

异氟烷对恶性肿瘤生物学行为影响的研究进展

李赛赛 张文文 朱雪琼

摘要 异氟烷是临床常用的吸入性麻醉药。研究表明,异氟烷与多种恶性肿瘤细胞的生物学行为密切相关,包括参与细胞增殖、凋亡、侵袭及转移等生物学过程。因此,本文就异氟烷对恶性肿瘤的生物学行为的研究现状做一综述,以期临床吸入性麻醉药物的使用提供参考。

关键词 异氟烷 恶性肿瘤 生物学行为 综述

中图分类号 R73

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.07.003

异氟烷是一种被广泛用于手术的吸入性麻醉药^[1]。越来越多的研究表明,围术期的因素包括麻醉药物的选择会对术后肿瘤患者的预后造成影响^[2,3]。研究表明,异氟烷与卵巢癌、肺癌、前列腺癌、肾癌、胶质瘤、头颈部鳞状细胞癌、结肠癌等多种恶性肿瘤细胞的生物学行为密切相关,包括参与细胞的增殖、凋亡、侵袭及转移等生物学过程^[4-11]。因此,本文就异氟烷对恶性肿瘤的生物学行为的研究现状做一综述,以期临床吸入性麻醉药物的使用提供参考。

一、异氟烷对卵巢癌生物学行为的影响

1. 对卵巢癌细胞增殖的影响:研究表明,异氟烷与卵巢癌细胞的增殖密切相关^[4,5]。Luo等^[4]分别用不同浓度(1.0%、1.5%、2.0%)异氟烷处理人卵巢上皮癌细胞株 SK-OV3 2h,使用四甲基偶氮唑盐微量酶反应比色法[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, MTT]检测细胞的增殖力,结果显示与对照组(氮气组)相比,异氟烷组的活细胞数量明显增加。同时,采用流式细胞技术进一步分析细胞周期,结果发现异氟烷促进 S 期细胞百分比的增加,并呈现剂量依赖性,提示异氟烷促进卵巢癌细胞的增殖。免疫荧光染色法结果表明,与对照组(氮气组)相比,异氟烷组 Ki-67、细胞周期调节蛋白 cyclin D、cyclin E 的表达上调,提示异氟烷促进卵巢癌细胞的增殖可能与 Ki-67、cyclin D 及 cyclin E 表达有关。Brokaw等^[12]研究表明,胰岛素样生

长因子(insulin-like growth factor, IGF-1)在卵巢癌细胞中的表达与卵巢癌的进展密切相关。因此,Luo等^[4]进一步采用蛋白印迹法及流式细胞技术检测发现与对照组(氮气组/空白对照组)比较,异氟烷促进 IGF-1 及胰岛素样生长因子受体(IGF-1R)的表达。使用 aIR3(IGF-1R 中和抗体)或 IGF-1R 小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA)预处理细胞,采用免疫荧光染色法检测,结果表明预处理组较未处理组 Ki-67 表达量均明显下降。提示异氟烷促进卵巢癌细胞增殖可能与 IGF-1R 信号通路有关。

2. 对卵巢癌细胞血管形成的影响:肿瘤血管形成不仅有利于肿瘤细胞的增殖,而且促进肿瘤转移。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在肿瘤血管形成过程中扮演着重要的角色^[13]。Luo等^[4]用免疫荧光染色法检测发现与对照组(氮气组)相比,异氟烷组卵巢癌细胞中的血管生成素密度明显增加,其中血管生成素-1增加了62%;同时发现异氟烷促进 VEGF 表达增加,表达量增加了56%,提示异氟烷促进卵巢癌细胞血管形成,其机制可能与上调血管生成素和 VEGF 表达有关。采用 aIR3 及 siRNA 阻滞 IGF-1R 信号通路,结果发现,血管生成素和 VEGF 的表达显著降低。提示异氟烷可能通过 IGF-1R 信号通路上调血管生成素和 VEGF 表达,从而促进卵巢癌细胞血管形成。

3. 对卵巢癌细胞迁移的影响:异氟烷除了能促进卵巢癌细胞增殖及血管形成外,还可促进卵巢癌细胞的迁移。Luo等^[4]通过划痕实验检测细胞的迁移力,结果表明异氟烷促进了卵巢癌细胞的迁移。同时发现异氟烷作用后肿瘤侵袭相关因子基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2), MMP-

基金项目:浙江省医药卫生重大科技计划项目(WKJ-ZJ-1528);浙江省温州市科技局基金资助项目(Y20150197)

作者单位:325027 温州医科大学附属第二医院妇产科

通讯作者:朱雪琼,博士生导师,电子信箱:zjwzzxq@163.com

9(matrix metalloproteinase - 9, MMP - 9) 的浓度较对照组(氮气组)增高了5倍,提示异氟烷促进卵巢癌细胞迁移的作用可能与 MMP - 2、MMP - 9 相关。

Iwasaki 等^[5]采用2%异氟烷作用于人卵巢癌细胞 SKOV3 2h,发现与对照组(氮气组)相比,异氟烷组 SKOV3 细胞的迁移能力明显增加。采用肿瘤转移聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)芯片及定量实时聚合酶链式反应(quantitative real time polymerase chain reaction, qRT - PCR)分析基因表达情况,发现转移相关基因 VEGF - A、MMP - 11、转化生长因子 - β (transforming growth factor - β , TGF - β)、趋化因子受体 2[chemokine (C - X - C motif) receptor 2, CXCR2]的 mRNA 和蛋白表达水平均明显上调。提示异氟烷可能通过激活转移相关关键分子的表达进而促进细胞转移。Yang 等^[14]研究表明, CXCR2 的表达在恶性肿瘤进展中起着重要作用。为了进一步研究 CXCR2 在调节异氟烷对肿瘤细胞生物学行为的影响方面的潜在作用, Iwasaki 等^[5]将异氟烷作用于经 CXCR2 siRNA 预处理的 SKOV3 细胞,发现 VEGF - A、MMP - 11 及 TGF - β 的表达下调,提示经 CXCR2 siRNA 处理后异氟烷促进细胞迁移的作用被解除。提示 CXCR - 2 在异氟烷影响卵巢癌细胞生物学行为中起了关键作用。

二、异氟烷对肺癌生物学行为的影响

1. 对肺癌细胞增殖的影响: Zhang 等^[6]分别用 0%、1%、2% 异氟烷处理非小细胞肺癌 A549 细胞和 H1299 细胞,采用细胞计数试剂盒(cell counting kit - 8, CCK - 8)及 MTT 法检测细胞增殖,结果发现异氟烷促进细胞增殖,并呈剂量依赖性。为了进一步研究异氟烷激活非小细胞肺癌细胞与 Akt - mTOR 信号通路的关系,用 0% 或 2% 异氟烷处理 A549 细胞和 H1299 细胞,结果发现与 0% 异氟烷组相比,2% 异氟烷组肺癌细胞中磷酸化 Akt 和磷酸化 mTOR 蛋白水平均明显增高,同时发现 Akt - mTOR 信号通路的下游靶基因 cyclin D1 的蛋白水平亦显著升高。随后采用 Akt - mTOR 信号通路特异性抑制剂(MK2206)作用于异氟烷处理的 A549 细胞,结果发现细胞增殖水平明显下降。提示异氟烷通过激活 Akt - mTOR 信号通路,促进下游 cyclin D1 蛋白表达,从而促进非小细胞肺癌细胞的增殖。

2. 对肺癌细胞迁移和侵袭的影响: Zhang 等^[6]使用细胞划痕实验及 Transwell 侵袭实验检测各组细胞的迁移及侵袭情况,结果表明异氟烷能促进肺癌

A549 细胞和 H1299 细胞的迁移和侵袭。与 0% 异氟烷组相比,2% 异氟烷组肺癌细胞中的磷酸化 Akt 及磷酸化 mTOR 的蛋白水平均上调,同时发现 Akt - mTOR 信号通路的下游靶基因 MMP2 及 MMP9 的蛋白表达水平显著上调。使用 Akt - mTOR 信号通路特异性抑制剂(MK2206)处理细胞,发现细胞的迁移及侵袭能力下降。提示异氟烷促进非小细胞肺癌细胞的迁移及侵袭与 Akt - mTOR 信号通路及上调 MMP2 及 MMP9 蛋白表达相关。

Liang 等^[15]在体外实验中证明了活化的血小板显著提高人肺腺癌 A549 细胞的侵袭能力。为了进一步研究异氟烷是否能抑制血小板的这一作用,研究者将实验分成 4 组:对照组(常规培养组)、原始血小板组、术后血小板活化组、术后血小板活化联合异氟烷处理组。采用 Transwell 侵袭实验检测细胞的侵袭能力,结果发现术后血小板活化联合异氟烷处理组与术后血小板活化组的侵袭细胞数差异无统计学意义,提示异氟烷对活化的血小板诱导的肺癌 A549 细胞增强的侵袭作用无影响。

三、异氟烷对前列腺癌生物学行为的影响

1. 对前列腺癌细胞增殖的影响:关于异氟烷对前列腺癌生物学行为的研究中, Huang 等^[7]用 2% 异氟烷处理前列腺癌 PC3 细胞 2h,继续培养 24h,用 MTT 法检测细胞增殖力,结果显示异氟烷能明显促进前列腺癌细胞增殖。同时免疫细胞化学法检测发现,异氟烷上调 VEGF、Ki - 67、cyclin D 及 cyclin E 蛋白的表达。随后,该课题组用不同浓度(0.5%、1%、1.5%、2%)异氟烷处理前列腺癌细胞株 PC3 2h,继续培养 0、2、4、8、24h,用免疫印迹法检测发现,异氟烷处理组缺氧诱导因子 - 1 α (hypoxia inducible factor - 1 α , HIF - 1 α)蛋白水平显著增加,并且呈时间和剂量依赖性。进一步用 HIF - 1 α siRNA 转染异氟烷预先处理细胞,发现与对照组(异氟烷 + scrambled siRNA 组)相比,细胞中 VEGF、Ki67、cyclin D 及 cyclin E 蛋白的表达水平显著下降。另外,还发现异氟烷组磷酸化 Akt(p - Akt)蛋白水平比对照组明显增高。用磷脂酰肌醇 3 - 激酶(phosphoinositide3 - kinase, PI₃K)抑制剂 LY294002 处理细胞后,发现 p - Akt 水平显著降低,同时 HIF - 1 α 蛋白水平也明显下降,提示异氟烷可能通过 PI₃K/AKT 信号通路上调 HIF - 1 α 表达,从而促进细胞的增殖。

2. 对前列腺癌细胞凋亡的影响:为了研究异氟烷对前列腺癌细胞凋亡的影响, Huang 等^[7]将实验分成

单用紫杉醇组、异氟烷加紫杉醇组、异氟烷联合 HIF-1 α siRNA 加紫杉醇组。用免疫印迹法检测结果发现与单用紫杉醇组比较,异氟烷加紫杉醇组 PC3 细胞中的抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达上调;而异氟烷联合 HIF-1 α siRNA 加紫杉醇组的 Bcl-2 蛋白表达明显低于异氟烷加紫杉醇组。提示异氟烷可能通过上调 HIF-1 α 表达来促进抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达,从而抑制前列腺癌细胞凋亡。

3. 对前列腺癌细胞侵袭及迁移的影响:异氟烷除了能促进前列腺癌细胞增殖及抑制凋亡外,还可促进癌细胞的侵袭及迁移。Huang 等^[7]用细胞划痕实验检测细胞的侵袭力,结果显示异氟烷组前列腺癌 PC3 细胞侵袭数增加。用酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 评估细胞培养液中 MMP-2 及 MMP-9 的水平,结果发现与空白对照组比较,异氟烷组细胞培养基中 MMP-2 和 MMP-9 较多,提示异氟烷可能通过上调 MMP-2 和 MMP-9 的表达促进 PC3 细胞迁移。进一步用 HIF-1 α siRNA 处理 PC3 细胞后,PC3 细胞的迁移及侵袭作用受到抑制。由此得出结论,异氟烷可能通过上调 HIF-1 α 表达进而促进 PC3 细胞的迁移及侵袭。

四、异氟烷对肾癌生物学行为的影响

1. 对肾癌细胞增殖的影响:关于异氟烷对肾癌生物学行为的研究中,Benzonana 等^[8]用 2% 异氟烷处理人肾癌细胞株(RCC4) 2h,用 MTT 法检测 RCC4 细胞的增殖情况,结果发现与空白对照组比较,异氟烷组细胞数量明显增加;用 DAPI/ki-67 免疫染色法结果表明异氟烷组增殖细胞数量明显增加;提示异氟烷促进肾癌细胞增殖。为了研究异氟烷对 HIF 蛋白水平的影响,该课题组用 0.5%、1%、1.5%、2% 异氟烷处理肾癌 RCC4 细胞 2h,在不同时间点(0、2、4、8、24h)用免疫印迹法检测,结果发现经异氟烷处理后 HIF-1 α 蛋白和 HIF-2 α 蛋白水平增加,并均呈时间和剂量依赖性。为了进一步研究异氟烷是否通过 PI₃K/Akt/mTOR 信号通路上调 HIF-1 α 表达,用免疫印迹法检测磷酸化 Akt(p-Akt)水平,结果发现与空白对照组相比,RCC4 细胞中磷酸化蛋白激酶 B(p-Akt)的表达水平有所上升,并呈时间依赖性。进一步用 Akt 抑制剂 LY294002 处理 RCC4 细胞,发现异氟烷加 LY294002 组细胞中的 p-Akt 水平及 HIF-1 α 水平均较单用异氟烷组显著降低;采用 MTT 法检测两组细胞的增殖力,结果发现 LY294002 处理

组的细胞增殖力显著下降,提示异氟烷可能通过 PI₃K/Akt/mTOR 信号通路上调 HIF 表达进而促进细胞增殖。

2. 对肾癌细胞迁移的影响:异氟烷除了能促进肾癌细胞增殖外,还能对细胞迁移造成影响。Benzonana 等^[8]将 RCC4 细胞置于 3 种不同的细胞外基质成分(组织培养涂层、胶原蛋白涂层及纤黏蛋白涂层)上进行迁移实验,用钙黄绿素在不同的时间点(0.5、2、4、8h)进行染色,并测量相应时间点的荧光强度,结果发现与空白对照组比较,2% 异氟烷组的 RCC4 细胞在 3 种不同的细胞外基质组分中均表现出迁移增加,并呈时间依赖性,提示异氟烷促进肾癌细胞迁移。

五、异氟烷对胶质瘤生物学行为的影响

1. 对胶质瘤细胞增殖的影响:Zhu 等^[9]用 1.2% 异氟烷分别处理人胶质母细胞瘤细胞 U251 3、6、9、12、24h,继续培养 3 天,用 MTT 法检测细胞增殖力,结果发现与未用异氟烷的对照组比较,异氟烷组细胞表现出较高的增殖率。进一步用不同浓度(0.6%、1.2%、2.4%)异氟烷处理细胞 3h 和 6h,继续培养 72h,用免疫荧光法检测发现与未用异氟烷组比较,1.2% 及 2.4% 异氟烷处理 3h 组细胞中的 Ki-67 阳性细胞数量明显增加,2.4% 异氟烷组 Ki-67 阳性细胞数量多于 1.2% 组,提示可能呈剂量依赖性;同时发现 1.2% 及 2.4% 异氟烷处理 6h 组的细胞中的 Ki-67 阳性细胞数量较未用异氟烷组增多。提示异氟烷促进 U251 细胞增殖。为进一步研究异氟烷对小鼠体内肿瘤体积变化情况,Zhu 等^[9]向小鼠颅内注射 U251 细胞,将裸鼠分成 3 组,即对照组(未用异氟烷组)、0.6% 异氟烷处理 6h 组、1.2% 异氟烷处理 6h 组,继续喂养 4 周,提取小鼠大脑,用免疫染色法检测发现 3 组小鼠在注射位置肿瘤均有生长,但异氟烷处理组的肿瘤体积与对照组之间差异无统计学意义。

2. 对胶质瘤细胞凋亡的影响:为了进一步研究异氟烷对胶质瘤细胞凋亡的影响,Zhu 等^[9]用不同浓度(0.6%、1.2%、2.4%)异氟烷处理 U251 细胞 3h 和 6h,采用流式细胞仪检测细胞凋亡情况,结果表明与未用异氟烷组比较,异氟烷处理 3h 后凋亡细胞数下降,且 2.4% 异氟烷处理 3h 组及 1.2% 异氟烷处理 6h 组的凋亡细胞数量最少。提示异氟烷抑制胶质瘤细胞凋亡。

3. 对胶质瘤细胞迁移的影响:Zhu 等^[9]用体内和体外实验证实了异氟烷在胶质瘤细胞的转移中起促

进作用。首先用不同浓度(0.6%、1.2%、2.4%)异氟烷处理 U251 细胞 3h 和 6h,用 Transwell 实验检测细胞的迁移情况,结果显示与未用异氟烷组相比,异氟烷处理 3h 后迁移细胞数增加,且 2.4% 异氟烷处理 3h 组及 1.2% 异氟烷处理 6h 组的迁移细胞数较高,提示异氟烷促进 U251 细胞迁移。另外,进一步向小鼠颅内注射 U251 细胞,将其进行 DAPI 及人类细胞核染色,使用 Image J 软件确定肿瘤范围,进一步测量迁移细胞至肿瘤中心的距离。研究发现,与未用异氟烷组相比,0.6% 异氟烷处理 6h 组的平均迁移距离差异无统计学意义,但 1.2% 异氟烷处理 6h 组的迁移距离明显增加。提示异氟烷促进胶质瘤细胞迁移。

六、异氟烷对头颈部鳞状细胞癌生物学行为影响

1. 对头颈部鳞状细胞癌细胞增殖的影响: Jun 等^[10] 选取两种常用的头颈鳞状细胞癌细胞系(Tca8113 细胞和 HSC2 细胞)作为研究对象,用 2% 异氟烷分别作用细胞 3h 及 6h,继续培养 72h,用 MTT 法检测各组细胞的增殖力,结果显示与对照组(5% CO₂, 21% O₂)相比,2% 异氟烷处理 3h 组和 6h 组的两种细胞数量均显著增加,并呈时间依赖性,异氟烷处理 3h 组的增殖率分别为 116% 及 112%, 异氟烷处理 6h 组的增殖率为 127% 及 119%。提示异氟烷促进头颈部鳞状细胞癌细胞增殖。

2. 对头颈部鳞状细胞癌细胞凋亡的影响: Jun 等^[10] 用流式细胞技术检测头颈鳞状细胞癌细胞系 Tca8113 和 HSC2 的凋亡情况,结果显示与对照组(5% CO₂, 21% O₂)相比,2% 异氟烷处理 3h 组的 Tca8113 细胞凋亡率下降不明显,但处理 6h 组的 Tca8113 细胞凋亡率显著下降;2% 异氟烷处理 3h 组和 6h 组的 HSC2 细胞凋亡率均下降,并呈时间依赖性。提示异氟烷显著抑制头颈部鳞状细胞癌细胞凋亡。

3. 对头颈部鳞状细胞癌细胞侵袭的影响: Jun 等^[10] 将 2% 异氟烷处理 3h 组和 6h 组的 Tca8113 细胞株及 HSC2 细胞株继续培养 12h 后,采用 Transwell 侵袭实验检测细胞的侵袭力,结果显示与对照组(5% CO₂, 21% O₂)相比,2% 异氟烷处理 3h 组和 6h 组的两种细胞株的侵袭细胞数均显著增加,在 Tca8113 细胞中呈时间依赖性,提示异氟烷促进头颈部鳞状细胞癌细胞侵袭。

七、异氟烷对结肠癌生物学行为的影响

Kawaraguchi 等^[11] 使用肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)诱导的细胞凋亡来模拟细胞对化疗的反应,进而研究异氟烷处理对细胞存活的影响。用 1.2% 异氟烷处理人结肠癌细胞株 HCT116 细胞 30min,用 TRAIL 继续处理 24h,采用蛋白印迹法发现与对照组(0% 异氟烷 + TRAIL)相比,处理组活化的半胱天冬酶 3(caspase-3)表达显著降低。进一步定量分析 caspase-3 活性,结果发现处理组 caspase-3 活性较对照组(0% 异氟烷 + TRAIL)减弱,提示异氟烷抑制结肠癌细胞凋亡。

综上所述,异氟烷促进卵巢癌、肺癌、前列腺癌、肾癌、胶质瘤、头颈部鳞状细胞癌细胞增殖;抑制前列腺癌、胶质瘤、头颈部鳞状细胞癌、结肠癌细胞凋亡;促进卵巢癌、前列腺癌、肾癌、胶质瘤、头颈部鳞状细胞癌细胞侵袭和迁移,但异氟烷对肺癌细胞侵袭的影响尚有待于进一步研究。这些研究结果在阐明肿瘤的发生、发展及预后评价等方面将起着重要的作用。异氟烷可以通过上调 HIF-1 表达促进前列腺癌、肾癌等恶性肿瘤的生物学行为,因此,在使用异氟烷的同时使用 HIF-1 抑制剂,可抑制肿瘤细胞的增殖、凋亡、侵袭和转移等生物学过程,有利于改善肿瘤患者的预后。

八、展 望

综上所述,异氟烷促进卵巢癌、肺癌、前列腺癌、肾癌、胶质瘤、头颈部鳞状细胞癌细胞增殖;抑制前列腺癌、胶质瘤、头颈部鳞状细胞癌、结肠癌细胞凋亡;促进卵巢癌、前列腺癌、肾癌、胶质瘤、头颈部鳞状细胞癌细胞侵袭和迁移,但异氟烷对肺癌细胞侵袭的影响尚有待于进一步研究。这些研究结果在阐明肿瘤的发生、发展及预后评价等方面将起着重要的作用。异氟烷可以通过上调 HIF-1 表达促进前列腺癌、肾癌等恶性肿瘤的生物学行为,因此,在使用异氟烷的同时使用 HIF-1 抑制剂,可抑制肿瘤细胞的增殖、凋亡、侵袭和转移等生物学过程,有利于改善肿瘤患者的预后。

参考文献

- Li C, Schaefer M, Gray C, *et al.* Sensitivity to isoflurane anesthesia increases in autism spectrum disorder Shank3 +/c mutant mouse model[J]. *Neurotoxicol Teratol*, 2017, 60: 69-74
- Tavare AN, Perry NJ, Benzonana LL, *et al.* Cancer recurrence after surgery: direct and indirect effects of anesthetic agents[J]. *Int J Cancer*, 2012, 130(6): 1237-1250
- Elias KM, Kang S, Liu X, *et al.* Anesthetic selection and disease-free survival following optimal primary cytoreductive surgery for stage III epithelial ovarian cancer[J]. *Ann Surg Oncol*, 2015, 22(4): 1341-1348
- Luo X, Zhao H, Hennah L, *et al.* Impact of isoflurane on malignant capability of ovarian cancer in vitro[J]. *Br J Anaesth*, 2015, 114(5): 831-839
- Iwasaki M, Zhao H, Jaffer T, *et al.* Volatile anaesthetics enhance the metastasis related cellular signalling including CXCR2 of ovarian cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(18): 26042-26056
- Zhang W, Shao X. Isoflurane promotes non-small cell lung cancer malignancy by activating the Akt-mammalian target of rapamycin(mTOR) signaling pathway[J]. *Med Sci Monit*, 2016, 22: 4644-4650
- Huang H, Benzonana LL, Zhao H, *et al.* Prostate cancer cell malignancy via modulation of HIF-1alpha pathway with isoflurane and propofol alone and in combination[J]. *Br J Cancer*, 2014, 111(7): 1338-1349

(下转第 36 页)

的致衰老过程,所以在检测衰老相关蛋白的同时也利用 Western blot 法检测细胞内 p - AKT 和 p - mTOR 蛋白含量变化,发现随着 D - 半乳糖浓度和作用时间增加,p - AKT 和 p - mTOR 含量变化趋势与衰老相关蛋白 p16^{Ink4a} 一致,均较对照组增加,初步表明 D - 半乳糖激活了 MSCs 中的 AKT/mTOR 信号通路。为了确定 AKT/mTOR 通路在 D - 半乳糖诱导的 MSCs 衰老之间的关系,笔者想到在细胞中加入 MK - 2206 (一种 AKT 抑制剂)抑制 AKT/mTOR 信号通路,观察抑制 AKT/mTOR 通路后能否延缓 D - 半乳糖的致衰老作用。结果发现,加入 MK - 2206 处理后,原先的衰老相关蛋白 p16^{Ink4a} 表达下降且 β - 半乳糖苷酶染色阳性率也出现一定程度下降,证明 AKT 抑制剂能够有效地延缓 D - 半乳糖的致衰老作用,进而说明 AKT/mTOR 信号通路参与了 D - 半乳糖诱导的 MSCs 体外衰老模型的建立。

综上所述,笔者的实验证明了 D - 半乳糖能够诱导 MSCs 衰老,并揭示了 AKT/mTOR 信号通路可能是 D - 半乳糖诱导 MSCs 衰老的机制,完善了利用 D - 半乳糖构建 MSCs 体外衰老模型的理论基础,为深入研究 MSCs 衰老提供了实验依据。

参考文献

- Paniushin OV, Domaratskaia EI, Starostin VI. Mesenchymal stem cells: sources, phenotype, and differentiation potential [J]. Biol Bull, 2006, 33(1):6
- Mareschi K, Ferrero I, Rustichelli D, et al. Expansion of mesenchymal stem cells isolated from pediatric and adult donor bone marrow [J]. J Cell Biochem, 2006, 97(4):744
- Huang C, Zhang GF, Han J, et al. Mechanism of age - related changes of bone marrow mesenchymal stem cells in senile osteoporosis [J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2016, 30(2):565 - 569
- Li C, Wei G, Gu Q, et al. Donor age and cell passage affect osteogenic ability of rat bone marrow mesenchymal stem cells [J]. Cell Biochem Biophys, 2015, 72(2):543 - 549
- Fick LJ, Fick GH, Li Z, et al. Telomere length correlates with life

- span of dog breeds [J]. Cell Rep, 2012, 2(6):1530 - 1536
- Feng C, Zhang Y, Yang M, et al. Oxygen - sensing Nox4 generates genotoxic ROS to induce premature senescence of nucleus pulposus cells through MAPK and NF - κ B pathways [J]. Oxidat Med Cell Longevity, 2017, 2017(1):7426458
- Garcíavelázquez L, Arias C. The emerging role of Wnt signaling dysregulation in the understanding and modification of age - associated diseases [J]. Age Res Rev, 2017, 37:135 - 145
- Lehmann M, Baarsma H A, K? nigshoff M. WNT signaling in lung aging and disease [J]. Ann Am Thora Soc, 2016, 13 (Supplement 5):S411
- Li D. Advanced glycation in D - galactose induced mouse aging model. [J]. Mechanism Age De, 1999, 108(3):239
- Hadzipetrushev N, Stojkovski V, Mitrov D, et al. D - galactose induced changes in enzymatic antioxidant status in rats of different ages [J]. Physiol Res, 2015, 64(1):61
- 颜冰希, 余姗姗, 冯晓, 等. D - 半乳糖对大鼠骨髓间充质干细胞衰老的影响 [J]. 浙江大学学报:医学版, 2013, 42(6):625 - 631
- Collins CJ, Sedivy JM. Involvement of the INK4a/Arf gene locus in senescence [J]. Aging Cell, 2003, 2(3):145
- Zhao Y, Jia Z, Huang S, et al. Age - related changes in nucleus pulposus mesenchymal stem cells: an in vitro study in rats [J]. Stem Cells International, 2017, 2017(5411):6761572
- 邢玉芝, 杨玲麟, 林洪, 等. D - 半乳糖对大鼠骨髓间充质干细胞拟衰老作用的实验研究 [J]. 中国修复重建外科杂志, 2006, 20(4):475 - 479
- Maiese K, Chong ZZ, Wang S, et al. Oxidant stress and signal transduction in the nervous system with the PI₃ - K, Akt, and mTOR cascade [J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(11):13830
- Dong D, Cai GY, Ning YC, et al. Alleviation of senescence and epithelial - mesenchymal transition in aging kidney by short - term caloric restriction and caloric restriction mimetics via modulation of AMPK/mTOR signaling [J]. Oncotarget, 2017, 8(10):16109 - 16121
- Ho JH, Chen YF, Ma WH, et al. Cell contact accelerates replicative senescence of human mesenchymal stem cells independent of telomere shortening and p53 activation: roles of Ras and oxidative stress [J]. Cell Transplant, 2011, 20(8):1209
- Baker BM, Nathan AS, Gee AO, et al. The influence of an aligned nanofibrous topography on human mesenchymal stem cell fibrochondrogenesis [J]. Biomaterials, 2010, 31(24):6190

(收稿日期:2018 - 01 - 26)

(修回日期:2018 - 03 - 16)

(上接第 12 页)

- Benzonana LL, Perry NJ, Watts HR, et al. Isoflurane, a commonly used volatile anesthetic, enhances renal cancer growth and malignant potential via the hypoxia - inducible factor cellular signaling pathway in vitro [J]. Anesthesiology, 2013, 119(3):593 - 605
- Zhu M, Li M, Zhou Y, et al. Isoflurane enhances the malignant potential of glioblastoma stem cells by promoting their viability, mobility in vitro and migratory capacity in vivo [J]. Br J Anaesth, 2016, 116(6):870 - 877
- Jun R, Gui - he Z, Xing - xing S, et al. Isoflurane enhances malignancy of head and neck squamous cell carcinoma cell lines: a preliminary study in vitro [J]. Oral Oncol, 2011, 47(5):329 - 333
- Kawaraguchi Y, Horikawa YT, Murphy AN, et al. Volatile anesthetics protect cancer cells against tumor necrosis factor - related apoptosis - inducing ligand - induced apoptosis via caveolins [J]. An-

esthesiology, 2011, 115(3):499 - 508

- Brokaw J, Katsaros D, Wiley A, et al. IGF - I in epithelial ovarian cancer and its role in disease progression [J]. Growth Factors, 2007, 25(5):346 - 354
- Shibuya M. Vascular endothelial growth factor and its receptor system: physiological functions in angiogenesis and pathological roles in various diseases [J]. J Biochem, 2013, 153(1):13 - 19
- Yang G, Rosen DG, Liu G, et al. CXCR2 promotes ovarian cancer growth through dysregulated cell cycle, diminished apoptosis, and enhanced angiogenesis [J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(15):3875 - 3886
- Liang H, Yang CX, Zhang B, et al. Sevoflurane attenuates platelets activation of patients undergoing lung cancer surgery and suppresses platelets - induced invasion of lung cancer cells [J]. J Clin Anesth, 2016, 35:304 - 312

(收稿日期:2017 - 10 - 18)

(修回日期:2017 - 10 - 20)