non-small cell lung cancer A549 cell proliferation by ROS-mediated PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway[J]. Chem Biol Interact, 2019, 298: 112-120. DOI:10.1016/j.cbi.2018.09.021.
- [10] 张广蒙, 马玉峰, 李凤利, 等. 地佐辛调节PI3K/AKT/GSK-3 β 信号通路对卵巢癌细胞恶性生物学行为的影响[J]. 中国优生与遗传杂志, 2023, 31(5): 940-945. DOI: 10.13404/j.cnki.cjbh.2023.05.011.
- [11] ASSIDI M. High N-cadherin protein expression in ovarian cancer predicts poor survival and triggers cell invasion[J]. Front Oncol, 2022, 12: 870820. DOI:10.3389/fonc.2022.870820.
- [12] CAI J, HU Q, HE Z, et al. *Scutellaria baicalensis georgi* and their natural flavonoid compounds in the treatment of ovarian cancer: a review[J]. Molecules, 2023, 28(13): 5082-5099. PMID: 3744674.
- [13] LEE E J, KIM Y S, KIM J H, et al. Uncovering the colorectal cancer immunotherapeutic potential: evening primrose (*Oenothera biennis*) root extract and its active compound oenothlein B targeting the PD-1/PD-L1 blockade[J]. Phytomedicine, 2024, 125: 155370. DOI:10.1016/j.phymed.2024.155370.
- [14] MARUŠKA A, UGENSKIENĚ R, RAULINAITYTĚ D, et al. Analysis of antiproliferative effect of *Chamerion angustifolium* water extract and its fractions on several breast cancer cell lines[J]. Adv Med Sci, 2017, 62(1): 158-164. DOI:10.1016/j.advms.2016.08.002.
- [15] STOLARCZYK M, PIWOWARSKI J P, GRANICA S, et al. Extracts from *Epilobium* sp. herbs, their components and gut microbiota metabolites of *Epilobium* ellagitannins, urolithins, inhibit hormone-dependent prostate cancer cells- (LNCaP) proliferation and PSA secretion[J]. Phytother Res, 2013, 27(12): 1842-1848. DOI:10.1002/ptr.4941.
- [16] PEDRAZA N, MONSERRAT M V, FERREZUELO F, et al. Cyclin D1-Cdk4 regulates neuronal activity through phosphorylation of GABAA receptors[J]. Cell Mol Life Sci, 2023, 80(10): 280. DOI: 10.1007/s00018-023-04920-7.
- [17] TRIPATHI AK, DESAI PP, TYAGI A, et al. Short peptides based on the conserved regions of MIEN1 protein exhibit anticancer activity by targeting the MIEN1 signaling pathway[J]. J Biol Chem, 2024, 300(3):105680-105692. PMID: 38272230.
- [18] MARVALIM C, DATTA A, LEE S C. Role of p53 in breast cancer progression: an insight into p53 targeted therapy[J]. Theranostics, 2023, 13(4): 1421-1442. DOI:10.7150/thno.81847.
- [19] SHARI K, EL GEDAILY R A, ALLAM R M, et al. Jatrophone: a cytotoxic macrocyclic diterpene targeting PI3K/AKT/NF- κ B pathway, inducing apoptosis and autophagy in resistant breast cancer cells[J]. BMC Complementary Med Ther, 2023, 23(1): 293. DOI: 10.1186/s12906-023-04113-6.
- [20] JIANG J H, LI X R, XU H T, et al. SZC010 suppresses breast cancer development by regulating the PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway[J]. Chin Clin Oncol, 2024, 13(3): 34. DOI:10.21037/cco-24-10.
- [21] WANG J J, WANG Y, ZHU J J, et al. Promoter hypermethylation-induced downregulation of ITGA7 promotes colorectal cancer proliferation and migration by activating the PI3K/AKT/NF- κ B pathway[J]. Biochim Biophys Acta BBA Mol Cell Res, 2024, 1871(7): 119785. DOI:10.1016/j.bbamcr.2024.119785.
- [22] WANG Y K, LI Y C, RAN C, et al. The gene RAD51AP1 promotes the progression of pancreatic cancer via the PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway[J]. Neoplasia, 2024, 70(6): 722-732. DOI: 10.4149/neo_2023_230614n310.
- [23] LENG J, LI H Y, NIU Y Q, et al. Low-dose mono(2-ethylhexyl) phthalate promotes ovarian cancer development through PPAR α -dependent PI3K/Akt/NF- κ B pathway[J]. Sci Total Environ, 2021, 790: 147990. DOI:10.1016/j.scitotenv.2021.147990.

[收稿日期] 2025-12-02

[修回日期] 2026-04-20

[本文编辑] 邢一凡