

基于PI3K/Akt信号通路探讨霍山石斛多糖对前列腺癌细胞上皮间质转化的影响

陈瑞廷, 白洋洋, 董建设, 孙继建, 潘世杰

[河南省中医院(河南中医药大学第二附属医院)泌尿外科, 河南 郑州 450002]

摘要: 目的 探究霍山石斛多糖对前列腺癌 DU145 细胞上皮间质转化的影响。方法 细胞随机分为空白组、抑制剂组(10 μmol/L PI3K/Akt 通路抑制剂 LY294002)和霍山石斛多糖低、高剂量组(0.15、0.30 μmol/L), BrdU 染色与 CCK8 实验检测细胞增殖活性; Transwell 实验检测细胞侵袭数量; 细胞划痕实验检测细胞迁移率; Western blot 法检测细胞中上皮间质转化标志物(N-Cadherin、Vimentin)、PI3K/Akt 通路相关蛋白表达。结果 与空白组比较, 霍山石斛多糖各剂量组和抑制剂组 DU145 细胞增殖、侵袭、迁移能力减弱($P < 0.05$), N-Cadherin、Vimentin、PI3K、Akt 蛋白表达降低($P < 0.05$)。结论 霍山石斛多糖能抑制前列腺癌 DU145 细胞的增殖、侵袭及迁移, 其作用机制与抑制 PI3K/Akt 信号通路活化有关。

关键词: 霍山石斛多糖; 前列腺癌; 增殖; 迁移; 侵袭; 上皮间质转化; PI3K/Akt 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)05-1694-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.05.039

前列腺癌是男性最常见的非皮肤恶性肿瘤, 去势治疗是转移性激素敏感期的标准方案, 但大多数患者最终演变为去势抵抗性前列腺癌, 中位生存期显著缩短^[1-2]。研究发现, 上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)能使癌细胞突破基底膜, 促进癌细胞转移^[3-5]。因此, 针对 EMT 信号节点的靶向干预, 如磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B(phosphoinositide 3-kinases/protein kinase B, PI3K/Akt)抑制剂, 对前列腺癌治疗能发挥重要作用。

多糖是霍山石斛主要活性成分, 具有免疫调节、抗氧化、保肝等多种生物活性^[6-8], 在治疗肿瘤(如宫颈癌、胃癌等)方面同样具有较好的作用^[9-10]。研究显示, 霍山石斛提取物对前列腺癌细胞具有抑制作用^[11], 但对前列腺癌细胞 EMT 的作用尚未明确。因此, 本研究分析霍山石斛多糖对前列腺癌 DU145 细胞 EMT 的影响, 以期对相关治疗提供新线索。

1 材料

1.1 细胞 人前列腺癌细胞系 DU145 细胞, 购自上海格宁生物科技有限公司, 采用含 10% 胎牛血清的培养基在温度 37 °C、相对湿度 90%、5% CO₂ 的培养箱中培养, 每隔 2 d 更换 1 次培养液, 以 1:3 比例传代培养。

1.2 药物与试剂 霍山石斛多糖(纯度>95.8%, 四川省维克奇生物科技有限公司, 批号 WKQ-0027085)。PI3K/Akt 通路阻断剂 LY294002(上海领科源生物科技有限公司, 批号 154447-36-6); CCK-8 细胞增殖检测试剂盒(武汉博欧特生物科技有限公司, 货号 KTA1020); PI3K、Akt、N-钙黏蛋白(N-Cadherin)、波形蛋白(Vimentin)抗体(北京百瑞极生物科技有限公司, 货号 30092-1-AP、22018-1-AP、80462-1-RR、CL594-60330); GAPDH 抗体(杭州斯达特生物科技有限公司, 货号 100242-T08); 胎牛血清(上海梵态生物科技有限公司, 货号 JYK-FBS-301); 结晶紫染料(南京森贝伽生物科技有限公司, 货号 219215); 5-溴-2-脱氧尿嘧啶核苷(5-bromo-2-deoxyuridine, BrdU)染色试剂盒(江苏凯基生物技术股份有限公司, 货号 K2727)。

1.3 仪器 D165H 二氧化碳培养箱(深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司); SpectraMax Plus 384 全波长光吸收酶标仪(美国 Molecular Devices 公司); ChemiDoc Go 荧光及化学发光成像系统(美国 Bio-Rad 公司); XDS-1B 倒置生物显微镜(重庆留辉科技有限公司)。

2 方法

2.1 细胞分组及给药 收集对数生长期的 DU145

收稿日期: 2025-09-18

基金项目: 河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20240661); 河南省卫生健康委国家中医临床研究基地科研专项(2022JDZX142)

作者简介: 陈瑞廷(1983—), 男, 硕士, 副主任医师, 从事泌尿外科疾病诊断、治疗研究。E-mail: Zhangr8810@163.com

细胞, 培养 24 h 后分为空白组、抑制剂组和霍山石斛多糖低、高剂量组, 其中霍山石斛多糖低、高剂量组分别更换含 0.15、0.30 $\mu\text{mol/L}$ 该成分的培养基, 抑制剂组更换含 10 $\mu\text{mol/L}$ LY294002 的培养基^[4], 空白组更换新鲜培养基。

2.2 细胞增殖检测

2.2.1 BrdU 染色实验 将 DU145 细胞接种到 6 孔板, 每孔 2×10^4 个, 按“2.1”项下方法处理 24 h, 加入 10 $\mu\text{mol/L}$ BrdU 孵育 30 min, PBS 漂洗 3 次, 滴加甲醇固定 20 min, PBS 漂洗 3 次, 采用 0.2% Triton X-100 破膜 10 min, PBS 漂洗后与抗 BrdU 抗体、荧光标记的二抗结合, 复染细胞核后在荧光显微镜下观察, ImageJ 软件统计阳性细胞比例。

2.2.2 CCK8 实验 将 DU145 细胞接种到 96 孔板, 每孔 1×10^4 个, 按“2.1”项下方法处理, 分别培养 12、24、48 h 后每孔加入 10 μL CCK8, 孵育 4 h, 在 450 nm 波长处测定光密度 (OD) 值。

2.3 Transwell 实验检测 DU145 细胞侵袭能力 采用 Matrigel 基质胶包埋 Transwell 小室, 将 2×10^4 个 DU145 细胞接种到小室上腔, 添加 500 μL 无血清培养基, 同时在下腔室补充 800 μL 含 15% 胎牛血清的完全培养基, 按“2.1”项下方法处理 24 h, 4% 多聚甲醛固定, 1% 结晶紫染色在显微镜下拍摄图像, ImageJ 软件计数侵袭细胞数量。

2.4 细胞划痕实验检测细胞迁移能力 将 DU145 细胞接种到 6 孔板, 每孔 2×10^4 个, 当细胞融合度达 95% 时采用 200 μL 无菌枪头垂直划一条直线, PBS 洗去脱落细胞, 换低血清 (5%) 培养基, 按“2.1”项下方法处理 24 h, 于 0、24 h 在显微镜下拍照, 测量划痕宽度, 计算 DU145 细胞迁移率。

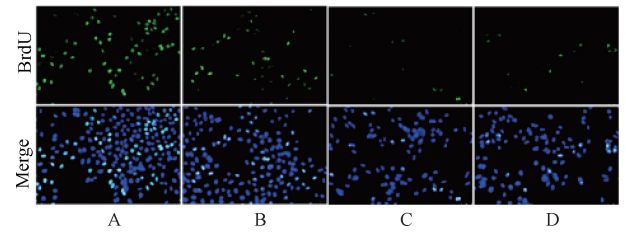
2.5 Western blot 法检测 PI3K、Akt、N-Cadherin、Vimentin 蛋白表达 将 DU145 细胞接种到 6 孔板, 每孔 2×10^4 个, 按“2.1”项下方法处理 24 h, 收集细胞, 采用含蛋白酶抑制剂的细胞蛋白抽提裂解液提取总蛋白, BCA 试剂盒进行定量, SDS-PAGE 凝胶电泳分离, 转移到硝酸纤维素膜, 5% 脱脂乳封闭 1 h, 加入一抗 PI3K、Akt、N-Cadherin、Vimentin (1 : 1 000)、GAPDH (1 : 10 000), 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 次日加入二抗 (1 : 10 000), 室温孵育 1 h, 洗膜, BeyoECL plus 试剂盒检测蛋白条带, ImageJ 软件分析灰度值, 计算相对表达量。

2.6 统计学分析 分别通过 MedCalc 17.6、Origin Pro 2022 SR1 软件进行数据分析、图像处理, 所有数据均符合正态分布、方差齐性, 以 ($\bar{x} \pm s$) 表

示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 Tukey 检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

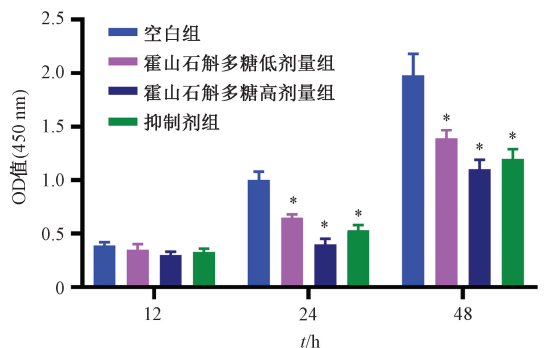
3 结果

3.1 霍山石斛多糖对 DU145 细胞增殖活性的影响 与空白组比较, 霍山石斛多糖各剂量组及抑制剂组 DU145 细胞增殖活性降低 ($P < 0.05$), 见图 1~2、表 1。与空白组比较, 霍山石斛多糖各剂量组及抑制剂组 DU145 细胞生长密度降低, 其形态逐渐由梭形转化为不规则三角形或椭圆形, 同时伴有漂浮的表现亮斑的死亡细胞, 见图 3。



注: A 为空白组, B~C 分别为霍山石斛多糖低、高剂量组, D 为抑制剂组。

图 1 各组 DU145 细胞 BrdU 染色 ($\times 200$)



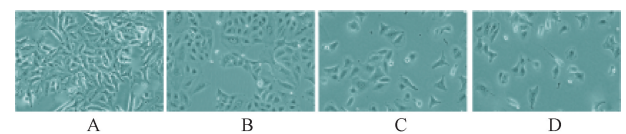
注: 与空白组比较, * $P < 0.05$ 。

图 2 各组 DU145 细胞存活率比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

表 1 各组 DU145 细胞 BrdU 阳性率比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	BrdU 阳性率/%
空白组	38.52 ± 5.16
霍山石斛多糖低剂量组	$22.96 \pm 2.37^*$
霍山石斛多糖高剂量组	$3.18 \pm 0.53^*$
抑制剂组	$5.22 \pm 2.27^*$

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$ 。

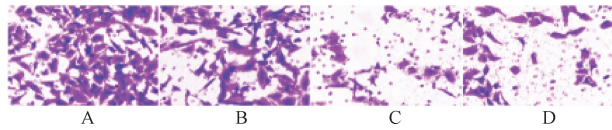


注: A 为空白组, B~C 分别为霍山石斛多糖低、高剂量组, D 为抑制剂组。

图 3 各组 DU145 细胞形态变化 ($\times 400$)

3.2 霍山石斛多糖对 DU145 细胞侵袭能力的影

响 与空白组比较, 霍山石斛多糖各剂量组和抑制剂组 DU145 细胞侵袭数量减少 ($P < 0.05$), 见图 4、表 2。



注: A 为空白组, B~C 分别为霍山石斛多糖低、高剂量组, D 为抑制剂组。

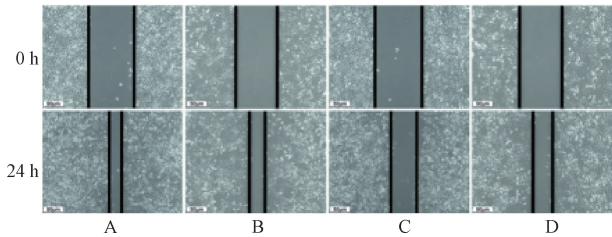
图 4 各组 DU145 细胞侵袭情况 ($\times 400$)

表 2 各组 DU145 细胞侵袭数量比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	侵袭数量/个
空白组	83.27 \pm 5.37
霍山石斛多糖低剂量组	72.63 \pm 3.82*
霍山石斛多糖高剂量组	29.15 \pm 3.76*
抑制剂组	43.32 \pm 6.19*

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$ 。

3.3 霍山石斛多糖对 DU145 细胞迁移能力的影响 与空白组比较, 霍山石斛多糖各剂量组和抑制剂组 DU145 细胞迁移率降低 ($P < 0.05$), 见图 5、表 3。



注: A 为空白组, B~C 分别为霍山石斛多糖低、高剂量组, D 为抑制剂组。

图 5 各组 DU145 细胞迁移情况 ($\times 200$)

表 3 各组 DU145 细胞迁移率比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	迁移率/%
空白组	68.39 \pm 3.27
霍山石斛多糖低剂量组	50.13 \pm 2.52*
霍山石斛多糖高剂量组	23.38 \pm 3.51*
抑制剂组	46.23 \pm 2.73*

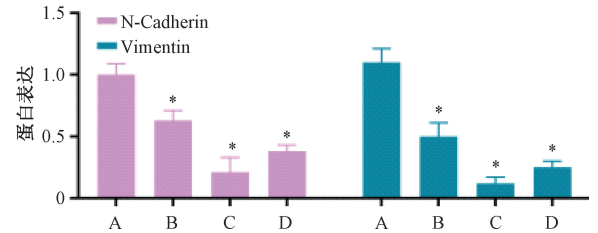
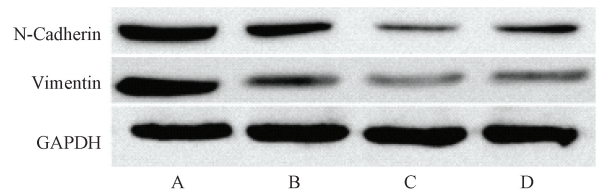
注: 与空白组比较, * $P < 0.05$ 。

3.4 霍山石斛多糖对 DU145 细胞 EMT 标志物蛋白表达的影响 与空白组比较, 霍山石斛多糖各剂量组和抑制剂组 DU145 细胞 N-Cadherin、Vimentin 蛋白表达降低 ($P < 0.05$), 见图 6。

3.5 霍山石斛多糖对 DU145 细胞 PI3K/Akt 信号通路蛋白表达的影响 与空白组比较, 霍山石斛多糖各剂量组和抑制剂组 DU145 细胞 PI3K、Akt 蛋白表达降低 ($P < 0.05$), 见图 7。

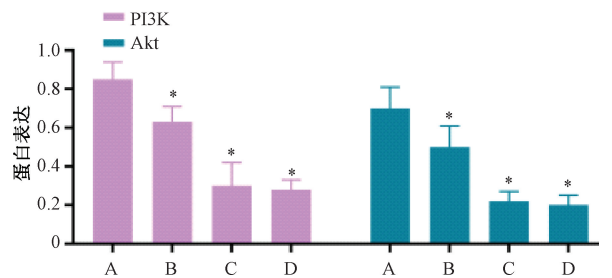
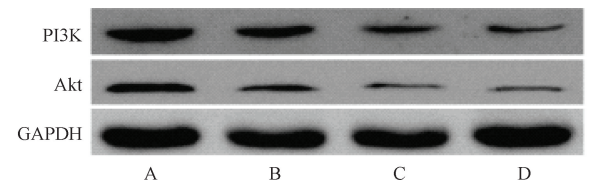
4 讨论

研究表明, EMT 与肿瘤进展密切相关^[12], 其



注: A 为空白组, B~C 分别为霍山石斛多糖低、高剂量组, D 为抑制剂组。与空白组比较, * $P < 0.05$ 。

图 6 各组 DU145 细胞 N-Cadherin、Vimentin 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)



注: A 为空白组, B~C 分别为霍山石斛多糖低、高剂量组, D 为抑制剂组。与空白组比较, * $P < 0.05$ 。

图 7 各组 DU145 细胞 PI3K、Akt 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

主要特征为上皮标记物 (如 E-钙黏蛋白) 表达下调和间质标记物 (如 N-Cadherin、Vimentin) 表达上调, 并且它受多种信号通路 (如 PI3K/Akt 等) 的调控, 在胚胎发育、伤口愈合、纤维化过程中发挥重要作用, 在肿瘤进展方面尤为显著^[13]。在肿瘤进展过程中, EMT 使癌细胞失去上皮细胞的极性和细胞间粘附力, 获得间质细胞的特性, 进而穿透基底膜和细胞外基质, 进入血管或淋巴管, 其间癌细胞可分泌多种细胞因子和趋化因子, 招募免疫细胞、成纤维细胞等, 改变肿瘤微环境, 促进血管生成、免疫逃逸等^[14]。大量研究表明, 在前列腺癌中 EMT 与肿瘤侵袭、转移及耐药密切相关^[15], 故以其为线索寻找相关新方案具有重要意义。

多糖作为霍山石斛重要活性成分之一, 在抗肿

瘤领域具有潜在价值,同时其提取物能抑制前列腺癌细胞的生物学活性^[11],但目前关于该类成分对前列腺癌细胞 EMT 的影响仍未明确报道。本研究结果显示,霍山石斛多糖处理前列腺癌 DU145 细胞后其增殖、侵袭、迁移能力减弱,同时伴随 EMT 标志物(N-Cadherin、Vimentin)表达下调,可见该成分细胞 EMT 过程具有抑制作用,可能是治疗前列腺癌的潜在药物。

PI3K/Akt 信号通路作为细胞内重要的信号通路,在调节其生长、增殖、分化、凋亡、代谢等多个生理过程中发挥关键作用,它主要由 PI3K、Akt 及其下游效应分子组成,PI3K 由调节亚基 p85 和催化亚基 p110 组成,被激活后磷酸化磷脂酰肌醇,产生三磷酸磷脂酰肌醇;Akt 通过与三磷酸磷脂酰肌醇结合而被招募至细胞膜,进而调控细胞的多种功能^[16]。研究表明,PI3K/Akt 信号通路的激活与前列腺癌的侵袭和转移密切相关^[17-18],通过调控细胞骨架重组和细胞黏附分子表达,改变细胞形态和运动能力,从而增强肿瘤细胞侵袭性^[19-20]。本研究采用 PI3K/Akt 信号通路抑制剂处理前列腺癌 DU145 细胞后,其增殖、侵袭、迁移能力减弱,同时伴随 EMT 标志物(N-Cadherin、Vimentin)表达下调,证实该信号通路在细胞 EMT 过程中的关键作用。此外,霍山石斛多糖处理 DU145 细胞后 PI3K/Akt 信号通路受到抑制,提示其影响机制与调控 PI3K/Akt 信号通路相关。

综上所述,霍山石斛多糖能抑制前列腺癌 DU145 细胞增殖、侵袭及迁移,其作用机制与抑制 PI3K/Akt 信号通路活化相关。

参考文献:

[1] 程勇兵,邱雪峰,郭宏骞. 2025 版 EAU 前列腺癌指南更新解读[J]. 中国肿瘤外科杂志, 2025, 17(3): 216-220.
[2] 郭楠,窦宝凯,张晶. 微管蛋白抑制剂在前列腺癌中的应用进展[J]. 中国药房, 2025, 36(13): 1683-1688.
[3] 朱研峰,刘志飞,邢力永,等. 抑制 lncR-HOXA-AS3 表达的人前列腺癌细胞增殖、迁移、侵袭能力及 EMT 相关蛋白表达变化[J]. 山东医药, 2023, 63(6): 6-10.
[4] 凡治国,李志平,任超. PI3K/Akt 信号通路阻断药联合小檗碱对前列腺癌 DU145 细胞生长的抑制作用[J]. 癌症进展, 2018, 16(5): 563-566; 579.

[5] 董佳杰,党燕梅,张驰,等. SMURF2 在前列腺癌细胞中调节 STAT1 的泛素化并促进 EMT[J]. 南京师大学报(自然科学版), 2021, 44(2): 62-68.
[6] 张金萍,葛基春,李强明,等. 霍山石斛多糖对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠肿瘤生长的抑制作用[J]. 现代食品科技, 2023, 39(7): 7-15.
[7] 秦丹阳,尚贞子,钱明雪,等. 霍山石斛多糖理化性质与生物活性的年动态变化研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(12): 29-34.
[8] 曹培常,郑士宏,任荟蓉,等. 霍山石斛对 Lewis 肺癌和原发性肺癌的抑制作用及机制研究[J]. 合肥工业大学学报(自然科学版), 2022, 45(6): 836-843.
[9] 仲晓荣,徐峰,王莹. 霍山石斛对荷宫颈癌 SiHa 细胞小鼠免疫功能的影响[J]. 华西药理学杂志, 2019, 34(6): 601-604.
[10] 张丹丹,黄森,查学强,等. 霍山石斛多糖对人胃癌细胞生长的抑制作用[J]. 食品与生物技术学报, 2014, 33(5): 542-547.
[11] 解松子,刘冰,罗建平. 霍山石斛多糖生物活性的研究[C]//中国食品科学技术学会第十五届年会论文摘要集. 北京:中国食品科学技术学会, 2018: 166-167.
[12] 李子舜,赵长普,罗磊,等. 上皮-间质转化在胃癌的作用及中药干预机制研究进展[J]. 世界中医药, 2025, 20(7): 1204-1211; 1219.
[13] Zhang Y E, Stuelten C H. Alternative splicing in EMT and TGF- β signaling during cancer progression[J]. *Semin Cancer Biol*, 2024, 101: 1-11.
[14] Kiri S, Ryba T. Cancer, metastasis, and the epigenome[J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1): 154.
[15] Zhu S, Kou Z, Xiao C, et al. Silencing FGL1 promotes prostate cancer cell apoptosis and inhibits EMT progression[J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 19886.
[16] Glaviano A, Foo A S C, Lam H Y, et al. PI3K/Akt/mTOR signaling transduction pathway and targeted therapies in cancer[J]. *Mol Cancer*, 2023, 22(1): 138.
[17] Hashemi M, Taheriazam A, Daneei P, et al. Targeting PI3K/Akt signaling in prostate cancer therapy[J]. *J Cell Commun Signal*, 2023, 17(3): 423-443.
[18] Tortorella E, Giantulli S, Sciarra A, et al. AR and PI3K/Akt in prostate cancer: a tale of two interconnected pathways[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3): 2046.
[19] Wang R, Qu Z, Lv Y, et al. Important roles of PI3K/Akt signaling pathway and relevant inhibitors in prostate cancer progression[J]. *Cancer Med*, 2024, 13(21): e70354.
[20] Li M, Che N, Liu X, et al. Dauricine regulates prostate cancer progression by inhibiting PI3K/Akt-dependent M2 polarization of macrophages[J]. *Biochem Pharmacol*, 2023, 217: 115s138.