

# 伊维菌素诱导膀胱癌细胞自噬与凋亡

刘洋

(彭州市人民医院 泌尿外科)

**摘要:** 目的: 探究伊维菌素对膀胱癌细胞自噬与凋亡作用。

方法: 选取两种膀胱癌细胞 (EJ-1、5637) 与一种膀胱上皮细胞 (SV-HUC-1), 采用细胞毒性实验 (MTT) 证实伊维菌素对膀胱癌和膀胱尿路上皮细胞均有细胞毒性作用; 蛋白免疫印迹 (WB) 检测 EJ-1、5637 膀胱癌细胞在不同浓度伊维菌素作用下 caspase 3、caspase 9 及 LC3-II 分子表达。

结果: 不同浓度伊维菌素分别处理三种细胞 24h 后, MTT 检测三种细胞系中存活率均降低, 且呈剂量依赖性, 但 SV-HUC-1 细胞中 IC50 值远高于 EJ-1、5637 细胞。WB 实验显示伊维菌素对两种膀胱癌细胞 Cleaved-caspase 3、Cleaved-caspase 9 以及 LC3 的含量随伊维菌素浓度增加。

结论: 伊维菌素对膀胱癌细胞具有自噬与凋亡作用。

膀胱癌每年超过 55 万确诊者且 20 万人死亡恶性肿瘤<sup>[1]</sup>。由于缺乏有效治疗, 大多数膀胱癌仍是无法治愈疾病<sup>[2]</sup>。因此, 迫切需开发新治疗策略来治疗癌症。

近年来伊维菌素已被确定对乳腺、卵巢癌等有明显抗癌作用<sup>[3, 4]</sup>。自噬通过吸收受损或不需要的蛋白质或细胞器来维持细胞内稳态<sup>[5]</sup>。然而, 有研究称, 肿瘤是通过自噬来生长、代谢和存活<sup>[6]</sup>。这表明通过抑制自噬可达到控制肿瘤。此外, 细胞凋亡和自噬通常协同诱导癌细胞死亡<sup>[7]</sup>。因此, 探究伊维菌素对膀胱癌细胞自噬和凋亡有必要。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验细胞

1.1 SV-HUC-1 和人膀胱癌细胞系 EJ-1 购于广州吉妮欧生物科技有限公司, 人膀胱癌细胞系 5637 购于武汉普诺赛生命科技有限公司。

### 1.2 实验试剂及仪器

### 1.3 细胞毒性实验

### 1.4 Caspase 3、caspase 9 与 LC3 蛋白表达

## 2 结果

### 2.1 细胞毒性实验

MTT 法检测膀胱癌细胞 EJ-1、5637 及膀胱上皮细胞 SV-HUC-1 三种细胞各自生长。如图 1 示, 不同浓度伊维菌素分别 24h 后, MTT 结果表明: 膀胱癌细存活率显著降低, 且呈剂量依赖, 膀胱尿路上皮细胞 SV-HUC-1 中半数抑制率所对应伊维菌素浓度明显高于膀胱癌细胞

EJ-1、5637。

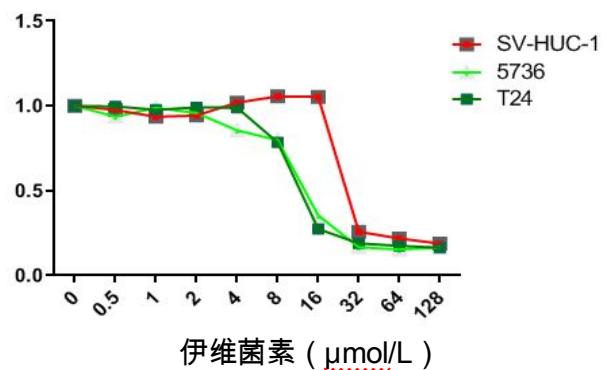


图 1 伊维菌素对细胞活性的影响

分别用 0-160 μ mol/L 伊维菌素处理膀胱癌细胞 EJ-1、5637 与膀胱尿路上皮细胞 SV-HUC-1 24h, MTT 法检测细胞活性。

### 2.2 蛋白表达的影响

与对照组比, 伊维菌素促进膀胱癌细胞 EJ-1 及 5637 细胞中 Caspase-3 及 Caspase-9 的活化剪切表达明显增高; 经伊维菌素处理后, 胞内 LC3-II 表达量明显增加 (图 2)。

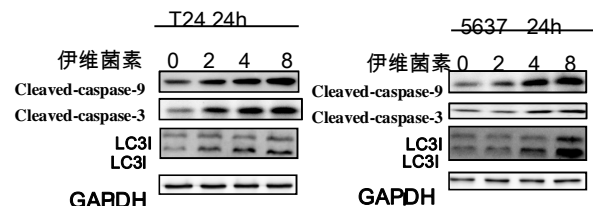


图 2 蝙蝠葛碱对膀胱癌细胞的蛋白免疫印迹

分别用 0, 2, 4, 8 μ mol/L 伊维菌素处理膀胱癌细胞 EJ-1、5637, 蛋白免疫印迹检测蛋白质水平。

讨论

膀胱癌在泌尿恶性肿瘤中排第二,仅次于前列腺癌,且发病与死亡率逐年上升<sup>[8]</sup>,这必将给社会带来巨大的损失。90%以上为膀胱尿路上皮细胞癌<sup>[9]</sup>。当前泌尿外科前沿的重点是对膀胱癌的发生、发展、复发等相关过程机制研究<sup>[10]</sup>。目前膀胱癌治疗以外科手术为主,以化疗、放疗、靶向个体化治疗等为辅的联合综合治疗<sup>[11]</sup>。随着高通量测序及精准医学在临床上得到广泛应用<sup>[12]</sup>,药物对膀胱癌症相关分子机制研究取得巨大成就。

已证实伊维菌素对卵巢、乳腺癌等有明显抗癌作用<sup>[3,4]</sup>。这项研究中,一方面证实伊维菌素通过诱导自噬和凋亡从而抑制膀胱癌细胞生长,这表明伊维菌素可诱导膀胱癌细胞的自噬性凋亡。目前有类似报道某些药可诱导自噬与凋亡同时发生<sup>[13,14]</sup>,对这项研究而言,需研究自噬与凋亡在治疗癌症中,自噬与凋亡促进癌细胞死亡两者联合机制是优于二者之一。而我们研究证实伊维菌素能够对膀胱癌细胞具有凋亡和自噬作用。由于决定细胞命运中涉及细胞自噬与凋亡机制的复杂性<sup>[15]</sup>,因此还需要进一步研究这些紧密调控对癌细胞具体影响。

参考文献:

[1]Bray, F., J. Ferlay, I. Soerjomataram, et al., Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 2018. 68(6): p. 394–424.

[2]Witjes, J.A., H.M. Bruins, R. Cathomas, et al., European Association of Urology Guidelines on Muscle-invasive and Metastatic Bladder Cancer: Summary of the 2020 Guidelines. *Eur Urol*, 2020.

[3]Hashimoto, H., S.M. Messerli, T. Sudo, et al., Ivermectin inactivates the kinase PAK1 and blocks the PAK1-dependent growth of human ovarian cancer and NF2 tumor cell lines. *Drug Discov Ther*, 2009. 3(6): p. 243–6.

[4]Dou, Q., H.N. Chen, K. Wang, et al., Ivermectin Induces Cytostatic Autophagy by Blocking the PAK1/Akt Axis in Breast Cancer. *Cancer Res*, 2016. 76(15): p. 4457–69.

[5]Levine, B. and G. Kroemer, Biological Functions of

Autophagy Genes: A Disease Perspective. *Cell*, 2019. 176(1–2): p. 11–42.

[6]White, E. and R.S. DiPaola, The double-edged sword of autophagy modulation in cancer. *Clin Cancer Res*, 2009. 15(17): p. 5308–16.

[7]Eisenberg-Lerner, A., S. Bialik, H.U. Simon, et al., Life and death partners: apoptosis, autophagy and the cross-talk between them. *Cell Death Differ*, 2009. 16(7): p. 966–75.

[8]陈晓芳, 陈万青, 周薇薇, et al., 2013年中国膀胱癌发病和死亡流行状况分析. *中国肿瘤*, 2018. 27(02): p. 81–85.

[9]Jacobs, B.L., C.T. Lee and J.E. Montie, Bladder cancer in 2010: how far have we come? *CA Cancer J Clin*, 2010. 60(4): p. 244–72.

[10]PU, M., B. C and N. BJ, Recurrence, progression and survival in bladder cancer. A retrospective analysis of 232 patients with greater than or equal to 5-year follow-up. *Scandinavian journal of urology and nephrology*, 1987. 21(3): p. 185–95.

[11]高江平 and 金一鹏, 复杂性膀胱癌治疗方式争议与进展. *临床军医杂志*, 2017. 45(04): p. 331–333.

[12]Konig, I.R., O. Fuchs, G. Hansen, et al., What is precision medicine? *Eur Respir J*, 2017. 50(4).

[13]Deng, L., Y. Lei, R. Liu, et al., Pyrinium targets autophagy addiction to promote cancer cell death. *Cell Death Dis*, 2013. 4(5): p. e614.

[14]Han, Z., B. Li, J. Wang, et al., Norcantharidin Inhibits SK-N-SH Neuroblastoma Cell Growth by Induction of Autophagy and Apoptosis. *Technol Cancer Res Treat*, 2017. 16(1): p. 33–44.

[15]Maiuri, M.C., E. Zalckvar, A. Kimchi, et al., Self-eating and self-killing: crosstalk between autophagy and apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007. 8(9): p. 741–52.

基金来源: 成都市卫生健康委员会项目 (2022124, 2023611)