



# 二甲双胍对自噬细胞 PI3K/Akt/mTOR pathway 的影响

郭振海 白吉祥 王书惠

牡丹江医学院红旗医院 黑龙江牡丹江

**【摘要】目的** 通过建立肾癌自噬细胞株模型, 观察二甲双胍对于肾癌细胞 PI3K/Akt/mTOR pathway 的影响。**方法** 以人肾癌细胞株 786-O、OS-RC-2 (皆购自中国科学院上海细胞所) 培养肾癌细胞模型, 观测 0/12/24/48/72h 后, 分别以 0, 1, 5, 10, 20, 50mM 浓度的二甲双胍对肾癌细胞株进行干预, Western blot 法检测不同浓度不同时间下肾癌细胞的 PI3K、Akt、mTOR 蛋白表达。**结果** 经二甲双胍干预 12h 后, 二甲双胍浓度在 50mM 时, 与阳性对照组比较, PI3K、Akt、mTOR 蛋白表达均下降, 在二甲双胍作用细胞 24h 和 48h 时, PI3K、Akt、mTOR 蛋白均表达下调, 且成浓度依赖性。

**【关键词】** 二甲双胍; 肾癌; PI3K; Akt; mTOR pathway

**【中图分类号】** R737.11 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-9561 (2016) 09-007-01

**【基金项目】** 黑龙江省卫生计生委科研课题 (2014-197)

肾细胞癌, 简称肾癌, 是临床常见的泌尿系恶性肿瘤之一。而肾癌对传统的放化疗药物均不敏感, 因此探索针对肾癌的治疗手段显得尤为重要。

二甲双胍是临床常用的治疗 2 型糖尿病的药物, 在长期的临床实践中发现, 长时间服用二甲双胍的糖尿病患者罹患癌症的风险较低, 故而, 我们推测二甲双胍可能与某些抗肿瘤因素相关。已有的文献研究表明, 二甲双胍主要通过影响多条信号通路从而在肿瘤细胞中产生不同程度的抗肿瘤作用。为了进一步研究二甲双胍在肿瘤中对细胞增殖与凋亡的作用, 本次研究进行了细胞层次的实验, 建立肾癌自噬细胞株, 在二甲双胍诱导下, 观察对于 PI3K/Akt/mTOR pathway 的影响, 并进行了相关的分析。

## 1 建立肾癌细胞模型

在实验室以人肾癌细胞株 786-O、OS-RC-2 (皆购自中国科学院上海细胞所) 培养肾癌细胞模型。786-O 和 OS-RC-2 细胞培养于含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基, 在 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱内培养, 适时根据细胞状况更换培养基。0.25% 胰蛋白酶-0.02% EDTA 工作液消化分散细胞, 进行培养。应用二甲双胍时, 将浓度为 0.1-50mM 的二甲双胍加入到培养基中, 培养至预定时间后进行检测。

## 2 观察结果

### 2.1 对 PI3K/Akt/mTOR pathway 的影响

PI3K/Akt/mTOR 信号传导通路<sup>[1]</sup>广泛存在于细胞中, 参与细胞的增殖、分化等各方面活动。磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 可以通过磷酸化磷脂酰肌醇环上的第三位羟基产生磷酸化的磷脂酰肌醇。Akt, 又称蛋白激酶 B (PKB), 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶, 是 PI3K 的主要下游效应分子之一, 可以与 PI3K 激活后的产物结合, 使其从细胞质到细胞膜的转位以及构象发生改变。活化的 PI3K/Akt 可以进一步激活下游分子 mTOR。哺乳类动物雷帕霉素 mTOR 又称 FRAP, 其羟基末端与 PI3K 高度同源, 因此 mTOR 被认为是 PDK 相关的蛋白激酶家族成员, 是 Akt 下游的一个重要作用靶点, 可以被 Akt 磷酸化激活, 继而磷酸化它的下游分子。已经有体外实验发现<sup>[2]</sup>, PI3K/Akt/mTOR 信号通路参与了泌尿系肿瘤的发展, 雷帕霉素极其类似物具有明确的抗肿瘤活性。因此 PI3K/Akt/mTOR 信号通路在恶性肿瘤的抑制中具有重要的作用和研究价值。

在本实验中, 以 Western blot 法检测细胞的 PI3K、Akt、mTOR 蛋白表达, 观察到不同浓度的二甲双胍对于肾癌模型细胞的作用效果有所不同, 观察发现, 当二甲双胍浓度在

50mM 时, 与阳性对照组比较, PI3K、Akt、mTOR 蛋白表达均下降, 在二甲双胍作用细胞 24h 和 48h 时, PI3K、Akt、mTOR 蛋白均表达下调, 且成浓度依赖性。表明, 二甲双胍可以刺激 PI3K/Akt 通路介导 mTOR 表达负性调节细胞的自噬。(图 1)

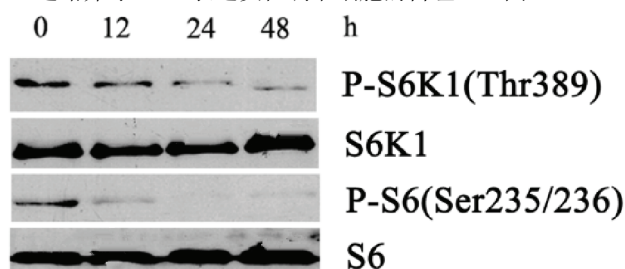


图 1 二甲双胍抑制肾癌细胞中 mTORC1 信号

## 3 讨论

肾细胞癌是在临床治疗中非常棘手的一类疾病, 手术无法根治, 而传统的放、化疗手段又不足以治愈, 肿瘤细胞对其缺乏敏感性, 故而找到合适的治疗药物具有重要意义。本次实验正是在观察到二甲双胍对于肾癌细胞可能具有的良性作用基础上, 进行细胞学观察, 研究其对于肾癌细胞的抑制和杀灭作用。

本次实验研究探讨 PI3K/Akt/mTOR 信号传导通路在靶向治疗肾细胞癌上的作用。PI3K/Akt/mTOR 信号传导通路的异常是肿瘤发生和发展的重要步骤, 此通路的异常激活在肾癌中常见, 因此以此通路为靶点的药物成为研究热点<sup>[3]</sup>。本实验发现, 在二甲双胍作用细胞 24h 和 48h 时, PI3K、Akt、mTOR 蛋白均表达下调, 且成浓度依赖性。表明, 二甲双胍可以刺激 PI3K/Akt 通路介导 mTOR 表达负性调节细胞的自噬。通过对 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的抑制, 结合其他疗法, 或可为治疗肾细胞癌提供新的方法和途径。

## 参考文献:

- [1] 廖明娟, 陈红凤. PI3K/Akt/mTOR 信号通路抑制剂在乳腺癌中的研究进展 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2012, 19 (3): 230-234
- [2] Fuereder T, Jaeger A, Hoeflmayer D, et al. mTOR inhibition by everolimus counteracts VEGF induction by sunitinib and improves antitumor activity against gastric cancer in vivo [J]. Cancer Lett, 2010, 296 (2): 249-256.
- [3] 武强, 赵全年, 宋卫东. PI3K/Akt/mTOR 信号传导通路在肿瘤的研究进展 [J]. 疾病监测与控制杂志, 2013, 7 (6): 339-347.

作者简介: 郭振海: 男, 教授, 副院长, 硕士, 擅长诊断治疗泌尿外科、男性科的常见病、多发病临床诊疗。